

Nutrire

ISSN 1519-8928

REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO



25 JUN/2003

JOURNAL OF THE BRAZILIAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO-SBAN

Presidente / President

Silvia Maria Franciscato Cozzolino

1º Vice-presidente / Vice-President

Fernando Salvador Moreno

2º Vice-presidente / Vice-President

Hélio Vannucchi

Secretário Geral / General Secretary

Célia Colli

1º Secretário / Secretary

Lilian Cuppari

2º Secretário / Secretary

Anita Sachs

1º Tesoureiro / Treasurer

Regina Mara Fisberg

2º Tesoureiro / Treasurer

Maria Cristina de Souza Campos Lerario

Secretários Regionais

AL Luci Tojal e Seara (luci.al@uol.com.br)

AM Lúcia K. Ozake Yuyama (yuyama@inpa.gov.br)

BA Roseanne Porto Dantas Mazza (rosemazza@ufba.br)

CE Augusto Pimentel Guimarães (diretoria@nuteral.com.br)
e Carla Soraya Costa Maia (soraya@impax.com.br)

GO Maria Margareth Veloso Neves (mnaves@fanut.ufg.br)

MG Josefina Bressan R. Monteiro (jbrm@ufv.br)

PE Hernando Flores (hflores@nutricao.ufpe.br)

PI Nadir do Nascimento Nogueira (nadirn@uol.com.br)

RJ Luiz Carlos Trugo (ctrugo@iq.ufrrj.br)

RN Lúcia de Fátima C. Pedrosa (lpedrosa@ufrnet.br)

SC Vera Lúcia G. Tramonte (veratramonte@ig.com.br)

Sócios Mantenedores / Supporting Partners

Ajinomoto Interamericana Ind. e Com. Ltda.

Coca Cola Indústrias Ltda.

Danone Ltda.

Kellogg Brasil & Cia.

Monsanto do Brasil Ltda.

Nestlé Brasil Ltda.

Pepsico do Brasil Ltda.

Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos S.A.

Red Bull do Brasil Ltda.

Unilever Bestfood Brasil Ltda.

A Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição –
SBAN representa no Brasil a INUS – Inter national
Union of Nutritional Sciences

Endereço / Address

Sociedade Brasileira de Alimentação
e Nutrição-SBAN

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 / Bloco 14 - FCF / USP

05508-900 São Paulo – SP, Brasil

Tel.: (11) 3091-3656 / 3091-3657 Fax: (11) 3815-4410

e-mail: sban@sban.com.br

www.sban.com.br



SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO-SBAN

Nutrire

REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO
JOURNAL OF THE BRAZILIAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION

ISSN 1519-8928

Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.= J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP, v. 25, p. 1-186, jun. 2003

**São Paulo, SP-Brasil
2003**

© Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição-SBAN
Publicação semestral/ Biannual publication
Tiragem/Print-run:1000
Impresso no Brasil/Printed in Brazil
Capa: Ademar Assaoka
Diagramação: Jotacê Desenhos Gráficos

Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição=Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition, São Paulo, SP. v.1, (1990) - São Paulo, SP: SBAN, 2000 -

Semestral.

Resumos em inglês e espanhol.

Continuação dos Cadernos de Nutrição, a partir do v. 19/20 (2000).

1. Alimentos e alimentação – Periódicos. 2. Nutrição – Periódicos. I. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição-SBAN

ISSN1519-8928

CDD 612.305
664.005

É permitida a reprodução de resumos com a devida citação da fonte/ Reproduction of abstracts is allowed as long as the right source is quoted.

EDITORIAL

Os últimos 5 volumes da **NUTRIRE** definem bem seu perfil como revista de Alimentos e Nutrição: publicamos 45 trabalhos, 24 trabalhos originais, cerca de 60% na área de **Nutrição** e 40% na de **Alimentos**. Quase a metade dos trabalhos apresentados vieram de outros Estados. E dois deles de outros países.

A NUTRIRE foi avaliada quanto à qualidade de seu corpo editorial, sua periodicidade e seu alcance nacional e internacional. Outro item considerado é a relação entre trabalhos aceitos e trabalhos encaminhados, ou seja, nosso padrão de seleção. Para que o impacto desses trabalhos seja medido precisamos, além de lidos, ser citados e é para isso que chamamos a atenção dos autores: como citamos pouco os trabalhos brasileiros relacionados a nossos temas de pesquisa!

Vivemos uma época de índices e em países como o nosso, ainda há que se lutar contra a desvalorização interna que pode entravar nosso desenvolvimento científico, social e cultural. Apresentamos este volume com 10 trabalhos, prosseguindo uma já respeitável tradição de 20 anos de existência em nosso turbulento ambiente editorial brasileiro de revistas científicas.

Célia Colli

Editora Científica

SUMÁRIO/CONTENTS

Artigos Originais/Original Articles

- 7** **Restaurante “por quilo”: vale o quanto pesa? Uma avaliação do padrão alimentar em restaurantes em São Paulo, SP**
“By the weight” restaurants: an assessment of dietary patterns in restaurants from São Paulo, SP
Edeli Simioni de ABREU; Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva TORRES
- 23** **Determinação de vitamina A no leite materno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Botucatu, SP, Brasil**
Vitamin A determination in human milk by high performance liquid chromatography (HPLC), Botucatu, SP, Brazil
Maria Luiza CASSETTARI; Luiza Cristina C.G. DIAS; Luís Carlos GIAROLA; Nelson de SOUZA
- 31** **Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico**
Antioxidant activity of mustard, cinnamon and anise in lipidic and aqueous systems
Ana Vlândia Bandeira MOREIRA; Jorge MANCINI FILHO
- 47** **Avaliação da qualidade protéica da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)**
*Evaluation of protein quality of dehydrated cassava leaf (*Manihot esculenta* Crantz)*
Claudia Isabel ORTEGA-FLORES; Maria Aparecida Lopes da COSTA; Marney Pascoli CEREDA; Marilene de Vuono Camargo PENTEADO
- 61** **Consumo energético do pré-escolar de creches**
Energy intake of pre-school children from day care centers
Cecilia Vasconcelos HOLLAND; Sophia Cornbluth SZARFARC

Artigos de Revisão/Revision Articles

- 71** **Lipoproteínas: uma revisão do seu metabolismo e envolvimento com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares**
Lipoproteins: a review of its metabolism and implications on the progress of cardiovascular diseases
Regiane Lopes de SALES; Maria do Carmo Gouveia PELUZIO; Neuz Maria Brunoro COSTA
- 87** **Aspectos nutricionais sobre glutamina e atividade física**
Nutritional aspects of glutamine and physical activity
Marcelo Macedo ROGERO; Julio TIRAPEGUI
- 113** **Uso de carnitina em terapia nutricional**
Use of carnitine in nutritional therapy
Luciana Pinto RODRIGUES; Gilberto João PADOVAN; Júlio Sérgio MARCHINI
- 135** **Composição do leite humano e microbiota predominantemente bífida do lactente em aleitamento materno exclusivo**
Composition of the human milk and microbiota predominantly bífida of the infant in exclusive maternal breast feeding
Luciana Maria BORBA; Luiza Carla Vidigal CASTRO; Sylvania do Carmo Castro FRANCESCHINI; Célia Lúcia de Luces Fortes FERREIRA
- 153** **Anemia durante a gravidez: influência da anemia leve/moderada/grave no nascimento**
Anemia during pregnancy: influence of mild/moderate/severe anemia on pregnancy outcome
Clarissa Flüeler PIZARRO; Lena DAVIDSSON

Restaurante “por quilo”: vale o quanto pesa? Uma avaliação do padrão alimentar em restaurantes de São Paulo, SP

“By the weight” restaurants: an assessment of dietary patterns in restaurants from São Paulo, SP

ABSTRACT

ABREU, E.S.; TORRES, E.A.F.S. “By the weight”: an assessment of dietary patterns in restaurants from São Paulo, SP. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = *J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP. v.25, p. 7-22, jun., 2003.

This study evaluated the composition of foods offered in four “by the weight” restaurants in the neighborhood of Cerqueira César in São Paulo City, SP. Data were taken during five days and analysed according to specific food composition. The adjustments to nutritional recommendations for healthy adults were checked. The results of the meals analysis indicated a high energetic density, elevated levels of fat, saturated fat acids, cholesterol, protein and simple sugar, little contribution of carbohydrates to diet's total energetic value and adequate fibers. The cost of this kind of business is very high for a balanced meal, containing rice and beans, i.e, with an appropriate amount of carbohydrates.

Keywords: “by the weight” restaurants;
food habit changes; feeding and
modernity

EDELI SIMIONI DE
ABREU¹; ELIZABETH
APARECIDA FERRAZ DA
SILVA TORRES²

^{1,2}Departamento de
Nutrição da Faculdade de
Saúde Pública/USP

**Endereço para
correspondência:**

Departamento de Nutrição
da Faculdade de Saúde
Pública/USP

Av. Dr. Arnaldo, 715
CEP 01246-904
São Paulo, SP

e-mail: eatorres@usp.br
Extraído da dissertação de
mestrado Restaurante
“por quilo”: vale o quanto
pesa? Uma avaliação do
padrão alimentar em
restaurantes de Cerqueira
César, São Paulo, SP,
2000.

RESUMEN

Este trabajo evaluó la composición de alimentos disponibles para el consumo en cuatro restaurantes “por kilo” en el barrio Cerqueira Cesar, en São Paulo, SP. Los datos fueron levantados durante cinco días y analizados por medio de tablas de composición de alimentos. Fueron verificadas las adecuaciones a las recomendaciones para adultos sanos. Los resultados constataron alta densidad energética, elevado tenor de grasas, ácidos grasos saturados, colesterol, proteínas y azúcares simples, poca contribución de los carbohidratos en el valor energético total de la dieta y adecuación en fibras. El coste de ese tipo de comercialización es muy elevado para una comida balanceada, conteniendo arroz y frijoles, o sea, con cantidad adecuada de carbohidratos.

Palabras clave: restaurantes “por kilo”; cambio de hábitos alimentares; alimentación y modernidad; composición de alimento

RESUMO

Este trabalho avaliou a composição de alimentos disponíveis para consumo em quatro restaurantes “por quilo” no bairro de Cerqueira César, em São Paulo, SP. Os dados foram colhidos durante cinco dias e analisados por meio de tabelas de composição de alimentos. Foram verificadas as adequações às recomendações para adultos saudáveis. Os resultados constataron alta densidade energética, elevado teor de gorduras, ácidos graxos saturados, colesterol, proteínas e açúcares simples, pouca contribuição dos carboidratos no valor energético total da dieta e adequação em fibras. O custo desse tipo de comercialização é muito elevado para uma refeição balanceada, contendo arroz e feijão, ou seja, com quantidade adequada de carboidratos.

Palavras-chave: restaurantes “por quilo”; mudança de hábitos alimentares; alimentação e modernidade

INTRODUÇÃO

Descobertas científicas ocorreram até o século XX, tais como o aparecimento de novos produtos; a renovação de técnicas agrícolas e industriais; descobertas sobre fermentação, fabricação do vinho, cerveja, queijo e beneficiamento do leite; avanços na genética que permitiram sua aplicação em plantas e animais; maquinaria agrícola; e, processos técnicos para conservação de alimentos levaram ao progresso e também à modificação dos costumes alimentares (KRISTENSEN e BUSC-KRISTENSEN, 1994). Porém, a análise da mudança dos hábitos alimentares é matéria complexa (BEARDSWORTH e KEIL, 1997).

A comparação dos três inquéritos domiciliares nacionais (1961 a 1963, 1974 a 1975, 1987 a 1988), realizados por MONDINI e MONTEIRO (1994) ao longo de um período de 26 anos, aponta mudanças significativas na composição da dieta da população urbana do País. As mudanças no padrão alimentar, detectadas ao longo dos três inquéritos, mostram-se semelhantes para as populações urbanas do Sudeste e Nordeste do País e incluem: 1) redução no consumo de cereais e derivados, feijão, raízes e tubérculos; 2) o aumento contínuo no consumo de ovos, leite e derivados; 3) a substituição da banha, toucinho e manteiga por óleos vegetais e margarinas; 4) o aumento no consumo de carnes, principalmente a partir da segunda metade da década de 70. As modificações observadas determinam tendência generalizada de menor contribuição dos carboidratos no consumo calórico total e sua substituição por gorduras, nesse caso, substancial progressão do consumo de gorduras vegetais em detrimento ao de gorduras de origem animal, principalmente da década de 70 para a década de 80. A participação das proteínas na dieta pouco se altera ao longo de todo o período de estudo (MONDINI e MONTEIRO, 1994).

Alguns fatores têm modificado o ambiente social onde se consome o alimento. O advento da modernidade trouxe muitas mudanças no cotidiano das pessoas. Atualmente, são raras as famílias que desfrutam do prazer de fazer refeições em casa (GARCIA, 1993). A alternativa é procurar lanchonetes, restaurantes e bares para efetuar a segunda grande refeição do dia, o almoço.

Esta nova experiência contrasta com a forma de alimentação tradicional, retratando um processo global de homogeneização em que as pessoas formam filas, lêem o cardápio, fazem o pedido e comem em tempo recorde, mas dentro do contexto de um restaurante (WARDE, 1997). As tendências da alimentação são reflexos dessas mudanças, levando as pessoas a recorrer aos *fast-food* em busca de rapidez e facilidade (GARCIA, 1995).

O conceito de *fast-food* (comida rápida) nasceu nos Estados Unidos em 1955 e não se restringe obviamente somente a hambúrgueres, mas também a outros tipos de comida rápida, tais como pizza, comida chinesa, mexicana e outros, cuja influência cultural de outros povos está implícita.

A modernidade impôs seu ritmo aos costumes, as refeições passam a ser realizadas fora de casa. O ato de comer se deslocaliza, realiza-se um movimento de aceleração

da vida (GIDDENS, 1991). Os *drive-in* realizaram a adequação da refeição ao ritmo dos automóveis, acelerado pelo *fast-food*, através da aplicação do modelo Taylorista das fábricas à produção de sanduíches e no atendimento ao cliente (CORR, 1996).

O conceito de *fast-food* tem mudado significativamente. Mais recentemente, tem se desenvolvido num espectro de comida preparada, em que se oferece de tudo, desde sanduíches e saladas, até pizzas, pastéis, comidas étnicas, *donuts* e lojas de conveniência. Inclui, ainda, restaurantes tipo *self-service* e “por quilo”, cafés, produtos de padaria e serviço de entrega domiciliar.

Segundo dados da ABIA - Associação Brasileira da Indústria de Alimentos, em média, o brasileiro faz uma em cada quatro refeições fora de casa - 25%, e nos Estados Unidos, 46%. Assim, o número de restaurantes aumentou de 400.000 em 1991 para 756.000 em 1998, sendo que existem 1.036.180 pontos de vendas de refeições fora do lar, com 41 milhões de refeições servidas por dia. Estima-se que somente na cidade de São Paulo estejam localizados 5.000 restaurantes (MAGNÉE, 1996).

As mudanças ocorridas nos últimos anos no segmento de restaurantes comerciais mostram uma nova face desse ramo de atividade. Dentro desse novo cenário, surgiu o conhecido restaurante “por quilo”, um fenômeno nacional com custo atrativo, mas que, nem sempre, atende às necessidades nutricionais. O consultor Magnée citado por MARICATO (1996), afirma que mais de 50% sejam “por quilo”. Esse tipo de restaurante passa a ser mais interessante que o *self-service* simples, pois o cliente escolhe apenas aquilo que pretende consumir, ciente de que os restos (alimentos servidos e não consumidos) sairão de seu próprio orçamento. Por outro lado, a possibilidade de escolher por peso, faz com que se gaste na medida da disposição financeira (MARICATO, 1996).

Assim, a comida “por quilo” deixou de ser um modismo e se tornou hábito de consumo. O cliente do restaurante “por quilo” tem a seguinte opinião: “gosto porque escolho o que vou comer”, mas na realidade, ele escolhe entre as opções que o restaurante lhe oferece (MAGNÉE, 1996).

Portanto, a grande expansão ocorrida na área de alimentação comercial a partir da implantação dos restaurantes *self-service* e “por quilo” nos últimos anos, aliada ao aumento da obesidade e de doenças crônicas, chamou a atenção sobre a necessidade de desenvolver uma avaliação da composição das preparações oferecidas nesses restaurantes e da forma de venda, que pode influenciar o consumo. Para tanto, o presente estudo teve por objetivo verificar a contribuição e o custo dos alimentos e bebidas disponíveis para consumo em restaurantes “por quilo” da região de Cerqueira César, São Paulo, SP, na alimentação de seus clientes.

MÉTODO

COLETA DOS DADOS

O objeto de estudo foi constituído por alimentos e bebidas oferecidos em restaurantes “por quilo” da região de Cerqueira César, São Paulo, SP.

Foram estudados quatro restaurantes “por quilo” entre os 20 existentes na região de Cerqueira César, que representam aproximadamente 1% do total de restaurantes desse segmento na cidade de São Paulo, SP, de acordo com dados da ABREDI - Associação de Bares e Restaurantes Diferenciados.

A coleta dos dados realizou-se no mês de julho de 1999 e foi efetuada diariamente por quatro semanas, sendo destinada uma semana para cada restaurante dos pertencentes à amostra.

Durante uma semana, foram anotadas, em cada restaurante, as saídas de gêneros e/ou produtos alimentícios do estoque, que se destinavam à produção das preparações. Os dados cedidos pelos estabelecimentos referentes a esses alimentos foram coletados por peso, em kg, em balanças pertencentes aos estabelecimentos, com precisão de 50g. Nesse momento, observaram-se também as preparações mais consumidas, ou seja, as que foram produzidas e servidas em maior quantidade.

CÁLCULO INDIRETO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Para cada produto foi aplicado um Indicador de Parte Comestível (Indicador que prevê as perdas inevitáveis como casca, aparas, ossos, entre outros), para obtenção do peso líquido (ORNELLAS, 1979).

A quantidade de alimentos disponível para consumo foi estimada com base no peso líquido, dividido pelo número de refeições servidas durante o período de coleta de dados - uma semana - para a determinação da quantidade individual comestível (QIC). Os alimentos foram então agrupados em um *pool* de nutrientes, utilizando-se as QICs obtidas, do qual se conseguiu a composição nutricional do conjunto de alimentos fornecidos em cada restaurante. E, assim, foi possível a compilação de todas as informações nutricionais dos alimentos e bebidas servidos nos estabelecimentos, durante o período da pesquisa.

O cálculo da composição química dos alimentos utilizados nas preparações disponíveis para consumo foi feito por meio de tabelas de composição de alimentos: Tabela brasileira de composição de alimentos (LAJOLO *et al.*, 2002), Tabela de composição de alimentos (IBGE, 1999) e *The composition of foods* (McCANCE e WINDDOWSON, 1991).

A adequação da participação estimada de nutrientes foi verificada pelas recomendações do *Recommended Dietary Allowance* (RDA) do *National Research Council* (NRC, 1989) aliadas aos dados médios estimados da clientela e necessidades médias entre homens e mulheres adultos, segundo a média da população brasileira pelos dados da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição – SBAN (VANNUCCHI *et al.*, 1990) uma vez que a população era mista e em idade produtiva, como é apresentado no Quadro 1.

Característica	Sexo masculino	Sexo feminino
Idade (idade produtiva)	25 a 50 anos	25 a 50 anos
Peso médio (SBAN)	65kg	57kg
Altura média (SBAN)	170cm	157,5cm
Atividade profissional	administrativa	administrativa

Quadro 1 Perfil estimado da clientela dos restaurantes em estudo, para cálculo das necessidades nutricionais

Os dados do consumo estimado foram calculados pelo *pool* de nutrientes inseridos nos alimentos que tiveram sua saída do estoque destinada à produção das preparações durante uma semana, dividido pelo número de refeições servidas no período, sugerindo uma QIC média aproximada ao real, uma vez que não são registrados restos nesse tipo de restaurante, por representarem um custo adicional direto ao usuário (MARICATO, 1996) e as sobras (alimentos preparados e não distribuídos) foram reaproveitadas internamente durante o período de coleta de dados.

ELABORAÇÃO DE UMA REFEIÇÃO BALANCEADA

Ao elaborar a refeição balanceada, denominada “prato controle”, foram utilizadas preparações encontradas nos estabelecimentos em estudo. Alimentos que constituem o prato controle: arroz (212g), feijão (129g), pão francês (30g), salada de alface e tomate (126g), bife de carne bovina grelhado (80g), legumes mistos (100g), salada de frutas com granola (263g) e água (200ml).

Esse “prato controle” considerado como uma refeição equilibrada para o almoço e, calculado de acordo com os mesmos critérios utilizados para o cálculo da adequação da dieta às recomendações do NRC (1989).

O peso do “prato controle” foi calculado com base na soma do peso de cada preparação. Em seguida, estimado o preço do mesmo em cada um dos restaurantes e o seu custo se produzido em nível doméstico.

ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados foram analisados por meio da estatística descritiva e analítica, teste de comparação de médias - *teste t para amostras independentes*, com nível de significância $p < 0,05$ e Análise por Componentes Principais (MICROCAL ORIGIN, 1999).

RESULTADOS

O preço médio das refeições, por quilograma, dos quatro estabelecimentos pertencentes à amostra, foi R\$ 13,57.

O número médio de refeições servidas diariamente e o consumo médio por pessoa, respectivamente, em cada restaurante foi: Restaurante 1 - 742 refeições/504g, Restaurante 2 - 136 refeições/454g, Restaurante 3 - 226 refeições/391g e Restaurante 4 - 803 refeições/468g.

A clientela dos quatro restaurantes manteve-se semelhante, sendo composta por homens e mulheres em idade produtiva (25 a 50 anos) e atividade profissional administrativa.

Os dados referentes aos alimentos e preparações disponíveis para consumo nos quatro restaurantes estudados provêm de informações cedidas pelos próprios restaurantes, e, com base nessas informações, cálculos sobre a composição nutricional foram realizados, como já mencionado anteriormente. A Tabela 1 demonstra a contribuição nutricional das refeições oferecidas e a Tabela 2 apresenta o nível de significância das diferenças entre as médias.

Tabela 1 Distribuição média dos teores de nutrientes contidos nas preparações servidas no almoço, dos restaurantes “por quilo”, durante o período de pesquisa e no “prato controle”

Nutrientes	Restaurante 1	Restaurante 2	Restaurante 3	Restaurante 4	Prato Controle
Energia (kcal)	1482	1310	1351	1468	970
Proteína (g)	61,37	54,26	56,04	59,66	39,10
Lipídio (g)	67,57	58,64	73,26	66,37	27,53
CHO (g)	160,15	151,34	129,16	161,56	135,55
Fibra (g)	12,32	11,74	18,25	13,05	15,86
AGSat. (g)	19,29	17,87	22,22	18,69	9,92
AGIns. (g)	40,41	36,34	39,44	37,39	13,61
Colesterol (mg)	168,83	224,90	211,10	183,20	63,00
Açúcares (g)	49,56	51,80	35,56	48,61	39,06

Legenda: CHO – carboidratos, AGSat. – Ácido Graxo Saturado, AGIns. – Ácido Graxo Insaturado.

Tabela 2 Nível de significância das diferenças entre as médias para $p < 0,05$

Nutrientes	Nível de Significância									
	R1 e R2	R1 e R3	R1 e R4	R2 e R3	R2 e R4	R3 e R4	R1 e PC	R2 e PC	R3 e PC	R4 e PC
Energia	0,99932	0,11303	0,06562	0,12369	0,07086	0,61019	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Proteína	0,62493	0,89720	0,89005	0,48313	0,51552	0,98334	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Lipídio	0,64684	0,04016	0,01818	0,11283	0,05131	0,62534	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
CHO	0,85050	0,90698	0,69541	0,94646	0,78970	0,76290	$\cong 0,7$	$\cong 0,8$	0,8	$\cong 0,8$
Fibra	0,55096	0,69779	0,48705	0,86934	0,89444	0,77848	$\cong 0,5$	$\cong 0,9$	$\cong 0,8$	$\cong 0,9$
AGSat.	0,35979	0,04737	0,00705	0,35016	0,03793	0,13747	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
AGIns.	0,51116	0,03265	0,01639	0,11240	0,0727	0,92884	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Colesterol	0,90262	0,50288	0,86001	0,42655	0,76385	0,61899	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Açúcares	0,77444	0,42288	0,80904	0,27958	0,58441	0,49405	$\cong 0,4$	$\cong 0,3$	$\cong 0,9$	$\cong 0,5$

Legenda: R – Restaurante, PC – Prato Contr. ole.

O Gráfico 1 demonstra a participação r elativa dos macr onutrientes.

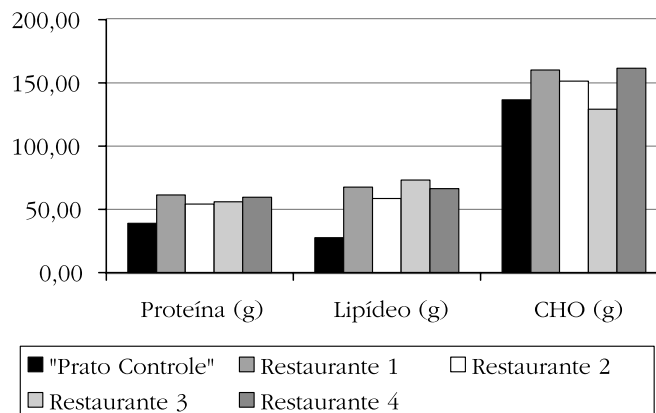


Gráfico 1 Distribuição de nutrientes energéticos dos alimentos e preparações oferecidos nos restaurantes “por quilo” em comparação às recomendações

São demonstradas abaixo as QICs (Quantidades Individuais Comestíveis), para uma refeição, de alguns alimentos crus oferecidos nos restaurantes em estudo e os sugeridos pela literatura* (ARAÚJO e GUERRA, 1995).

- Arroz - 31 a 45g (30 a 120g)*
- Feijão - 9 a 26g (30 a 120g)*
- Carnes em geral - 132 a 176g (120 a 150g)*
- Saladas de folha - 24 a 28g (10 a 30g)*
- Óleo de soja - 17 a 21g (16g)*

Os pratos mais consumidos foram arroz, nas mais variadas formas de preparação; o feijão como “tutu” é mais consumido que o feijão comum; feijoada; diversos tipos de massa; carnes em geral; batata frita; pastel, coxinha e produtos de pastelaria em geral. Dentre as saladas, as mais consumidas foram de alface, brócolis, cenoura, palmito e as com molho de maionese. As sobremesas mais requisitadas foram pudim de leite condensado, salada de frutas, morango, frutas em calda e a confeitaria do dia. As bebidas mais ingeridas foram os refrigerantes *light*.

A Tabela 3 apresenta o custo do “prato controle” em cada um dos restaurantes “por quilo” e se fosse produzido em domicílio, bem como o custo médio das refeições consumidas em cada um dos restaurantes pesquisados.

Tabela 3 Custo da quantidade média consumida e do “prato controle” nos estabelecimentos em estudo e em nível doméstico

Local	“Prato controle” (R\$)	Média consumida (R\$)
Restaurante 1	7,92	5,90
Restaurante 2	7,85	5,27
Restaurante 3	11,51	6,65
Restaurante 4	8,80	6,08
Domicílio	1,33	*****

A Tabela 4 demonstra, proporcionalmente, o custo dos macronutrientes e do valor energético total do consumo estimado nos estabelecimentos pesquisados e do “prato controle” se fosse consumido nesses restaurantes ou em nível domiciliar.

Tabela 4 Custo relativo de macronutrientes e do VCT dos alimentos consumidos e do “prato controle”, nos estabelecimentos estudados e em nível doméstico

Nutrientes	Local	Restaurante	Restaurante	Restaurante	Restaurante	Domicílio
		1	2	3	4	
“Prato Controle”						
Energia	(kcal)	970	970	970	970	970
	(R\$)	7,92	7,85	11,51	8,80	1,33
Proteína	(%)	16,0	16,0	16,0	16,0	16,0
	(R\$)	1,27	1,26	1,84	1,41	0,21
Lipídio	(%)	25,5	25,5	25,5	25,5	25,5
	(R\$)	2,02	2,00	2,94	2,24	0,34
CHO	(%)	58,5	58,5	58,5	58,5	58,5
	(R\$)	4,63	4,59	6,73	5,15	0,78
Consumo estimado						
Energia	(kcal)	1482	1310	1351	1468	***
	(R\$)	5,90	5,27	6,65	6,08	***
Proteína	(%)	16,4	16,1	16,0	16,1	***
	(R\$)	0,97	0,85	1,06	0,98	***
Lipídio	(%)	40,7	39,1	47,1	40,3	***
	(R\$)	2,40	2,06	3,13	2,45	***
CHO	(%)	42,9	44,8	36,9	43,6	***
	(R\$)	2,53	2,36	2,46	2,65	***

Utilizando-se os dados da Tabela 1 foi realizada uma Análise de Agrupamento de Dados, para o “prato controle” e alimentos e preparações oferecidos nos restaurantes pertencentes à amostra, cujo dendrograma está mostrado a seguir (Gráfico 2):

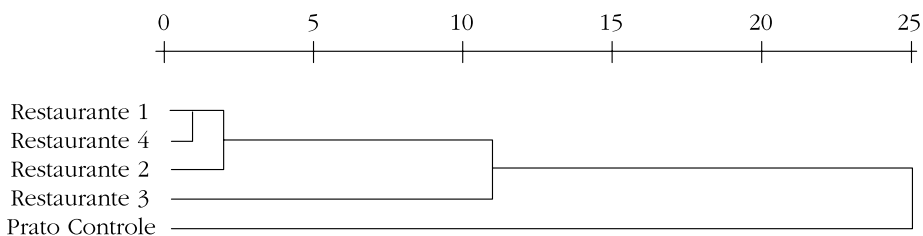


Gráfico 2 Agrupamento de dados do “prato controle” e dos alimentos e preparações oferecidos nos restaurantes pesquisados

DISCUSSÃO

Pode-se observar que o consumo individual médio entre os restaurantes, que foi de 454g, apresenta-se próximo ao citado por MAGNÉE (1996), que afirma aproximar-se de 420g, por se tratar de uma clientela que exerce atividade administrativa.

Observando-se o Gráfico 1 constatou-se que os resultados encontrados nos restaurantes estudados encontram-se um pouco acima do recomendado pelo NRC para proteínas, com excesso de gorduras e subdimensionados em carboidratos, com desequilíbrio estatisticamente significante, mais acentuado para o Restaurante 3, como se pode verificar na Tabela 2 e Gráfico 2.

Esses resultados vêm confirmar os estudos desenvolvidos por MONDINI e MONTEIRO (1994), que apontam tendência à redução da contribuição dos carboidratos no consumo calórico total e sua substituição por gorduras, com pouca alteração na participação das proteínas na dieta. Tais mudanças são baseadas no aumento do consumo de carnes, ovos e produtos lácteos e redução no consumo de cereais, feijão, raízes e tubérculos.

A participação relativa dos nutrientes energéticos sobre o Valor Energético Total do “prato controle” foi: 16% de proteína, 25,5% de lipídio e 58,5% de carboidrato.

Ao compararmos algumas QICs (ARAÚJO e GUERRA, 1995), verifica-se um alto consumo de óleo vegetal, motivado principalmente por preparações à base de fritura; elevação no consumo de carnes em geral e baixo consumo de feijão. Há ainda um adequado consumo de arroz, devido à variedade de formas que é apresentado. Quanto aos vegetais folhosos o consumo foi apropriado.

Quanto aos pratos mais consumidos, os resultados encontrados não divergem das observações de MARICATO (1996) que apontam para massas e carnes, maioneses, cenoura e preparações à base de creme de leite.

Quanto aos alimentos mais consumidos apontados pelo ENDEF para a Região II - São Paulo (IBGE, 1977), temos: arroz, pão francês, batata inglesa, açúcar refinado, feijão comum, tomate, laranja pêra, carne bovina, frango, leite pasteurizado, óleo de soja, refrigerante e café. Mesmo não sendo esses dados os mais atuais, são a mais completa fonte da situação alimentar brasileira e apontam para alimentos que diferem um pouco dos consumidos nos restaurantes em estudo. Outro ponto a ser observado, além da mudança de hábitos alimentares, é o fator econômico, pois no restaurante “por quilo” todos os alimentos terminam tendo uma equivalência de preço.

As definições de dieta saudável podem variar. Porém, a definição da OMS - Organização Mundial da Saúde, parece ser a mais completa: “dieta equilibrada é aquela que contém adequada quantidade de alimentos necessários para assegurar as necessidades nutricionais. Deve, portanto, ser suficiente para cobrir as necessidades energéticas, completa para cobrir os requerimentos dos nutrientes, harmônica de modo que os diferentes nutrientes guardem uma correta relação entre si, e adequada à situação biológica do indivíduo” (OMS, 1984).

A recomendação energética diária é de 2550kcal pelo NRC (1989). Os restaurantes “por quilo” em estudo apresentaram uma densidade energética na refeição pesquisada, o almoço, em torno de 1400kcal, o que representa 55% do Valor Energético Total.

Considerando-se que essa refeição não deveria ultrapassar 35 a 40% do Valor Energético Total, por se tratar de trabalhadores que desenvolvem atividades leves (SÁ, 1990), pode-se concluir que a refeição possui alta concentração energética, o que, na maioria das vezes, vem associada a um alto consumo de gorduras, o que está diretamente relacionado ao metabolismo lipídico, mais especificamente dos triglicérides e colesterol. Esses fatores, possivelmente podem desencadear patologias nos seres humanos, principalmente pelo aumento da obesidade e as doenças a ela relacionadas (MEGUID *et al.*, 2000).

No caso dos restaurantes em estudo, o consumo de lipídios ficou em torno de 66,5g, o que representa 78% das recomendações diárias (NRC, 1989).

Esses resultados vêm de encontro às preocupações apontadas por MONDINI e MONTEIRO (1995), com o aumento do consumo relativo de gorduras na região Sudeste, que já ultrapassa o limite máximo recomendado pela OMS.

A oferta de alimentos e a própria disposição dos mesmos no balcão dos restaurantes “por quilo” influenciam a escolha, que está direcionada ao aumento da lucratividade, pela venda de alimentos mais “pesados” e, por conseguinte com maior densidade energética. Associado a esse fator temos que as pessoas comem alimentos e não nutrientes, e a escolha é condicionada ao paladar (SCHIFFMAN, 1999) e, geralmente, os alimentos com melhor sabor são os que têm elevada densidade energética, são doces ou ricos em gordura (DREWNOWSKI, 1999). Todavia, o ajuste da ingestão de energia é difícil para a maioria das pessoas. Essa incapacidade pode constituir uma das razões para a obesidade.

O consumo médio de proteínas nos restaurantes em estudo foi de 57,8g e representou 102% das recomendações diárias (NRC, 1989). Isso significa que essa refeição cobre toda a necessidade diária de proteína.

Apesar de a contribuição percentual desse nutriente ter ficado em torno de 16%, como apresentado no Gráfico 1, a gramatura encontra-se elevada, pois o percentual está baseado no Valor Energético Total que encontra-se aumentado.

Especificamente, no caso de restaurantes “por quilo”, a alta ingestão de alimentos protéicos pode estar associada ao fator econômico, uma vez que esses alimentos são mais caros e nessa modalidade de venda o consumidor espera o melhor custo/benefício (RIDDELL *et al.* 1997), já que estão sendo vendidos todos os alimentos pelo mesmo preço.

Quanto aos carboidratos, os resultados mostram um consumo médio de 150,5g, representando 30% das recomendações (NRC, 1989). Esses valores são baixos em relação ao valor energético que essa refeição representa. O Gráfico 1 demonstra que a contribuição percentual desse nutriente aproxima-se de 40% do Valor Energético Total, sendo, portanto, inferior aos 50 a 60% recomendados.

Segundo o NRC (1989), a oferta de fibras está adequada, enquanto que a de ácidos graxos saturados e insaturados possui um desbalanceamento, com oferta elevada de saturados. O colesterol e açúcares simples também são oferecidos em quantidades elevadas para uma refeição. O CONSENSO (1996) recomenda que o consumo de colesterol não ultrapasse 300mg por dia para a fase I da dieta e, em casos mais graves, quando adotada a fase II, não ultrapassar 200mg por dia (SBC, 1996).

A determinação do preço de venda ou preço por quilo é composta de quatro elementos básicos: custo da matéria-prima, mão-de-obra, despesas gerais e margem de lucro (MAGNÉE, 1996). Esse cálculo, desde que montado dentro de um sistema eficaz de apuração de custos, jamais trará prejuízos ao proprietário, mesmo que o consumo dos alimentos mais caros venha a se elevar.

Para a consecução do objetivo desse trabalho, foi calculado o peso do “prato controle”, que corresponde a 677g, enquanto o peso consumido nos restaurantes “por quilo”, cuja média ficou em 454g, foi demonstrado anteriormente. De acordo com o preço/kg de cada restaurante, foi calculado o custo do “prato controle” e o custo dos alimentos e preparações consumidos nos mesmos.

Os dados apresentados na Tabela 2 apontam para o alto custo do “prato controle” nos restaurantes “por quilo”, comparado às médias de consumo estimado nesses estabelecimentos e principalmente em relação à sua produção em nível domiciliar, chegando a ser mais de oito vezes mais cara do que consumida em casa.

Isso vem reforçar o motivo econômico que as pessoas apresentam para não escolher uma dieta balanceada nesse tipo de restaurante, negligenciando fundamentalmente os carboidratos que são alimentos relativamente baratos, mas que nos restaurantes “por quilo” têm seus preços nivelados aos outros alimentos.

A limitação da renda conduz a escolhas que são realizadas propositada e racionalmente, ou seja, o indivíduo compra a melhor relação custo/benefício (RIDDELL et al., 1997), e, essa mentalidade o leva a escolher os alimentos mais caros, com menor massa (grama por porção) e com maior grau de saciedade.

Os dados apresentados na Tabela 2, apontam para o custo/benefício desfavorável ao consumo do “prato controle”, uma vez que o mesmo fornece 970kcal, a um preço que variou de R\$ 7,85 a R\$ 11,51, se comparado aos alimentos consumidos nos restaurantes “por quilo”, que forneceram cerca de 1400kcal a um preço que ficou em torno de R\$ 6,00, ou seja, maior saciedade a menor custo.

Quando apontamos para o peso que os carboidratos acarretariam ao custo da refeição equilibrada, mais uma vez concluímos que os restaurantes “por quilo” tornam-se inviáveis ao orçamento de seus consumidores, pois somente esses nutrientes, que em nível doméstico são pouco onerosos, nos estabelecimentos em estudo teriam seu custo aproximado ao custo total da refeição consumida (Tabela 3).

Pode-se observar no Gráfico 2, através da análise de agrupamento de dados, que houve uma proximidade entre os Restaurantes 1, 2 e 4, com um distanciamento do Restaurante 3 e uma diferenciação mais acentuada para o “prato controle”.

A diferença entre o “prato controle” e os restaurantes evidenciada pela análise de agrupamento de dados mostra influência significativa de praticamente todas as variáveis, ou seja, uma proximidade entre os Restaurantes 1, 2 e 4, com um distanciamento do Restaurante 3 e uma diferenciação mais acentuada para o “prato controle”. Como já demonstrado na Tabela 1, os teores de açúcares simples (35,56g), CHO (129,16g) e fibras (18,25g) marcaram a diferença entre o Restaurante 3 e os outros restaurantes.

Considerando-se o “prato controle” como sendo o “padrão”, o ideal para uma refeição balanceada, pode-se inferir que as dietas consumidas nos restaurantes estão muito longe de se constituir numa refeição equilibrada. Porém, uma vez que o “prato controle” foi elaborado através das preparações oferecidas nos estabelecimentos em estudo, pode-se concluir que é possível manter uma dieta equilibrada utilizando-se desses estabelecimentos, o fator limitante, porém pode ser o custo dessa refeição, como demonstrado anteriormente. O que é necessário para atender esse objetivo é a formulação de uma política de educação nutricional que vise a melhoria da qualidade de vida; e, alterações nos cardápios, preço e forma de venda desses alimentos. Provavelmente, essas ações conjuntas possam diferenciar os restaurantes “por quilo” como fonte de uma alimentação saudável e garantir a satisfação dos clientes, duas missões tão almeçadas e difíceis de alcançar nos dias de hoje.

CONCLUSÕES

A avaliação dos alimentos e das preparações disponíveis para consumo nos restaurantes “por quilo” estudados, permitiu as seguintes conclusões:

Os alimentos e bebidas oferecidos nesses estabelecimentos contribuem com 67,5% da necessidade energética diária de seus clientes, ou seja, muito além do recomendado para a refeição almoço, mostrando-se uma alimentação de alta densidade calórica.

A composição centesimal desses alimentos e preparações revelou, que não há harmonia entre os nutrientes energéticos, apresentando-se com elevado teor de gorduras, pobre em carboidratos e pouco acima em proteínas. A oferta de fibras está adequada, enquanto que a de ácidos graxos saturados e insaturados possui um desbalanceamento, com oferta elevada de saturados. O colesterol e açúcares simples também são oferecidos em quantidades elevadas para uma refeição.

As preparações mais consumidas foram as massas, carnes em geral, produtos de pastelaria, batata frita, saladas de alface, brócolis, cenoura, palmito e as com molho de maionese, além de pudim de leite condensado, salada de frutas, morango, frutas em calda, confeitarias e refrigerantes *light*, os quais são alimentos com alta concentração energética, ricos em gorduras, açúcares simples, porém possuem fibras.

A adequação às recomendações revelou tratar-se de uma alimentação muito aquém do que pode ser considerado como saudável e equilibrado, excetuando-se o teor de fibras. Ressalta-se mais uma vez, a alta densidade energética e a elevada quantidade de gorduras.

O custo do “prato controle”, quando comparado ao custo dos alimentos e preparações consumidos, torna-se inviável, ou seja, o consumidor teria que aumentar consideravelmente seu orçamento para conseguir uma dieta equilibrada, uma vez que o “prato controle” pesa cerca de 50% a mais que o consumo individual estimado.

Através de análises estatísticas, pode-se observar que o “prato controle” está muito distante dos alimentos e preparações oferecidos nos quatro restaurantes pertencentes à amostra, conotando outra vez o desequilíbrio da alimentação praticada nesses estabelecimentos.

Cabe salientar que esse estudo foi realizado em uma pequena amostra de restaurantes, em um único ponto da cidade de São Paulo e no período de inverno. Recomenda-se que outros estudos sejam realizados, inclusive em outras estações do ano, de forma a se obter maiores informações sobre os hábitos alimentares, adequação nutricional e custo da refeição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- ARAÚJO, M.O.D.; GUERRA, T.M.M. *Alimentos “per capita”*. Natal: Ed. Universitária, 1995, p.1-271.
- BEARDSWORTH, A.; KEIL, T. *Sociology on the menu: an invitation to the study of food and society*. New York: Routledge. 1997, p.120-44.
- CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DISLIPIDEMIAS, 2ª Detecção, avaliação e tratamento. *Arq. Bras. Cardiol.*, v.67, p.109-28, 1996.
- CORR, F. Feargal follows the van in fast-food opportunity. *Hotel Catering Review*, v.26, n. 12, p.27-30, 1996
- DREWNOWSKI, A. Palatabilidade e saciedade: modelos e medidas. *Anais Nestlé*, v.57, p.35-76, 1999.
- ESTADOS UNIDOS. National Research Council. *Recommended dietary allowance*. 10th ed. Washington DC: National Academy Press, 1989, p.20.
- GARCIA, R.W.D. Notas sobre a origem da culinária: uma abordagem evolutiva. *Rev. de Nutrição PUCCAMP*, v.8, p.231-44, 1995.
- _____. *Representações sociais da comida no meio urbano: um estudo no centro da cidade de São Paulo*. Dissertação. (Mestrado em Psicologia) São Paulo: Instituto de Psicologia da Universidade de São Paulo, 1993. 312 p.
- GIDDENS, A. *Conseqüências da modernidade*. São Paulo: Editora UNESP, 1991 p.1-180.
- IBGE. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Consumo alimentar; Antropometria: dados preliminares*. 5. ed. Rio de Janeiro: Fundação IBGE, 1977, v.1-4, p.1-110.
- _____. *Tabela de composição de alimentos*. 5. ed. Rio de Janeiro: Fundação IBGE, 1999, p.1-137.
- KRISTENSEN, J.M.B.; BUSC-KRISTENSES B.M. Interaction between technology and quality. *Maelkeritidende*, v.107, p.128-30, 1994.
- LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W.; PENTEADO, M.V.C.; FILISETTI, T.M.C.C.; MARQUEZ, U.M.L. *Tabela brasileira de composição de alimentos*. [on line]. Disponível em <http://www.usp.br/fcf/tabela> [2000 dez 04].

- MAGNÉE, H.M. *Manual do self-service*. São Paulo: Livraria Varela, 1996, p.8-162.
- MARICATO, P. Os restaurantes 'por quilo': criatividade para enfrentar a crise. *Rev. Bares e Restaurantes*, v.5, p. 52-6, 1996.
- MCCANCE, R.A.; WINDDOWSON, E.M. *The composition of foods*. 5thed. Portland: Book News, 1991, p.1-475.
- MEGUID, M. M.; FETISSOV, S. O.; VARMA, M.; SATO, T.; ZHANG, L.; LAVIANO, A.; ROSSI-FANELLI, F. Hypothalamic dopamine and serotonin in the regulation of food intake. *Nutrition*, v.16, n.10, p.843-57, 2000.
- MICROCAL ORIGIN [computer program]. Versão 6.0. Northampton: Microcal Software; 1999.
- MONDINI, L.; MONTEIRO, C.A. Mudanças no padrão da alimentação. In: MONTEIRO, C. A. (Org.), *Velhos e novos males da saúde no Brasil: a evolução do país e de suas doenças*. São Paulo: Hucitec-Nupens/USP, 1995, p.79-89.
- _____. Mudanças no padrão da alimentação da população urbana brasileira (1962-1988). *Rev. de Saúde Pública*, v.28, p.433-9, 1994.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Terminologia sobre alimentos e nutrição: definição de alguns termos e expressões de uso corrente*. Brasília (DF): Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição, 1984, p.12.
- ORNELLAS, L.H. *Técnica dietética*. 3.ed. Rio de Janeiro: Júlio C. Reis Livraria, 1979. p.319.
- RIDDELL, T.; SHACKELFORD, J.; STAMOS, S. *Economics: a tool for critically understanding society*. 5thed. Reading: Addison Wesley Publ. Company. 1997, p.1-562.
- SÁ, N.G. *Nutrição e dietética*. 7. ed. São Paulo: Nobel, 1990.
- SCHIFFMAN, S.S. Fisiologia do paladar. *Anais Nestlé*, v.57, p.1-11, 1999.
- VANNUCCHI, H.; MENEZES, E.W.; CAMPANA, A.O.; LAJOLO, F.M. Aplicações das recomendações nutricionais adaptadas à população brasileira. *Cad. Nutr.*, São Paulo: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, v.2, p.1-155, 1990.
- WARDE, A.. *Consumption, food & taste: culinary antinomies and commodity culture*. London: Sage Publications, 1997, p.1-240.

Recebido para publicação em 15/07/02.

Aprovado em 30/06/03.

Determinação de vitamina A no leite materno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), Botucatu, SP, Brasil

Vitamin A determination in human milk by high performance liquid chromatography (HPLC), Botucatu, SP, Brazil

ABSTRACT

CASSETTARI, M.L.; DIAS, L.C.C.G.; GIAROLA, L.C.; SOUZA, N. V. Vitamin A determination in human milk by high performance chromatography (HPLC) Botucatu, SP, Brazil. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = *J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP. v.25, p. 23-30, jun., 2003.

Vitamin A deficiency is increasingly being recognized as a public health problem in developing countries. Vitamin A in breast milk can be used as an indicator of the nutritional state (WHO). The aim of this study was to test a method for determining vitamin A in human breast milk. The content of vitamin A was studied in 126 sample of breast milk. Results: fat $38.0 \pm 13.7\text{g/L}$, ($13.0 - 74.0\text{g/L}$); vitamin A $1.6 \pm 0.8\ \mu\text{mol/L}$, ($0.09 - 4.0\ \mu\text{mol/L}$). In 26% of the samples, milk concentration of vitamin A was not sufficient to meet the infant's metabolic requirements. These results are similar to other researchers, showing that this technique is accurate, fast and may, therefore, aid in the identification of groups of risk.

Keywords: vitamin A; HPLC high performance liquid chromatography; human milk; pregnant women

MARIA LUIZA CASSETTARI¹; LUIZA CRISTINA C. G. DIAS²; LUÍS CARLOS GIAROLA³; NELSON DE SOUZA⁴

^{1,3,4}Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP.

²UNAERP de Ribeirão Preto

Endereço para correspondência:
Departamento de Saúde Pública da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP
Distrito de Rubião Jr s/n-Botucatu

São Paulo - Brasil
CEP 18618-970

e-mail:

mluiza@fmb.unesp.br

Agradecimentos

À FINEP pelo apoio financeiro.

Processo 6/4/96/053500

RESUMEN

La carencia de vitamina A ha sido reconocida como un problema de salud pública en muchos países. La concentración de vitamina A en la leche materna puede ser usada como indicador del estado nutricional (WHO). El objetivo de este trabajo fue analizar vitamina A en leche materna. En las 126 muestras analizadas fueron encontrados los siguientes valores: grasa 38.0 ± 13.7 g/L, (13.0 - 74.0g/L); vitamina A 1.6 ± 0.8 μ mol/L, (0.09 - 4,0 μ mol/L), siendo que 26% no atienden el requerimiento de los recién nacidos. Los resultados, similares a los de otros estudios, sugieren que la técnica utilizada es precisa, rápida y podría ayudar en la identificación de grupos de riesgo.

Palabras clave: vitamina A; cromatógrafo líquido de alto desempeño; HPLC; leche materna; embarazo

RESUMO

A deficiência de vitamina A tem sido reconhecida como um problema de saúde pública em muitos países. A vitamina A no leite materno pode ser usada como indicador do estado nutricional (WHO). O objetivo deste estudo foi testar um método para determinação de vitamina A no leite materno. As 126 amostras de leite analisadas mostraram os seguintes resultados: gordura $38.0 \pm 13,7$ g/L, (13,0 - 74,0g/L); vitamina A $1,6 \pm 0,8$ μ mol/L, (0,09 - 4,0 μ mol/L). Em 26% das amostras a concentração de vitamina A não se mostrou suficiente para as necessidades dos recém-nascidos. Os resultados são similares aos de outros pesquisadores, demonstrando que a técnica utilizada é precisa, rápida e poderá, deste modo, auxiliar na identificação de grupos de risco.

Palavras-chave: vitamina A; CLAE cromatografia líquida de alta eficiência; leite materno; gestante

INTRODUÇÃO

A deficiência de vitamina A aumenta a susceptibilidade a infecções em mães e seus filhos, e é um dos fatores contributivos para um pior desempenho da mulher frente a gestação e amamentação (CASANUEVA et al., 1999). A amamentação é considerada fundamental para a promoção e proteção da saúde das crianças (KUMMER et al., 2000). O leite humano é um fluido complexo que contém mais de 200 constituintes conhecidos. O número destes constituintes aumenta, à medida que as técnicas analíticas se aprimoram (IOM, 1991).

Três aspectos da nutrição materna têm impacto na composição do leite humano: ingestão corrente, estoque de nutrientes e alteração na utilização dos nutrientes (IOM, 1991).

No que diz respeito ao conteúdo de vitaminas no leite humano, sua concentração está diretamente associada ao estado de vitaminas materno. Em geral quando a ingestão é cronicamente baixa, os níveis de vitamina no leite materno também são baixos (IOM, 1991).

A vitamina A pode ser transferida da mãe para a criança por duas vias: passagem através da placenta e secreção do colostro e leite (CASANUEVA et al., 1999; STOLZFUS e UNDERWOOD, 1995). Normalmente a vitamina A é transferida da mãe para o filho sessenta vezes mais durante seis meses de lactação, que a acumulação realizada pelo feto em nove meses de gestação (RAMALHO et al., 1998).

A análise da vitamina A no leite materno é importante, porque a sua concentração neste fluido está relacionada com o estado de vitamina A materno e com a ingestão desta vitamina pela mãe durante a lactação (HASKELL e BROWN, 1999).

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi testar metodologia para determinar a concentração de vitamina A em leite humano maduro, utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

CASUÍSTICA

O estudo ficou constituído por 126 nutrizas pertencentes a área urbana do município de Botucatu, que forneceram uma amostra de leite. 29,0% eram adolescentes e 5,5% estavam acima dos 35 anos; 63,0% tinham cursado o primeiro grau escolar, 36% eram fumantes, 7% tinham estatura inferior a 150cm. Em relação ao produto gestacional, encontramos 43% do sexo masculino e 57% do sexo feminino e uma incidência de 8% de baixo peso ao nascer.

O leite foi coletado no domicílio, por meio de extração manual, após uma hora da primeira mamada, em frasco esterilizado e protegido da luz, transportado para o laboratório em caixa de isopor com gelo, onde foi armazenado em freezer -85°C até ser analisado.

O estudo teve parecer favorável da comissão de ética em pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP.

MÉTODOS

DETERMINAÇÃO DE VITAMINA A

A determinação de vitamina A foi realizada segundo o método descrito por de PEE et al. (1997). O aparelho utilizado foi o cromatógrafo da marca Shimatzu, constituído de duas bombas para liberação do solvente (modelo LC-10AD), desgaseificador (modelo DGU-2A), auto injetor de amostras (modelo SIL-10A), detector UV (modelo SPD-10AV) e a CBM, ou módulo central (modelo 10A). A coluna ODS-C18 (5mm) (25cm x 0,46cm DI) e pré-coluna ODS-C18 (3cm x 0,46cm DI), também Shimatzu. O sistema é todo controlado por computador. O detector foi programado para 325nm, e o auto injetor para 50µl.

Os reagentes acetonitrila, metanol e etanol foram de grau HPLC, o hidróxido de potássio e o ácido acético grau PA. A fase móvel, metanol-água (95:5,v:v). foi filtrada a vácuo e desgaseificada com gás Hélio durante toda a análise, e eluída com fluxo de 1,0ml por minuto. A solução etanólica foi preparada com hidróxido de potássio (4mol/L), (50% por volume), e a acetonitrila (5% de ácido acético por volume). A água utilizada foi ultra pura, proveniente de sistema Milli Q.

O padrão utilizado foi o all-trans-retinol da Sigma (R-7632), com certificado de análise e pureza de 95-97%. A solução estoque foi preparada com etanol na concentração de 1mg/1ml e armazenada em freezer -85°C, e a partir dela construímos a curva, checando as concentrações através de detecção espectrofotométrica (E1%1cm-1780 a 325nm).

A confirmação da identidade da vitamina A foi feita por meio do tempo de retenção (4,57 minutos) (Figura 1). A curva foi construída com quatro pontos: 0,22; 0,45; 0,90 e 1,83 µmol/L (r=0,978) (Figura 2).

Os testes para recuperação (95-97%), limite de detecção (0,088µmol/L) e coeficiente de variação (1,99) foram determinados através de 20 repetições de *pool* de leite humano.

Para determinação da vitamina A no leite materno foi utilizada uma alíquota de 500mL do leite descongelado e homogeneizado, incubado por uma noite, a temperatura ambiente com 500mL de solução etanólica. No dia seguinte foram adicionados 2ml de acetonitrila (contendo 5% de ácido acético por volume) e agitado vigorosamente. Após a separação em duas fases, 50mL da camada superior foram injetados no cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE). O retinol foi detectado espectrometricamente a 325nm (Figura 3), e quantificado em relação à área do pico da curva de calibração. Todo o procedimento transcorreu em ausência de luz.

DETERMINAÇÃO DE GORDURA

Foi utilizado o método do crematócrito, análogo ao hematócrito. (LUCAS et al., 1978)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a realização da análise descritiva dos resultados utilizou-se o pacote estatístico *Sigma Stat for Windows versão 2.0* da Jandel Statistical Software.

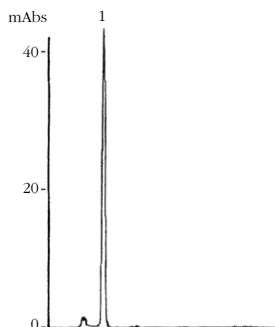


Figura 1 Determinação do padrão all-trans-retinol, em coluna ODS-C18. Pico 1=retinol (detecção a 325nm)

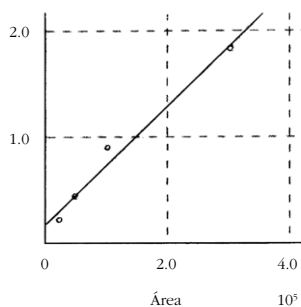


Figura 2 Curva padrão do all-trans-retinol, com quatro pontos: 0,22; 0,45; 0,90 e 1,83 μ mol/L ($r=0,978$)

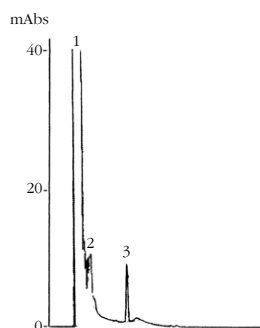


Figura 3 Separação da vitamina A (retinol) no leite materno, em coluna ODS-C18. Picos 1 e 2=desconhecidos e 3=retinol (detecção a 325nm)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das medidas descritivas relativas à vitamina A e gordura encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 Medidas descritivas dos componentes analisados no leite materno

	V. Mínimo	Q1	Mediana	Q3	V. Máximo	Média	DP
Gordura g/L	13,0	28,2	36,0	46,0	74,0	38,0	13,7
Vitamina A por volume $\mu\text{mol/L}$	0,09	1,0	1,4	2,0	4,0	1,6	0,8
Vitamina A por grama de gordura $\mu\text{g/g}$	0,6	7,7	11,0	15,2	45,4	12,4	7,3

V. -Valor, Q1-Percentil 25, Q3-Percentil 75, DP- Desvio-Padrão

Os nossos resultados mostram que o conteúdo de gordura no leite variou de 13,0 a 74,0g/L com a média de 38,0g/L. Uma fonte de variação da concentração de gordura na amostra está relacionada com a quantia de leite acumulada pela glândula mamária, ou seja, quanto maior o acúmulo de leite no momento da coleta, menor a concentração de gordura; uma segunda fonte de variação de gordura é o horário. No meio da manhã encontram-se os maiores valores (STOLZFUS e UNDERWOOD, 1995). Uma possível explicação para a variação nas concentrações de gordura, é que nem sempre era possível seguir o horário padronizado e obter o leite após a primeira mamada, ou seja, com o peito vazio.

Com relação aos níveis de vitamina A, os valores encontrados variaram de 0,09 a 4,0 $\mu\text{mol/L}$, com média de 1,6 \pm 0,8 $\mu\text{mol/L}$. Quando estas concentrações são expressas em relação ao conteúdo de gordura os valores apresentaram valores mínimo e máximo, respectivamente, de 0,6 e 45,4 $\mu\text{g/g}$ de gordura com média de 12,4 \pm 7,3 $\mu\text{g/g}$ de gordura.

A concentração de vitamina A no leite materno depende do estado de vitamina A da mãe. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recentemente recomendou que a concentração de vitamina A no leite materno seja usada para avaliar a prevalência desta em comunidades, como também monitorar o impacto de programas de intervenção. A OMS também estabeleceu que concentrações de vitamina A no leite materno \leq 1,05 $\mu\text{mol/L}$ e \leq 8,0 $\mu\text{g/g}$ de gordura sejam indicativos de baixa concentração de vitamina A no leite, e não são adequadas para atender as necessidades do recém-nascido (OMS/UNICEF,1994). Concentrações superiores a 1,75 $\mu\text{mol/L}$ são consideradas suficientes para assegurar os requerimentos dos mesmos (UNDERWOOD,1994).

A análise dos dados mostrou que 26% das amostras de leite tinham concentração menor ou igual a 1,05 $\mu\text{mol/L}$, 41% entre 1,06 e 1,74 $\mu\text{mol/L}$ e 33% igual ou maior que

1,75µmol/L. Quando consideramos a concentração de vitamina A expressa por grama de gordura detectamos 28% das amostras abaixo de 8mg/grama de gordura. RICE et al. (2000), estudando vitamina A no leite de mulheres provenientes de regiões de alta prevalência de hipovitaminose A, em Bangladesh, encontraram em 24% das mulheres concentração de vitamina A inferior a 1,05µmol/L (RICE et al., 2000). Esta porcentagem está próxima a que encontramos. Podemos concluir que aproximadamente um quarto da amostra estudada, apresentava níveis baixos de vitamina A no leite. Considerando que os recém-nascidos, no período em que se realizou a pesquisa, tinham como única fonte de alimentação o leite materno, existe alta probabilidade dessas crianças apresentarem deficiência de vitamina A, a exemplo do que foi descrito por Ramalho e colaboradores, que encontraram em 55,7% dos recém-nascidos assistidos em duas maternidades públicas do Rio de Janeiro, valores de retinol sérico inferiores a 1,05µmol/L, indicando alta prevalência de hipovitaminose A (RAMALHO et al., 1998).

Sugerimos a realização de mais estudos comparando níveis séricos de retinol da mãe e da criança com níveis de vitamina A no leite materno, para que possamos comprovar se a concentração de vitamina A encontrada no leite reflete o estado de vitamina A da mãe e da criança.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- CASANUEVA, E.; VALDÉS-RAMOS, R.; PFEFFER, F.; RICALDE-MORENO, A.; GARCIA-VILLEGAS, E.; MESA, C. Retinol sérico en mujeres mexicanas urbanas durante el periodo perinatal. *Salud Pública Méx.*, México, v.41, n.4, p.317-321, 1999.
- HASKELL, M. J.; BROWN, K.H. Maternal vitamin A nutriture and the vitamin A content of human milk. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, New York, v.4, p.243-257, 1999.
- IOM Institute of Medicine. *Milk Composition In: Nutrition during lactation*. Washington DC.: National Academy Press, 1991. cap.6, p. 113-152.
- KUMMER, S.C.; GIUGLIANE, E.R.J.; SUSIN, L.O.; LULIE, O. Evolution of breastfeeding pattern. *Rev. Saúde Pública*, São Paulo, v.43, n.2, p.143-48, 2000.
- LUCAS, A.; GIBBS, J.A.H.; LISTER, R.L.J.; BAUM, J.D. Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br. Med. J.*, London, v.1, p. 1018-1020, 1978.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Indicators for assessing vitamin deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva, Who/Unicef, 1994. 56p.
- PEE, S.; YUNIAR, Y.; WEST, C.E.; MUHILAL. Evaluation of biochemical indicators of vitamin A status in breast-feeding and non-breast-feeding Indonesian. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.66, p.160-7, 1997.
- RAMALHO, A.R.; ANJOS, L.A.; FLORES, H. Hypovitaminosis A in neonates from public hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v.14, n. 4, p. 821-27, 1998.
- RICE, A.L.; STOLZFUS, R.J.; FRANCISCO, A.; KJOLHEDE, C.L. Evaluation of serum retinol, the modified-relative-dose-response ratio, and breast-milk vitamin A as indicators of response to postpartum maternal vitamin A supplementation. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.71, p.799-806, 2000.

STOLZFUS, R.J.,; UNDERWOOD, B.A. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *WHO Bull.* Geneva, v.73, n.5, p.70-11, 1995.

UNDERWOOD, B.A. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *Am. J. Clin. Nutr.*, Bethesda, v.59, Suppl., p.517-524, 1994.

Recebido para publicação em 20/08/02.

Aprovado em 30/06/03.

Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico

Antioxidant activity of mustard, cinnamon and anise in lipidic and aqueous systems

ABSTRACT

MOREIRA, A.V.B.; MANCINI FILHO, J. Antioxidant activity of mustard, cinnamon and anise in lipidic and aqueous systems. *Nutrir e: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP, v.25, p. 31-46, jun., 2003.

This study sought to investigate the antioxidant profile of phenolic compounds present in extracts of cinnamon, anise and mustard tested in aqueous and lipidic systems, with the purpose to observe the influence of each mellieu on the assessment of antioxidant activity. Etheric, alcoholic and aqueous extracts of cinnamon, anise and mustard were obtained in sequential extraction form and used in two model systems: one aqueous and the other one lipidic. In the aqueous model the antioxidant activity was measured by means of the β -carotene/linoleic acid system, where the 200ppm aqueous mustard extract displayed the best protection against oxidation process with an average of 70%. In the lipidic system, 5g of soybean oil without additives was used, where aliquots of the extract were added to obtain concentrations of 100 and 200ppm and then left overnight in the RANCIMAT, equipment at a temperature of 110°C and gas flow of 20L/h. The results of oil-induced conductivity were expressed as percentage, on the basis of the negative control as being of 5.99 hours (100%). The etheric and aqueous extracts of mustard at 100ppm presented the best induction time (7.42h and 7.16h, respectively representing increases of 23.89% and 19.63% when compared to the control period), both longer than the positive control and showing no significant difference ($p < 0.05$) when compared to the alcoholic extract of anise. RANCIMAT, lipidic system is the most suitable for the industrial needs to evaluate the stability of oils and fats.

Keywords: mustard; cinnamon; anise; antioxidant activity; RANCIMAT

ANA VLÁDIA BANDEIRA MOREIRA¹; JORGE MANCINI FILHO¹

¹Depto. de Alimentos e Nutrição Experimental/FCF Universidade de São Paulo

Endereço para correspondência:

Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bl. 14, Conj. Químicas. Cidade Universitária. CEP 05508-900

e-mail: avbm@usp.br e jmancini@usp.br

Parte da tese: efeito oxidante de compostos fenólicos de especiarias sobre os ácidos graxos das séries ωE e $\omega 6$. Trabalho apresentado na FeSBE 2001, realizado em Caxambu/MG

Agradecimentos

Ao Programa PICDT/UFRN pela bolsa concedida e à FAPESP pelo apoio financeiro na realização de parte do projeto.

RESUMEN

Este estudio se refiere al comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en extractos de canela, anís y mostaza analizados en sistemas acuoso y oleoso, con el objetivo de observar la influencia de cada sistema en la actividad antioxidante. Los extractos de los condimentos arriba citados fueron preparados en forma secuencial: etéreo, alcohólico y acuoso en dos sistemas modelo: acuoso y oleoso. En el modelo acuoso, la actividad antioxidante fue medida a través del método β -caroteno/ácido linoléico y fue verificado que 200ppm del extracto acuoso de la mostaza presentó la mejor protección contra la oxidación con un promedio de 70%. En el modelo oleoso, fueron utilizados 5g de aceite de soya sin aditivos, al cual se adicionaron alícuotas de los extractos, para obtener concentraciones de 100 y 200ppm y enseguida colocados en el aparato llamado RANCIMAT a una temperatura de 110°C overnight, con un flujo de gas de 20L/h. Los resultados de la conductividad inducida por el aceite fueron expresados en porcentaje, teniendo como base el control negativo correspondiendo a 5,99 horas (100%). Los extractos: etéreo y acuoso de la mostaza a 100 ppm presentaron los tiempos de inducción más altos, con 7,2h (23,89% de aumento del tiempo del control) y 7,16h (19,63%), respectivamente, siendo ambos superiores al control positivo y sin diferencia significativa ($p < 0,05$) del extracto alcohólico del anís. El sistema oleoso RANCIMAT es el más adecuado para la necesidad industrial de evaluación de estabilidad de aceites y grasas.

Palabras clave: mostaza; canela; anís; actividad antioxidante; RANCIMAT

RESUMO

Este estudo refere-se ao comportamento antioxidante dos compostos fenólicos presentes em extratos das especiarias canela, erva-doce e mostarda testados em sistema aquoso e lipídico com o objetivo de observar a influência de cada sistema na avaliação da atividade antioxidante. Os extratos obtidos de forma seqüencial foram: etéreo, alcoólico e aquoso da canela, erva-doce e mostarda, os quais foram utilizados nos dois sistemas modelos. No modelo aquoso a atividade antioxidante foi medida através do método β -caroteno/ácido linoléico, onde foi verificado que 200ppm do extrato aquoso da mostarda apresentou a melhor proteção contra a oxidação com média de 70%. No modelo lipídico, foi utilizado 5g de óleo de soja sem aditivos, onde alíquotas dos extratos foram adicionadas para se obter concentrações de 100 e 200ppm e em seguida colocados no aparelho RANCIMAT, a uma temperatura de 110°C overnight, com um fluxo de gás de 20L/h. Os resultados da condutividade induzida pelo óleo foi expresso em porcentagem, tomando-se como base o controle negativo como sendo 5h99 (100%). Os extratos etéreo e aquoso da mostarda a 100ppm apresentaram os maiores tempos de indução com 7h42 (23,89% de aumento no tempo do controle) e 7h16 (19,63%), respectivamente, ambos superiores ao controle positivo e sem diferença significativa ($p < 0,05$) do extrato alcoólico da erva-doce. O sistema lipídico RANCIMAT, é o que se aproxima mais das necessidades da avaliação industrial na estabilidade de óleos e gorduras.

Palavras-chave: mostarda; canela; erva-doce; atividade antioxidante; RANCIMAT

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a preocupação constante de proporcionar aos consumidores produtos de alta qualidade levou a adoção de medidas que permitem reduzir a oxidação durante as fases de processamento e armazenamento dos produtos (por exemplo, escolha de processos que limitem as operações de arejamento e do tratamento térmico; utilização de matérias-primas refinadas, com baixos teores de água e isentas de pró-oxidantes; armazenamento a baixas temperaturas e em atmosfera inerte; adição de compostos antioxidantes; utilização de embalagens inertes e opacas à radiação UV, etc.). Deste conjunto de ações, a adição de compostos antioxidantes é, sem dúvida, uma prática corrente, razão que justifica o atual interesse pela pesquisa de novos compostos com capacidade antioxidante. O baixo custo de obtenção, facilidade de emprego, eficácia, termo-resistência, “neutralidade” organoléptica e ausência reconhecida de toxicidade, são premissas para a sua seleção e utilização ao nível industrial (SHAHIDI e WANASUNDARA, 1992).

Antioxidantes dietéticos podem ser efetivos na limitação do processo oxidativo em sistemas *in vivo*, e muitos antioxidantes têm sido encontrados em ervas e especiarias. A atividade antioxidante de muitas especiarias, seqüestradoras de radicais livres, foi determinada pela formação de malonaldeído (MDA) da 2-deoxiribose e na hidroxilação de benzoato (OYA et al., 1997). A maior justificativa do uso de antioxidantes é o aumento do tempo de prateleira dos alimentos, reduzindo as perdas nutricionais pela diminuição do processo oxidativo (SCHULER, 1990).

Certas especiarias e seus extratos de especiarias contêm componentes com atividade antioxidante; deste fato decorre a aplicabilidade destas em diferentes preparações culinárias para intensificar as características organolépticas, aumentar a aceitabilidade e principalmente, melhorar a estabilidade oxidativa de produtos cárneos cozidos. Os componentes responsáveis pela estabilidade oxidativa têm sido identificados em várias especiarias, tais como, o alecrim, sálvia, tomilho, cravo-da-índia, dentre outras, estas apresentam a propriedade antioxidante, atribuída principalmente, a presença de compostos fenólicos (MADSEN et al., 1996).

A adição de antioxidantes em gorduras, óleos e alimentos contendo gorduras é justificável por vários motivos: antioxidantes podem aumentar a vida média dos alimentos em 15-200% (BRANEN, 1975; DUVE e WHITE, 1991). A adição de antioxidantes pode evitar que nutrientes como ácidos graxos essenciais e vitaminas fiquem sujeitos à degradação autoxidativa e a perda do valor nutricional (DUVE e WHITE, 1991). Na indústria alimentícia, antioxidantes sintéticos são freqüentemente usados, por serem efetivos e menos caros do que os antioxidantes naturais.

Mas com o aumento da preocupação na utilização dos antioxidantes sintéticos em alimentos tais como o hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, terciobutil hidroquinona e o galato de propila, tem aumentado o interesse na descoberta de substâncias naturais com atividade antioxidante, incluindo as especiarias e durante a última década, o uso de seus extratos tem sido pesquisado em diferentes centros de investigação. A restrição dos

antioxidantes sintéticos está relacionada, principalmente, na possibilidade do seu efeito tóxico em vários estudos clínicos (BARLOW, 1990; BOTTERWECK et al., 2000). Contudo, pesquisadores identificaram a importância da substituição total ou parcial dos antioxidantes sintéticos por extratos naturais ricos em compostos fenólicos com bom potencial antioxidante (BRANEN, 1975; DUVE e WHITE, 1991, SHAHIDI e WANASUNDARA, 1992).

Os compostos fenólicos têm sido utilizados como antioxidantes primários que agem como seqüestradores de radicais livres e bloqueiam reações em cadeia. Eles são largamente distribuídos na natureza e são derivados dos ácidos benzóico e cinâmico, bem como dos flavonóides (PRATT e HUDSON, 1964).

O mecanismo de cinética antioxidante de compostos fenólicos foi estudada inicialmente por BOLAND e TEM-HAVE (1947). Estes autores descrevem em detalhes o mecanismo de ação antioxidante no processo de oxidação, nas etapas mais limitantes do processo e suas efetividades. Desde então, outros trabalhos surgiram, e complementam a explicação do mecanismo de ação destas substâncias parcialmente elencados na revisão de SHAHIDI e WANASUNDARA (1992).

Com a perspectiva da utilização de compostos fenólicos como antioxidantes naturais para minimizar os efeitos *in vitro* do processo oxidativo, o presente trabalho utilizando algumas técnicas de avaliação do grau de oxidação de alimento (óleo), determinou a atividade antioxidante de compostos fenólicos naturais, identificados e quantificados de especiarias (um dos alimentos fonte), com a finalidade de avaliar a eficácia destes compostos na estabilidade oxidativa e a provável aplicação na indústria alimentícia.

MATERIAL E MÉTODOS

AMOSTRAS

As especiarias (mostarda, canela e erva-doce) foram adquiridas no comércio local de São Paulo. O óleo sem antioxidante da empresa CARGIL S.A. Os demais reagentes utilizados foram adquiridos da Sigma, e outros fornecedores de reagentes de qualidade analítica.

PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

Os extratos etéreo, alcoólico e aquoso, da mostarda, canela e erva-doce foram obtidos através do processo de extração seqüencial (Figura 1).

Para obtenção dos extratos etéreos, foram pesados, inicialmente, 20 gramas da farinha de cada amostra e adicionados 100mL de éter etílico onde foram agitadas em um homogeneizador por 1 hora à temperatura ambiente. Após 1 hora, as soluções foram filtradas em funil de *Büchner*, com volume a ser completado para 100mL com éter etílico. Os resíduos foram recuperados, secos em estufa a 60°C, e as perdas foram pesadas e calculadas para a obtenção dos demais extratos com álcool etílico e água destilada, seguindo o mesmo procedimento para obtenção do extrato etéreo.

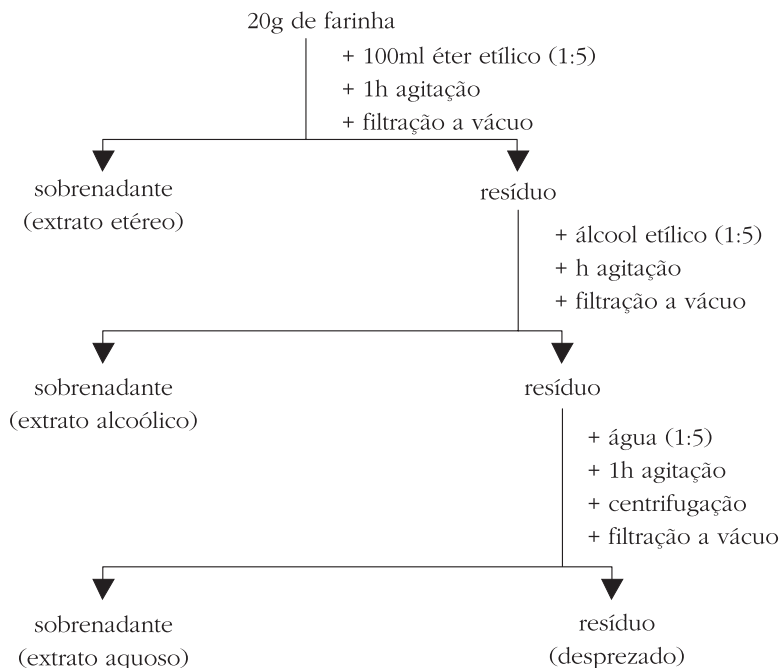


Figura 1 Extração sequencial das farinhas das especiarias: mostarda, canela e erva-doce MOREIRA, 1999

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE NO SISTEMA β -CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO

A atividade antioxidante foi determinada pelo método *in vitro*, desenvolvido por MARCO (1968) e modificado por MILLER (1971), empregando-se o ácido linoléico, *Tween* 40 e β -caroteno. Esse sistema foi mantido a 50°C, e medidas espectrofotométricas de absorvância foram monitoradas em espectrofotômetro *Bausch & Lomb*, modelo Spectronic 20, a 470nm, a cada 15 minutos, durante 2 horas. Volumes diferentes de extratos para as concentrações de 100 e 200ppm foram adicionados a 5mL de solução de β -caroteno com ácido linoléico: (20mL de solução de β -caroteno (20mg/mL) + 1mL de clorofórmio, 60mg de ácido linoléico, 14 gotas de *Tween* 40, como emulsificante), e foram evaporados pela passagem de nitrogênio. A seguir foram adicionados 100mL de água destilada, tratada com borbulhamento de O₂ durante 30 minutos. A solução inicial foi diluída até apresentar densidade ótica entre 0,6 e 0,7m comprimento de onda de 470nm. Todas as determinações foram realizadas em repetições até obtenção de coeficiente de variância de 5% e acompanhadas por um controle sem antioxidante e um outro com antioxidante sintético (BHT), nas mesmas proporções das amostras. As percentagens de inibição da oxidação foram calculadas da seguinte forma: o decaimento da densidade ótica do controle (D.O. inicial - D.O. final) foi considerado como 100% de oxidação. A queda na leitura da

densidade ótica das amostras foi correlacionada com o controle e se estabeleceu a percentagem de inibição da oxidação, subtraindo-se a percentagem de oxidação de cada amostra de 100 (Figura 2).

Primeiramente, foi verificada a ação antioxidante dos extratos e depois o efeito antioxidante sinergista através da associação dos extratos com os antioxidantes sintéticos.

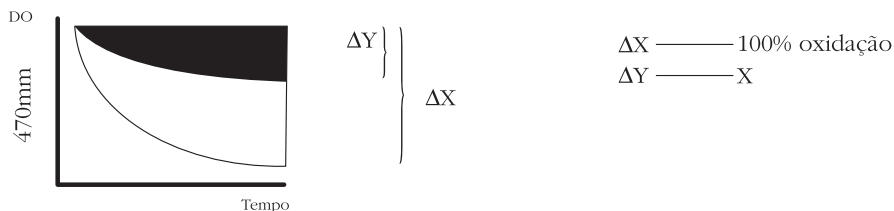


Figura 2 Modelo para cálculo de porcentagem de inibição da oxidação (PEREIRA, 1996)

AValiação DO TEOR DE ÁCIDOS Voláteis POR CONDUTIMETRIA (RANCIMAT)

A análise baseia-se no registro das variações da condutividade da água destilada, na qual se faz a coleta de compostos polares de menor peso molecular. Estes compostos são obtidos normalmente após iniciação forçada da oxidação a uma temperatura de 110-130°C e com corrente de ar (Figura 3). Os resultados foram expressos por percentual de aumento dos tempos de indução baseados no controle negativo (óleo sem antioxidante) (SILVA et al., 1999). Para avaliação de compostos voláteis por condutimetria foi utilizado o aparelho RANCIMAT, a 110°C com um fluxo de ar de 10h/L, onde amostras de 5g de óleo sem antioxidante foi utilizado como controle negativo e o controle positivo foi utilizado o antioxidante BHT a 100 e 200ppm na mesma quantidade de óleo sem antioxidante. Todos os extratos das especiarias mostarda, canela e erva-doce, nas mesmas concentrações do controle positivo foram avaliadas de acordo com o princípio da técnica que avalia o tempo de indução (PI), como observados na Figura 5. Este período de indução é um parâmetro importante relacionado com a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. Este PI avaliado pelo RANCIMAT, avalia rapidamente a produção de compostos voláteis produzidos que são coletados em água destilada e detectados por condutimetria.

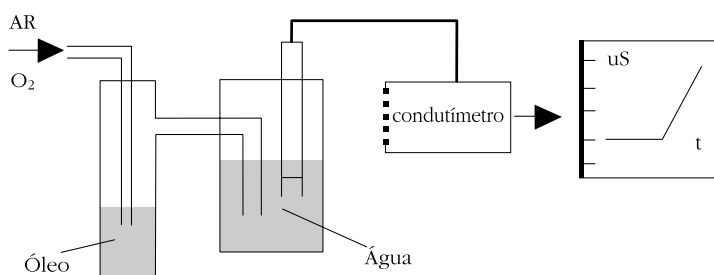


Figura 3 Descrição esquemática do RANCIMAT

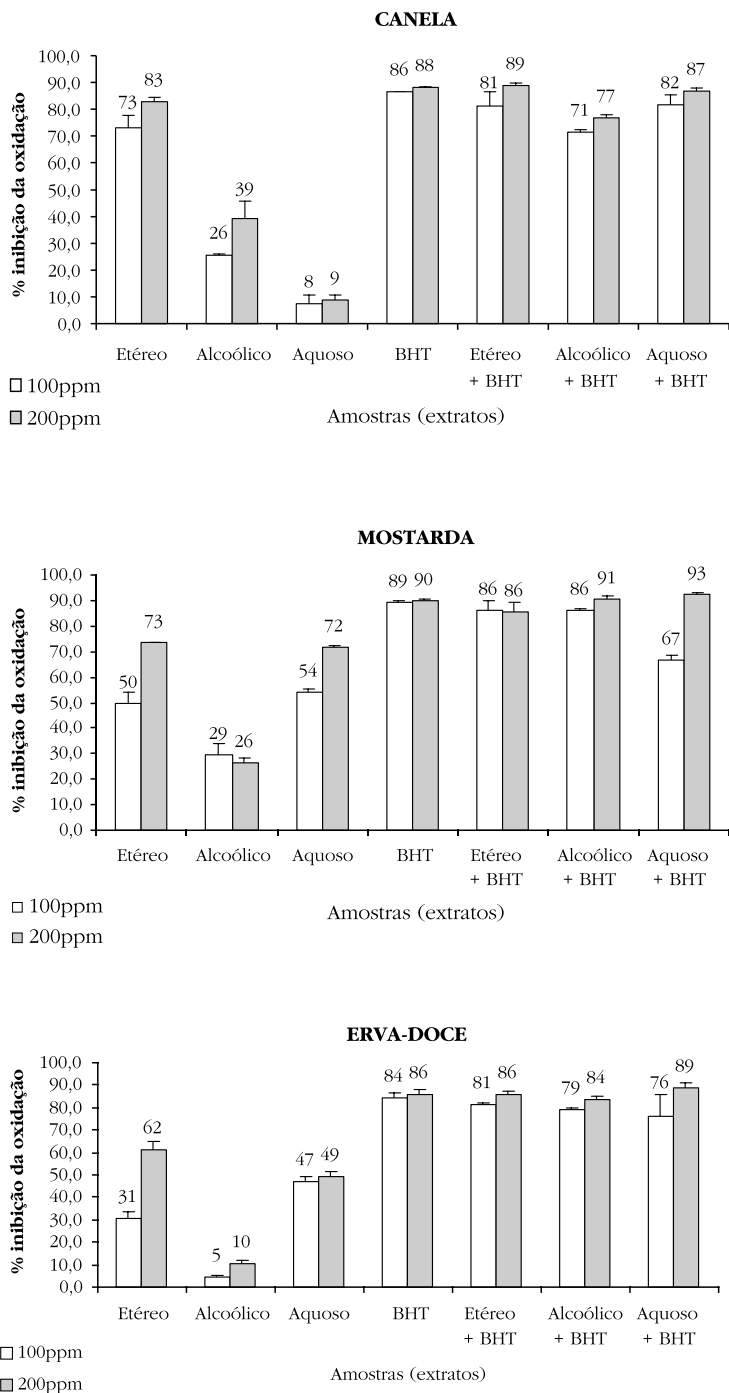


Figura 4 Atividade antioxidante no sistema de co-oxidação de substratos β -caroteno/ácido linoléico das especiarias mostarda, canela e erva-doce em comparação ao antioxidante sintético BHT como seu efeito sinérgico com as especiarias, nas concentrações de 100 e 200ppm

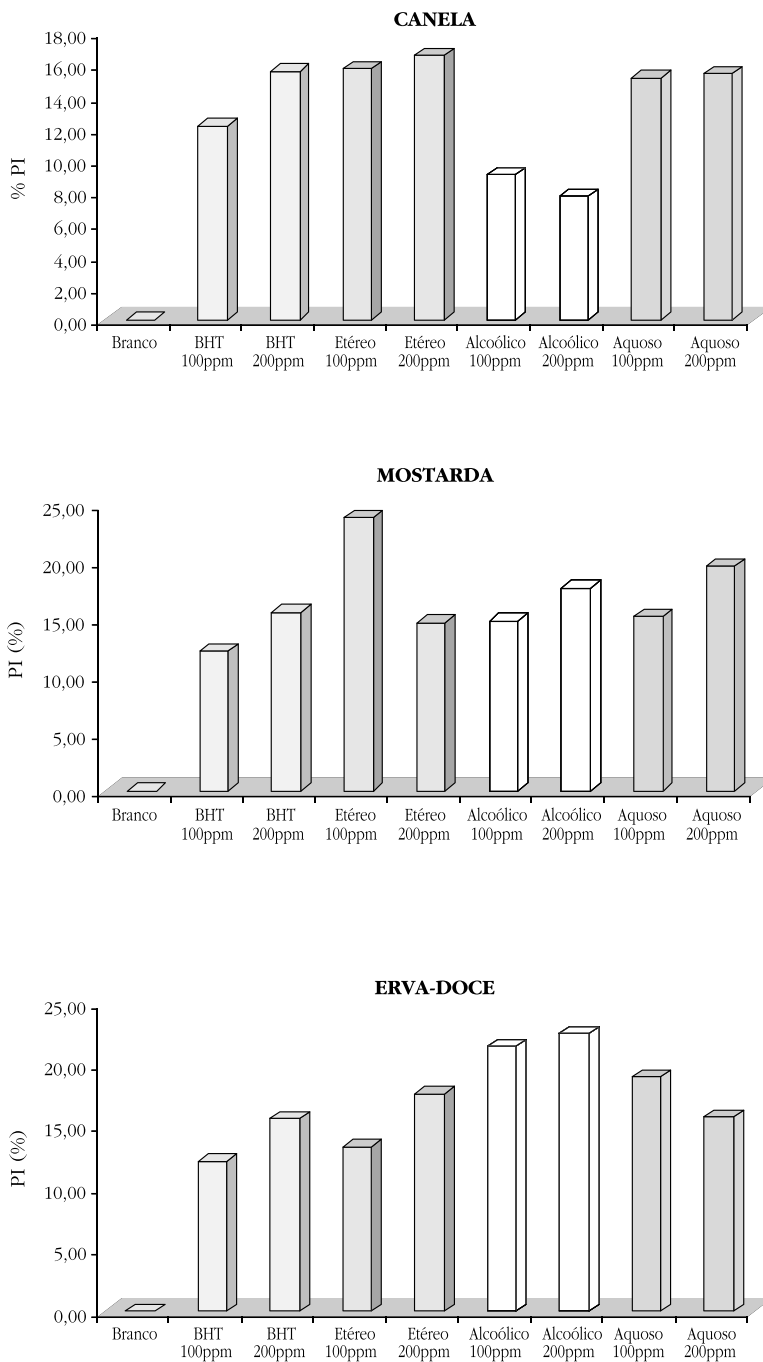


Figura 5 Atividade antioxidante por condutimetria (RANCIMAT) das especiarias mostarda, canela e erva-doce em comparação ao antioxidante sintético BHT como seu efeito sinérgico com as especiarias, nas concentrações de 100 e 200ppm

CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi utilizada para identificação de compostos fenólicos com atividade antioxidante, como também para purificação dos mesmos, suportando análise qualitativa e quantitativa por CGMS. A CCD seguiu utilizados os procedimentos citados por DUVE e WHITE (1991). Para tanto, foi utilizado h-butanol/ácido acético/água, como fase móvel, na proporção de 4:1:5, onde foram aplicado uma média de 10mL das amostras em placas de vidros com uma espessura de 0,25mm, e para a identificação dos compostos seguiu-se os seguintes sistemas de revelação: 1) para avaliar as bandas com atividade antioxidante utilizou-se a solução de 9mg de β -caroteno em 30mL de colorórmio e 10 μ L de ácido linoléico em 60mL de etanol. As manchas com atividade antioxidante reveladas neste sistema, foram aquelas que apresentaram coloração que variaram do amarelo ao alaranjado; 2) e, para avaliar a presença de compostos fenólicos foi utilizado uma solução de 1% de cloreto férrico e ferricianeto de potássio em água que apresentaram manchas de coloração que variaram do azul claro ao azul escuro.

CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADO AO ESPECTROFOTÔMETRO DE MASSA (CGMS)

As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo a gás HP (modelo 6890 com detector de ionização de chama), conectado a um espectro de massa modelo 5972 SP, com parâmetros controlados pelo software *Windows NT workstation 4.0*. A coluna empregada foi a semipolar DB5 (J & W®), com 25 metros de comprimento por 0,25mm de diâmetro, utilizando-se a seguinte programação: temperatura inicial de 112°C, isotérmica por 3 minutos e programada de 112°C até 290°C, a uma velocidade de aquecimento de 10°C por minuto; isotérmica a 290°C, por 10 minutos. A temperatura da câmara injetora foi de 290°C e a temperatura do detector, 300°C e, o gás de arraste utilizado foi o hidrogênio (MOREIRA e MANCINI FILHO, 1998).

A identificação dos ácidos fenólicos foi realizada com base nos tempos de retenção relativa das amostras com base no padrão interno e na concentração dos compostos da solução padrão (Sigma) e por confirmação com os espectros de massa obtidos presentes na biblioteca *Phenolic* criada com os espectros dos padrões de compostos fenólicos (Sigma) sendo cadastrados no programa do software *Windows NT workstation 4.0*.

RESULTADOS

As extrações seqüenciais com solventes de diferentes polaridades (éter etílico, etanol e água) permitiram obter diferentes frações com atividade antioxidante diferenciadas nos dois sistemas utilizados.

Os extratos obtidos por meio de extração seqüencial (MOREIRA e MANCINI-FILHO, 1998), seguindo procedimento descrito na Figura 1, foram avaliados segundo seu potencial

antioxidante nos sistemas aquoso (co-oxidação de substratos, com o uso do ácido linoléico e β -caroteno) e lipídico (condutometria de compostos polares - RANCIMAT).

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM SISTEMA AQUOSO

De acordo com a Figura 4, que apresenta os resultados da inibição da oxidação no sistema aquoso, pode-se verificar que dos extratos etéreos das especiarias, a canela foi a que apresentou melhor percentual de inibição da oxidação com 83,05% a 200ppm, seguido da mesma especiaria com 73,09% de inibição da oxidação a 100ppm, atividade esta sem diferença significativa ($p < 0,05$) do extrato etéreo da mostarda com 73,06% a 200ppm. Os extratos alcoólicos de todas as especiarias não apresentaram bom potencial antioxidante, porém os extratos aquosos da mostarda e erva-doce foram os que apresentaram significativa inibição da oxidação com 72,00% e 49,15%, respectivamente em comparação ao antioxidante sintético BHT, nas duas concentrações do estudo (100 e 200ppm).

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM SISTEMA LIPÍDICO

O aumento do período de indução pela adição de antioxidantes está relacionada com a sua eficácia em retardar ou inibir o processo oxidativo e, é expresso por um índice ou fator de proteção. Como observado na Figura 5, os extratos alcoólico e aquoso da mostarda e erva-doce foram os que apresentaram o maior aumento no tempo de indução neste sistema. Indicando que estas amostras estabilizam significativamente óleos comestíveis (como o óleo de soja utilizado no procedimento) em comparação ao controle positivo BHT, antioxidante sintético, muito utilizado na indústria alimentícia. Levando-se em conta a importância da determinação do PI para óleos e gorduras e considerando-se que o RANCIMAT, ainda não é de uso rotineiro, objetivou-se, com o presente trabalho, mostrar também, a viabilidade do uso deste equipamento para a avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de soja refinado com antioxidantes naturais (fenólicos de especiarias) e sintéticos (BHT).

CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Como se observa na Figura 6, apenas os extratos etéreos das especiarias canela e erva-doce apresentaram R_f em torno de 0,9 para ambos os sistemas de revelação (β -caroteno/ácido linoléico e cloreto férrico/ferricianeto de potássio). Já para os extratos alcoólicos a maior presença de substâncias fenólicas com atividade antioxidante foi no extrato da erva-doce que apresentou R_f 0,64 a 0,90. E nos extratos aquosos, todas as especiarias avaliadas apresentaram bandas de compostos fenólicos com atividade antioxidante com R_f que variaram de 0,62 a 0,90.

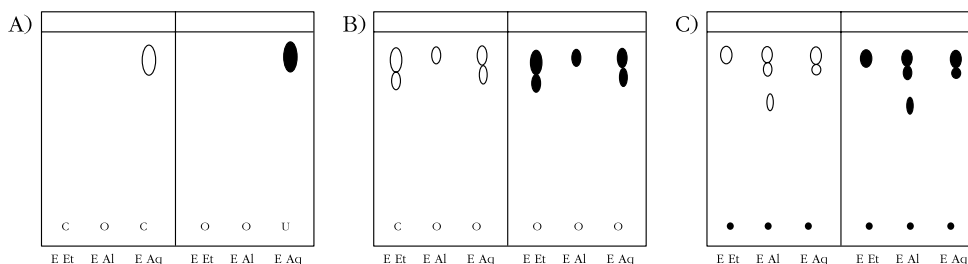


Figura 6 Cromatografia em camada delgada. **A)** mostarda; **B)** canela; **C)** erva-doce. **E ET = extrato etéreo. E Al = extrato alcoólico; E Aq = extrato aquoso.** **○ - revelação no sistema β -caroteno/ácido linoléico; ● - revelação no sistema ferricianeto/cloreto férrico**

CROMATOGRAFIA A GÁS COM DETECÇÃO EM ESPECTROFOTÔMETRO DE MASSAS

Com a necessidade de conhecer quais os compostos presentes, foi realizada a cromatografia gasosa utilizando como agente silinizante o trimetilsililbisacrilamida (B.S.A.), onde foi possível verificar o perfil cromatográfico presente nos extratos das especiarias mostarda, canela e erva-doce. Observando os valores quantificados, presentes na Tabela 1, verifica-se que os ácidos salicílico e caféico, como também o catecol, estiveram presentes nos três extratos das três especiarias estudadas. Destaca-se, porém o ácido caféico que apresentou, quantitativamente superior nos extratos aquosos das mesmas, apresentando-se em sua maior quantidade no extrato aquoso da canela (2,462mg/mL), seguido da erva-doce (1,772mg/mL) e da mostarda (1,545mg/mL). Os demais compostos fenólicos identificados e quantificados (Tabela 1) foram os ácidos pirogalol, protocatequínico, quínico, ferúlico e sináptico, como também, quercetina, miricetina e luteolína. Por outro lado, quando se observa o perfil de compostos fenólicos dos extratos das mesmas especiarias, não se verifica diferença significativa ($p < 0,05$) nas concentrações dos mesmos, que foi estimada em mg/mL, quantidade que foi analisada no cromatógrafo da HP, modelo 5973, com detector de massa e uma coluna semipolar DB5, seguindo a programação e preparação das amostras descritas por (MOREIRA e MANCINI-FILHO, 1998).

DISCUSSÃO

Autoxidação é um processo natural entre o oxigênio molecular e constituintes lipídicos insaturados (SHAHIDI e WANASUNDARA, 1992). Ela está na origem do desenvolvimento da rancidez, da produção de compostos responsáveis por *off flavors* e *off odors*, da reversão e da ocorrência de um elevado número de reações de polimerização e de cisão. Este tipo de reação não só diminui o tempo de prateleira e o valor nutritivo dos produtos alimentares, como pode gerar compostos nocivos como aldeídos, cetonas e polímeros (SHAHIDI e WANASUNDARA, 1992; FRANKEL, 1996).

Os antioxidantes podem ser definidos como substâncias que, numa concentração consideravelmente menor que a do substrato oxidável, retardam o processo oxidativo, diminuindo a velocidade da reação ou prolongando o seu período de indução (BRANEN, 1975; MAILLARD e BERSET, 1995).

A quebra da cadeia da oxidação lipídica pelos antioxidantes não ocorre segundo um mecanismo simples, e certos aspectos, relativos às interações entre constituintes de meios complexos, não estão completamente esclarecidos. O emprego de antioxidantes em formulações é muito empírico, de tal modo que a garantia da sua eficácia nem sempre existe (FRANKEL, 1996; DECKER, 1997).

Considerando as particularidades do efeito antioxidante, neste trabalho a utilização dos dois sistemas aquoso e lipídico permitiram estabelecer uma avaliação mais ampla da inibição da oxidação em sistemas diferenciados, cumpre-se destacar que estes modelos tem sido utilizados por diferentes pesquisadores (DUVE e WHITE, 1991; SHAHIDI e WANASUNDARA, 1992; MOREIRA e MANCINI FILHO, 1998; SILVA et al., 1999; CINTRA e MANCINI FILHO, 2001).

Este trabalho evidenciou o efeito antioxidante de extratos de especiarias na capacidade de inibir a oxidação lipídica com o objetivo de viabilizar sua provável utilização na indústria alimentícia. Esta avaliação foi realizada em dois meios de solubilidade para testar a eficácia das substâncias fenólicas presentes nas especiarias em distintos meios de solubilidade. Foi empregada a medida do tempo de indução em óleo sem antioxidante, como também o teste de co-oxidação de substratos, baseado na descoloração (oxidação) do β -caroteno pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoléico. Com estes dados e juntamente com a identificação das substâncias fenólicas presentes com atividade antioxidante nas especiarias foi possível levantar pontos importantes que podem interferir na utilização de especiarias como prováveis adjuvantes na inibição de processos oxidativos em alimentos e organismos.

Após a obtenção dos extratos das especiarias mostarda, canela e erva-doce com solventes de diferentes polaridades avaliou-se a presença de atividade antioxidante nos diferentes extratos. Os resultados apresentados, tanto no sistema aquoso, quanto lipídico mostraram distintos níveis na proteção do processo oxidativo.

No sistema aquoso destaca-se o efeito protetor da mostarda (no extrato aquoso com 72% de inibição da oxidação a 200ppm) e da canela (no extrato etéreo com 83% de inibição da oxidação, também a 200ppm). O efeito sinérgico de todos os extratos avaliados com o antioxidante sintético BHT.

Atividade antioxidante de compostos fenólicos em mostarda já foi relatada (SHAHIDI et al., 1994) utilizando o sistema β -caroteno/ácido linoléico e confirmados por MOREIRA e MANCINI-FILHO (1998). O perfil de identificação dos compostos presentes também são comuns, quantitativamente diferentes em alguns dos trabalhos, diferenciando, principalmente pelas condições de extração de cada grupo de estudo. Estes autores encontraram elevadas atividades

antioxidantes dos extratos de mostarda, sendo superior, inclusive, do antioxidante sintético BHT a 200ppm. Nestes trabalhos também ficou evidenciado que a atividade antioxidante é proporcional à presença dos compostos fenólicos e do efeito sinérgico que estes compostos exercem entre si, sendo influenciada principalmente pelo esquema de extração.

Já para o sistema lipídico evidencia-se o potencial antioxidante do extrato etéreo da mostarda, etéreo e aquoso da canela e alcóolico da erva-doce, demonstrando que o meio de extração influencia a capacidade antioxidante das substâncias fenólicas presentes nas especiarias.

Várias medidas de estimativas da atividade antioxidante têm sido relatadas, visando à monitoração do processo de oxidação dos lipídios. Estes procedimentos podem ser aplicados tanto nos extratos como diretamente no próprio alimento. Medidas do oxigênio ativo, teste de Schall (estufa), consumo de oxigênio, peróxidos, entre outros têm sido utilizados, e recentemente trabalhos destacam o uso de sistemas fechados automáticos (RANCIMAT) como um parâmetro de menor repetição de erro entre outros (KAHL e HILDEBRANDT, 1986; KOCHHAR e ROSSELL, 1990; SILVA et al., 1999).

Os dados apresentados no presente trabalho corroboram com os resultados de DECKER (1997), onde foram verificadas as propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos e que os mesmos são dependentes das suas características de solubilidade. Este autor foi o primeiro a descrever o “paradoxo antioxidante” como um fenômeno onde seqüestradores de radicais livres (substâncias com características antioxidantes) hidrofílicos foram antioxidantes mais efetivos do que os hidrofóbicos em emulsões de óleo. Estes resultados são devidos à capacidade de antioxidantes hidrofílicos agirem na interface óleo-água mais efetivamente do que os hidrofóbicos.

Compostos fenólicos exibem distintas características de solubilidade que podem afetar sua capacidade antioxidante. Os antioxidantes hidrofílicos como *Trolox* e ácido gálico, são antioxidantes mais efetivos em sistemas aquosos do que seus homólogos hidrofóbicos como o α -tocoferol e galato de propila. Já em óleo com emulsificante, o inverso é verdadeiro, o α -tocoferol sendo mais efetivo do que seu homólogo hidrofílico *Trolox*. Em sistemas de emulsões lipídicas pode-se encontrar antioxidante hidrofílicos equilibrados em água na forma de micelas e em fases lipídicas.

Diante da presença da atividade antioxidante nas especiarias avaliadas, justificou-se a identificação de quais substâncias fenólicas presentes nas mesmas poderiam estar envolvidas com o processo de inibição da oxidação. Portanto, métodos cromatográficos foram utilizados para tal finalidade.

Constatadas as vantagens da cromatografia em camada delgada, como um método rápido, sensível e de boa resolução, estabeleceu-se as condições de trabalho para a purificação e identificação de ácidos fenólicos em extratos das especiarias mostarda, canela e erva-doce. A cromatografia em camada delgada para identificação e purificação de ácidos fenólicos é um parâmetro seguro quando utilizada com diferentes sistemas

reveladores, como sugerido por SHAHIDI *et al.* (1994), para identificação e purificação de ácidos fenólicos, principalmente de compostos fenólicos di e tri hidroxí, como o ácido *p*-hidroxibenzóico e o ácido sináptico. Com esta técnica não somente foi possível evidenciar a presença de bandas de compostos fenólicos com atividade antioxidante, como também a purificação destas para sua identificação e quantificação por cromatografia gasosa, permitindo o conhecimento das principais substâncias responsáveis pela inibição da oxidação nos extratos das especiarias mostarda, canela e erva-doce nos dois sistemas testados (aquoso e lipídico) (Tabela 1).

Tabela 1 Composição de compostos fenólicos presentes nas especiarias mostarda, canela e erva-doce

Compostos fenólicos	Extratos								
	Etéreo (µg/mL)			Alcólico (µg/mL)			Aquoso (µg/mL)		
	M	C	ED	M	C	ED	M	C	ED
catecol	0,023	0,033	0,058	0,065	0,098	0,140	0,309	0,305	0,111
salicílico	0,053	0,035	0,038	0,111	0,143	0,119	0,236	0,302	0,175
pirogalol	-	-	-	0,073	0,082	0,162	-	-	0,100
protocatequínico	0,04	-	-	-	-	-	-	-	-
quínico	-	-	-	-	0,069	-	-	-	0,430
ferúlico	-	-	-	-	0,044	-	-	-	0,710
caféico	0,263	0,378	0,500	1,092	0,482	1,528	1,545	2,462	1,772
sináptico	0,155	0,153	0,162	0,184	0,180	0,251	-	0,233	0,202
quercetina	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
miricetina	-	-	-	0,022	-	-	-	-	-
luteolína	0,024	-	-	0,022	-	0,144	-	-	0,093

M-mostarda; C-canela; ED-erva-doce; MT-mistura teste.

Traços dos ácidos: *p*-hidroxibenzóico, vanílico, *p*-cumárico e gálico foram identificados mas não quantificados por sua baixa concentração nos extratos, conseqüentemente sua baixa detecção no CGMS.

CONCLUSÕES

Com base nos dados disponíveis até o momento, foi possível concluir que as substâncias fenólicas identificadas nas especiarias mostarda, canela e erva-doce foram os compostos responsáveis pela inibição do processo oxidativo, tanto pela proteção dos ácidos graxos insaturados que compõem a fração lipídica das especiarias, como pela proteção contra oxidação nos sistemas onde os extratos foram adicionados. Os extratos quando associados com o antioxidante sintético BHT, apresentaram atividade sinérgica, com potencialização da atividade antioxidante a valores equivalentes a 100ppm do

antioxidante sintético considerado. Como, também, as diferentes características de solubilidade dos compostos presentes, evidenciadas pelo meio de extração, é o que suportará sua vasta aplicabilidade na indústria alimentícia, pela sua atuação na interface óleo-água dos diferentes alimentos. Finalizando, destaca-se que entre os sistemas estudados o *RANCIMAT* é o que se aproxima mais das necessidades da avaliação industrial na estabilidade de óleos e gorduras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- BARLOW, S.W. Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In: HUDSON, B.J.F. (Ed.) *Food Antioxidants*. Amsterdam: Elsevier, 1990. p. 253.
- BOLAND, J.L. e TEM-HAVE, P. Kinetics in the chemistry of rubber and related materials; the inhibitory effect of hydroquinone on the thermal oxidation of ethyl linoleate, *Trans. Faraday Soc.*, v. 43, p. 201, 1947.
- BOTTER WECK, A.A.; VERHAGEN, H.; GOLDBOHM, R.A.; KLEINJANS, J.; VAN DEN BRANDT, P.A. – Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach risk: results from analysis in the Netherland. Cohort Study. *Food Chem. Toxicol.* v.38, p.599-605, 2000.
- BRANEN, A.L. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.52, p.59-63, 1975.
- CINTRA, R.M.G.; MANCINI-FILHO, J. Efeito antioxidante de especiarias: avaliação e comparação de métodos *in vitro* e *in vivo*. *Nutrire*, São Paulo, v.22, p. 49-62, 2001.
- DECKER, E.A. Phenolics: prooxidants or antioxidants? *Nutr. Rev.*, New York, v. 55, n.11, p. 396-407, 1997.
- DUVE, K.J.; WHITE, P.J., Extraction and Identification of Antioxidants in Oats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.61, n.6, p. 365-370, 1991.
- FRANKEL, E.N. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food Chemistry*, v.57, n. 1, p. 51-55, 1996.
- KAHL, R.; HILDEBRANDT, A.G. Methodology for studying antioxidant activity and mechanisms of action of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.*, v. 24, p. 1071, 1986.
- KOCHHAR, S.P.; ROSSELL, J. D. Detection, estimation and evaluation of antioxidants in food systems. In: HUDSON, B.J.F. (Ed.) *Food Antioxidants*. Amsterdam: Elsevier, 1990, p. 19.
- MADSEN, H.L.; NIELSEN, B.R.; BERTELSEN, G.; SKIBSTED, L.H. Screening of antioxidants between assays based on ESR spin trapping and electrochemical measurement of oxygen consumption. *Food Chemistry*, New York, v.57, n.2, p.331-337, 1996.
- MAILLARD, M-N.; BERSET, C. Evolution of antioxidant activity during kilning: role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. *J. Agric. Food Chem.* v. 43, p. 1789, 1995.
- MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, v.45, p.494-598, 1968.
- MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.48, p.91, 1971.

- MOREIRA, A.V.B.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante de sementes de mostarda (*Brassica alba*, L.) I- Identificação dos principais compostos responsáveis pela inibição da oxidação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 17º; Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: SBCTA, 1998. v. 2. p. 1077-1080.
- OYA, T.; TOSHIHIKO, O.; KAWAKISHI, S. Spice Constituents Scavenging Free Radicals and Inhibiting Pentosidine Formation in a Model System. *Biosci. Biotech. Biochem.*, v.61, n.2, p.263-266, 1997.
- PEREIRA, R.B.; MANCINI-FILHO, J. A valiação da atividade antioxidante em sementes de frutas cítricas. *Ciê. Tecnol. Aliment*, v. 14, n. 2, p. 160-167, 1994.
- PRATT, D.E.; HUDSON, B.J.F. Natural antioxidant activity of vegetable extracts. I flavone aglycones. *J. Food Sci.*, v.19, p.27-33, 1964.
- SCHULER, P. Natural antioxidants exploited commercially. In: HUDSON, B.J.F. (Ed.), *Food Antioxidants*, Amsterdam: Elsevier, 1990, p. 99.
- SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P.K.J.P.D. Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Sci. and Nutr.*, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1992.
- SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, U.N; AMAROWICZ, R. Natural antioxidants from low-pugency mustard flour. *Food Res. Intern.*, v.27, p. 489-493, 1994.
- SHERWIN, E.R. Oxidation and Antioxidants in fat and oil processing. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, v.55, 809.
- SILVA, F.A.M.; BORGES, M. F.; FERREIRA, M. A. Methods for the evaluation of the degree of lipid oxidation and the antioxidant activity. *Quím. Nova*, v.2, n.1, p. 94-103, 1999.

Recebido para publicação em 25/11/02.

Aprovado em 30/06/03.

Avaliação da qualidade protéica da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz)

Evaluation of protein quality of dehydrated cassava leaf (Manihot esculenta Crantz)

ABSTRACT

ORTEGA-FLORES, C.I.; COSTA, M.A.L.; CEREDA, M.P.; PENTEADO, M.V.C. Evaluation of protein quality of dehydrated cassava leaf (*Manihot esculenta* Crantz). *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP. v.25, p. 47-59, jun., 2003.

With the purpose of determining the proteic quality of dehydrated cassava leaf (Manihot esculenta Crantz) a biological test was carried out during 25 days with 8 treatments on 8 animals per treatment. At the end of the experiment all animals were killed and the carcasses and the excrement were analyzed. The animals' food intake and weight were controlled. By means of the biological indicators: protein efficiency ratio (PER), food efficiency ratio (FER), net protein ratio (NPR), true digestibility (TD), net protein utilization (NPU) and biological value (BV) it was verified that the leaf's proteic quality was lower than that of casein. Chemical analyses showed that dehydrated cassava leaf presents a good amino acid profile and high fiber chemical content.

Keywords: protein, amino acid; fiber; cassava leaves

CLAUDIA ISABEL ORTEGA-FLORES¹; MARIA APARECIDA LOPES DA COSTA²; MARNEY PASCOLI CEREDA; MARILENE DE VUONO CAMARGO PENTEADO³

¹Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/FCF/USP
Parte da tese de doutorado: Caracterização química e avaliação da biodisponibilidade do β -caroteno e da proteína da folha de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) desidratada, 1998.

Endereço para correspondência:

Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/FCF/USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 580 – Bloco 14
CEP 05508-900
São Paulo, SP - Brasil
e-mail: devuono@usp.br

Agradecimentos:

Ao CNPq - Conselho Nacional de Pesquisas, pelo apoio financeiro

RESUMEN

Con el objetivo de verificar la calidad proteica de la hoja deshidratada de yuca (Manihot esculenta Crantz) fue realizado un ensayo biológico, de 25 días con 8 tratamientos y 8 animales cada uno. Al final del experimento todos los animales fueron sacrificados y las carcasas y las heces analizadas. Se controló el consumo de alimento y el peso de los animales. Se verificó, a través de los índices biológicos, coeficiente de eficacia proteica (CEP), coeficiente de eficacia alimentar (CEA), razón proteica neta (NPR), coeficiente de digestibilidad verdadera (CDv), utilización neta de la proteína (NPU) y el valor biológico (VB) que la calidad proteica de la hoja fue inferior a la de caseína. Los análisis químicos mostraron que la hoja deshidratada de yuca presenta buen perfil de aminoácidos y elevado contenido de fibra.

**Palabras clave: proteína;
aminoácidos; fibra;
hoja de yuca**

RESUMO

Com o objetivo de verificar a qualidade protéica da folha desidratada de mandioca (Manihot esculenta Crantz) foi realizado um ensaio biológico, de 25 dias com 8 tratamentos e 8 animais cada um. Ao final do experimento todos os animais foram sacrificados e as carcaças e as fezes analisadas. O consumo de alimento e o peso dos animais foram controlados. Foi verificado através dos índices biológicos, coeficiente de eficácia protéica (CEP), coeficiente de eficácia alimentar (CEA), razão protéica líquida (NPR), coeficiente de digestibilidade verdadeira (CDv), utilização da proteína líquida verdadeira (NPU) e valor biológico (VB) que a qualidade protéica da folha foi inferior à caseína.. As análises químicas mostraram que a folha desidratada de mandioca apresenta bom perfil de aminoácidos e elevado teor de fibra.

**Palavras-chave: proteína;
aminoácidos; fibra;
folhas de mandioca**

INTRODUÇÃO

O uso da proteína extraída de folhas para alimentação humana ou para alimentação animal tem se tornado uma alternativa, já que esta é uma fonte de proteína muito abundante, aliada ao fato da existência de uma grande variedade de culturas de folhas apresentando algumas delas um adequado valor nutritivo (CARVALHO e KATO, 1987).

A riqueza em proteínas da parte aérea da mandioca tem sido constatada em diversos trabalhos (CARVALHO *et al.*, 1985, 1986, 1993; RAVINDRAN e RAVINDRAN, 1988; RAVINDRAN, 1993; AWOYINKA *et al.*, 1995). Na literatura podemos observar que a proteína da parte aérea da mandioca especialmente da folha, apresenta deficiência em alguns aminoácidos sulfurados principalmente em metionina (TUPYNAMBÁ e VIEIRA, 1979; GÓMEZ *et al.*, 1986; GÓMEZ e NOMA, 1985; JESUS *et al.*, 1987; RAVINDRAN e RAVINDRAN, 1988). A deficiência nestes aminoácidos faz com que a proteína apresente baixo valor biológico (EGGUM, 1970; SALGADO e SANTOS, 1986).

A folha de mandioca apresenta elevado teor de fibra podendo ser este um fator limitante na utilização da mesma já que as fibras podem apresentar efeitos que não são desejáveis principalmente na digestão, absorção e utilização de nutrientes essenciais. Estudo realizado por AWOYINKA *et al.* (1995), onde foram analisadas folhas de três variedades de mandioca, mostrou que os teores de fibra variam de 26,9 a 35, 5% em peso seco, teores estes considerados elevados.

O presente trabalho tem como objetivo determinar a qualidade da proteína da folha desidratada de mandioca e observar se o teor de fibra da folha tem alguma influência sobre a qualidade da mesma.

MATERIAL E MÉTODOS

Folhas de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) CV Branca de Santa Catarina, foram obtidas do Centro de Raízes Tropicais (CERAT) da UNESP *campus* de Botucatu, na safra de 1997.

As amostras foram colhidas manualmente, com os ramos da planta toda, depois destacadas junto com os pecíolos sem qualquer classificação e submetidas a desidratação à sombra (25°C) durante duas semanas. A seguir as amostras foram homogeneizadas e tamizadas no tamiz com malha de 0,5mm.

Foram utilizados ratos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*, var. albinus, Rodentia mammalia), provenientes da colônia do biotério da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

As rações para o ensaio biológico foram elaboradas segundo as recomendações do "American Institute of Nutrition" (AIN-93G) (REEVES, *et al.*, 1993).

As rações foram elaboradas com 10% de proteína baseada nas recomendações FAO/WHO, (1991).

Os ingredientes das rações foram misturados em homogeneizador de aço inoxidável. Após a mistura as rações foram armazenadas em sacos plásticos, fechados e mantidos a 4°C, no escuro. Uma pequena quantidade foi retirada para a análise química das rações.

Foram utilizados ratos machos, recém-desmamados com pesos variando entre 45 e 50g. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com livre acesso a água e ração. O consumo de alimento foi controlado diariamente e o peso dos animais uma vez por semana. O período do ensaio foi de 25 dias e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 8 tratamentos de 8 animais cada um (Tabela 1).

Tabela 1 Grupos de animais utilizados durante período experimental

Nº	Grupo
1	Zero
2	Aprotéico
3	Folha de mandioca 10% de proteína
4	Grupo caseína 10% de proteína mais 23% de fibra
5	Folha de mandioca 5% de proteína mais 5% de caseína
6	Caseína 10% mais 11% de fibra
7	Folha de mandioca 2,5% mais caseína 7,5%
8	Caseína 10% mais 5% de fibra

O grupo zero foi sacrificado no início do experimento para análise de carcaça. Ao final do período experimental (25 dias), todos os animais foram sacrificados por inalação com éter etílico, e suas carcaças foram pesadas e secas em estufa a 80°C, desengorduradas e pulverizadas em moinho de aço inoxidável e conservadas em sacos de polietileno sendo mantidas à temperatura ambiente até a análise. O grupo aprotéico foi sacrificado com 15 dias.

Durante todo o experimento as fezes dos animais foram colhidas a cada dois dias, e armazenadas em frascos de vidro individuais à temperatura ambiente. Ao final do experimento a umidade foi retirada a 60°C em estufa ventilada durante 3 dias. Após a secagem as fezes foram limpas, pesadas e pulverizadas em moinho de aço inoxidável e conservadas em sacos de polietileno sendo mantidas à temperatura ambiente até a análise.

ANÁLISES QUÍMICAS

As análises de nitrogênio foram feitas segundo a AOAC (1995), empregando-se o fator 6,25 para a transformação do nitrogênio em proteína. A umidade, resíduo mineral fixo e extrato etéreo foram analisados segundo IAL (1985). As fibras foram analisadas pelo método gravimétrico enzimático descrito por PROSKY (1988) e modificado por FILISETTI-COZZI e LAJOLO (1991). A determinação dos aminoácidos foi realizada segundo SPACKMAN *et al.* (1958) e MOORE (1963). Os aminoácidos foram analisados em autoanalisador Beckman modelo 7300 operando com coluna de troca iônica única (“Sodium High Performance Column”) e sistema de três tampões citrato como eluentes.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para a análise múltipla das variáveis que equivale a ANOVA (One-Way Analysis of variance) não paramétrico.

Quando se verificaram diferenças estatisticamente significativas foi aplicado o teste Mann Whitney. Todas as análises foram realizadas com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) (CONOVER, 1980).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2 podemos comparar os resultados dos aminogramas das folhas de mandioca com o padrão FAO/WHO/UNU (1985) para pré-escolares de 2-5 anos, e seu respectivo cômputo químico, mostrando que a folha de mandioca não é deficiente em nenhum dos aminoácidos essenciais. Isto, estaria em desacordo com o encontrado na literatura onde é citado que a folha de mandioca é deficiente em aminoácidos sulfurados (EGGUM, 1970; YEOH e CHEW, 1976; TUPYNAMBÁ *et al.*, 1979; FAO/WHO/UNU, 1985; GÓMEZ, *et al.*, 1985, 1986; SALGADO e SANTOS, 1986; RAVINDRAN e RAVINDRAN, 1988; CASTELLANOS *et al.*, 1994; PELUZIO *et al.*, 1998).

Todos os trabalhos citados anteriormente comparam a proteína da folha de mandioca com a referência da FAO/WHO de 1973. Os trabalhos mais recentes tomam esta proteína como padrão de referência, no entanto, neste trabalho foram utilizados como referência a proteína da FAO/WHO para pré-escolares de 2 a 5 anos de 1985, que está sendo recomendada como a referência pelos consultores da FAO/WHO, 1991. Se comparamos o perfil de aminoácidos das folhas de mandioca estudadas pelos referidos autores com a proteína padrão da FAO/WHO/UNU, 1985 para pré-escolares de 2 a 5 anos, observamos que na maioria dos casos o perfil de aminoácidos estaria dentro dos níveis aceitos.

Na Tabela 2 podemos observar que em relação ao cômputo químico todos os aminoácidos ficaram acima de 100%, no entanto, o aminoácido que apresentou o menor cômputo químico foi a lisina seguido da histidina.

BOKANGA (1994), cita dados de aminoácidos da folha de mandioca encontrados por West et al. mostrando uma melhor composição de aminoácidos essenciais que o padrão da FAO/WHO (1973). Estes resultados estão de acordo com os encontrados neste estudo.

O perfil de aminoácidos no entanto, não nos mostra a qualidade de uma proteína tendo que ser levada em consideração a digestibilidade da proteína e a biodisponibilidade dos aminoácidos na mesma.

Nos últimos anos está sendo recomendado pelo FDA (Food and Drug Administration) a utilização do PDCAAS (“Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scoring”) pois, este método está baseado na recomendação de aminoácidos para humanos o que nos proporcionaria resultados mais reais (HENLEY e KUSTER, 1994). Assim, na Tabela 2 encontramos o Cômputo Químico corrigido ou PDCAAS calculado a partir do escore químico de aminoácidos e a digestibilidade de 54,76% da folha desidratada de mandioca obtido no ensaio biológico. Como vemos nesta Tabela o PDCAAS foi de 0,60, valor considerado baixo, já que para que uma proteína seja considerada de boa qualidade deve ter um PDCAAS de 1,0.

O reduzido valor do PDCAAS da folha de mandioca (60%) se deve fundamentalmente a baixa digestibilidade da mesma (54,76%), já que como foi visto na Tabela 2 as concentrações dos aminoácidos essenciais atingem os valores recomendados pela FAO/WHO (1985).

Tabela 2 Teores de aminoácidos essenciais, Cômputo Químico (C.Q.) e Cômputo Químico corrigido PDCAAS (“Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scoring”) da proteína da folha desidratada de mandioca

Aminoácidos	Proteína Padrão FAO/WHO* pré-escolares 2-5 anos mg/g de proteína	Folha desidratada de mandioca mg/g de proteína	C.Q. %	C.Q. Corrigido (PDCAAS)
Histidina	19	22,30	117,37	0,64
Isoleucina	28	50,40	180,00	0,99
Leucina	66	91,10	138,03	0,76
Lisina	58	63,50	109,48	0,60
Metionina + Cistina	25	48,20	192,80	1,06
Fenilalanina + Tirosina	63	88,40	140,31	0,77
Treonina	34	48,40	142,35	0,78
Valina	35	64,20	183,43	1,00

*FAO/WHO(1985)

A Organização Mundial da Saúde (FAO/WHO/UNU, 1985) considera uma proteína de boa qualidade, aquela que apresenta uma relação aminoácidos essenciais/aminoácidos

totais de 35%. Para a folha de mandioca desidratada essa relação foi de 42%. Ainda que esta relação para folha de mandioca desidratada seja superior à relação recomendada pela OMS (35%), a reduzida digestibilidade das mesmas não permite uma utilização adequada desta proteína.

Como podemos observar na Tabela 3 o conteúdo de proteína da folha desidratada de mandioca foi de 20,77%. Estes resultados estão de acordo aos encontrados na literatura, citados por VITTI *et al.*, 1972; FIGUEIREDO e REGO, 1973; GÓMEZ *et al.*, 1985, GÓMEZ e NOMA, 1986; CARVALHO *et al.*, 1993 e menores que os encontrados por VILHENA *et al.*, (1996) de 29 a 31%, FAFUNSO e OKE (1976) (44 a 46%) e YEOH e CHEW (1976) (29 a 39%).

A folha de mandioca do cultivar Branca de Santa Catarina (Tabela 3), apresentou teores de fibra elevados que estão de acordo com dados de EGGUM (1970), ALMEIDA *et al.* (1991) e AWOYINKA *et al.* (1995).

Para este estudo foram utilizadas rações com níveis protéicos ao redor de 10% e tomou-se como referência a caseína. A composição centesimal das rações estão apresentadas na Tabela 4.

Devido ao baixo teor de proteína (20,77%) da folha de mandioca (Tabela 3) foi empregada uma quantidade elevada da mesma para obtenção de ração com 10% de proteína. Como a folha de mandioca apresenta elevado teor de fibra (48,35%) (Tabela 3) foi necessário organizar grupos controles com caseína com a mesma quantidade de fibra (celulose) empregada nas rações elaboradas com folha de mandioca. Desta maneira, foi possível fazer uma melhor comparação entre os grupos e verificar a possibilidade da fibra interferir em alguns dos parâmetros analisados.

Como pode ser observado na Tabela 4, a ração elaborada com folha de mandioca teve um teor elevado de resíduo mineral fixo, quando comparado com as outras rações, isto é devido a grande quantidade de folha de mandioca utilizada, que contém um elevado resíduo mineral fixo como pode ser verificado na Tabela 3 que, junto com a mistura mineral contribuiu a aumentar este valor.

Para realização deste experimento, foram utilizados animais cujas médias de peso não diferiram entre si em 0,05g. O acompanhamento do ganho de peso dos animais foi feito uma vez por semana sendo o grupo apotético sacrificado aos 15 dias.

O grupo que recebeu como fonte de proteína folha de mandioca não acompanhou o crescimento dos demais grupos sendo esta diferença estatisticamente significativa como pode ser observado na Tabela 5. Na referida Tabela podemos verificar também que o ganho do peso dos ratos nos grupos que continham folha de mandioca aumentou conforme se aumentou os teores de caseína nos mesmos. A fibra interferiu pouco no ganho de peso dos animais nos grupos que continham somente caseína, não havendo diferenças estatisticamente significativas (Tabela 5).

Tabela 3 Composição centesimal da folha desidratada de mandioca, expressa em g/100g

Determinações	Folha desidratada de mandioca*
Umidade	7,15 ± 0,07
Resíduo mineral fixo	6,84 ± 0,07
Proteína	20,77 ± 0,14
Extrato etéreo	6,83 ± 0,12
Fibra insolúvel	45,11 ± 2,26
Fibra solúvel	3,24 ± 0,16
Fibra total	48,35
Carboidratos totais	10,06

* Médias de 3 determinações ± desvio-padrão

Tabela 4 Composição centesimal das rações preparadas para verificação do valor biológico da proteína da folha desidratada de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*), expressa em g/100g

Determinação Ração	Umidade	Resíduo Mineral Fixo	Proteína	Extrato Etéreo	Fibra Total	Carboidratos Totais
Aprotéica	8,75	1,98	0,17	6,84	5,01	77,25
	± 0,00	± 0,02	± 0,00	± 0,20		
Folha de Mandioca 10%	7,62	5,17	10,58	6,95	22,93	46,75
	± 0,06	± 0,02	± 0,00	± 0,12		
Caseína 10% + Fibra 23%	7,04	2,27	11,09	6,90	22,17	50,53
	± 0,05	± 0,04	± 0,02	± 0,09		
Folha de Mandioca 5% + Caseína 5%	8,32	3,65	10,92	7,00	10,89	59,22
	± 0,08	± 0,01	± 0,00	± 0,00		
Caseína 10% + Fibra 11%	8,04	2,30	11,06	7,24	10,76	60,60
	± 0,00	± 0,06	± 0,00	± 0,06		
Folha de Mandioca 2,5% + Caseína 7,5%	8,60	2,98	10,69	6,96	5,55	65,22
	± 0,00	± 0,03	± 0,06	± 0,00		
Caseína 10% + Fibra 5%	8,99	2,32	11,19	7,13	5,71	64,66
	± 0,03	± 0,02	± 0,05	± 0,14		

Fibra = Celulose.

Média de 3 determinações ± desvio-padrão

Tabela 5 Médias e desvios-padrão do ganho de peso, consumo de ração, consumo de proteína pelos animais expressos em gramas, coeficiente de eficácia protéica (CEP), coeficiente de eficácia alimentar (CEA), razão protéica líquida (NPR), coeficiente de digestibilidade verdadeira (CDv), utilização da proteína líquida verdadeira (NPUv) e valor biológico (VB), durante o ensaio de valor biológico da proteína da folha de mandioca

Grupos	Ganho de Peso (g)	Consumo de Ração (g)	Consumo de Proteína (g)	CEP	CEA	NPR **	CDv %	NPUv	VB
Aprotéico*	-6,14	78,13							
	±1,22	±13,74							
Folha de Mandioca 10%	38,58	293,12	30,96	1,25	0,13	1,80	54,76	9,71	18,31
	±7,64	±17,47	±1,84	±0,23	±0,02	±0,27	±3,95	±7,6	±14,02
Caseína 10% + Fibra 23%	112,52	409,23	45,27	2,44	0,27	3,26	90,90	51,76	56,09
	±31,67	±55,84	±6,18	±0,44	±0,05	±0,20	±0,89	±14,10	±15,11
Folha de Mandioca	104,34	399,90	43,74	2,39	0,26	3,25	69,17	47,04	66,74
5% + Caseína 5%	±15,88	±37,22	±4,07	±0,31	±0,03	±0,15	±3,52	±7,67	±11,76
Caseína 10% + Fibra 11%	124,67	386,08	42,71	2,92	0,32	3,63	92,04	63,53	68,04
	±15,01	±34,18	±3,78	±0,29	±0,03	±0,62	±1,30	±12,75	±13,89
Folha de Mandioca	121,29	384,10	41,05	2,95	0,32	3,83	80,65	69,10	83,98
2,5%+Caseína 7,5%*	±12,22	±26,32	±2,81	±0,16	±0,02	±0,16	±0,98	±9,68	±11,29
Caseína 10% + Fibra 5%	121,29	375,93	42,06	2,87	0,32	3,77	93,29	71,16	75,11
	±17,05	±23,34	±2,61	±0,28	±0,03	±0,23	±0,74	±14,60	±15,03

*Médias de 7 ratos Médias de 8 ratos **Duração 15 dias.

Podemos observar também na Tabela 5 que quase todos os grupos consumiram a mesma quantidade de ração com exceção do grupo aprotéico e folha de mandioca 10% sendo estas diferenças estatisticamente significativas; provavelmente devido ao fato da dieta ser desbalanceada os ratos se recusaram a ingeri-la. Observamos também que quanto menor o teor de folhas maior a aceitabilidade das rações pelos ratos. O mesmo foi relatado por ROSAS-ROMERO e BARATTA (1987), que observaram que os ratos recusavam-se a se alimentar acreditando que o concentrado protéico feito a partir de folhas de mandioca era impalatável.

Pode-se verificar que o coeficiente de eficácia protéica (CEP), coeficiente de eficácia alimentar (CEA), razão protéica líquida (NPR), coeficiente de digestibilidade verdadeira (CDv), utilização da proteína líquida verdadeira (NPUv) e valor biológico (VB) (Tabela 4) foram menores para o grupo que recebeu folha de mandioca 10% que para o restante dos

grupos, sendo estas diferenças estatisticamente significativas. Na mesma Tabela 4 observamos que estes índices foram aumentando conforme o aumento de caseína nos grupos que receberam folha de mandioca.

HEINEMANN *et al.* (1998) estudaram a qualidade protéica de misturas feitas à base de farinha de trigo e concentrado protéico de folha de mandioca e observaram que a digestibilidade decrescia com o aumento da adição de concentrado de folhas de mandioca resultados estes que estão de acordo com os nossos dados.

Entre os grupos de caseína podemos observar (Tabela 5) que o grupo que recebeu a ração que continha maior teor de fibra foi o que obteve o menor CEP e CEA, NPR, CD_v, NPU_v e VB sendo esta diferença estatisticamente significativa em relação aos demais grupos de animais que receberam rações com caseína, mostrando que a fibra teve influência nestes parâmetros.

VILHENA *et al.* (1996) num estudo sobre o efeito da extrusão sobre o valor nutricional da folha de mandioca encontraram valores de CEP para os animais alimentados com rações a base de extrusados de folha de mandioca próximos aos encontrados neste trabalho. Os autores também encontraram valores de CEA e NPR, CD menores para os grupos de extrusados de folha de mandioca comparados com os grupos de caseína, resultados que estão de acordo com os encontrados no nosso estudo. Os autores verificaram nesse estudo que a adição de metionina aumentou os valores do CEP e CEA para os extrusados.

SALGADO e SANTOS (1986), encontraram valores de CEP negativos utilizando rações de folha de mandioca e concentrados protéicos da mesma para ratos. Estes últimos autores também observaram que a adição de lisina e metionina melhorou os resultados mais do que o acréscimo de metionina sozinha. Isto estaria de acordo com o encontrado neste estudo onde a lisina foi o aminoácido limitante e não a metionina (Tabela 1) e, portanto, a adição de lisina melhoraria os resultados do valor biológico da proteína de folha de mandioca.

BOAVENTURA *et al.* (2000) adicionaram pó de folha de mandioca a uma ração elaborada de acordo a dieta consumida por crianças desnutridas do município de Quissamã, Rio de Janeiro e concluíram que adição não causou impacto sobre a qualidade da ração, não tendo melhorado sua capacidade de recuperar a desnutrição. Os pesquisadores ressaltam a importância de mais estudos para justificar o uso na alimentação humana destes alimentos não convencionais.

O baixo valor da digestibilidade para o grupo que continha somente folha de mandioca como fonte de proteína podem estar relacionados ao elevado conteúdo de fibra da folha de mandioca. Como verificamos, a adição de fibra nos grupos de caseína parece ter tido influência na digestibilidade da mesma no grupo que continha maior teor de fibra (23%), pois a diferença entre este grupo e os demais de caseína foram estatisticamente significativas.

O grupo de ratos que recebeu 50% de folha de mandioca como fonte de proteína apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação a seu controle nos seguintes índices testados CEA, CEP, CDv, NPUv e NPR. No entanto, os valores encontrados para estes índices neste grupo foram marcadamente melhores que os índices apresentados no grupo de ratos que consumiram 100% de folha de mandioca como fonte de proteína. Assim, a folha de mandioca poderia ser empregada em porcentagens menores de 50%, ou seja, o limite de utilização de folha de mandioca numa mistura protéica seria de 50%. Porcentagens maiores poderiam comprometer o valor protéico da mistura.

CONCLUSÕES

As folhas desidratadas de mandioca do cultivar Branca de Santa Catarina apresentaram um bom perfil de aminoácidos, e um Cômputo Químico acima de 1; no entanto, quando corrigido pela digestibilidade da proteína da folha de mandioca o Cômputo Químico diminuiu para 0,60, valor considerado baixo. O aminoácido limitante na proteína da folha de mandioca desidratada foi a lisina seguido pela histidina.

A folha de mandioca apresentou no ensaio biológico, uma qualidade protéica inferior à caseína, em relação aos índices testados, isto pode ser devido aos elevados teores de fibra que interferiram na digestibilidade da mesma e no seu valor biológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- ALMEIDA, E.X.; TERNES, M.; AGOSTINI, I. Aprroveitamento da parte aérea da mandioca visando a alimentação de bovinos em Santa Catarina. *Rev. Bras. Mandioca.*, Cruz das Almas, v. 10, n. 1-2, p. 15-25, 1991.
- AOAC ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of AOAC International. 16th ed., Washington D.C., 1995 (Method 967.22). p.17.
- AWOYINKA, A.F.; ABEGUNDE, V.O.; ADEWUSI, S.R.A. Nutrient content of young cassava leaves and assessment of their acceptance as a green vegetable in Nigeria. *Plant Foods Hum. Nutr.*, Dordrecht v. 47, p.21-28, 1995.
- BOAVENTURA, G.T.; CHAPPIN, C.C.J.; ASSIS FERNANDES, N.G.; OLIVEIRA, E.M. A avaliação da qualidade protéica de uma dieta estabelecida em Quissamã, Rio de Janeiro, adicionada ou não de multimistura e de pó de folha de mandioca. *Rev. Nutr.*, Campinas v. 13, n. 3, p. 201-209, 2000.
- BOKANGA, M. Processing of cassava leaves for human consumption. *Acta Horticult.*, The Hague, v. 375, p. 203-207, 1994.
- CARVALHO, V.D.; CHAGAS, S.J.R.; BOTREL, N.; JUSTE, E.S.G. Teor de proteína na parte aérea de cultivares de mandioca em diferentes épocas de colheita. *Rev. Bras. Mandioca.*, Cruz das Almas, v. 12, n. 1-2, p.13-20, 1993.

- CARVALHO, V.D.; KATO, M.S.A. Potencial de utilização da parte aérea da mandioca. *Inf. Agropec.*, Belo Horizonte, v.13, n. 145, p. 23-28, 1987.
- CARVALHO, V.D.; PAULA, M.B.; JUSTE, E.S.G. Efeito da época de colheita no rendimento e composição química de fenos da parte aérea de dez cultivares de mandioca. *Rev. Bras. Mandioca.*, Cruz das Almas, v. 4, n. 1, p. 43-59, 1985.
- CARVALHO, V.D.; PAULA, M.B.; JUSTE, E.S.G.; KATO, M.S.A. Características nutritivas de fenos do terço superior e das folhas de cultivares de mandioca. *Rev. Bras. Mandioca.*, Cruz das Almas, v. 5, n. 1, p. 63-70, 1986.
- CASTELLANOS, R.; ALTAMIRANO, S.B.; MORETTI, R.H. Nutritional characteristics of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf protein concentrates obtained by ultrafiltration and acidic thermocoagulation. *Plant Foods Hum. Nutr.*, Dordrecht, n. 45, p. 357-363, 1994.
- CONOVER, W.J. *Practical non parametric statistics*. 2nd ed. New York: Wiley, p. 229-232, 1980.
- EGGUM, B.O. The protein quality of cassava leaves. *Br. J. Nutr.*, London, v. 24, p.761-768, 1970.
- FAFUNSO, M.A.; OKE, O.L. Leaf protein from different cassava varieties. *Nutr. Rep. Int.*, Los Altos, v. 11, n. 6, p. 629-632, 1976.
- FAO/WHO FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/ WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Energy and Protein Requirements*. Geneva, 1973. p.120 [Who Technical Report Series, n. 522].
- _____. *Energy & Protein Requirements*. Ginebra, 1985. p.206 [WHO Technical Report Series, n. 724].
- _____. *Protein quality evaluation*. Roma, 1991. 66p. [FAO Food and Nutrition Paper, n. 51].
- FIGUEIREDO, A.A.; REGO, M.M. Teor protéico e mineral em raízes e folhas de mandioca. *Bol. Tec. Cent. Technol. Agric. Aliment.*, Rio de Janeiro, n. 5, p. 23-26, 1973.
- FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C.; LAJOLO, F. M. Fibra alimentar insolúvel, solúvel em alimentos brasileiros. *Rev. Farm. Bioquím. Univ.*, São Paulo, v. 27, n. 1, p.83-99, 1991.
- GÓMEZ, G.; NOMA, A.T. The amino acid composition of cassava leaves, foliage, root tissue and whole-root chips. *Nutr. Rep. Int.*, Los Altos, v. 33, n. 4, p. 595-601, 1986.
- GÓMEZ, G.; VALDIVIESO, M.; NOMA, A. T. The influence of cultivar and plant age on the chemical composition of field-grown cassava leaves and roots. *Qual. Plant Plant-Foods Hum. Nutr.*, The Hague, v. 35, p. 109-119, 1985.
- HEINEMANN, R.B.; COSTA, N.M.B.; CRUZ, R.; PIROZI, M.R. Valor nutricional de farinha de trigo combinada com concentrado protéico de folha de mandioca. *Rev. Nutr.*, Campinas, v. 11, n. 1, p. 51-57, 1998.
- HENLEY, E.C.; KUSTER, J.M. Protein quality evaluation by protein digestibility-corrected amino acid scoring. *Food Technol.*, Chicago, v. 48, n. 4, p. 74-77, 1994.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*. 3 ed., São Paulo: IAL, 1985. v.1, p.21-22, 27-28, 42-43, 1985.
- JESUS, V.S.; MORAES, C.F.; TELES, F.F.F.; SEDIYAMA, C.S.; MORAES, G.H.K. Teor de proteína nas folhas de dez variedades de mandioca durante o primeiro o ciclo de crescimento. *Rev. Ceres.*, Viçosa, v. 34, n. 194, p. 366-377, 1987.
- MOORE, S. On the determination of cystine as cysteic acid. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, v. 238, n. 1, p. 235-237, 1963.
- PELUZIO, M.C. G.; MIRANDA, L.C.G.; MORAES, G.H.K.; PELUZIO, L.E. A valiação da qualidade nutricional da proteína da folha de mandioca combinada com a caseína pela reação de plasteína. *Arch. Latinoam. Nutr.*, Caracas, v. 48, n. 4, p. 311-315, 1998.

- PROSKY, L. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and products. Interlaboratory study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, Washington, v. 71, p. 1017-1023, 1988.
- RAVINDRAN, V. Cassava leaves as animal feed: potential and limitations. *J. Sci. Food Agric.*, London, v. 61, p.141-150, 1993.
- RAVINDRAN, G.; RAVINDRAN V. Changes in the nutritional composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves during maturity. *Food Chem.*, Barking, v. 27, p. 299-309, 1988.
- REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J. Nutr.*, Philadelphia, v. 123, p. 1939-1951, 1993.
- ROSAS-ROMERO, A.; BARATTA, C. Composition, functional properties, and biological evaluation of a plastain from cassava leaf protein. *Plant Foods Hum. Nutr.*, Dordrecht, v. 37, p. 85-96, 1987.
- SALGADO, J.S.; SANTOS, A. C. Estudo do concentrado protéico da folha de mandioca, obtenção, análise química e suplementação com aminoácidos. *Arch. Latinoam. Nutr.*, Caracas, v. 36, n. 3, p. 483-494, 1986.
- SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H.; MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Anal. Chem.*, Washington DC., v. 30 p. 1190-1206, 1958.
- TUPYNAMBÁ, M.L.V.C.; VIEIRA, E.C. Isolation of cassava leaf protein and determination of its nutritive value. *Nutr. Rep. Int.*, Los Altos, v. 16, n. 2, p. 249-259, 1979.
- VILHENA, M.F.; RIBEIRO, E.; COZZOLINO, S.M.F.; RAMÍREZ, E. Efectos de la extrusión sobre el valor nutritivo de la proteína de las hojas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). *Alimentaria.*, Madrid, v. 34, n. 276, p 85-90, 1996.
- VITTI, P.; FIGUEIREDO, I.B.; ANGELUCCI, E. Folhas de mandioca desidratadas para fins de alimentação humana. *Colet. Inst. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 4, p. 117-125, 1972.
- YEOH, H.H.; CHEW, M.Y. Protein content and amino acid composition of cassava leaf. *Phytochemistry.*, Oxford, v. 5, p. 1597-1599, 1976.

Recebido para publicação em 06/01/03.

Aprovado em 30/06/03.

Consumo energético do pré-escolar de creches

Energy intake of pre-school children from day care centers

ABSTRACT

HOLLAND, C.V.; SZARFARC, S.C. Energy intake of pre-school children from day care centers. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP. v.25, p. 61-70, jun., 2003.

This paper describes the offer, the dietetic intake and the energetic adequacy of food ingestion of preschool children of two public day care centers in the City of São Paulo, Brazil. The contribution of meals/food offered to 82 children ranging from 3 to 4 years of age in the day care center and in the children's home was verified in terms of caloric needs. In the day care center the meals were measured by means of direct weighing method, and in the children's home they were evaluated by a 24-hour complementary food questionnaire, through an interview with the mother/guardian. It was verified that all children had meals at home, and supper was the most common meal in 80.5% of the studied sample. Although the day care center's aim was to provide 100% of the daily energetic needs, only two pre-school children had more than 80% of the recommended caloric value. After evaluating the intakes at home and at the day care center, it is worth emphasizing the similarity between the proportions consumed in both places. Of the total intake, nearly half of the pre-school children (48%) were deficient/or at risk of deficient caloric diet; 36% had a quantitatively adequate diet; and 7 of them were at risk of energetic excess or with excess diets. A statistically significant tendency ($p < 0,025$) was observed in the pre-school children who ate less at the day care center: he/she would eat more or have more meals at home, and vice versa. Changes in the number, schedule and meals composition after lunch time were recommended, as means of improving the children's appetite, allowing better coverage of the daily caloric needs where he/she spends most of the day, trying to cope with the target of reaching 100% of the energetic needs.

Keywords: energy intake; pre-school children; meals; day care centers.

CECILIA VASCONCELOS HOLLAND¹;
SOPHIA CORNBLUTH SZARFARC²

^{1,2}Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública/USP. Baseado na tese de mestrado "A creche e seu papel na formação de práticas alimentares", apresentada no PRONUT - Programa de Pós-graduação Interunidades Nutrição Humana Aplicada/USP, setembro 1999.

Endereço para correspondência:
Cecilia V. Holland
R. Miranda
Montenegro, 144
CEP 05412-020
São Paulo, SP - Brasil
e-mail:
cecilia@holland.com.br

RESUMEN

Este trabajo describe la oferta, el consumo y la adecuación energética de las dietas de niños de dos guarderías infantiles públicas de la ciudad de São Paulo, Brasil. Fue levantado el aporte calórico de la dieta ofrecida en la guardería y en el domicilio de 82 niños de 3 y 4 años de edad. En la guardería la alimentación fue evaluada por medio del peso directo, y en el domicilio a través de encuesta alimentar sobre el consumo de 24 horas en entrevista con las madres o responsables. Fue verificado que todos los niños tenían una comida en el domicilio, y la cena era la más común entre ellas (80,5%). Aunque el objetivo de las guarderías sea cubrir 100% de las necesidades energéticas, solamente dos niños consumieron más de 80% del valor energético recomendado. Computados los consumos en la guardería y en el domicilio, se destaca la adecuación entre las proporciones consumidas en los dos locales. Del total evaluado en el día, la mitad de los niños (48%) tuvieron una dieta deficiente o en riesgo de deficiencia calórico; 36% fueron dietas cuantitativamente adecuadas, y 7% dietas con exceso o en riesgo de exceso calórico. Fue verificada tendencia estadísticamente significativa ($p < 0,025$) de niños que comían poco en la guardería, comían más o tenían mayor número de comidas en el domicilio y viceversa. Se recomienda un cambio de cantidad, horarios y composición de las comidas después del almuerzo, para mejorar el apetito de los niños y de esa forma cubrir la mayor parte de su necesidad de calorías diarias en la institución, donde ellos pasan la mayor parte del día, cumpliendo más fielmente el compromiso de ofrecer a los niños el 100% de su necesidad energética.

Palabras clave: consumo de energía; guarderías infantiles; preescolar; comidas

RESUMO

Este trabalho descreve a oferta, consumo dietético e adequação energética da ingestão alimentar de crianças de duas creches públicas do município de São Paulo. Foi verificada a participação da alimentação oferecida na creche e no domicílio, de 82 crianças de 3 e 4 anos, no atendimento das necessidades calóricas. Na creche, a alimentação foi avaliada por meio de pesagens diretas, e no domicílio, foi averiguada por meio de inquérito alimentar recordatório complementar das 24 horas, em entrevista com as mães. Foi verificado que a totalidade das crianças ingeria refeições em casa, sendo o jantar a refeição mais freqüente (80,5% da população estudada). Embora a creche tivesse como meta fornecer 100% das necessidades energéticas, apenas duas crianças ingeriram mais de 80% do valor calórico recomendado. Computados os consumos na creche e em casa, destaca-se a semelhança entre a proporção consumida em ambos locais. Do total ingerido, praticamente metade das crianças (48%) ingeriu no dia alimentar dietas deficientes ou em risco de deficiência calórica, 36% delas, dietas quantitativamente adequadas e 7 dietas energeticamente com risco de excesso ou em excesso. Verificou-se tendência estatisticamente significativa ($p < 0,025$) da criança que comia pouco na creche, comer mais e/ou fazer número maior de refeições no domicílio ou vice-versa. Recomendaram-se mudanças no número, horários e composição das refeições posteriores ao almoço, propiciando o aumento do apetite da criança, e dessa forma permitindo o atendimento de maior parte da necessidade calórica diária da criança na instituição, onde ela passa a maior parte do dia, cumprindo ou se aproximando mais do compromisso de alimentar a criança em 100% da sua necessidade energética.

Palavras-chave: consumo energético; pré-escolares, creche, refeições

INTRODUÇÃO

As propostas de implantação das creches se referem, sem exceção, ao atendimento global da criança, mas a preocupação com a alimentação suplanta em muito a atenção da instituição em relação às outras atividades.

As creches são orientadas para que componham um cardápio balanceado e adequado à idade das crianças, com cinco refeições diárias: café da manhã, hidratação, almoço, lanche da tarde e jantar, que são servidas entre às 7 e 17 horas com intervalos pequenos entre elas. O planejamento básico dos cardápios de creches conveniadas é feito pela Secretaria Municipal de Abastecimento (SEMAB), que leva em conta as recomendações dietéticas diárias, considerando a idade das crianças, para o envio mensal dos gêneros alimentícios não-perecíveis. Os gêneros perecíveis são comprados pela direção da creche, com a verba recebida do convênio com o município, da qual 20% são destinadas ao item 'alimentação'. As creches são orientadas para que componham um cardápio balanceado e adequado à idade das crianças que atenda a 100% das recomendações.

De certa forma, as ações na creche estão centralizadas na alimentação, sendo que as refeições ocupam boa parte do tempo da criança que lá passa o dia inteiro.

Para a família, a creche representa principalmente a oportunidade de ter seu filho alimentado adequadamente com comida farta e de boa qualidade em um ambiente seguro. Ela não tem pretensões de "cobrar" da instituição, atividades que incentivem o desenvolvimento motor e cognitivo da criança, ou seja, o preparo para a entrada na escola, diferentemente do que é considerado atribuição principal das "escolinhas" maternas e de pré-primários pagos.

No entanto, mesmo com o enfoque centrado na alimentação, os estudos realizados com vistas a avaliar a adequação de consumo energético de crianças que frequentam creches públicas relatam a baixa ingestão calórica da sua clientela (MANOEL, 1986; JANSEN, 1988; LOPES FILHO, 1992).

O programa de alimentação para as creches da SEMAB, com base nas recomendações alimentares diárias propostas pelo National Research Council (NRC, 1989), visa fornecer diariamente 1300 calorias e 16 gramas de proteínas para crianças de um ano e meio a três anos, e 1800 calorias e 24 gramas de proteínas para as de quatro a seis anos, valores que correspondem a 100% das recomendações para esses grupos populacionais (PMSP/SEMAB,1996).

Dessa forma, considerando a importância básica da alimentação na qualidade de vida e o papel fundamental que a creche assistencial representa no atendimento das necessidades nutricionais da criança que lá passa a maior parte do tempo em que está acordada, fixamos o objetivo deste trabalho: descrever a oferta, a ingestão e a adequação de consumo das refeições oferecidas aos pré-escolares que frequentam creche, na instituição e em seu domicílio.

MÉTODOS

O estudo foi feito com 82 crianças de duas creches indiretas (construídas e equipadas pelo município, administradas por entidades não governamentais) conveniadas com a Prefeitura Municipal de São Paulo (PMSP). Foi escolhido o módulo maternal, que atende crianças de três e quatro anos, que recebem alimentação variada, com diferentes preparações culinárias.

A avaliação do consumo foi feita uma única vez para cada criança do estudo.

Nas creches, a ingestão foi avaliada pelo método de pesagem direta, utilizando uma balança eletrônica. Os alimentos prontos foram pesados à medida que o prato ia sendo montado, obtendo-se, dessa forma, o peso de cada preparação ou alimento. Após a refeição, foram pesados os restos do prato, verificando-se então a ingestão real da criança.

No domicílio, a análise foi quantitativa das práticas alimentares e constou da verificação das refeições e alimentos consumidos pelas crianças, no mesmo dia da avaliação de consumo por pesagem na creche. Foi feita no dia seguinte ao acompanhamento das refeições da criança na creche, através de entrevista com a mãe/responsável, aplicando inquérito alimentar recordatório complementar, com vistas a obter os dados do que foi ingerido pela criança no dia anterior, tanto pela manhã, antes de a criança chegar à creche, como após sua saída à tarde, até a hora de dormir, totalizando assim as 24 horas do dia alimentar.

No intuito de facilitar o relato pelas mães ou responsáveis sobre a quantificação dos alimentos ingeridos pelas crianças em casa, foram utilizadas amostras de medidas caseiras, utensílios e porções, além de fotos de tamanhos mais usuais de porções (ZABOTTO et al., 1996).

Os dados coletados foram analisados no Programa Virtual Nutri (PHILIPPI et al., 1996), calculando-se a adequação de consumo e a classificação do estado nutricional de cada criança. Este programa classifica o consumo segundo a sua capacidade de atender à necessidade energética de cada indivíduo, levando em conta seu peso específico, gênero e idade (SZARFARC et al., 1994).

O teste T pareado foi utilizado para avaliar a associação entre o consumo energético na instituição e no domicílio.

RESULTADOS

O almoço na creche é a refeição mais completa, normalmente contendo alimentos de todos os grupos, sempre com a presença de arroz, feijão carne ou substituto, além de salada, e também de frutas frescas na sobremesa, fornecendo potencialmente os macro e micronutrientes essenciais, no intuito de oferecer uma refeição balanceada. O jantar é uma refeição mais simples na sua apresentação, geralmente um prato único, de fácil distribuição, seguido de uma sobremesa mais energética, podendo ser uma banana, ou uma sobremesa

industrializada, como pudim, canjica, sagu, goiabada ou bananada. As sopas utilizadas habitualmente nesta refeição são, na maioria das vezes, industrializadas, sendo, por vezes, adicionadas de outros alimentos naturais, muitas vezes sobras excedentes do almoço, para variar o sabor e a textura, como hortaliças e fontes de amido, conforme a disponibilidade.

São poucas as alternativas de sabor para o leite no café da manhã e no lanche, sendo chocolate o favorito, ocorrendo a variação do cardápio apenas nos acompanhamentos (pão, biscoito, bolo).

Com relação à alimentação no domicílio, encontrou-se que a totalidade das crianças faz pelo menos uma refeição em casa (Gráficos 1 e 2): 61,0% delas ingere o desjejum; a mesma proporção toma um lanche ao chegar em casa e 42,7% faz ainda outro lanche antes de dormir, no entanto, a refeição mais freqüente é o jantar, presente entre 80,5% das crianças (Gráfico 1).

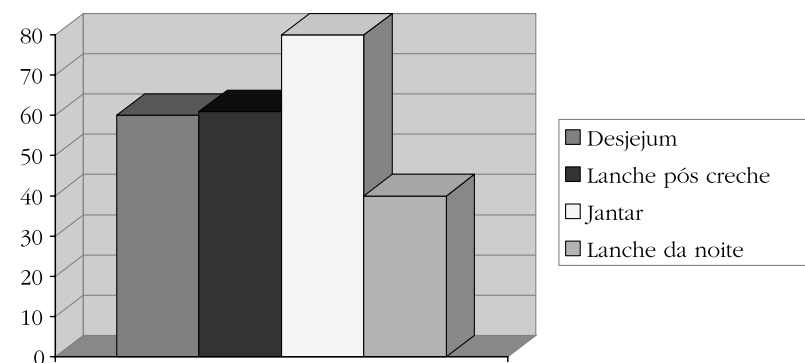


Gráfico 1 Distribuição porcentual das crianças, segundo as refeições feitas no domicílio, 1999

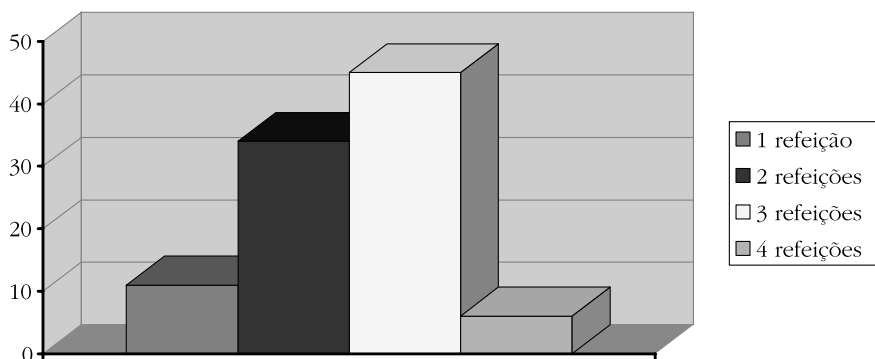


Gráfico 2 Distribuição percentual das crianças, segundo o número de refeições feitas no domicílio, 1999

Chama a atenção o grande número de crianças que consome três refeições no domicílio (Gráfico 2), sendo habitualmente uma delas oferecida pela manhã antecedendo a ida à creche e duas pós-creche; ou todas as três após o dia na creche. Normalmente, quando a criança já havia tomado o leite em casa, chegando à creche ela só comia o acompanhamento, pão ou bolacha. As refeições no período pós-creche ocorreram entre cinco horas da tarde e onze da noite, sendo bastante freqüente o lanche pós-creche. O 'jantar' na instituição, habitualmente uma sopa de pouca densidade calórica, já teria sido consumido há mais de uma hora, sendo esse um período em que a criança teria apetite novamente. À semelhança do que é servido na creche, o arroz e o feijão foram os alimentos mais freqüentes no jantar, complementado entre 18,3% das crianças com frango e entre 26,8% delas com carne bovina. Ovos, salsichas e peixes foram menos freqüentes, estando presentes em 8,5%, 4,9% e 3,6% respectivamente, na composição do jantar.

No desjejum feito em casa, antes de irem à creche, o leite esteve presente na alimentação da maioria absoluta (56%) das crianças que fizeram essa refeição no domicílio. Igual proporção o tomou também à tarde, logo que chegaram em casa sendo que 27% delas consumiram o leite adicionado apenas de açúcar; 22% adicionando achocolatado, 12% com café; 11% com farinha de arroz e 6% com amido de milho.

Salgadinhos e refrigerantes estiveram presentes na alimentação de 10,9% e 21,9% das crianças, respectivamente, valores preocupantes, uma vez que tendem a aumentar com a idade dos pré-escolares.

Frutas e verduras para salada (predominando alface e tomate) tiveram ambos 14,6% de presença, ao lado do baixo valor de 3,6% dos legumes, destacam a pouca procura desses alimentos por parte das famílias.

A Tabela 1, ressalta que a participação da alimentação no domicílio, embora seja pequeno o tempo da criança acordada em casa, quando comparado com as 10 horas que ela passa na creche, não é desprezível, sendo seu teor energético médio, próximo daquele ingerido na instituição. A média de consumo calórico na creche foi de $46 \pm 14,6\%$, valor esse não muito diferente do referido para a criança em casa: $40 \pm 17,7\%$.

Tabela 1 Consumo energético diário das crianças, distribuídas segundo intervalos de adequação energética na creche, São Paulo, 1999

Intervalos de adeq. consumo na creche	No.	% de consumo creche	% de consumo casa	% de consumo total
<30	11	22,5	51,3	73,8
30 — 50	38	41,2	40,9	82,1
50 — 80	32	57,6	35,2	92,9
≥80	2	83,5	22,5	106,0
Total	83	46,1±14,6	39,7±17,7	85,7±19,9

A Tabela 2 categoriza o consumo dos pré-escolares estudados de acordo com a ingestão energética total do dia. A classificação foi fixada considerando a necessidade calórica por quilo de peso de uma população padrão (NCHS), e ainda, a idade e gênero da população amostral conforme registrado no Programa de Avaliação Nutricional Virtual Nutri (PHILIPPI et al., 1996).

Tabela 2 Adequação da dieta dos pré-escolares, município de São Paulo, 1999

Adequação energética	Categoria de consumo	Pré-escolares	
		No.	%
< P3	Deficiente	26	31,73%
P3 —— P10	Risco de deficiência	13	15,85%
P10 —— P90	Normal	36	43,90%
P90 —— P95	Risco de excesso	3	3,65%
> P95	Excesso	4	4,87%
	Total	82	100%

DISCUSSÃO

Apesar de ser substancial a oferta das refeições na creche, observou-se que nenhuma criança ingeriu a quantidade de alimentos suficientes para atender o consumo calórico adequado para sua idade. A participação da instituição nesse sentido, foi bastante deficiente. Apenas cinco crianças (6%) consumiram mais de 70% de suas necessidades energéticas diárias, enquanto duas delas não ingeriram sequer 20% da energia recomendada naquele local.

Chama a atenção a tendência estatisticamente significante (teste T pareado= -0,246; p=0,025) da compensação da ingestão calórica total do dia: se a criança come pouco na creche, ela acaba tentando complementar o necessário com a alimentação no domicílio.

Resultado semelhante foi observado por MANOEL (1986) que verificou, após a realização de inquérito alimentar por meio do método de observação direta, associado ao recordatório de 24 horas, que cerca de 71% dos pré-escolares de uma creche na periferia da zona Sul do município de São Paulo encontram-se com dietas deficientes em calorias. MANOEL (1986) mostra, ainda, que quando a creche fornecia alimentos em quantidades mais satisfatórias e havia restrição de alimentos no domicílio, a proporção de consumo na creche era satisfatória. No entanto, foi verificado que quanto menor a ingestão calórica no domicílio, maior é a ingestão calórica na instituição, mas mesmo assim é maior a carência energética da dieta.

Esse consumo bastante distanciado das necessidades calóricas da criança, como já referido, também foi encontrado em outros estudos. Também JANSEN (1988) concluiu ser baixa a ingestão calórica de crianças de um centro comunitário de Belo Horizonte,

avaliado por meio do método de pesagem direta. Estudo de LOPES FILHO (1992) mostra que o consumo energético é insuficiente em dois centros infantis para crianças de 4 a 7 anos em Campinas. O autor relata que no centro infantil onde as crianças utilizam o 'auto-serviço', a ingestão de alimentos e, conseqüentemente, da maioria dos nutrientes, foi maior. Ele sugere que sejam feitas investigações para se conhecer o consumo dos pré-escolares fora dos centros infantis, e estudos sobre os diferentes sistemas de distribuição de refeições (prato feito e auto-serviço).

Considerando o consumo na creche, não surpreende que a totalidade das crianças tenha se alimentado também em casa, ou seja, a alimentação da creche é sempre complementada em casa em seu aporte calórico.

O baixo consumo energético não é restrito à população brasileira. BRILEY et al. (1993) verificaram a média de consumo de apenas 40% da energia recomendada pelo *Recommended Dietary Allowances* (NRC, 1989) nos cardápios ofertados por 171 creches do Texas, Estados Unidos, para crianças de 3 a 5 anos, havendo também a preocupação com o que era consumido no domicílio.

No trabalho de AMARAL et al. (1996), uma creche em Ribeirão Preto, SP, tem a proposta de suprir 70% das necessidades nutricionais diárias, considerando o tempo de permanência de 9 a 10 horas, e a capacidade de absorção do organismo, sendo o restante, de responsabilidade da família. É uma proposta mais realista, considerando os dados disponíveis.

Mesmo considerando as necessidades quantitativas da criança e a meta da creche de atendê-las integralmente, não pode ser esquecido que o jantar em casa, com os outros membros da família, tem um significado que vai além da necessidade de alimentos: é a parte do dia, provavelmente única, em que as pessoas estão convivendo juntas, momento em que os valores culturais e familiares são passados às crianças. Devido à valorização desse convívio, além da complementação das necessidades energéticas diárias, o jantar no domicílio deve ser estimulado, em detrimento do chamado 'jantar' da creche, uma vez que lá, essa refeição não apresenta nem um bom aporte calórico, nem horário adequado para essa refeição, e muito menos um significado social especial no grupo.

Considerando a proposta de atendimento das necessidades diárias, em termos de operacionalização das refeições na instituição, e considerando que crianças podem regular sua ingestão energética no período de 24 horas, alternando menor ou maior ingestão de alimentos conforme a densidade energética da refeição anterior (BIRCH, 1998), o ideal seria que o lanche da tarde na creche fosse servido um pouco mais tarde que o horário habitual, e que fosse mais reforçado, ou seja, ofertando-se um cardápio contendo uma preparação com maior densidade calórica (leite ou suco, torta de frango/cuscuz e uma fruta, por exemplo) suprimindo-se o jantar. Pode-se deixar como opcional a preparação e oferecimento do jantar, como ele é concebido atualmente (ou seja, na apresentação de uma sopa) para apenas àqueles que quisessem.

Conforme AMARAL et al. (1996), o planejamento e a organização relacionados aos processos de introdução ou modificação de hábitos alimentares precisam ser efetuados de forma muito cautelosa, pois as ações realizadas acabam por interferir intensamente tanto na rotina familiar como nas representações das famílias acerca da alimentação e do papel da creche nesse processo.

Refeições são atos sociais, desde a elaboração do cardápio, até a distribuição das preparações, incluindo o comportamento e atitude do grupo, representando uma cultura coletiva local e regional. Adaptações a um esquema único, elaborado para fins de programação e compras são necessárias para o sucesso dos objetivos.

O jantar na creche é servido em horário inadequado, entre as 15h30 e 16 horas. Por ser o encerramento das atividades do dia, há inclusive uma simplificação de sua forma, bem distinta do almoço, quando o ambiente é mais estimulador.

Essa refeição deve ser repensada, por ser pouco aproveitada em termos calóricos, uma vez que as crianças comem um lanche em casa logo que chegam da creche, e mais tarde ainda comem o jantar, propriamente dito, junto com a família.

CONCLUSÕES

A análise da alimentação oferecida e consumida pelas crianças na creche e no domicílio, permitiram as seguintes conclusões:

Embora a oferta de alimentos seja suficiente para atender às necessidades energéticas das crianças na instituição, o consumo médio na creche está muito aquém do adequado (46,1+-15), sendo que mais da metade das crianças não atinge 50% das necessidades, mesmo considerando o consumo em casa e na instituição. Das 83 crianças estudadas, apenas duas consumiram a quantidade de calorias recomendada para elas.

O tempo de 10 horas de permanência na creche é insuficiente para permitir que seja atingido o total calórico recomendado para cada criança nas 24 horas. Há necessidade da alimentação da criança ser complementada em casa, uma vez que a creche não consegue suprir as necessidades energéticas do pré-escolar em sua totalidade

Todas as crianças alimentaram-se em casa, sem exceção. A alimentação no domicílio foi feita em até quatro refeições, sendo três após a saída da creche, das cinco horas da tarde até a criança dormir.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- AMARAL, M.F.M.; MORELLI V.; PANTONI R.V.; ROSSETI-FERREIRA, M.C.R. Alimentação de bebês e crianças pequenas em contextos coletivos: mediadores, interações e programações em educação infantil. *Rev. Bras. Cresc. Desen. Hum.* v.6, n. 1/2, p.19-23, 1996.
- BIRCH, L. Psychological influences on the childhood diet. *J.Nutr.* v.128, p.407-410S, 1998.
- BRILEY, M.E.; ROBERTS-GRAY, C.; ROWE, S. What can children learn from the menu at the child care center? *J. Community Health* v.18, n.6, p.363-77, Dec., 1993.
- ESTADOS UNIDOS. National Research Council. Recommended dietary allowances. 10th ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1989. 189p.
- JANSEN, A.K. Relatório das atividades desenvolvidas em alimentação e nutrição no Centro Comunitário do Fundo Cristão de Apoio à Criança na Favela Ventosa. Belo Horizonte, MG., 1988 (mimeo).
- LOPES FILHO, J.D. *Dieta consumida por pré-escolares em centros infantis.* São Paulo, SP., 1992. p.21-24, 47-53. Dissertação [Mestrado em Saúde Pública] Faculdade de Saúde Pública/Universidade de São Paulo.
- MANOEL, N.J. *Avaliação nutricional em pré-escolares da comunidade infantil do Jardim Sabiá.* São Paulo, SP., 1986. p. 29-32, 39-43. Dissertação. [Mestrado em Enfermagem] UNIFESP/Escola Paulista de Medicina.
- PHILIPPI, S.T.; SZARFARC, S.C.; LATTERZA, A.R. *Virtual Nutri – (Software), versão 1.0 for Windows.* Departamento de Nutrição, Faculdade de Saúde Pública/USP, São Paulo, 1996.
- São Paulo. Secretaria Municipal de Abastecimento. *Programas de Alimentação do Município de São Paulo.* São Paulo: SEMAB, 1996. p.25-36.
- SZARFARC S.C.; TUDISCO, E.S., GAMBARDELLA, A.M.D, VANNUCCHI, H. A. Avaliação do consumo energético: o uso de curvas padronizadas. *Cad. de Nutr.*, São Paulo, v.7, p.47-64, 1994.
- ZABOTTO, C.B.; VIANA, R.P.T.; GIL, M.F. *Registro fotográfico para inquéritos dietéticos: utensílios e porções.* Goiânia, DNUT/UFG, 30p. il.

Recebido para publicação em 12/06/03.

Aprovado em 30/06/03.

Lipoproteínas: uma revisão do seu metabolismo e envolvimento com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares

Lipoproteins: a review of its metabolism and implications on the progress of cardiovascular diseases

ABSTRACT

SALES, R.L.; PELUZIO, M.C.G.; COSTA, N.M.B. Lipoproteins: a review of its metabolism and implications on the progress of cardiovascular diseases. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. = J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v.25, p. 71-86, jun., 2003.

This article reviews the lipoproteins, from their formation to the development of the atheroma plate. It shows how cholesterol metabolism is processed, the interaction among lipoproteins, material exchanges and their constitution in the blood stream. It also shows cholesterol efflux, its importance on reverse transport and the lipoproteins involved in this process. Finally, it describes the role of lipoproteins in the development of cardiovascular diseases.

Keywords: lipoproteins;
atherosclerosis;
cardiovascular diseases

REGIANE LOPES DE SALES¹; MARIA DO CARMO GOUVEIA PELUZIO²; NEUZA MARIA BRUNORO COSTA³

^{1,2,3}Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa, MG

Endereço para

correspondência:

Departamento de Nutrição e Saúde/UFV Campus Universitário

CEP 36571-000

Viçosa, MG

e-mail:

regianel@yahoo.com

RESUMEN

Este trabajo examina las lipoproteínas desde su formación hasta el desarrollo de la placa de ateroma. Muestra el metabolismo del colesterol, la interacción entre las lipoproteínas, el intercambio de materiales y su constitución a través de su trayecto en la circulación sanguínea. Señala como ocurre el flujo de colesterol, su importancia para el transporte reverso y las lipoproteínas que están implicadas en el proceso. Finalmente, el papel de las lipoproteínas en el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave: lipoproteínas; aterosclerosis; enfermedades cardiovasculares

RESUMO

O artigo aborda as lipoproteínas, desde a sua formação até o desenvolvimento da placa de ateroma. Mostra como se processa o metabolismo colesterol, a interação entre as lipoproteínas, trocas de material e sua constituição no seu percurso na circulação sanguínea. Aponta como ocorre o efluxo de colesterol e sua importância para o transporte reverso e as lipoproteínas envolvidas. E, por fim, o papel das lipoproteínas no desenvolvimento das doenças cardiovasculares.

Palavras-chave: lipoproteínas; aterosclerose; doenças cardiovasculares

INTRODUÇÃO

Os lipídios são moléculas importantes no metabolismo corporal como um todo, e têm diversas funções no organismo – os ácidos graxos, fonte de energia, participam da síntese de prostaglandinas e fornecem acetil coenzima A (Acetil-CoA) para a síntese de outros lipídios; os triacilgliceróis (TAG) são a forma de armazenamento energético mais importante no organismo, constituindo depósitos no tecido adiposo e muscular; os fosfolipídios têm, entre outras, a função primordial de formar a bicamada que é a estrutura básica das membranas celulares; o colesterol é precursor dos hormônios esteróides, dos ácidos biliares, da vitamina D, além de ter importantes funções nas membranas celulares, influenciando na sua fluidez e no estado de ativação de enzimas ligadas a membranas (MARTINEZ et al., 1997; SBC, 2001).

No entanto, em excesso, os lipídios estão envolvidos no desenvolvimento de doenças cardiovasculares sendo julgados como responsáveis pelo desenvolvimento da aterosclerose, que pode ser vista como “resposta à injúria”, onde as lipoproteínas e outros fatores de risco são os agentes que iniciam o processo de inflamação, responsável pela principal causa de morte e invalidez na nossa sociedade (LUSIS, 2000; SCHAEFER, 2001). Assim, faz-se necessária a compreensão do metabolismo das lipoproteínas e sua correlação com o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.

TRANSPORTE DE LIPÍDIOS NA CIRCULAÇÃO SANGUÍNEA

Devido à sua natureza hidrofóbica, os lipídios, após sua absorção, são transportados no plasma pelas lipoproteínas – partículas formadas por uma capa hidrofílica constituída por fosfolipídios, colesterol livre e proteínas, envolvendo um núcleo hidrofóbico que contém TAG e colesterol esterificado (CONSENSO, 1996).

As proteínas que constituem as lipoproteínas são denominadas apolipoproteínas ou apoproteínas (apo). As apoproteínas exercem diversas funções no metabolismo das lipoproteínas como: montagem da partícula, o meio ligante a receptores de membrana que as captam para o interior da célula (apo B-48, apo B-100 e E) ou co-fatores enzimáticos (apo C-II, C-III e A-I); (SBC, 2001) (Tabela 1).

Tabela 1 Apolipoproteínas e suas funções

Apolipoproteína	Associação com lipoproteínas	Função
Apo A-I	HDL	Ativa LCAT, interage com transportador ABC
Apo A-II	HDL	Inibe LCAT
Apo A-IV	QM, VLDL, HDL	Modula atividade da LCAT e LPL, inibe per oxidação lipídica
Apo B-48	QM	
Apo B-100	VLDL, LDL	Ligante do receptor LDL
Apo C-I	VLDL, HDL	
Apo C-II	QM, VLDL, HDL	Ativa a lipase lipoprotéica
Apo C-III	QM, VLDL, HDL	Inibe a lipase lipoprotéica
Apo D	HDL	Atua na esterificação do colesterol junto a Apo A-I.
Apo E	QM, VLDL, HDL	Gatilho de remoção dos remanescentes de VLDL e QM
Apo J	HDL	

Fontes: NELSON e COX, 2000; FERRETTI et al., 2002; DESAI et al., 2002; Abreviaturas: Apo: apolipoproteína; HDL; QM: quilomícron; VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; LCAT: lecitina-colesterol-acil-transferase; ABC: transportador classe A, envolvido no efluxo de colesterol. LPL: lipase lipoprotéica.

De acordo com sua densidade e mobilidade eletroforética, as lipoproteínas são classificadas em quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL). As grandes classes de lipoproteínas – como as VLDL, as LDL e as HDL não são compostas de partículas homogêneas, apresentam subclasses distintas de tamanho, densidade e composição química. Tais subclasses podem ser separadas por técnicas de eletroforese, ultracentrifugação e outras (SBC, 2001).

Os quilomícrons são sintetizados nas células da mucosa intestinal, têm um núcleo central composto de grande quantidade de triacilgliceróis (80 a 95%) e uma pequena quantidade de ésteres de colesterol derivados da gordura ingerida com a dieta. Sua principal proteína estrutural é a apoproteína B-48 (TEIJERA e RAMOS, 1998).

As VLDL são produzidas no fígado e se caracterizam pelo seu alto conteúdo de triacilgliceróis. A apoproteína principal é B-100, mas contém também apo C-II e apo E na sua superfície (TEIJEIRA e RAMOS, 1998).

Já as lipoproteínas LDL, possuem o núcleo central composto quase exclusivamente de ésteres de colesterol e na superfície só uma proteína (a apo B-100). Os indivíduos podem ser categorizados de acordo com a predominância de partículas grandes, menos densas (fenótipo A) ou pequenas, mais densas (fenótipo B) (LAMARCHE et al., 1997).

As lipoproteínas HDL são formadas em sua maior parte por ésteres de colesterol e recobertas pelas apoproteínas; a apo A-I é a principal. Contêm também em menor quantidade, as apo A-II, apo A-IV; apo Cs, apo E e apo J. Algumas proteínas associadas com a HDL têm atividade enzimática como: LCAT (lecitina-colesterol-acil-transferase), CETP (proteína de transferência de éster de colesterol), PLTP (proteína de transferência de fosfolípidos), hidrolase acetil-PAF, esterase e paraoxonase. Todas importantes para o metabolismo do colesterol (NOFER et al., 2002; LUSIS, 2000).

A HDL tem sido usualmente subdividida em várias frações nomeadas segundo sua densidade, tamanho e mobilidade eletroforética (pré β 1-HDL, pré β 2-HDL, α 3-HDL, α 2-HDL e α 1-HDL), ou constituição (Lp A-I, Lp A-I:A-II – classificadas quanto à ausência e presença da apo A-II, respectivamente; Lp CIII, Lp CIII:B - classificadas quanto à ausência e presença da apo B, respectivamente e Lp E, Lp E:B – classificadas também quanto à ausência e presença da apo B, respectivamente) (SVIRIDOV e NESTEL, 2002; MONTOYA, 2002).

METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS

CICLO EXÓGENO

A principal via pela qual os lipídios entram na circulação sanguínea é através dos quilomícrons. São partículas formadas no intestino, onde a apo B-48 se combina com os lipídios por ação da proteína microsomal de transferência (MTP) (SCHAEFER, 2001). Na fase pós-prandial, os QM são despejados nos vasos linfáticos, passam pelo ducto torácico e entram na circulação sistêmica na altura da veia subclávia. Os QM são as maiores lipoproteínas, surgem no plasma por volta de 60 minutos após a ingestão de gordura e são usualmente removidos da circulação nas 6 a 8 horas seguintes (GIBNEY e WILLIAMS, 1993).

Na circulação sistêmica, os QM realizam trocas com as HDL, adquirindo apo C-II, apo C-III, apo E, colesterol livre, colesterol esterificado e fosfolípidos. As HDL, por sua vez, recebem partes da apo A-I e IV dos QM (GIBNEY e WILLIAMS, 1993).

Uma vez adquirida a apo C-II, os QM tornam-se capazes de ativar a lipase lipoprotéica (LPL), enzima localizada no endotélio, responsável pela hidrólise dos TAG nos QM e VLDL (GIBNEY e WILLIAMS, 1993).

A hidrólise de TAG dos QM resulta em partículas menores, chamadas de QM remanescentes, relativamente enriquecidas com proteína, com superfície coberta com colesterol livre e fosfolípidos, que são transferidos para a HDL para manter a estabilidade das partículas de QM. A transferência da apo C-II, aliada ao aumento da inacessibilidade do núcleo dos QM ao sítio ativo da LPL, resulta na interrupção da remoção de TAG. A apo B-48 e a apo E permanecem nas partículas de QM remanescentes, que são retirados da circulação pelo fígado, através de um receptor próprio, diferente do receptor B100/E, que capta a LDL (GIBNEY e WILLIAMS, 1993).

CICLO ENDÓGENO

O metabolismo dos lipídios endógenos tem início com a síntese hepática da VLDL, onde a enzima MTP combina os lipídios com a apo B-100 (SCHAEFER, 2001). Ao captar ésteres de colesterol e apolipoproteínas C-II, C-III e E recebidas da HDL no plasma, as partículas de VLDL se tornam capazes de interagir com a enzima LPL do endotélio capilar, liberando ácidos graxos aos tecidos, a partir de TAG que esta lipoproteína carrega.

Outra troca que ocorre entre VLDL e HDL é a transferência de apo C e apo E para a HDL. E, num período de 3 a 6 horas, devido às várias alterações na sua composição que ocorrem com a metabolização dos seus constituintes, as VLDL passam a ser classificadas como IDL, lipoproteínas de densidade intermediária, que têm uma meia-vida curta (TEIJEIRA e RAMOS, 1998). Essas partículas seguem dois caminhos: cerca de dois terços das IDL podem ser captados no fígado e degradados em seus componentes; o terço restante sofre ação da lipase hepática, formando a LDL. Tanto a LDL como a IDL são retiradas da circulação pelos receptores celulares B100/E, existentes principalmente no fígado. Essa captação da LDL e a liberação do colesterol, no fígado em particular, tem 3 efeitos importantes: inibição da síntese endógena de colesterol; ativação da LCAT, para esterificação e armazenamento do colesterol; bem como a diminuição do número de receptores para apo B-100 na membrana dos hepatócitos, aumentando com isso, seu nível plasmático (MARTINEZ et al., 1997).

O transporte reverso de colesterol é uma via de transporte que remove o colesterol das células extra-hepáticas para o fígado e talvez para o intestino, para excreção. Ainda pela redução do acúmulo de colesterol das paredes das artérias, esse transporte previne o desenvolvimento de aterosclerose. Este processo é determinado parcialmente pela concentração plasmática de HDL, apo A-I e pelo metabolismo entre as subclasses de HDL (pré β 1-HDL em pré β 2-HDL principalmente). E está negativamente correlacionado com a incidência de doenças cardiovasculares (DCV) (SVIRIDOV e NESTEL, 2002).

O transporte reverso de colesterol segue 5 passos: 1) retirada do colesterol das células extra-hepáticas por aceptores específicos (efluxo de colesterol); 2) esterificação do colesterol dentro da HDL por ação da enzima LCAT; 3) transferência do colesterol para lipoproteínas que contêm a apo B; 4) remodelagem da HDL e 5) captura da HDL pelo fígado, rim e, possivelmente, intestino delgado (SVIRIDOV e NESTEL, 2002).

O precursor inicial do transporte reverso é uma partícula de apo A-I, sintetizada e secretada pelo fígado, pobre em lipídio que rapidamente adquire colesterol livre e fosfolipídios de tecidos através do receptor ABCA1 (transportador A1 cassete ligante de adenosina trifosfato) na superfície das células (ORAM, 2002), formando a pré β 1-HDL. O acúmulo de colesterol nesta partícula promove sua conversão a pré β 2-HDL e a esterificação do colesterol pela LCAT e aquisição de mais apoA-I leva à maturação da mesma, formando o α 3-HDL. Esta partícula adquire mais colesterol, continua a esterificação do mesmo e assim se transforma na α 2-HDL e α 1-HDL. Posteriormente, a α 1-HDL realiza trocas de

colesterol esterificado e triacilgliceróis com outras lipoproteínas através da ação da enzima CETP. Transfere ainda fosfolipídios para essas outras lipoproteínas pela ação da PLPT e, por fim é capturada pelo fígado e tecidos esteroideogênicos através de um receptor varredor chamado de SR-B1. Com essas modificações, a apoA-I se dissocia do colesterol e dos fosfolipídios. Os triacilgliceróis e fosfolipídios são hidrolisados pela lipase hepática e o material restante é remodelado para formação da α 3-HDL e partícula de apoA-I livre, para recomeçar o ciclo ou catabolisadas no rim pelas proteínas megalina e cubulina (ORAM, 2002; SVIRIDOV e NESTEL, 2002).

O receptor ABCA1 controla o efluxo de colesterol dos tecidos e dos macrófagos. Ele se localiza na superfície da célula, e está envolvido no reconhecimento da partícula de apo A-I e na sua associação com fosfolipídios e colesterol livre. Os mecanismos de transporte deste receptor ainda não estão bem compreendidos, mas evidências sugerem que ele é o “porteiro” do efluxo de colesterol, e que sua elevada expressão gênica esteja diretamente relacionada ao nível de HDL no plasma, diminuindo os riscos de DCV e retirando o excesso de colesterol das células extra-hepáticas (ORAM, 2002).

Aproximadamente 9mg de colesterol/kg de peso corporal/dia sintetizados pelos tecidos periféricos vão ser transportados para o fígado para o catabolismo, onde pode ser excretado na bile (principal via para eliminação), ou reabsorvido (circulação êntero-hepática) (CONSENSO, 1996).

Apesar da HDL exercer um papel importante no transporte reverso, 80% do colesterol captado e esterificado nas partículas de HDL são transportados para outras lipoproteínas (1500mg/dia), por ação da enzima CETP (GIBNEY e WILLIAMS, 1993).

Na Figura 1 mostra-se resumidamente o metabolismo das lipoproteínas na circulação. Foram omitidas as trocas das apolipoproteínas entre as classes de lipoproteínas.

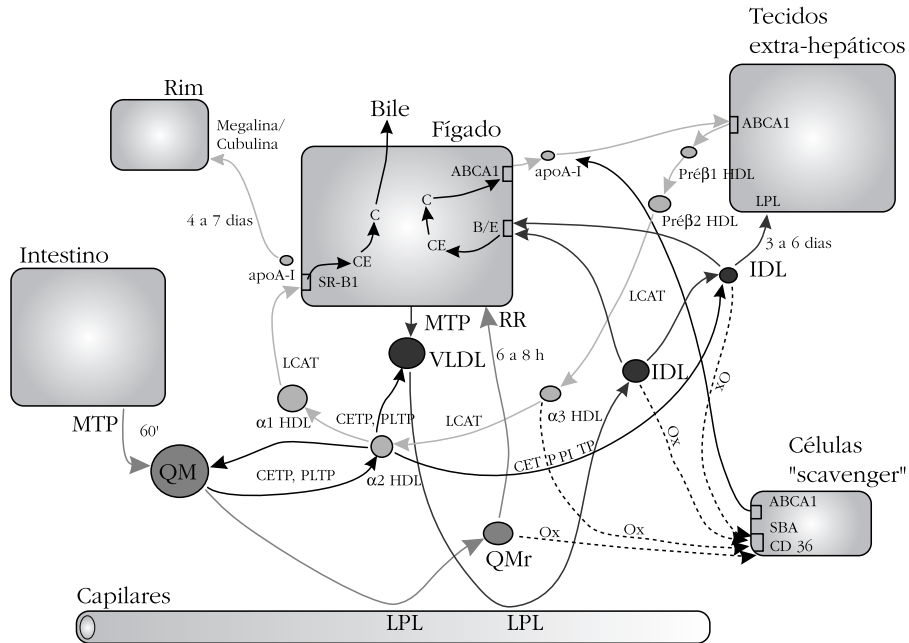


Figura 1 Metabolismo das lipoproteínas. Lipoproteínas: QM: quilomícrom, QMr: quilomícrom remanescente, VLDL: lipoproteína de muito baixa densidade, IDL: lipoproteína de densidade intermediária, LDL: lipoproteína de baixa densidade, PRÉ β_1 HDL, PRÉ β_2 HDL, α_3 HDL, α_2 HDL, α_1 HDL: lipoproteínas de alta densidade; Enzimas: CETP: proteína de transferência de éster de colesterol; PLTP: proteína de transferência de fosfolípidios; LCAT: lecitina-colesterol-acil-transferência; MTP: proteína microsomal de transferência; Receptores: SR-B1: Receptor scavenger B1; ABCA1: transportador A1 cassete ligante de adenosina trifosfato; CD 36: receptor membro da família do scavenger, classe B; RR:receptor de remanescentes; B100/E; proteínas: Megalina, cubulina; Apolipoproteína: ApoA-I; CE (colesterol esterificado), C (colesterol livre); Ox: oxidado. As setas pontilhadas identificam a captura por células "scavenger" como macrófagos. As setas pretas mostram a interação entre as lipoproteínas e o metabolismo do colesterol no fígado. Os lipídios ingeridos na dieta são ordenados na partícula de QM pela ação da MTP, o QM cai na circulação sanguínea, troca material com outras lipoproteínas, passa pelos capilares onde sofre ação da LPL e então passa a ser classificado como QMr, que pode ser capturado pelo fígado, oxidado ou, pode ficar retido nas células "scavenger". O fígado produz VLDL que é montada com lipídios e apoproteína pela ação da MTP, passa pelos capilares sanguíneos liberando material para as células, sofre rearranjos e alterações na composição e tamanho passando por IDL até formar LDL, que leva colesterol aos tecidos ou pode ser capturada pelo fígado pelo receptor B/E. A HDL inicia seu processo de transporte reverso na partícula de apoA-1 que passa pelos transportador ABCA1 recebendo colesterol, passa por esterificação através da LCAT troca material com outras lipoproteínas até chegar ao fígado, onde é capturada pelo receptor SR-B1, sendo metabolizada e o colesterol direcionado para a vesícula biliar. A partícula de apoA-1 recomeça o ciclo ou é catabolizada pelos rins através das proteínas megalina e cubulina. Tanto os QMr, como HDL pequenas, IDL e LDL quando oxidadas são capturadas por células "scavenger" que exibem os receptores SBA e CD 36, iniciando o processo de aterosclerose

LIPOPROTEÍNAS E PROCESSO ATEROSCLERÓTICO

Estudos epidemiológicos têm demonstrado, de maneira geral, que o aumento de colesterol total, LDL colesterol e TAG, assim como a redução da HDL, constituem fatores de risco de primeira importância para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (SHAEFER et al., 2001).

Indivíduos com o “fenótipo B” apresentam elevados níveis de triacilgliceróis plasmáticos, concentrações reduzidas de HDL e maior risco de doença arterial coronária (DAC), quando comparado ao fenótipo A. Embora o fenótipo B seja determinado geneticamente, sofre forte influência de sexo, idade e fatores ambientais, como obesidade abdominal, uso de contraceptivos orais e a concentração de gordura e carboidratos da dieta. LAMARCHE et al. (1997), entretanto, concluíram que as LDL fenótipo B podem estar associadas com o aumento de DCV em homens, sem qualquer relação com a variação da concentração de LDL, TAG, HDL e apoB. Ou seja, representam um risco independente para a DCV.

Os níveis de TAG são os maiores determinantes do tamanho da LDL; em alta concentração, estão positivamente correlacionados com partículas de LDL do fenótipo B (OBERMAN, 2000). A redução dos níveis plasmáticos de colesterol e triacilgliceróis por meio de dieta e hipolipemiantes orais pode modificar o perfil de subclasses de LDL, promovendo aumento da concentração das partículas maiores e redução da concentração das menores (SBC, 2001).

Apesar de apresentar correlação menor com as DCV que a concentração de LDL, estudos recentes consideram o nível de TAG um fator de risco independente para DCV (SHAEFER, 2001 e HOKANSON, 1996). Indiretamente estão relacionados ao aumento do risco, porque há uma relação inversa entre a concentração de TAG e os níveis de HDL plasmáticos. Quando os níveis de TAG estão altos, os de HDL estão baixos e vice-versa (SCOTT e GRUNDY, 1986). Ainda não foi esclarecido se os altos níveis de TAG levam a aterosclerose ou se a partir desses níveis elevados são desencadeados outros fatores que conduzem às DCV.

Como conseqüência do alto nível de TAG, surge uma subclassificação ainda difícil de ser mensurada pelos métodos laboratoriais disponíveis, são as partículas remanescentes de QM e VLDL. Altas concentrações de lipoproteínas ricas em TAG e seus remanescentes, e baixos níveis de HDL, aumentam a probabilidade do colesterol contido na HDL passar para outras lipoproteínas, interferindo no transporte reverso do colesterol e alterando a composição dessas partículas (GIBNEY e WILLIAMS, 1993). E, por serem partículas pequenas, são infiltráveis na parede arterial, tornando-se tão aterogênicas quanto a LDL (SCHAEFER et al., 2001).

Os remanescentes estão sempre elevados nos portadores de DCV, sendo os mais precisos marcadores desta doença. E podem competir com outras lipoproteínas para serem metabolizadas, diminuem a conversão de VLDL em LDL via lipólise, e diminuem

também o catabolismo da LDL reduzindo o número de receptores LDL no fígado (SCHAEFER et al., 2001).

Sabe-se ainda que elevadas concentrações de HDL colesterol estão associadas a menores riscos para enfermidades cardiovasculares. Os dados disponíveis sobre os efeitos cardioprotetores da HDL ainda são controversos, não se sabe ainda se os mesmos podem ser atribuídos a uma ou todas as subfrações da HDL (HDL₂ e HDL₃). A sub-fração de HDL₂ é menos densa e de maior tamanho, enquanto a sub-fração de HDL₃ é mais densa e de menor tamanho. LAMARCHE et al. (1997) avaliaram os níveis de HDL de 944 homens, dos quais 83 desenvolveram doença isquêmica do coração num período de 10 anos. Estes apresentavam níveis mais baixos de HDL, HDL₂ e HDL₃ comparados aos que não desenvolveram a doença. A contribuição da HDL₂ e HDL₃ foram semelhantes no modelo de multivariância que incluiu ambas subfrações. Embora a contribuição da HDL₂ tenha sido estatisticamente significativa, o que não ocorreu com HDL₃, estes dados sugerem que a HDL₂ pode ser mais atuante no efeito protetor da doença isquêmica do coração que a HDL₃. No entanto, os autores citam que a diferença entre elas foi pequena, e que só por este experimento não é possível excluir os efeitos cardioprotetores da HDL₃.

As diferentes sub-frações da HDL têm atraído a atenção de diversos pesquisadores, que procuram observar o seu metabolismo e a relação com o TRC. Diversas dietas foram testadas em diferentes populações, sexos, faixas etárias, percentual de gordura, índice de massa corporal (IMC), dentre outros (MONTROYA et al., 2002; LYU, et al., 2001; VÉLEZ-CARRASCO et al., 1999; LAMARCHE et al., 1997a; VAJO et al., 2002; DIEDERICH et al., 2001). No entanto, os mecanismos e os fatores que interferem para elevar ou diminuir cada subfração ainda não foram muito bem esclarecidos.

A partícula de HDL que contém somente apoA-I (LpA-I) tem sido considerada anti-aterogênica, enquanto a partícula que contém tanto a apoA-I como a apoA-II (LpA-I/A-II) tem efeito neutro ou pró-aterogênico. Da mesma forma, a razão entre as subfrações da HDL com apo C-III e apo E (ex: Lp C-III / Lp C-III:B e Lp E / Lp E:B) tem sido sugerida como um potencial marcador de DCV. Outro tipo de lipoproteína contendo apenas apo E (γ Lp E) tem sido proposto como elemento responsável pelo efluxo de colesterol (MONTROYA et al., 2002).

Em estudo realizado por MARTINEZ (1997) foi encontrada correlação positiva entre apo B e DCV, assim como a apo E também apresentou uma correlação positiva com o risco para DCV através de seu polimorfismo. Algumas evidências sugerem que o locus da apo E possa estar envolvido na determinação dos níveis plasmáticos dos lipídios e lipoproteínas. Os indivíduos homocigotos (E₂/E₂), que representam 1% da população, apresentam um potencial para desenvolver beta-dislipoproteinemia do tipo III. Nesses indivíduos, a capacidade de ligação da apo E₂ com o receptor pode variar de muito defeituosa a quase normal, dependendo do contexto genético ambiental. Portanto, são necessárias anormalidades metabólicas adicionais para que eles exibam a hiperlipidemia, como diabetes, hipotireoidismo e obesidade (MARTINEZ, 1997).

Cerca de 30 a 35% da massa total da HDL é constituída de apo A-I; à medida que seu nível diminui na partícula, o risco cardiovascular aumenta. VELEZ-CARRASCO et al. (1999), comparando os efeitos do consumo de uma dieta baixa em gordura, ácidos graxos saturados e colesterol (recomendação segundo American Heart Association / National Cholesterol Education Program Step II) com a dieta normocalórica / normolipídica, encontraram uma redução no colesterol total, porém, foram também reduzidos os níveis de HDL e de apoA-I. Examinando mecanismos que levaram a esses efeitos, foi observada uma redução na secreção da apo A-I, o que pode ajudar a explicar porque dietas muito restritas em lipídios e ricas em carboidratos, como as citadas acima, não têm sido muito eficazes na prevenção das DCV.

Vários outros estudos revelam efeitos anti-aterogênicos que são exercidos pela HDL: a) inibição da quimiotaxia de monócitos; b) inibição de adesão de monócitos às células endoteliais; c) inibição da oxidação de LDL; d) inibição da disfunção endotelial induzida pela LDL-oxidada e apoptose; e) estímulo da síntese endotelial de prostaciclina e fator C natriurético (CNP); g) estímulo do efluxo de colesterol de macrófagos e células espumosas, aumentando a atividade do ABCA1; h) estímulo de proliferação de células musculares lisas; i) inibição da ativação de plaquetas; j) inibição do fator X de ativação e estimulação de proteína C (NOFER et al., 2002).

A Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC, 2001) estabeleceu novos valores de referência dos lipídios para indivíduos acima de 20 anos (Tabela 2), quais sejam, LDL abaixo de 100mg/dL; HDL acima ou igual a 40mg/dL; e triacilgliceróis inferiores a 150mg/dL.

Tabela 2 Valores de referência dos lipídios para indivíduos > 20 anos de idade

Lipídios	Valores (mg/dL)	Categoria
CT	<200	Ótimo
	200 – 239	Limítrofe
	= 240	Alto
LDL-C	< 100	Ótimo
	100 – 129	Desejável
	130 – 159	Limítrofe
	160 – 189	Alto
	=190	Muito alto
HDL-C	< 40	Baixo
	> 60	Alto
TAG	< 150	Ótimo
	150 - 200	Limítrofe
	200 – 499	Alto
	= 500	Muito alto

Fonte: SBC, 2001; Abr eviaturas: CT: colesterol total; LDL-C: LDL colesterol; HDL-C: HDL colesterol; TAG: triacilgliceróis.

Apesar da recomendação quanto aos níveis de lipoproteínas e triacilgliceróis, dispõe-se cada vez mais de dados, demonstrando que mesmo quando o indivíduo apresenta concentrações normais de lipídios plasmáticos, podem ocorrer alterações na composição

de certas subclasses de lipoproteínas, que levam ao desenvolvimento de enfermidades cardiovasculares (POZA et al., 2001, YU-POTH et al., 2000, KUBOW, 1996). Assim, torna-se importante o conhecimento do tamanho e constituição das lipoproteínas, que são reflexo da alimentação e dos fenótipos gerados de polimorfismos de enzimas, apolipoproteínas, receptores celulares, dentre outros.

Tanto fatores ambientais como genéticos são determinantes importantes dos níveis plasmáticos de colesterol ou das lipoproteínas. Da interação entre eles resulta um perfil lipoprotéico típico para diferentes indivíduos, populações e espécies (MARTINEZ, 1997).

A base metabólica para a variação da concentração plasmática das lipoproteínas não é bem conhecida, mas considerável parte dela pode ser controlada geneticamente, potencialmente por genes que codificam apolipoproteínas, enzimas lipases, proteínas de transferência de lipídios, e receptores envolvendo a regulação das lipoproteínas. Exceto para as mutações no gene para o receptor de LDL (i.e., hipercolesterolemia familiar), nenhum outro marcador genético para a resposta dietética foi satisfatoriamente identificado (RANTALA et al., 2000).

Uma outra classe de lipoproteína, denominada Lp(a) tem recebido atenção especial. A Lp(a) é muito semelhante à LDL, porém, além da apo B-100, presente na LDL, a Lp(a) apresenta uma segunda apoproteína, denominada apo (a), que está ligada à apo B-100 por pontes dissulfeto. Embora sua síntese e metabolismo não sejam ainda completamente conhecidos, sabe-se que são independentes das demais lipoproteínas e que seus níveis plasmáticos são pouco influenciados pela dieta (KOSCHINSKY et al., 1993; SAKURABAYASHI et al., 2001).

A semelhança em cerca de 80% dos aminoácidos que compõem a apo(a) com o plasminogênio, dá suporte à possibilidade da Lp(a) contribuir para a trombogênese, ao competir com sítios do plasminogênio (LAWN, 1992). Altas concentrações de Lp(a) têm sido associadas com elevado risco de DCV. Por sua similaridade a essa proteína fibrinolítica, a apo(a) liga-se à rede de fibrina na luz arterial, sem contudo degradá-la, impedindo, assim, a destruição do trombo na área da lesão aterosclerótica, aumentando o risco de obstrução e isquemia (LEITE et al., 2003). Em indivíduos com altos níveis de Lp(a), a razão apoB/apoA-I também é maior – um fator adicional para o desenvolvimento de DCV. Também estão aumentadas as quantidades de apo CII e CIII (SAKURABAYASHI et al., 2001).

Um outro aspecto interessante relacionado a Lp(a) diz respeito ao fato de que os fatores nutricionais, atividade física e fatores hormonais, os quais apresentam significativa influência nos níveis de colesterol e de TAG, dificilmente apresentam algum impacto sobre os níveis de Lp(a) (MARTINEZ, 1997). Curiosamente, GINSBERG et al. (1998), em um estudo sobre os efeitos da redução na ingestão de gordura saturada e gordura total, encontraram que a concentração de Lp(a) foi maior para aqueles que reduziram a ingestão de gordura saturada.

FORMAÇÃO DE PLACAS DE ATEROMAS

A hipótese oxidativa da aterosclerose sugere que o processo aterosclerótico possa ser iniciado pelo acúmulo de LDL e outras lipoproteínas que contêm a apo B – Lp(a) e

remanescentes principalmente – na matriz subendotelial. O acúmulo será maior quanto mais altos os níveis dessas lipoproteínas circulantes. A LDL nativa não é captada pelos macrófagos até que seja modificada oxidativamente na parede dos vasos. Após as modificações incluindo oxidação, lipólise, proteólises e agregações, o processo inflamatório se intensifica, levando à formação da estria gordurosa (primeiro evento na formação do ateroma) (LUSIS, 2000).

As LDLs modificadas induzem a quimiotaxia dos monócitos, são tóxicas para as células endoteliais e fazem com que a apo B-100 seja reconhecida pelos receptores “varredores” de lipídios, na superfície dos macrófagos, de modo que estes interiorizam muitas partículas de LDL, transformando-se em células espumosas. As células endoteliais, estimuladas por LDL oxidadas liberam o fator de crescimento de colônias de granulócitos e monócitos (GM-CSF) e múltiplas substâncias pró-inflamatórias, que promovem a inflamação local e a disfunção endotelial na tentativa de reverter o processo. O acúmulo de lipídios na parede vascular e a liberação de fatores de crescimento e citocinas, favorecem a migração de células musculares lisas para a íntima, que proliferam e secretam fibras de colágeno que formarão a capa fibrosa de ateroma (TEIJEIRA e RAMOS, 1998).

A placa fibrosa ou placa avançada ou lesão complicada possui uma superfície coberta por uma capa de espessura variada, consistindo de várias camadas de células musculares lisas cercadas de uma matriz densa de tecido conjuntivo que contém colágeno, fibras elásticas e proteoglicanas. A formação da lesão avançada está usualmente associada à contínua diminuição da espessura da camada média da artéria, resultante da migração das células musculares lisas para a camada íntima e multiplicação das células musculares na íntima durante o desenvolvimento e progressão da lesão (PELUZIO, 2002).

As clássicas complicações da aterosclerose são: a calcificação da lesão, que pode levar à rigidez do vaso; fissura ou ulceração na placa com formação de trombo no sítio da lesão. Os trombos podem ocluir o vaso, causando infarto; hemorragia dentro da placa, que pode resultar em estreitamento adicional do lúmen do vaso; aumento da fragilidade da placa fibrosa e perda da elasticidade da parede do vaso e (COLLINS, 1996).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Controlar os níveis plasmáticos das lipoproteínas é passo essencial para o tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares, uma vez que elas estão intimamente relacionadas com o desenvolvimento da placa aterosclerótica. É igualmente importante a prevenção da oxidação das lipoproteínas e a conseqüente formação das células esponjosas, bem como controlar os níveis de triacilgliceróis, que estão relacionados com a constituição e tamanho das partículas de LDL.

Conhecer o metabolismo das lipoproteínas e os pormenores envolvidos na sua síntese e catabolismo, e das apolipoproteínas que as constituem é fundamental para se estabelecer medidas terapêuticas para controle da dislipidemia, sugerir tratamento dietoterápico e prevenir as doenças cardiovasculares.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCA1	Transportador A1 cassete ligante de adenosina trifosfato
Acetil-Coa	Acetil - coenzima A
Apo	Apolipoproteína
CD 36	Receptor da família scavenger classe B
CETP	Proteína de transferência de éster de colesterol
CNP	Fator C natriurético
DAC	Doença arterial coronariana
DCV	Doenças cardiovasculares
GM-CSF	Fator de crescimento de colônias de granulócitos e monócitos
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA redutase	Hidroxi-metil-glutaril CoA redutase
IDL	Lipoproteína de densidade intermediária
LCAT	Lecitina-colesterol-acil-transferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MTP	Proteína microsomal de transferência
PLTP	Proteína de transferência de fosfolipídios
QM	Quilomícron
RR	Receptor de remanescente
SR-B1	Receptor Scavenger B1
TAG	Triacilgliceróis
TRC	Transporte reverso de colesterol
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- COLLINS, T. Elements of vascular pathobiology. In: Sirica, A.E. (Ed.) *Cellular and molecular pathogenesis*, Philadelphia, New York, 1996, 557p.
- CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DISLIPIDEMIAS, 2º. Detecção, avaliação, tratamento. *Arq. Bras. Cardiol.* v. 67, p.1-16, 1996.
- DESAI, P.P.; BUNKER, C.H.; UKOLI, F.A.M.; KAMBOH, M.I. Genetic variation in the apolipoprotein D gene among African blacks and its significance in lipid metabolism. *Atherosclerosis*, v.163, n.2, p. 329-338, 2002.
- DIEDERICH, W.; ORSÓ, E.; DROBNIK, W.; SCHMITZ, G. Apolipoprotein A-I and HDL3 inhibit spreading of primary human monocytes through a mechanism that involves cholesterol depletion and regulation of CDC42. *Atherosclerosis*, v.159, p. 313-324, 2001.
- FERRETTI, G.; BACCHETTI, T.; BICCHIEGA, V.; CURATOLA, G. Effect of human apo A-IV against lipid peroxidation of very low density lipoproteins. *Chem. Phys. Lipids*. v.114, p. 45-54, 2002.
- GIBNEY, S.S.M.J.; WILLIAMS, C.M. Postprandial lipoprotein metabolism. *Nutr. Res. Rev.* v.6, p. 161-183, 1993.
- GINSBERG, H.N.; KRIS-ETHERTON, P.; DENNIS, B.; ELMER, P.J.; ERSHOW, A.; LEFEVRE, M.; PEARSON, T.; ROHEIM, P.; REED, R.; STEWART, K.; STEWART, P.; PILLIPS, K.; ANDERSON, N. Effects of reducing dietary saturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in healthy subjects. The delta study, protocol 1. *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.*, v.18, p.441-449, 1998.
- HOKANSON, J. E.; AUSTIN, M.A. Plasma triglyceride level as a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J. Cardiovasc. Risk* v.3, p. 213-219, 1996.
- KOSCHINSKY, M.L.; COTE, G.P.; GABEL, B.; van der HOEK YY. Identification of the cysteine residue in apolipoprotein(a) that mediates extracellular coupling with apolipoprotein B100. *J.Biol.Chem.* v.268, p. 19819-19825, 1993.
- KUBOW, S. The influence of positional distribution of fatty acids in native, inter esterified and structure-specific lipids on lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J. Nutr. Biochem*, v.7, p. 530-541, 1996.
- LAMARCHE, B.; MOORJANI, S.; CANTIN, B.; DAGENAIS, G.R.; LUPIEN, P.J.; DESPRÉS, J.P. Associations of HDL₂ and HDL₃ subfractions with ischemic heart disease in men: Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study *Arterioscl. Throm. Vasc. Bio.* v. 17, p. 1098-1105, 1997a.
- LAMARCHE, B.; TCHERNOF, A.; MOORJANI, S.; CANTIN, B.; DAGENAIS, G.R.; LUPIEN, P. J.; DESPRÉS, J.P. Small, dense low-density lipoprotein particles as a predictor of the risk of ischemic heart disease in men: Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Circulation*, v.95 p. 69-75, 1997.
- LAWN, R.M. Lipoprotein(a) in heart diseases. *Scientific Am.*, v.246, p.26-32, 1992.
- LEITE, J.I.A.; OLIVEIRA, D.R.; PELUZIO, M.C.G. Dislipidemias. In: Teixeira Neto, F. (Ed.) *Nutrição Clínica*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, cap. 17. p196-211.
- LUSIS, A.J. Atherosclerosis. *Nature*, v.407, p. 407:233-241, 2000.
- MARTINEZ, T.L.R. Conduitas clínicas nas dislipidemias. Belo Horizonte: Health, 1997, 291p.
- MONTOYA, M.T.; PORRES, E.; SERRANO, S.; FRUCHART, J.C.; MATA, P.; GERIQUE, J.A.G.; CASTRO, G.R. Fatty acid saturation of the diet and plasma lipid concentrations, lipoprotein particle concentrations and cholesterol efflux capacity. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.75, p. 484-491, 2002.

- NELSON, D.L.; COX, M.M. Lehninger *Principles of Biochemistry*. 3rd ed. New York: Worth, 2000. 1152p.
- NOFER, J.R.; KEHREL, B.; FOBKER, M.; LOEVKAU, B.; ASSMANN, G.; van ECKARDSTEIN, A. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis*, v.161, p. 1-16, 2002.
- OBERMAN, A. Hypertriglyceridemia and coronary heart disease. *J. Clin. Endocr. Metab.* v.85, p. 2098-2105, 2000.
- PELUZIO, M.C.G. Redução do desenvolvimento de lesões ateroscleróticas por α -tocoferol em camundongos com diferentes dietas e em estágios diferentes da lesão. Papel da expressão de MCP-1. Belo Horizonte, MG, 2002. 122p. Tese (Doutorado em Bioquímica e Imunologia), UFMG, 2002.
- POZA, C.V.; LOPEZ, T.M.; RAMOS, L.S. Revisão de hipercolesterolemia. *Panorama Actual Méd.*, v. 25 p. 159-176, 2001.
- RANTALA, M.; RANTALA, T.T.; SAVOLAINEN, M.J.; FRIEDLANDER, Y.; KESÄNIEMI, Y.A. Apolipoprotein B gene polymorphisms and serum lipids: meta-analysis of the role of genetic variation in responsiveness to diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.71, p. 713-724, 2000.
- SAKURABAYASHI, I.; SAITO, Y.; KITA, T.; MATSUZAWA, Y.; GOTO, Y. Reference intervals for serum apolipoproteins AI, AII, B, CII, CIII, and E in healthy Japanese determined with a commercial immunoturbidimetric assay and effects of sex, age, smoking, drinking, and Lp(a) level. *Clin. Chim. Acta*, v.312, p. 87-95, 2001.
- SCHAEFER, E.J.; AUDELIN, M.C.; McNAMARA, J.R.; SHAH, P.K.; TAYLER, T.; DALY, J.A.; AUGUSTIN, J.L.; SEMAN, L.J.; RUBENSTEIN, J.J. Comparison of fasting and postprandial plasma lipoproteins in subjects with and without coronary heart disease. *Am. J. Cardiol.* v.88, p. 1129-1133, 2001.
- SCOTT, M.; GRUNDY, M.D. Comparison of monounsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol. *N Engl. J. Med.* v.314, p. 745-748, 1986.
- SBC SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA III Diretrizes Brasileiras Sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq. Bras. Cardiol.* v. 77, supl. 3, p.1-48, 2001.
- SVIRIDOV, D.; NESTEL, P. Dynamics of reverse cholesterol transport: protection against atherosclerosis. *Atherosclerosis*, v.161, p. 245-254, 2002.
- TEIJERA, G.G.; RAMOS, M.G. Dislipidemia, actualidad y perspectivas en la reforma de salud y educación continua para el médico primário. n° 12, 1998. [on line] Disponível em: <URL:http://www. http://www.iladiba.com/upr/>
- VAJO, Z.; TERRY, J.G.; BRINTON, E.A. Increased intra-abdominal fat may lower HDL levels by increasing the fractional catabolic rate of Lp A-I in postmenopausal women. *Atherosclerosis*, v.160, p.495-501, 2002.
- VÉLEZ-CARRASCO, W.; LICHTENSTEIN, A.H.; WILTY, F.K.; LI, Z.; LAMON-FAVA, S.; DOLMIKOWSKI, G.G.; SCHAEFER, E.J. Dietary restriction of saturated fat and cholesterol decreases HDL apo AI secretion. *Arterioscl. Throm. Vas. Bio.* v.19, p. 918-924, 1999.
- YU-POTH, S.; ETHERTON, T.D.; REDDY, C.C.; PEARSON, T.A.; REED, R.; ZHAO, G.; JONNAADDA, S.; WAN, Y. KRIS-ETHERTON, P.M. Lowering dietary saturated fat and total fat reduces the oxidative susceptibility of LDL in healthy men and women. *J. Nutr.* v.130, p. 2228-2237, 2000.

Recebido para publicação em 06/01/03.

Aprovado em 30/06/03.

Aspectos nutricionais sobre glutamina e atividade física

Nutritional aspects of glutamine and physical activity

ABSTRACT

ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J. Nutritional aspects of glutamine and physical activity. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP. v.25, p. 87-112, jun., 2003.

Glutamine is the most abundant free amino acid in plasma and muscle, and is used at high rates by rapidly dividing cells, including enterocytes and leukocytes, to provide energy and to facilitate nucleotide biosynthesis. Several studies have demonstrated a significant decrease in glutamine plasma and tissue concentrations during and after intense and prolonged exercises. This is due to an increased uptake of glutamine by different organs that is greater than glutamine synthesis and release rates by skeletal muscles, resulting in reduced supply of this amino acid to immune system cells. Glutamine represents an essential substrate to several immune system cell types, including neutrophils, lymphocytes and macrophages; therefore, it has been suggested that decreased glutamine levels might contribute to increased susceptibility to upper respiratory tract infections in athletes after exhaustive exercises, during intense training periods or in athletes with overtraining syndrome. The effect of oral supplementation with glutamine aiming at enhancing immunocompetence, glycogen resynthesis, and performance and strength of athletes, has been investigated. However, further studies are needed in order to effectively use this amino acid in sports nutrition.

**Keywords: nutrition;
glutamine; exercise;
immune system;
supplementation**

**MARCELO MACEDO
ROGERO¹; JULIO
TIRAPEGUI²**

^{1,2}Departamento
de Alimentos e Nutrição
Experimental/FCF/USP

**Endereço para
correspondência:**

Av. Prof. Lineu
Prestes, 580 - Bloco 14
Conjunto das Químicas
CEP 05389-970
Caixa Postal 66335
São Paulo, SP

e-mail: tirapegui@usp.br

Agradecimentos:

Ao CNPq Conselho
Nacional de
Desenvolvimento
Científico e Tecnológico e
à CAPES Coordenação de
Aperfeiçoamento de
Pessoal de Nível Superior,
pelas bolsas outorgadas.

RESUMEN

La glutamina es el aminoácido libre más abundante en el plasma y tejido muscular y es utilizada en altas concentraciones, como fuente de energía, por células de división rápida, incluyendo enterocitos, leucocitos, para favorecer la síntesis de nucleótidos. Numerosos estudios han demostrado una disminución significativa de las concentraciones de glutamina en el plasma y los tejidos y después de un ejercicio intenso y prolongado, debido al aumento de la captación de glutamina por los diversos órganos, el cual supera la velocidad de síntesis y liberación por el músculo esquelético, llevando también a una disminución de la oferta del aminoácido para el sistema inmune. La glutamina es un sustrato esencial para las células del sistema inmune, incluyendo neutrófilos, linfocitos y macrófagos y se ha sugerido que la disminución plasmática puede contribuir al aumento de infecciones del tracto respiratorio superior en atletas después del ejercicio exhaustivo, en períodos de entrenamiento intenso o en atletas con síndrome de "overtraining". El efecto de la suplementación oral de glutamina con el objetivo de aumentar la inmunocompetencia, síntesis de glucógeno, desempeño y fuerza en los atletas se ha investigado solo parcialmente, otros estudios son necesarios para observar la efectiva utilización de este aminoácido en la nutrición deportiva.

Palabras clave: nutrición; glutamina, suplementación; ejercicio; sistema inmune

RESUMO

A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma e tecido muscular, e é utilizada em altas concentrações por células de divisão rápida, incluindo enterócitos e leucócitos, para fornecer energia e favorecer a síntese de nucleotídeos. Numerosos estudos têm demonstrado uma diminuição significativa das concentrações plasmática e tecidual de glutamina durante e após exercício intenso e prolongado, decorrente do aumento da captação de glutamina por diversos órgãos, que supera as taxas de síntese e liberação de glutamina pelo músculo esquelético, acarretando diminuição do fornecimento deste aminoácido para as células do sistema imune. A glutamina representa um substrato essencial para diversas subclasses de células do sistema imune, incluindo neutrófilos, linfócitos e macrófagos e, desse modo, tem sido sugerido que a diminuição da glutaminemia pode contribuir para o aumento da suscetibilidade a infecções do trato respiratório superior em atletas após o exercício exaustivo, durante períodos de treinamento intenso ou em atletas com síndrome de overtraining. O efeito da suplementação oral com glutamina visando aumento da imunocompetência, ressíntese de glicogênio, performance e força em atletas tem sido investigado, contudo outros estudos são necessários para a efetiva utilização deste aminoácido no campo da nutrição esportiva.

Palavras-chave: nutrição; glutamina, suplementação; exercício; sistema imune

INTRODUÇÃO

Dentre os métodos que visam aumento de *performance* permitidos pelo Comitê Olímpico Internacional estão as intervenções nutricionais, fato este que tem induzido atletas, técnicos e cientistas a utilizarem, além das técnicas de treinamento, diferentes compostos, denominados ergogênicos, os quais podem melhorar o desempenho do atleta.

A suplementação de compostos ergogênicos no mundo esportivo assume a cada dia um papel relevante e fundamental, devido ao fato da distância entre os atletas de elite em competições internacionais ser cada vez menor, o que sugere que um pequeno aperfeiçoamento do desempenho pode resultar num grande salto na classificação geral, com o conseqüente ganho de medalhas, aliado à glória para o atleta.

O efeito de diversos compostos ergogênicos tem sido avaliado, tais como aminoácidos de cadeia ramificada, creatina, carnitina, carboidratos, lípidos, dentre outros. Apesar de ser fato conhecido o uso da glutamina em nutrição clínica, como um suplemento nutricional (FIELD *et al.*, 2000), apenas recentemente tem aumentado o interesse pela utilização deste aminoácido em indivíduos fisicamente ativos e atletas. Esta revisão tem como objetivo fornecer informações atualizadas sobre as funções fisiológicas e, principalmente, nutricionais da glutamina durante o exercício, e o uso deste aminoácido como suplemento nutricional para praticantes de atividade física e atletas.

METABOLISMO DA GLUTAMINA

A glutamina é um L- α -aminoácido de 5 carbonos, com peso molecular de 146,15 e composição elementar de carbono (41,09%), hidrogênio (6,90%), oxigênio (32,84%) e nitrogênio (19,17%), sendo em pH fisiológico, classificada como um aminoácido neutro e, nutricionalmente, como um aminoácido não-essencial (LACEY e WILMORE, 1990). A glutamina apresenta dois grupos amino: um grupo α -amino e um grupo amida terminal facilmente hidrolisável, sendo que estas características ressaltam as funções da glutamina como um veículo de transporte de nitrogênio e carreadora de amônia. Este é o aminoácido livre mais abundante no músculo e no plasma humano, sendo também encontrado em concentrações relativamente altas em muitos tecidos.

No músculo seu conteúdo intracelular corresponde a 50-60% do total de aminoácidos livres (KOYAMA *et al.*, 1998; WALSH *et al.*, 1998a; NIEMAN e PEDERSEN, 1999). Aproximadamente 80% da glutamina corporal se encontra no músculo esquelético, e esta concentração é superior 30 vezes a do plasma (SCHEPPACH *et al.*, 1994). Neste, a glutamina constitui aproximadamente 20% do total de aminoácidos livres e, após um jejum de 12 horas, a concentração plasmática se encontra entre 500 e 750 $\mu\text{mol/L}$, sendo esta dependente do balanço entre a liberação e captação de glutamina pelos vários órgãos e tecidos do corpo (MOSKOVITZ *et al.*, 1994). No estado pós-absortivo, glutamina e alanina correspondem a 48 e 32% dos aminoácidos liberados pelo músculo esquelético, respectivamente, sendo que

a glutamina com 2 átomos de nitrogênio por molécula é a principal fonte de liberação de nitrogênio a partir do músculo (HOOD e TERJUNG, 1990; HOOD e TERJUNG, 1994; WILLIAMS *et al.*, 1998; NIEMAN e PEDERSEN, 1999).

A glutamina apresenta diversas funções no organismo, o que reforça o papel relevante deste aminoácido tanto em estados normais como fisiopatológicos (Quadro 1) (VASCONCELOS e TIRAPEGUI, 1998; KREIDER, 1999; YOUNG e AJAMI, 2001). A diminuição das concentrações plasmáticas de glutamina aliada ao aumento do metabolismo deste aminoácido ocorre, de modo marcante, em muitas doenças catabólicas. Estas características indicam que a classificação da glutamina de um aminoácido não-essencial, para um nutriente essencial deva ser considerada (SMITH, R.J., 1990).

• Transferência de nitrogênio entre órgãos;
• Detoxificação de amônia;
• Manutenção do balanço ácido-base durante a acidose;
• Possível regulador direto da síntese e degradação proteica;
• Precursora de nitrogênio para a síntese de nucleotídeos;
• Necessária para o crescimento e diferenciação celular;
• Veículo de transporte de cadeia carbônica entre os órgãos;
• Fornece energia para células de rápida proliferação, como enterócitos e células do sistema imune;
• Age como precursora da ureogênese e gliconeogênese hepática, e de mediadores, como o GABA e glutamato;
• Promove melhora na permeabilidade e integridade intestinal;
• Aumenta a resistência à infecção por aumento da função fagocitária;
• Fornece energia aos fibroblastos, aumentando a síntese de colágeno;
• Substrato para a produção de glutatona;
• Estimula a síntese de glicogênio;
• Substrato para a síntese de citrulina e arginina.

Quadro 1 Principais funções da glutamina no organismo

As duas principais enzimas intracelulares envolvidas no metabolismo da glutamina são: glutamina sintetase e glutaminase. A primeira é responsável pela reação que sintetiza glutamina a partir de amônia e glutamato, na presença de ATP (Figura 1), enquanto a segunda é responsável pela hidrólise da glutamina, convertendo-a em glutamato e amônia (Figura 2) (DI PASQUALE, 1997). Quanto à localização intracelular, verifica-se que a glutamina sintetase é encontrada primariamente no citossol, enquanto a glutaminase, na sua forma ativa, apresenta-se principalmente na mitocôndria. Essas localizações são compatíveis com as funções dessas enzimas: glutamina sintetase produzindo glutamina para

síntese de proteínas citoplasmáticas e nucleotídeos e glutaminase catalisando a utilização de glutamina como fonte de energia (NEU *et al.*, 1996).

Dentre os órgãos envolvidos na síntese de glutamina incluem-se o músculo esquelético, pulmões, fígado, cérebro e possivelmente o tecido adiposo, os quais contêm atividade da enzima glutamina sintetase. Por outro lado, tecidos que são primariamente consumidores de glutamina – células da mucosa intestinal, leucócitos e células do túbulo renal – contêm elevada atividade da enzima glutaminase (WALSH *et al.*, 1998b). Sob certas condições, tal como reduzido aporte de carboidratos, o fígado pode tornar-se um sítio consumidor de glutamina (Figura 3) (ROWBOTTOM *et al.*, 1996).

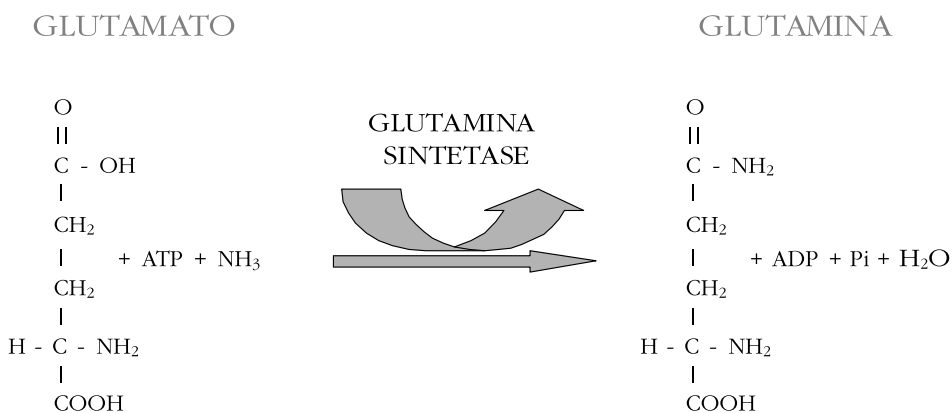


Figura 1 Síntese de glutamina catalizada pela enzima glutamina sintetase

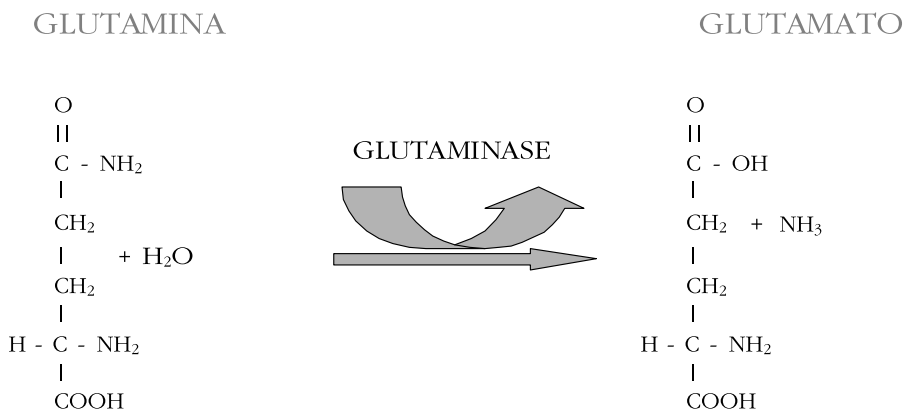


Figura 2 Hidrólise da glutamina pela enzima glutaminase

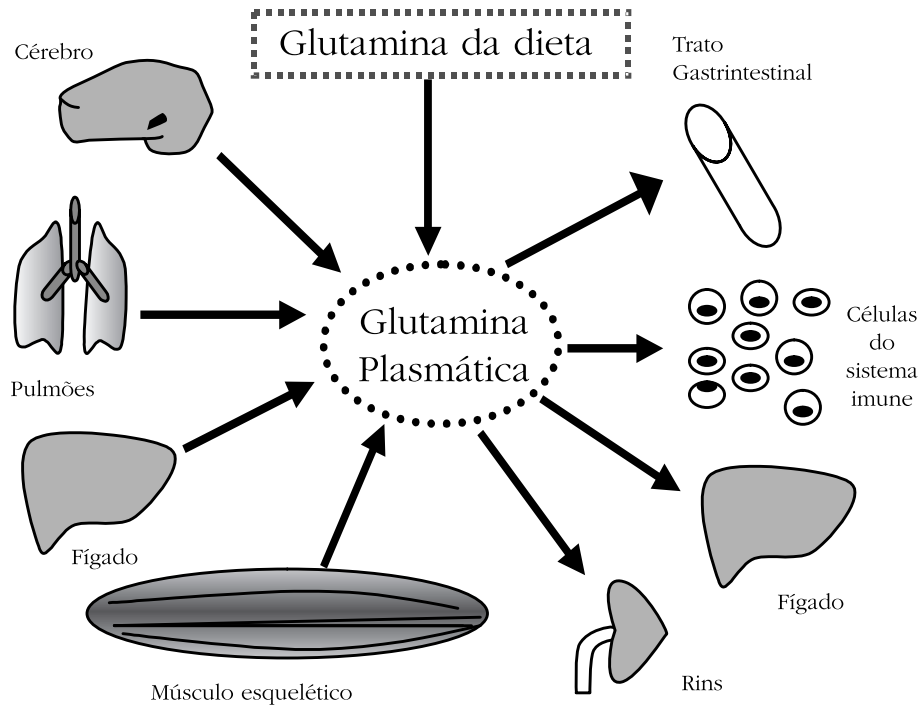


Figura 3 Produção e utilização de glutamina por diversos tecidos e órgãos do organismo

GLUTAMINA E EXERCÍCIO

Os efeitos do exercício sobre o metabolismo da glutamina não estão totalmente esclarecidos na literatura. Fatores como intensidade e duração do exercício, estado nutricional dos indivíduos e diferenças no tempo de coleta de sangue, forma de estocagem de amostras de plasma e técnica bioquímica de medida da concentração de glutamina ocasionam dados equivocados e contraditórios (WALSH *et al.*, 1998b).

Estudos *in vivo* com humanos têm demonstrado que o exercício de alta intensidade e curta duração (<1 hora) aumenta a concentração de glutamina no plasma, sendo inicialmente constatada uma liberação acelerada deste aminoácido a partir da musculatura esquelética, e um conseqüente aumento da glutaminemia (Tabela 1). Segundo HOOD e TERJUNG (1990), este aumento da concentração plasmática de glutamina está relacionado ao aumento da síntese de amônia intramuscular durante o exercício que, juntamente com o glutamato, na reação catalisada pela enzima glutamina sintetase, formam glutamina. O aumento da concentração intramuscular de amônia durante o exercício de alta intensidade e curta duração está relacionado principalmente à degradação de nucleotídeos de adenina, fato este que antecede a ocorrência de fadiga (WALSH *et al.*, 1998b). Além disso, a ocorrência de hemoconcentração também representa um fator relevante no aumento da concentração plasmática de glutamina durante o exercício intenso (SEWELL *et al.*, 1994).

Tabela 1 Mudanças na concentração plasmática de glutamina em relação a várias formas de exercício

Referência	Tipo de exercício	N	População	[glutamina] pré-exercício (μmol/L)	[glutamina] pós-exercício (μmol/L)
RENNIE <i>et al.</i> (1981)	Ciclismo 225 min (50% VO _{2max})	4	Ativos e saudáveis	557	Após: 470 2h após: 391 4,5h após: 482
ERIKSSON <i>et al.</i> (1985)	Ciclismo incremental 45 min (80% VO _{2max})	11	Ativos e saudáveis	538	666
KATZ <i>et al.</i> (1986)	Ciclismo até exaustão (100% VO _{2max})	8	Ativos e saudáveis	555	699
PARRY-BILLINGS <i>et al.</i> (1992)	Maratona Corrida 30 Km	22	Treinados	592	495
		12	Treinados	641	694
	Ciclismo (73% VO _{2max}) Sprints (10 x 6s)	4	Treinados	641	615
		10	Ativos e saudáveis	556	616
SEWELL <i>et al.</i> (1994)	Corrida (20 Km/h) até exaustão	9	Ativos e saudáveis	662	757
LEHMANN <i>et al.</i> (1995)	Ultra-triatlo	9	Atletas	468	30min após: 318
KEAST <i>et al.</i> (1995)	Corrida (esteira); 15x1 minuto (120% VO _{2max})	5	Treinados	630	Dia 11: 328
ROHDE <i>et al.</i> (1996)	Triatlo	8	Treinados	468	2h após: 318
CASTELL <i>et al.</i> (1997)	Maratona	12	Ativos e saudáveis	571	462
ROHDE <i>et al.</i> (1998a)	3 séries de exercício (60, 45, 30 minutos) a 75% VO _{2max} , separadas por 2 horas de intervalo	8	Ativos e saudáveis	508	2h após a última série: 402
ROHDE <i>et al.</i> (1998b)	Maratona	8	Ativos e saudáveis	647	1,5h após: 470

Contudo, uma subsequente redução da concentração plasmática tem sido observada quando o exercício é realizado por mais de 1 hora (Tabela 1) (NEWSHOLME *et al.*, 1989; RENNIE *et al.*, 1994).

O exercício prolongado acarreta também diminuição da concentração intramuscular de glutamina. RENNIE *et al.* (1981) observaram uma diminuição de 34% da concentração de glutamina muscular em humanos imediatamente após uma sessão de exercício com duração de 225 minutos (50% do VO_{2max}). Em outro estudo, ratos submetidos ao exercício de natação, com sobrecarga de 6% do peso corporal, visando impor um exercício intenso, apresentaram uma diminuição de 25% das concentrações de glutamina no músculo gastrocnêmio (CHRISTOPHE *et al.*, 1971). DOHM *et al.* (1981) observaram redução da concentração de glutamina no músculo gastrocnêmio de 15% e 19% em ratos após duas horas de natação ou corrida até a exaustão, respectivamente.

Diante desses fatos, poder-se-á questionar quais os mecanismos que acarretam a diminuição das concentrações de glutamina plasmática e muscular durante e após o exercício físico prolongado. Dentre os possíveis mecanismos relacionados, observa-se que durante o exercício físico prolongado ocorre o aumento da concentração do hormônio cortisol, que estimula tanto o efluxo de glutamina muscular, quanto à captação de glutamina pelo fígado. Desse modo, a maior oferta de glutamina no fígado, aliada à diminuição dos estoques de glicogênio hepático e ao aumento da concentração de cortisol promovem maior estímulo da neoglicogênese hepática a partir do aminoácido glutamina (DOHM *et al.*, 1985; VIRU, 1987; ARDAWI, 1988; MACKINNON e HOOPER, 1996; BORBA-MURAD *et al.*, 1998; BISHOP *et al.*, 1999).

Outro mecanismo implicado na diminuição da glutaminemia durante o exercício físico prolongado refere-se ao aumento da concentração de lactato sangüíneo, que altera o pH do sangue (acidose metabólica) e, conseqüentemente, acarreta em maior captação de glutamina pelos rins. A eliminação de íons H^+ pelos rins envolve o fornecimento de amônia oriunda da glutamina. A amônia formada a partir da glutamina escapa das células do túbulo renal por um processo de difusão passiva, e se une a prótons H^+ formando íons amônio (NH_4). A perda de íons hidrogênio auxilia na manutenção do balanço ácido-base (SMITH e NORRIS, 2000; WALSH *et al.*, 1998b). A acidose decorrente do aumento da concentração de lactato no sangue pode tornar o rim o principal órgão de captação de glutamina (BROSNAN, 2000). Além destes fatos, segundo MACKINNON e HOOPER (1996), o aumento da captação de glutamina por células do sistema imune, principalmente quando ativadas, pode colaborar para a diminuição da glutaminemia induzida pelo exercício.

Em conclusão, o aumento da concentração plasmática de glutamina durante e imediatamente após o exercício de alta intensidade e curta duração pode ser explicado pela ocorrência de hemoconcentração, aumento da amoniogênese a partir da degradação de nucleotídeos de adenina e pelo efeito do cortisol sobre o transportador de glutamina dependente de sódio na célula muscular. Por outro lado, durante o período de recuperação após uma sessão de exercício intenso e prolongado, a diminuição da concentração

plasmática de glutamina está relacionada principalmente ao aumento da captação deste aminoácido por outros tecidos (fígado, rins, leucócitos), que supera a taxa de liberação de glutamina a partir do músculo esquelético; alternativamente pela diminuição da síntese e/ou alteração no transporte cinético deste aminoácido, resultando em diminuição do efluxo de glutamina pelo músculo (WALSH *et al.*, 1998b).

Além dos efeitos do exercício agudo sobre o metabolismo da glutamina, observa-se que o treinamento provoca aumento relativo da concentração de glutamina de repouso em atletas, quando comparada a valores clinicamente normais ou àqueles de não-atletas. Contudo, a concentração plasmática de glutamina pode diminuir significativamente durante períodos de treinamento intenso ou em atletas com síndrome de *overtraining* (KEAST *et al.*, 1995; LEHMANN *et al.*, 1995; ROWBOTTOM *et al.*, 1995; MACKINNON e HOOPER, 1996).

GLUTAMINA, EXERCÍCIO E DIETA

Aliado ao fato das concentrações plasmática e tecidual de glutamina serem afetadas pelo exercício agudo ou treinamento, a dieta pode alterar também estas concentrações, de acordo com a proporção e quantidade de cada macronutriente oferecido previamente à realização do exercício físico.

ZANKER *et al.* (1997) estudaram o efeito de uma sessão de exercício exaustivo aliado à manipulação dietética sobre as concentrações plasmáticas de glutamina. Inicialmente, os indivíduos foram submetidos a um protocolo (exercício e dieta) visando à depleção dos estoques de glicogênio corporal. Os participantes foram submetidos a dois testes, sendo que ambos envolviam 14 horas de jejum e uma sessão de corrida com duração de 60 minutos a 75% VO_{2max} . O primeiro grupo permaneceu em jejum, enquanto o outro ingeriu uma refeição rica em carboidratos (CHO) (80% CHO, 10% proteína e 10% lipídios) três horas antes da realização do exercício. A concentração plasmática de glutamina não foi alterada pelo exercício no grupo em jejum, contudo o grupo alimentado apresentou aumento significativo da glutaminemia em resposta ao exercício. Apesar da concentração de glicogênio não ter sido determinada, os autores sugerem que o aumento da disponibilidade de glicogênio, após o consumo da refeição rica em carboidratos, estimulou a síntese e liberação de glutamina pelo músculo esquelético.

GLEESON *et al.* (1998) verificaram que o consumo de uma dieta com baixa concentração de CHO (7%), administrada durante três dias, previamente a uma sessão de exercício em ciclo ergômetro (60 minutos a 70% VO_{2max}), foi associada com menor concentração de glutamina em repouso em relação ao grupo com ingestão normal de carboidratos. Os indivíduos submetidos a dietas com baixo teor de CHO demonstraram diminuição significativa da glutaminemia aos 150 minutos pós-exercício em relação ao grupo com dieta normal. Dentre as possíveis causas desses resultados citadas pelos autores, destacam-se: (i) a ocorrência de acidose metabólica em repouso em indivíduos submetidos a dietas com baixo teor de carboidratos, fato este que promove o aumento da captação de

glutamina pelos rins, o que visa à manutenção do equilíbrio ácido-base, ao mesmo tempo em que diminui a glutaminemia; (ii) a utilização da glutamina como precursor neoglicogênico no fígado, em situações de baixa ingestão de carboidratos; (iii) a menor liberação de glutamina pelo tecido muscular durante o exercício, devido à concentração de glicogênio estar diminuída.

Muitos atletas são incentivados e convencidos que o aumento do consumo de proteínas na dieta propicia melhora de *performance*. Contudo, o excesso de proteína na dieta pode ser tão prejudicial para o metabolismo da glutamina quanto a deficiência de proteína. GREENHAFF *et al.* (1988) demonstraram que uma dieta com concentrações elevadas de proteína (24%) e extremamente baixas de CHO (3%), consumida durante quatro dias, acarretou em diminuição de aproximadamente 25% das concentrações plasmática e muscular de glutamina. BLANCHARD *et al.* (2001) investigaram se a manipulação dietética (45% CHO ou 70% CHO) e o exercício de alta intensidade durante três dias consecutivos influenciariam as concentrações plasmática e muscular de glutamina. O grupo com 70% CHO na dieta apresentou uma concentração de glutamina no plasma significativamente superior em relação ao grupo com 45% CHO durante os três dias consecutivos de exercícios de alta intensidade, enquanto a concentração de glutamina no tecido muscular não diferiu significativamente entre os grupos estudados. Tanto GREENHAFF *et al.* (1988) quanto BLANCHARD *et al.* (2001) sugerem que dietas com baixa concentração de CHO e concomitante aumento da ingestão de proteínas induzem acidose metabólica, o que acarreta em aumento da captação renal de glutamina visando à manutenção do equilíbrio ácido-base, e subsequente diminuição da glutaminemia.

KINGSBURY *et al.* (1998) verificaram a relação entre a concentração plasmática de glutamina, fadiga crônica e ingestão de proteína em atletas de elite em três situações, ou seja, durante um período de treinamento intenso, que antecedia os jogos olímpicos de 1992; durante o período de treinamento leve pós-competição; e após a ingestão adicional de 20-30 gramas de proteína por dia, na forma de alimentos – por exemplo, carnes, queijos – durante um período de três semanas. Durante a fase que antecedia o período de competições, observou-se que 11 atletas apresentaram infecção e sintomas de fadiga, concomitantes a diminuição da concentração de glutamina no plasma (inferior a 450 μ mol/L). Destes atletas, oito continuavam a apresentar baixa glutaminemia durante a fase pós-competição. Por meio da ingestão adicional de 20-30 gramas de proteína, durante três semanas, observou-se um aumento da concentração plasmática de glutamina (53%) e uma diminuição substancial da concentração plasmática de glutamato. Dentre os 10 atletas que consumiram a suplementação protéica, seis aumentaram a intensidade de treinamento durante as três semanas de intervenção nutricional.

Em relação à ingestão de proteínas, é fundamental ressaltar que os aminoácidos de cadeia ramificada, oriundos do processo de digestão e absorção de proteínas, podem atuar como precursores na síntese de glutamina muscular. Esses aminoácidos fornecem

grupamentos amino em reações de transaminação, as quais acarretam na formação de glutamato, que, posteriormente, na reação catalisada pela enzima glutamina sintetase, participa da síntese de glutamina (BASSIT *et al.*, 2002). Além disso, tem sido sugerido que os aminoácidos de cadeia ramificada representam um dos fatores que regulam a síntese do neurotransmissor serotonina no sistema nervoso central (SMITH, L.L., 2000).

A diminuição da glutaminemia em atletas que apresentam fadiga crônica e aumento da incidência de infecções pode ocorrer devido ao fato do volume de treinamento exceder a capacidade de tolerância ao esforço pelo atleta. Diversos mecanismos têm sido sugeridos para explicar essa situação, tais como: aumento da concentração de glicocorticóides, que diminuem a concentração de glutamina muscular; diminuição da concentração de glutamina como uma conseqüência de lesão mitocondrial de células musculares; aumento da taxa de utilização de glutamina por outros tecidos (fígado, rins), preferivelmente do que diminuição da síntese de glutamina; e diminuição da ingestão nutricional de proteínas, que pode alterar os estoques de glutamina (SMITH e NORRIS, 2000; ROWBOTTOM *et al.*, 1996).

GLUTAMINA, EXERCÍCIO E IMUNOCOMPETÊNCIA

Linfócitos e macrófagos apresentam a capacidade de utilizar glicose e glutamina para obter energia e precursores para a biossíntese de macromoléculas. A glicose é convertida principalmente em lactato (glicólise), enquanto a glutamina segue a sua conversão para glutamato e aspartato sofrendo oxidação parcial para CO₂, via processo denominado glutaminólise, essencial para o efetivo funcionamento dessas células do sistema imune (ARDAWI e NEWSHOLME, 1982; FRISINA *et al.*, 1994; ROWBOTTOM *et al.*, 1995). A glicólise fornece ribose-5-fosfato, precursora da síntese de RNA e DNA, e glicerol 3-fosfato para a síntese de fosfolipídios. A glutaminólise fornece glutamina, amônia e aspartato, que são utilizados na síntese de purinas e pirimidinas, sendo estes fundamentais para a formação de DNA e RNA (NEWSHOLME *et al.*, 1989).

Neutrófilos apresentam aumento do consumo de glicose relacionado ao processo de endocitose e geração de espécies reativas de oxigênio. Porém, a glicose não é o único metabólito energético utilizado por essas células. Estudos recentes demonstraram que neutrófilos também consomem glutamina ativamente, sendo que a taxa de utilização de glutamina por neutrófilos, assim como por linfócitos e macrófagos, é similar ou até mesmo superior quando comparada à glicose (CURI *et al.*, 1997; NEWSHOLME *et al.*, 1999).

O exercício influencia o sistema imune através de alterações circulatórias (hemodinâmicas) e pela liberação de cortisol e catecolaminas. Além disso, a modulação da resposta imune mediada pelo exercício pode estar ligada a fatores metabólicos, tais como a concentração de glutamina plasmática (PARRY-BILLINGS *et al.*, 1992; HACK *et al.*, 1997; BAILEY *et al.*, 2000; BASSIT *et al.*, 2000).

A relação entre exercício, glutamina e sistema imune tem sido estudada por diversos pesquisadores, porém a relação causal entre a diminuição das concentrações de glutamina plasmática e tecidual decorrente do exercício intenso e prolongado e o prejuízo da imunocompetência do atleta ainda não foi estabelecida completamente (SHEWCHUCK *et al.*, 1997a; WALSH *et al.*, 1998b; ANTONIO e STREET, 1999; BISHOP *et al.*, 1999; BASSIT *et al.*, 2002).

Uma alta proporção da glutamina da dieta é utilizada pelas células do intestino – principal órgão de captação e metabolismo de glutamina do organismo. A glutamina necessária para o intestino é consumida primariamente pelas células da mucosa, que representam a maior massa de células de proliferação rápida do organismo de indivíduos normais (LACEY e WILMORE, 1990; ROGERO e TIRAPEGUI, 2000). Desse modo, a glutamina necessária a outras células, incluindo as células do sistema imune, deve ser sintetizada pelo organismo. Quantitativamente, o mais relevante tecido de síntese, estoque e liberação de glutamina é o músculo esquelético, que apresenta um papel fundamental na manutenção da captação e utilização de glutamina por células do sistema imune. Conseqüentemente, a atividade do tecido muscular pode diretamente influenciar o sistema imune (CASTELL *et al.*, 1996).

As concentrações plasmática e tecidual de glutamina estão diminuídas em situações clínicas e catabólicas tais como: trauma, queimadura, sepse, pós-operatório, diabetes não-controlado e após exercício exaustivo ou treinamento intenso. Durante estas circunstâncias, a diminuição da concentração de glutamina plasmática ocorre devido à taxa de captação e utilização deste aminoácido por diversos tecidos ser superior à velocidade de síntese e liberação pelo músculo esquelético (PARRY-BILLINGS *et al.*, 1989; ROWBOTTOM, 1996). Além disso, estas situações estão associadas ao aumento na susceptibilidade a infecções, sendo sugerido que isto pode ser parcialmente devido à diminuição do fornecimento de glutamina para células imunocompetentes, tais como linfócitos (ROWBOTTOM *et al.*, 1995; KEW *et al.*, 1999).

Atletas envolvidos em programas de treinamento intenso, particularmente eventos de *endurance*, são mais susceptíveis a infecções, principalmente do trato respiratório superior. De acordo com ROHDE *et al.* (1998b), o exercício intenso e prolongado ocasiona diminuição da contagem total de linfócitos no sangue, concomitante supressão da atividade de células “natural killer”, diminuição da resposta proliferativa de linfócitos, prejuízo da imunidade secretória e aumento da concentração de cortisol no sangue. Durante este período de imunossupressão, referido como fenômeno “open window”, o indivíduo estaria mais susceptível a adquirir algum tipo de infecção (VAN HALL e WAGENMAKERS, 1998; ROHDE *et al.*, 1998a). Em contraste, exercícios de baixa a média intensidade demonstram ser benéficos para a funcionalidade do sistema imune, quando comparados com o estado sedentário. A diminuição da concentração plasmática de glutamina que ocorre imediatamente após exercícios exaustivos e durante o período de recuperação tem sido sugerida como um possível mecanismo de imunossupressão,

atuando na proliferação de linfócitos e na fagocitose de macrófagos (CASTELL *et al.*,1996; VAN HALL e WAGENMAKERS, 1998).

GLUTAMINA E OVERTRAINING

Atletas treinam de maneira exaustiva para otimizar sua *performance*. Inerente em todos os programas de treinamento é a aplicação do princípio de sobrecarga progressiva, que implica em uma carga de trabalho acima do nível considerado confortável, o que visa maximizar a capacidade atlética. Infelizmente, há uma tênue linha entre a melhoria e o prejuízo do desempenho. A associação entre um programa exaustivo de treinamento com insuficiente período de recuperação e o prejuízo da *performance* caracteriza a síndrome de *overtraining*. Além do prejuízo da *performance*, que representa o critério universal associado com o *overtraining*, outros sinais/sintomas estão presentes, tais como fadiga generalizada, depressão, dores musculares e articulares e perda de apetite (SMITH, L.L., 2000).

Estudos sugerem que a diminuição da concentração de glutamina pode acompanhar ou preceder à síndrome de *overtraining* em atletas. PARRY-BILLINGS *et al.* (1992) observaram uma diminuição significativa da concentração plasmática de glutamina em atletas de elite (corredores, nadadores, remadores) que apresentaram sintomas de *overtraining* (0,510mMol/L), em comparação a indivíduos submetidos a um programa de treinamento adequado com exercícios sucedidos de períodos suficientes de recuperação (0,580mMol/L) e a corredores sem finalidade competitiva (0,664mMol/L). KINGSBURY *et al.* (1998) observaram que atletas de elite que demonstraram sinais e sintomas de fadiga crônica durante a fase de treinamento, também apresentaram concentração de glutamina plasmática abaixo dos valores normais.

ROWBOTTOM *et al.* (1995) analisaram diversos parâmetros hematológicos, bioquímicos e imunológicos em 10 atletas com *overtraining*. A concentração de glutamina plasmática foi o único parâmetro determinado que apresentou diminuição acentuada, sendo esta 30% menor nos atletas com síndrome de *overtraining*. Corroborando este estudo, KEAST *et al.* (1995) verificaram que um período de 10 dias de treinamento intenso provocou uma diminuição de 50% na concentração de glutamina no plasma em relação àquela observada antes do início do treinamento (de 0,630 para 0,328mMol/L), aliada à diminuição do desempenho entre os indivíduos estudados, fato este indicativo de *overtraining*. Esta diminuição da glutaminemia também se manteve abaixo do valor inicial durante os primeiros quatro dias do período de recuperação, retornando somente aos valores normais a partir do quinto dia desta fase. Os autores sugerem que a diminuição da glutaminemia não constitui a causa primária da síndrome de *overtraining*, mas que alterações na concentração plasmática de glutamina podem representar um excelente indicador desta síndrome.

Segundo SMITH, L.L. (2000), é possível que a diminuição da glutaminemia e os sintomas relacionados à síndrome de *overtraining* possam ser explicados pelo estado catabólico relacionado à inflamação sistêmica. Estes sintomas incluem taxa metabólica elevada, balanço nitrogenado negativo, diminuição da massa corporal magra e gorda, aumento da produção de ácido úrico, da diurese, da sede e da ingestão de líquidos.

EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA

Diversos estudos têm demonstrado a capacidade da suplementação oral aguda com glutamina em aumentar a glutaminemia, tanto na sua forma livre como de dipeptídeo. Segundo CASTELL e NEWSHOLME (1998), a ingestão oral aguda de L-glutamina dissolvida em água na dose de 0,1g/kg de massa corporal, ou uma dose única de 5 gramas, aumentou em 100% a concentração de glutamina no plasma 30 minutos após a ingestão, sendo que a glutaminemia retornou aos valores basais duas horas pós-suplementação. ZIEGLER *et al.* (1990) verificaram que a administração oral aguda de L-glutamina aumentou a concentração plasmática de glutamina entre 30-45 minutos após a ingestão, sendo que a glutaminemia retornou para valores próximos aos basais 90-120 minutos após a ingestão oral. KLASSEN *et al.* (2000) observaram que a suplementação aguda com 20 gramas do dipeptídeo L-alanil-L-glutamina aumentou em 140% a concentração de glutamina no plasma em relação à concentração basal 30 minutos pós-suplementação, retornando ao valor basal 120 minutos após a ingestão.

Estudos com administração oral aguda de L-glutamina demonstraram que o aumento dose-dependente da concentração de glutamina no plasma indica que a principal fração de glutamina administrada é supostamente metabolizada pelas células da mucosa intestinal, apesar de a via enteral representar um meio eficiente de aumentar a concentração de glutamina na circulação periférica. *In vivo*, aproximadamente 50% da glutamina absorvida no lúmen intestinal é subsequente e metabolizada no intestino e fígado (ZIEGLER *et al.*, 1990; DÉCHELOTTE *et al.*, 1991).

Considerando a capacidade da suplementação oral com glutamina de promover o aumento da concentração plasmática deste aminoácido, ainda que transitoriamente, diversos estudos buscam investigar o possível papel deste aminoácido em relação à imunocompetência, *performance*, força e ressíntese de glicogênio em atletas (Quadro 2).

SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA E SISTEMA IMUNE

CASTELL *et al.* (1996) verificaram os efeitos da suplementação oral de glutamina sobre a incidência de infecções em atletas. O grupo de atletas estudado era composto de ultramaratonistas, maratonistas, corredores de média-distância (participantes de provas de 10Km) e remadores. O grupo placebo recebeu uma solução de malto-dextrina e o grupo suplementado uma solução de glutamina (5 gramas em 330mL de água)

Efeitos reportados	Razões hipotéticas para a suplementação com glutamina em atletas
Sistema imune: importante fonte de energia para células do sistema imune; diminui a incidência de infecções.	➔ Pode prevenir ou diminuir a gravidade da doença ou infecção após uma série de exercício intenso, desse modo possibilitando ao atleta retornar ao treinamento intenso mais rapidamente.
Músculo esquelético: manutenção do conteúdo protéico muscular durante eventos de doenças críticas; atua contra o efeito proteolítico dos glicocorticóides; promove aumento do volume celular.	➔ Pode ter um efeito antiproteolítico em indivíduos engajados em treinamentos com exercícios intensos; em atletas que podem ter elevação da concentração de glicocorticóides decorrente de <i>overtraining</i> ou uso de medicamentos com esteróides, a ingestão de glutamina pode compensar parte dos efeitos catabólicos desses hormônios; o fornecimento de glutamina pode promover aumento do volume celular, o qual representa um sinal anabólico intracelular.
Regulação do metabolismo da glicose: precursor para a formação de glicose e glicogênio.	➔ Pode fornecer substrato adicional para a glicogênese e gliconeogênese.
Combustível para células: o trato gastrointestinal é o local primário de utilização de glutamina. Outros órgãos que utilizam glutamina são: fígado, rins, células do sistema imune.	➔ O fornecimento de glutamina para outros órgãos poderia diminuir a potencial perda de glutamina decorrente da ingestão dietética inadequada, e conseqüentemente evitar a degradação da proteína muscular.

Modificado de ANTONIO e STREET (1999)

Quadro 2 Bases teóricas para a suplementação de glutamina em atletas

imediatamente e 2 horas após o término da competição ou sessão de treinamento intenso. Os atletas receberam questionários para reportarem a ocorrência de infecções durante 7 dias após o término da prova. No grupo suplementado com glutamina (n=72), apenas 19% relataram algum tipo de infecção naquele período. Dentre os atletas que receberam o placebo (n=79), 51% destes apresentaram algum tipo de infecção no mesmo período. Embora a incidência de infecção tenha aumentado em ambos os grupos, os autores concluíram que a suplementação de glutamina durante as duas primeiras horas pós-exercício diminuiu a ocorrência de infecções, na semana posterior ao evento.

Em outro estudo, CASTELL e NEWSHOLME (1997) verificaram significativo aumento da contagem total de leucócitos imediatamente após o exercício exaustivo, seguido da diminuição na contagem de linfócitos. A administração oral de solução contendo 5 gramas de glutamina em 330mL de água mineral realizada imediatamente após o exercício acarretou em maior razão de linfócitos T CD4+: CD8+ em relação ao grupo placebo uma hora após o término do exercício. Aliado a este fato, HACK *et al.* (1997) observaram que a diminuição da concentração plasmática de glutamina apresentou uma forte correlação positiva com a redução do número de células T CD4+ após um período de oito semanas de treinamento anaeróbico.

Outros autores (MORIGUCHI *et al.*, 1995) comprovaram o efeito da suplementação crônica com glutamina adicionada à ração sobre a resposta imune em ratos submetidos ao exercício em esteira. A concentração de glutamina plasmática estava significativamente diminuída no grupo controle treinado, imediatamente após o último dia de treinamento (20m/min, 60min), diferentemente do grupo suplementado, que apresentou manutenção da glutaminemia quando comparado ao grupo controle em repouso. A proliferação de linfócitos e a síntese de IL-2 diminuíram significativamente no grupo controle treinado, enquanto estes parâmetros foram mantidos no grupo suplementado, imediatamente após o exercício. Os autores concluíram que a suplementação com glutamina evitou a diminuição da resposta proliferativa de linfócitos induzida pelo exercício, devido ao aumento da captação e à utilização de glutamina por linfócitos como substrato energético e para biossíntese de nucleotídeos.

Contudo, outros estudos relacionados à suplementação com glutamina demonstraram pouco ou nenhum efeito positivo sobre a imunocompetência de indivíduos submetidos a treinamento exaustivo ou exercício intenso e prolongado.

A suplementação com quatro doses de L-glutamina (100mg/kg de massa corporal) administradas aos 0, 30, 60 e 90 minutos após uma maratona manteve a concentração de glutamina plasmática próxima aos valores pré-exercício, porém não teve efeito sobre a resposta proliferativa de linfócitos, a atividade de células “killer” ativadas por linfocinas e sobre as alterações induzidas pelo exercício na concentração e porcentagem de algumas subpopulações de leucócitos (ROHDE *et al.*, 1998b).

O efeito da suplementação com glutamina sobre a diminuição da funcionalidade de linfócitos induzida pelo exercício exaustivo também foi investigado em atletas após exercício

em ciclo ergômetro (2 horas a 75% VO_{2max}). A suplementação oral com glutamina durante e 2 horas após o término do exercício evitou o declínio da concentração de glutamina no plasma pós-exercício, porém não teve efeito sobre a atividade de células “natural killer” e células “killer” ativadas por linfocinas, sobre a proliferação de linfócitos T e sobre a concentração de catecolaminas, hormônio do crescimento, insulina e glicose. Apesar destes resultados, observou-se que a neutrocitose induzida pelo exercício foi menos pronunciada no grupo suplementado com glutamina, porém é provável que este resultado não represente algum significado clínico relevante (KRZYWKOWSKI *et al.*, 2001a).

ROHDE *et al.* (1998a) verificaram o efeito da suplementação com glutamina sobre alterações do sistema imune induzidas pelo exercício. Oito indivíduos saudáveis realizaram uma série de 3 exercícios no ciclo ergômetro durante 60, 45 e 30 minutos com intensidade de 75% do VO_{2max} , separados por 2 horas de intervalo. Os indivíduos foram suplementados com glutamina (100mg de glutamina/Kg de massa corporal) 30 minutos antes do final do exercício, imediatamente e duas horas após o término de cada sessão de exercício. A concentração plasmática arterial de glutamina diminuiu de 508 ± 35 mM (pré-exercício) para 402 ± 38 (2 horas após a última série de exercícios) no grupo placebo, enquanto essa concentração aumentou acima dos valores pré-exercício no grupo suplementado com L-glutamina. O número de linfócitos circulantes e a resposta proliferativa de linfócitos diminuíram 2 horas após a primeira e segunda séries, respectivamente, enquanto a atividade de células “killer” ativadas por linfocinas declinou duas horas após o término da terceira sessão. A suplementação com glutamina *in vivo* não influenciou estas alterações da resposta imune pós-exercício, apesar da manutenção da glutaminemia acima dos valores pré-exercício. Igualmente, a suplementação com glutamina por meio da ração, durante uma semana, em ratos submetidos ao treinamento de baixa intensidade demonstrou não alterar a atividade citolítica de células “natural killer” (SHEWCHUCK *et al.*, 1997b).

Uma possível relação entre a diminuição da glutaminemia e a concentração de IgA salivar pós-exercício intenso e prolongado é proposta por alguns pesquisadores. KRZYWKOWSKI *et al.* (2001b) investigaram esta relação em atletas submetidos a uma sessão de exercício em ciclo ergômetro por 2 horas (75% VO_{2max}) e suplementados durante e duas horas após o exercício com L-glutamina (17,5g), proteína (68,5g) ou placebo. A concentração plasmática de glutamina diminuiu em 15% duas horas após o término do exercício no grupo placebo, enquanto esta diminuição foi evitada nos grupos suplementados com glutamina e proteína. Contudo, nenhum dos suplementos foi eficaz em evitar a diminuição na concentração e liberação de IgA salivar induzida pelo exercício.

Estudos recentes confirmam que neutrófilos consomem glutamina ativamente e, em função disso, WALSH *et al.* (2000) investigaram a influência da suplementação oral com glutamina sobre a degranulação e “burst” oxidativo de neutrófilos estimulados após uma sessão de exercício por duas horas (60% VO_{2max}) em indivíduos treinados. A suplementação com glutamina foi administrada durante e após o término do exercício,

contudo nenhum dos parâmetros de funcionalidade de neutrófilos foi alterado por meio desta intervenção nutricional.

Além da suplementação com glutamina, outros nutrientes têm sido utilizados visando à manutenção da glutaminemia e da imunocompetência em atletas submetidos a exercícios exaustivos. Sendo assim, BACURAU *et al.* (2002) verificaram o efeito da suplementação com carboidratos (solução a 10% com 95% de polímeros de glicose e 5% de frutose), 1g/Kg/hora, sobre a concentração plasmática de glutamina e a imunocompetência em ciclistas que pedalarão em uma velocidade que correspondia a 90% daquela obtida no limiar anaeróbico metabólico. Os atletas pedalarão durante 20 minutos e descansaram por 20 minutos, sendo que esse protocolo foi repetido seis vezes. A suplementação com carboidratos acarretou em manutenção da glutaminemia. Além disso, os resultados demonstraram que, diferentemente da maioria dos estudos que avaliaram o efeito da suplementação com glutamina sobre a imunocompetência de atletas, a suplementação com carboidratos evitou a diminuição da proliferação de linfócitos, da síntese *in vitro* de citocinas e da glicemia, e o aumento da concentração sérica de cortisol.

A glutamina é sintetizada a partir do grupo amino de aminoácidos de cadeia ramificada e precursores de cadeia de carbono, incluindo aminoácidos, glicogênio e glicose (GLEESON *et al.*, 1998). Desse modo, BASSIT *et al.* (2000) avaliaram o efeito da suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada sobre a resposta imune e a glutaminemia em triatletas. Os autores verificaram que a suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada manteve a concentração plasmática de glutamina em triatletas após a realização de um triatlo olímpico (natação 1,5Km; ciclismo 40Km e corrida 10Km). Além disso, a suplementação evitou a diminuição da resposta proliferativa de linfócitos e da síntese de interleucina-1.

SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA E RESSÍNTESE DE GLICOGÊNIO

Outro objetivo da suplementação com glutamina refere-se ao possível papel deste aminoácido sobre a ressíntese de glicogênio muscular e hepático. Tanto a síntese de glicogênio hepático quanto muscular é estimulada por mecanismos relacionados ao aumento do volume celular – que são independentes da alteração da captação de glicose sanguínea. Desde que a captação de glutamina (soluto) pela célula acarreta em concomitante captação de água, é provável que este aminoácido favoreça a ressíntese de glicogênio no período pós-exercício. Além disso, a glutamina pode promover aumento do volume celular devido à sua captação muscular ser dependente de sódio. O aumento do volume celular também atua na modulação da atividade da enzima glicogênio sintetase, provavelmente como um resultado da estimulação da atividade da enzima glicogênio sintetase fosfatase (Figura 4) (VARNIER *et al.*, 1995; LOW *et al.*, 1996).

Além disso, a glutamina pode fornecer a sua cadeia de carbonos para a ressíntese de glicogênio, desde que este aminoácido entre no ciclo de Krebs, na forma de 2-oxoglutarato,

e, por ação da enzima málica, o malato então formado seja convertido em fosfoenolpiruvato. As demais reações que caracterizam a neoglicogênese acarretam no surgimento de glicose-6-fosfato que, especificamente no tecido muscular, não é transformada em glicose livre, devido à ausência da enzima glicose-6-fosfatase. Desse modo, a maior disponibilidade de glicose-6-fosfato estimularia a atividade da enzima glicogênio sintetase (Figura 4). Contudo, evidências desse fenômeno permanecem para serem obtidas (CURI, 2000).

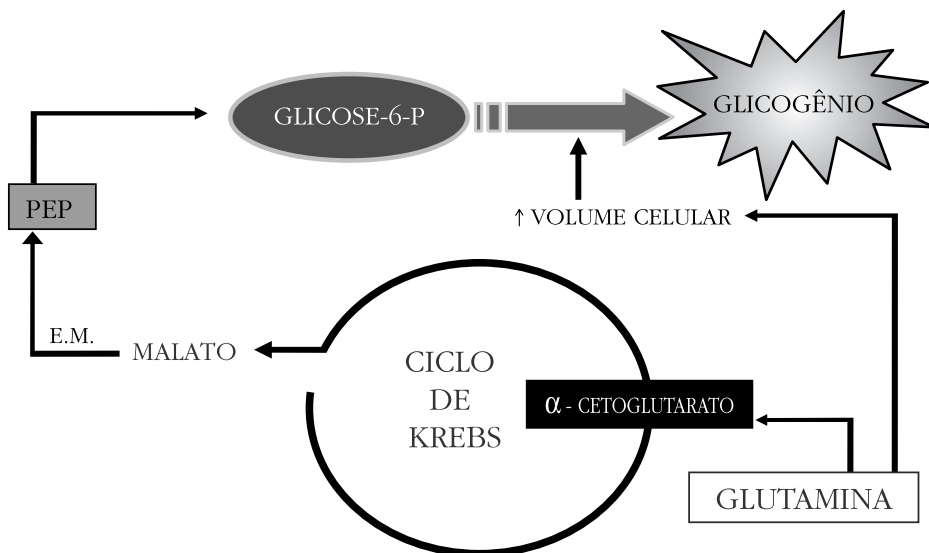


Figura 4 Possíveis efeitos da glutamina na ressíntese de glicogênio. (E.M.=enzima málica; PEP=fosfoenolpiruvato)

BOWTELL *et al.* (1999) verificaram o efeito da suplementação oral com 8 gramas de glutamina em 330mL de água sobre a glutaminemia e concentração de glicogênio muscular após um protocolo de exercício exaustivo, que induziu a depleção dos estoques de glicogênio. A suplementação aumentou a concentração plasmática de glutamina durante o período de recuperação em 46%, sugerindo que uma proporção substancial da glutamina administrada oralmente escapou da utilização por parte das células da mucosa intestinal e da captação pelo rim e fígado. Aliada a este resultado, a ingestão de glutamina estimulou a ressíntese de glicogênio muscular durante o período de recuperação. Contudo, este efeito sobre a ressíntese de glicogênio muscular foi similar aos resultados obtidos com a ingestão oral de uma solução de polímeros de glicose (18,5%). Além disso, os autores observaram um possível aumento dos estoques de glicogênio hepático aliado ao aumento do conteúdo de glicogênio muscular, quando os indivíduos foram suplementados com uma solução contendo polímeros de glicose (18,5%) juntamente com 8 gramas de glutamina.

Corroborando esse estudo, VAN HALL *et al.* (2000) investigaram o efeito da ingestão oral de glutamina (0,3g/Kg de massa corporal), hidrolisados de proteína de trigo (26% de

glutamina) e soro de leite (6,6% de glutamina), sendo estas três soluções administradas juntamente com glicose (0,8g/Kg de massa corporal) e comparadas a solução apenas com glicose. As soluções foram ingeridas imediatamente após uma sessão de exercício exaustivo, e também 1 e 2 horas do período de recuperação. A taxa de ressíntese de glicogênio muscular não diferiu entre os quatro testes, no entanto a solução com glutamina livre aumentou duas vezes a glutaminemia durante a recuperação, enquanto nenhuma alteração foi observada com as soluções com hidrolisados protéicos, e uma diminuição de 20% na concentração de glutamina no plasma ocorreu com a ingestão da solução controle.

SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA E PERFORMANCE

Outro possível papel da suplementação com glutamina refere-se à capacidade deste aminoácido aumentar a concentração intramuscular de intermediários do ciclo de Krebs (anaplerose), durante os primeiros minutos do exercício e, conseqüentemente, aumentar a capacidade de geração de energia pela via oxidativa, atuando desse modo sobre a *performance* de atletas. Esta hipótese foi investigada por meio da suplementação com glutamina (0,125 gramas/Kg de massa corporal), que foi administrada uma hora antes de uma sessão de exercício em ciclo ergômetro a 70% VO_{2max}. A suplementação promoveu o aumento do *pool* de intermediários do ciclo de Krebs após 10 minutos de exercício, provavelmente devido à entrada de α -cetoglutarato provindo da glutamina. Contudo, não houve alteração da capacidade de *endurance*, que foi avaliada a partir da concentração de fosfocreatina depletada ou acúmulo de lactato, o que sugere que a concentração de intermediários do ciclo de Krebs não limita o fluxo deste ciclo. Todavia, a escolha de um protocolo de exercício mais intenso talvez seja necessária para demonstrar tal limitação (BRUCE *et al.*, 2001).

Dentre os suplementos que atuam no desempenho físico, pode-se citar aqueles que influenciam o equilíbrio ácido-base, desde que aumentam a capacidade tamponante do sangue e tecidos em situações de acidose decorrentes do exercício de alta intensidade, o que pode ser constatado pelo aumento da concentração de lactato concomitante à elevação da concentração de íons H⁺.

A suplementação com 2 gramas de glutamina promoveu aumento da concentração plasmática de íons bicarbonato (HCO₃) em indivíduos saudáveis após um período absoritivo de 90 minutos. Além disso, tem sido proposto que a glutamina altera o balanço ácido-base por meio do aumento da retenção de HCO₃ no rim (WELBOURNE, 1995; SMITH e NORRIS, 2000).

Desse modo, HAUB *et al.* (1998) verificaram o efeito da suplementação com glutamina em relação ao balanço ácido-base e *performance* em indivíduos treinados submetidos a cinco sessões de exercício em ciclo ergômetro a 100% do VO_{2max}. Contudo, os autores verificaram que a ingestão aguda de glutamina (0,03g/Kg de massa corporal) não alterou tanto a capacidade tamponante sanguínea quanto o tempo de tolerância ao esforço físico.

Recentemente, ANTONIO *et al.* (2002) comprovaram o efeito da suplementação com glutamina sobre o aumento de *performance* em praticantes de levantamento de peso, que ingeriram solução de glutamina (0,2g/Kg de massa corporal), glicina (0,2g/Kg de massa corporal) ou placebo. O protocolo de exercício foi realizado uma hora após a administração das suplementações, sendo que nenhuma diferença quanto ao número médio de repetições realizadas em exercícios de “leg press” (200% da massa corporal) ou “bench press” (100% da massa corporal) foi observada entre os grupos estudados. Estes resultados indicam que a ingestão aguda de glutamina não aumenta o desempenho de praticantes de levantamento de peso.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos recentes relacionados ao metabolismo e à bioquímica da glutamina fornecem dados convincentes para sua reclassificação como um aminoácido condicionalmente essencial. A suplementação de glutamina em atletas após exercícios exaustivos ou durante períodos de treinamento intenso pode exercer efeitos benéficos sobre o sistema imune, músculo esquelético e regulação do metabolismo de carboidratos. Entretanto, outros estudos são necessários para esclarecer totalmente o papel da suplementação deste aminoácido no campo da nutrição esportiva.

Diversos autores têm sugerido que a concentração de glutamina possa representar um marcador bioquímico de *overtraining*. Contudo, desde que a glutaminemia seja influenciada pelo exercício, estado nutricional, dieta, infecção e trauma físico, é importante que pesquisadores estejam atentos a estes fatores no momento de incluir a concentração plasmática de glutamina como um dos parâmetros de avaliação de atletas com síndrome de *overtraining*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- ANTONIO, J.; SANDERS, M.S.; KALMAN, D.; WOODGATE, D.; STREET, C. The effects of high-dose glutamine ingestion on weightlifting performance. *J. Strength Cond. Res.*, v. 16, p. 157-60, 2002.
- ANTONIO, J.; STREET, C. Glutamine: a potentially useful supplement for athletes. *Can. J. Appl. Physiol.*, v. 24, p. 1-14, 1999.
- ARDAWI, M.S.M. Skeletal muscle glutamine production in thermally injured rats. *Clin. Sci.*, v. 74, p. 165-72, 1988.
- ARDAWI, M.S.M.; NEWSHOLME, E.A. Maximum activities of some enzymes of glycolysis, the tricarboxylic acid cycle and ketone-body and glutamine utilization pathways in lymphocytes of the rat. *Biochem. J.*, v. 208, p. 743-748, 1982.

- BACURAU, R.F.P.; BASSIT, R.A.; SAWADA, L.; NAVARRO, F.; MARTINS-Jr, E.; COSTA ROSA, L.F.B.P. Carbohydrate supplementation during exercise and the immune response of cyclists. *Clin. Nutr.*, v. 21, p. 423-429, 2002.
- BAILEY, D.M.; CASTELL, L.M.; NEWSHOLME, E.A.; DAVIES, B. Continuous and intermittent exposure to the hypoxia of altitude: implications for glutamine metabolism and exercise performance. *Br. J. Sports Med.*, v. 34, p. 210-2, 2000.
- BASSIT, R.A.; SAWADA, L.A.; BACURAU, R.F.P., NAVARRO, F.; COSTA ROSA, L.F.B.P. The effect of BCAA supplementation upon the immune response of triathletes. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 32, p. 1214-1219, 2000.
- BASSIT, R.A.; SAWADA, L.A.; BACURAU, R.F.P., NAVARRO, F.; MARTINS, E.; SANTOS, R.V.T.; CAPERUTO, E.C.; ROGERI, P.; COSTA ROSA, L.F.B.P. Branched-chain amino acid supplementation and immune response of long-distance athletes. *Nutrition*, v. 18, p. 376-379, 2002.
- BISHOP, N.C.; BLANNIN, A.K.; WALSH, N.P.; ROBSON, P.J.; GLEESON, M. Nutritional aspects of immunosuppression in athletes. *Sports Med.*, v. 28, p. 151-76, 1999.
- BLANCHARD, M.A.; JORDAN, G.; DESBROW, B.; MACKINNON, L.T.; JENKINS, D.G. The influence of diet and exercise on muscle and plasma glutamine concentrations. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 33, p. 69-74, 2001.
- BORBA-MURAD, G.R.; SOUZA, H.M.; LOPES, G.; FERREIRA, E.B.; DAMBROSO, D.; BAZOTTE, R.B. Changes in glycemia induced by exercise in rats: contribution of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis. *Res. Commun. Molec. Pathol. Pharmacol.*, v. 102, p. 113-23, 1998.
- BOWTELL, J.L.; GELLY, K.; JACKMAN, M.L.; PATEL, A.; SIMEONI, M.; RENNIE, M.J. Effect of oral glutamine on whole body carbohydrate storage during recovery from exhaustive exercise. *J. Appl. Physiol.*, v. 86, p. 1770-7, 1999.
- BROSNAN, J.T. Glutamate, at the interface between amino acid and carbohydrate metabolism. *J. Nutr.*, v. 130, p. 988-90, 2000.
- BRUCE, M.; CONSTANTIN-TEODOSIU, D.; GREENHAFF, P.L.; BOOBIS, L.H.; WILLIAMS, C.; BOWTELL, J.L. Glutamine supplementation promotes anaplerosis but not oxidative energy delivery in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, v. 280, p. E669-75, 2001.
- CASTELL, L.M.; NEWSHOLME, E.A. Glutamine and the effects of exhaustive exercise upon the immune response. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v. 76, p. 524-32, 1998.
- CASTELL, L.M.; NEWSHOLME, E.A. The effect of oral glutamine supplementation on athletes after prolonged, exhaustive exercise. *Nutrition*, v. 13, p. 738-42, 1997.
- CASTELL, L.M.; POORTMANS, J.R.; LECLERCQ, R.; BRASSEUR, M.; DUCHATEAU, J.; NEWSHOLME, E.A. Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 75, p. 47-53, 1997.
- CASTELL, L.M.; POORTMANS, J.R.; NEWSHOLME, E.A. Does glutamine have a role in reducing infections in athletes? *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 73, p. 488-90, 1996.
- CHRISTOPHE, J.; WINAND, J.; KUTZNER, R.; HEBBELINCK, M. Amino acid levels in plasma, liver, muscle, and kidney during and after exercise in fasted and fed rats. *Am. J. Physiol.*, v. 221, p. 453-7, 1971.
- CURI, R. *Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte*. Rio de Janeiro: Sprint, 2000.
- CURI, T.C.P.; MELO, M.P.; AZEVEDO, R.B.; ZORN, T.M.T.; CURI, R. Glutamine utilization by rat neutrophils: presence of phosphate-dependent glutaminase. *Am. J. Physiol.*, v. 273, p. C1124-9, 1997.

- DÉCHELOTTE, P.; DARMAUN, D.; RONGIER, M.; HECKETSWEILER, B.; RIGAL, O.; DESJEUX, J. Absorption and metabolic effects of enterally administered glutamine in humans. *Am. J. Physiol.*, v. 260, p. G677-82, 1991.
- DI PASQUALE, M.G. *Amino acids and proteins for the athlete: the anabolic edge*. Boca Raton: CRC Press, 1997. 257p. (Nutrition in exercise and sport).
- DOHM, G.L.; BEECHER, G.R.; WARREN, R.Q. Influence of exercise on free amino acid concentrations in rat tissues. *J. Appl. Physiol.*, v. 50, p. 41-4, 1981.
- DOHM, G.L.; KASPEREK, G.J.; TAPSCOTT, E.B.; BARAKAT, H.A. Protein metabolism during endurance exercise. *Federation Proc.*, v. 44, p. 348-52, 1985.
- ERIKSSON, L.S.; BROBERG, S.; BJORKMAN, O.; WAHREN, J. Ammonia metabolism during exercise in man. *Clin. Physiol.*, v. 5, p. 325-36, 1985.
- FIELD, C.J.; JOHNSON, I.; PRA TT, V.C. Glutamine and arginine: immunonutrients for improved health. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 32, p. S377-88, 2000.
- FRISINA, J.P.; GAUDIERI, S.; CABLE, T.; KEAST, D.; PALMER, T.N. Effects of acute exercise on lymphocyte subsets and metabolic activity. *Int. J. Sports Med.*, v. 15, p. 36-41, 1994.
- GLEESON, M.; BLANNIN, A.K.; WALSH, N.P.; BISHOP, N.C.; CLARK, A.M. Effect of low- and high-carbohydrate diets on the plasma glutamine and circulating leukocyte responses to exercise. *Int. J. Sport Nutr.*, v. 8, p. 49-59, 1998.
- GREENHAFF, P.L.; GLEESON, M.; MAUGHAN, R.J. The effects of diet on muscle pH and metabolism during high intensity exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 57, p. 531-9, 1988.
- HACK, V.; WEISS, C.; FRIEDMANN, B.; SUTTNER, S.; SCHYKOWSKI, M.; ERBE, N.; BENNER, A.; BÄR TSCH, P.; DRÖGE, W. Decrease plasma glutamine level and CD4⁺ T cell number in response to 8 wk of anaerobic training. *Am. J. Physiol.*, v. 272, p. E788-95, 1997.
- HAUB, M.D.; POTTEIGER, J.A.; NAU, K.L.; WEBSTER, M.J.; ZEBAS, C.J. Acute l-glutamine ingestion does not improve maximal effort exercise. *J. Sports Med. Phys. Fitness*, v. 38, p. 240-4, 1998.
- HOOD, D.A.; TERJUNG, R.L. Amino acid metabolism during exercise and following endurance training. *Sports Med.*, v. 9, p. 23-35, 1990.
- HOOD, D.A.; TERJUNG, R.L. Endurance training alters alanine and glutamine release from muscle during contractions. *FEBS Letters*, v. 340, p. 287-90, 1994.
- KATZ, A.; BROBERG, S.; SAHLIN, K.; WAHREN, J. Muscle ammonia and amino acid metabolism during dynamic exercise in man. *Clin. Physiol.*, v. 6, p. 365-79, 1986.
- KEAST, D.; ARSTEIN, D.; HARPER, W.; FRY, R.W.; MORTON, A.R. Depression of plasma glutamine concentration after exercise stress and its possible influence on the immune system. *Med. J. Aust.*, v. 162, p. 15-8, 1995.
- KEW, S.; WELLS, S.M.; YAQOOB, P.; WALLACE, F.A.; MILES, E.A.; CALDER, P.C. Dietary glutamine enhances murine t-lymphocyte responsiveness. *J. Nutr.*, v. 129, p. 1524-31, 1999.
- KINGSBURY, K.J.; KAY, L.; HJELM, M. Contrasting plasma free amino acid patterns in elite athletes: association with fatigue and infection. *Br. J. Sports Med.*, v. 32, p. 25-33, 1998.
- KLASSEN, P.; MAZARIEGOS, M.; SOLOMONS, N.W.; FÜRST, P. The pharmacokinetic responses of humans to 20 g of alanyl-glutamine dipeptide differ with the dosing protocol but not with gastric acidity or in patient with acute dengue fever. *J. Nutr.*, v. 170, p. 177-82, 2000.
- KOYAMA, K.; KAYA, M.; TSUJITA, J.; HORI, S. Effects of decrease plasma glutamine concentrations on peripheral lymphocyte proliferation in rats. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 77, p. 25-31, 1998.

- KREIDER, R.B. Dietary supplements and the promotion of muscle growth with resistance exercise. *Sports Med.*, v. 27, p. 97-110, 1999.
- KRZYWKOWSKI, K.; PETERSEN, E.W.; OSTROWSKI, K.; AMSTER, H.L.; BOZA, J.; KRISTENSEN, J.H.; PEDERSEN, B.K. Effect of glutamine supplementation and protein supplementation on exercise-induced decreases in salivary IgA. *J. Appl. Physiol.*, v. 91, p. 832-8, 2001b.
- KRZYWKOWSKI, K.; PETERSEN, E.W.; OSTROWSKI, K.; KRISTENSEN, J.H.; BOZA, J.; PEDERSEN, B.K. Effect of glutamine supplementation on exercise-induced changes in lymphocyte function. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, v. 281, p. C1259-65, 2001a.
- LACEY, J.M.; WILMORE, D.W. Is glutamine a conditionally essential amino acid? *Nutr. Rev.*, v. 48, p. 297-309, 1990.
- LEHMANN, M.; HUONKER, M.; DIMEO, F.; HEINZ, N.; GASTMANN, U.; TREIS, N.; STENACKER, J.M.; KEUL, J.; KAJEWSKI, R.; HAUSSINGER, D. Serum amino acid concentrations in nine athletes before and after the 1993 Colmar Ultra Triathlon. *Int. J. Sports Med.*, v. 16, p. 155-9, 1995.
- LOW, S.Y.; RENNIE, M.J.; TAYLOR, P.M. Modulation of glycogen synthesis in rat skeletal muscle by changes in cell volume. *J. Physiol.*, v. 495, p. 299-303, 1996.
- MACKINNON, L.T.; HOOPER, S.L. Plasma glutamine and upper respiratory tract infection during intensified training in swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 28, p. 285-90, 1996.
- MORIGUCHI, S.; MIWA, H.; KISHINO, Y. Glutamine supplementation prevents the decrease of mitogen response after a treadmill exercise in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, v. 41, p. 115-25, 1995.
- MOSKOVITZ, B.; KATZ, Y.; SINGER, P.; NATIV, O.; ROSENBERG, B. Glutamine metabolism and utilization: relevance to major problems in health care. *Pharm. Res.*, v. 30, p. 61-71, 1994.
- NEU, J.; SHENOY, V.; CHAKRABARTI, R. Glutamine nutrition and metabolism: where do we go from here? *Faseb J.*, v. 10, p. 829-37, 1996.
- NEWSHOLME, E.A.; NEWSHOLME, P.; CURRI, R.; CRABTREE, B.; ARDAWI, M.S.M. *Glutamine metabolism in different tissues. Its physiological and pathological importance. Perspectives in Clinical Nutrition*. Munich: John M. Kinney and Peggy R. Borum; 1989.
- NEWSHOLME, P.; CURRI, R.; CURRI, T.C.P.; MURPHY, C.J.; GARCIA, C.; MELO, M.P. Glutamine metabolism by lymphocytes, macrophages, and neutrophils: its importance in health and disease. *J. Nutr. Biochem.*, v. 10, p. 316-24, 1999.
- NIEMAN, D.C.; PEDERSEN, B.K. Exercise and immune function. *Sports Med.*, v. 27, p. 73-80, 1999.
- PARRY-BILLINGS, M.; BUDGETT, R.; KOUTEDAKIS, Y.; BLOMSTRAND, E.; BROOKS, S.; WILLIAMS, C.; CALDER, P.C.; PILLING, S.; BAIGRIE, R.; NEWSHOLME, E.A. Plasma amino acid concentration in the overtraining syndrome: possible effects on the immune system. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 24, p. 1353-8, 1992.
- PARRY-BILLINGS, M.; LEIGHTON, B.; DIMITRIADIS, G.; VASCONCELOS, P.R.L.; NEWSHOLME, E.A. Skeletal muscle glutamine metabolism during sepsis in the rat. *Int. J. Biochem.*, v. 21, p. 419-23, 1989.
- RENNIE, M.J.; EDWARDS, R.H.T.; KRYWAWYCH, S.; DAVIES, C.T.M.; HALLIDAY, D.; WATERLOW, J.C.; MILLWARD, D.J. Effect of exercise on protein turnover in man. *Clin. Sci.*, v. 61, p. 627-39, 1981.
- RENNIE, M.J.; TADROS, L.; KHOGLI, S.; AHMED, A.; TAYLOR, P.M. Glutamine transport and its metabolic effects. *J. Nutr.*, v. 124, p. 1503-8, 1994.
- ROGERO, M.M.; TIRAPÉGUI, J. Aspectos atuais sobre glutamina, atividade física e sistema imune. *Rev. Bras. Ciên. Farm.*, v. 36, p. 201-12, 2000.

- ROHDE, T.; ASP, S.; MACLEAN, D.A.; PEDERSEN, B.K. Competitive sustained exercise in humans, lymphokine activated killer cell activity, and glutamine: an intervention study. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 78, p. 448-53, 1998b.
- ROHDE, T.; MACLEAN, D.A.; HARTKOOP, A.; PEDERSEN, B.K. The immune system and serum glutamine during a triathlon. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 74, p. 428-34, 1996.
- ROHDE, T.; MACLEAN, D.A.; PEDERSEN, B.K. Effect of glutamine supplementation on changes in the immune system induced by repeated exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 30, p. 856-62, 1998a.
- ROWBOTTOM, D.G.; KEAST, D.; GOODMAN, C.; MORTON, A.R. The haematological, biochemical profile of athletes suffering from the overtraining syndrome. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 70, p. 502-9, 1995.
- ROWBOTTOM, D.G.; KEAST, D.; MORTON, A.R. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sports Med.*, v. 21, p. 80-97, 1996.
- SCHEPPACH, W.; LOGES, C.; BARTRAM, P.; CHRISTL, S.U.; RICHTER, F.; DUSEL, G.; STEHLE, P.; FURST, P.; KASPER, H. Effect of free glutamine and alanyl-glutamine dipeptide on mucosal proliferation of the human ileum and colon. *Gastroenterology*, v. 107, p. 429-34, 1994.
- SEWELL, D.A.; GLEESON, M.; BLANNIN, A.K. Hyperammonaemia in relation to high-intensity exercise duration in man. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 69, p. 350-64, 1994.
- SHEWCHUCK, L.D.; BARACOS, V.E.; FIELD, C.J. Dietary l-glutamine does not improve lymphocyte metabolism or function in exercise-trained rats. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 29, p. 474-81, 1997b.
- SHEWCHUCK, L.D.; BARACOS, V.E.; FIELD, C.J. Dietary l-glutamine supplementation reduces the growth of the Morris hepatoma 7777 in exercise-trained and sedentary rats. *J. Nutr.*, v. 127, p. 158-66, 1997a.
- SMITH, D.J.; NORRIS, S.R. Changes in glutamine and glutamate concentrations for tracking training tolerance. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 32, p. 684-9, 2000.
- SMITH, L.L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med. Sci. Sports Exerc.*, v.32, p. 317-31, 2000.
- SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. *J. Parent. Ent. Nutr.*, v. 14, Suppl 4, p. 40-4, 1990.
- VAN HALL, G.; SARIS, W.H.M.; VAN DE SCHOOR, P.A.I.; WAGENMAKERS, A.J.M. The effect of free glutamine and peptide ingestion on the rate of muscle glycogen resynthesis in man. *Int. J. Sports Med.*, v. 21, p. 25-30, 2000.
- VAN HALL, G.; WAGENMAKERS, A.J.M. Effect of carbohydrate supplementation on plasma glutamine during prolonged exercise and recovery. *Int. J. Sports Med.*, v. 19, p. 82-6, 1998.
- VARNIER, M.; LEESE, G.P.; THOMPSON, J.; RENNIE, M.J. Stimulatory effect of glutamine on glycogen accumulation in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.*, v. 269, p. E309-315, 1995.
- VASCONCELOS, M.I.L.; TIRAPEGUI, J. Importância nutricional da glutamina. *Arq. Gastroenterol.*, v. 35, p. 207-15, 1998.
- VIRU, A. Mobilization of structural proteins during exercise. *Sports Med.*, v. 4, p. 95-128, 1987.
- WALSH, N.P.; BLANNIN, A.K.; BISHOP, N.C.; ROBSON, P.J.; GLEESON, M. Effect of oral glutamine supplementation on human neutrophil lipopolysaccharide-stimulated degranulation following prolonged exercise. *Int. J. Sports Nutr. Exerc. Metab.*, v. 10, p. 39-50, 2000.
- WALSH, N.P.; BLANNIN, A.K.; CLARK, A.M.; COOK, L.; ROBSON, P.J.; GLEESON, M. The effects of high-intensity intermittent exercise on the plasma concentrations of glutamine and organics acids. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 77, p. 434-8, 1998a.

- WALSH, N.P.; BLANNIN, A.K.; ROBSON, P.J.; GLEESON, M. Glutamine, exercise and immune function: links and possible mechanisms. *Sports Med.*, v. 26, p. 177-91, 1998b.
- WELBOURNE, T.C. Increased plasma bicarbonate and growth hormone after an oral glutamine load. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 61, p. 1058-61, 1995.
- WILLIAMS, B.D.; CHINKES, D.L.; WOLFE, R.R. Alanine and glutamine kinetics at rest and during exercise in humans. *Med. Sci. Sports Exerc.*, v. 30, p. 1053-8, 1998.
- YOUNG, V.R.; AJAMI, A.M. Glutamine: the emperor or his clothes? *J. Nutr.*, v. 131, p. 2449-59, 2001.
- ZANKER, C.L.; SWAINE, I.L.; CASTELL, L.M.; NEWSHOLME, E.A. Responses of plasma glutamine, free tryptophan and branched-chain amino acids to prolonged exercise after a regime designed to reduce muscle glycogen. *Eur. J. Appl. Physiol.*, v. 75, p. 543-8, 1997.
- ZIEGLER, T.R.; BENFELL, K.; SMITH, R.J.; YOUNG, L.S.; BROWN, E.; FERRARI-BALIVIERA, E.; LOWE, D.K.; WILMORE, D.W. Safety and metabolic effects of L-glutamine administration in humans. *J. Parent. Ent. Nutr.*, v. 14, Suppl 1, p. 137-46, 1990.

Recebido para publicação em 06/01/03.

Aprovado em 30/06/03.

Uso de carnitina em terapia nutricional

Use of carnitine in nutritional therapy

ABSTRACT

RODRIGUES, L.P.; PADOVAN, G.J.; MARCHINI, J.S. Use of carnitine in nutritional therapy. *Nutrition: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = *J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP. v.25, p. 113-134, jun., 2003.

L-carnitine is an important nutritional supplement and an essential compound due to its role in cell energy production. This substance is involved in the transport of long chain fatty acid, from the cytosol to mitochondrial matrix, where β -oxidation takes place and also shuttles accumulated acyl groups out of the mitochondria. L-carnitine is ubiquitously distributed, with a small amount present in vegetables and a high amount in animal protein, mainly provided by meats. Dietetic carnitine corresponds to 75% of total carnitine, whereas the remaining is synthesized by the organism. Under certain conditions carnitine deficiency may occur, being identified insufficient plasma and tissue concentrations for the regular body functions, and/or by a lack of free carnitine in comparison with augmented metabolic demands. For healthy people, a diet poor in carnitine is balanced by the organism itself, by means of mechanisms that keep plasma levels close to the normal values. However, in particular clinic situations, which involve carnitine insufficiency or deficiency, this compound has been used as part of the treatment. The potential application of carnitine and its derivatives in heart diseases and in patients subjected to hemodialyses have been reported and the results are promising. Therefore, it is worth investigating the benefits of carnitine supplementation in specific clinical conditions, since the current data do not permit to indicate supplementation in such situations.

Keywords: carnitine;
nutrition; renal dialysis;
heart diseases

LUCIANA PINTO
RODRIGUES¹; GILBERTO
JOÃO PADOVAN²; JÚLIO
SÉRGIO MARCHINI³

^{2,3}Departamento
de Clínica Médica da
Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto, USP
¹Mestranda pós-
graduação em alimentos e
nutrição. FCF/UNESP
Araraquara.

**Endereço para
correspondência:**
Departamento de
Clínica Médica da
Faculdade de Medicina
de Ribeirão Preto
Av. Bandeirantes, 3600
Monte Alegre,
CEP 14049-900
Ribeirão Preto, SP
e-mail:
lprodrig@hotmail.com

RESUMEN

La L-carnitina es un importante suplemento nutricional por su papel en la producción de energía celular. Es responsable por el transporte de ácidos grasos de cadena larga desde el citosol para la matriz de las mitocondrias donde ocurre la β -oxidación y también del transporte para el citosol, de los radicales acilo acumulados en la mitocondria. Es encontrada en pequeñas cantidades en los alimentos vegetales y en altas concentraciones en alimentos animales, principalmente en las carnes. Del total, 75% se origina de la carnitina de la dieta, el resto es sintetizada por el organismo. En determinadas condiciones, puede existir una deficiencia de carnitina, caracterizada por concentraciones en el plasma y en los tejidos abajo de las necesarias para las funciones orgánicas normales, o también, por una falta de carnitina libre en situaciones en que las necesidades metabólicas se encuentran aumentadas. En individuos sanos, el organismo compensa una dieta pobre en carnitina por medio de mecanismos que mantienen los niveles plasmáticos próximos de los normales. Sin embargo, en situaciones clínicas específicas donde existe deficiencia o insuficiencia de carnitina, este compuesto ha sido utilizado como parte de la terapia. Las aplicaciones potenciales de la carnitina y sus derivados han sido relatadas para las enfermedades cardiacas y en pacientes sometidos a hemodiálisis donde los resultados alcanzados fueron muy promisorios. Es importante la investigación de los posibles beneficios del suplemento de carnitina en situaciones clínicas específicas.

Palabras clave: carnitina; nutrición; diálisis renal; cardiopatías

RESUMO

A L-carnitina é um importante suplemento nutricional e um composto essencial devido a seu papel na produção de energia celular. Está envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa, do citosol para a matriz mitocondrial, onde a β -oxidação ocorre e também no transporte, para o citosol, de grupos acil acumulados na mitocôndria. Apresenta uma distribuição ubíqua, com pequenas quantidades em alimentos vegetais e um alto conteúdo em alimentos animais, principalmente carnes. A carnitina presente na dieta responde por cerca de 75% do total de carnitina, sendo o restante sintetizado pelo organismo. Em determinadas condições, pode existir uma deficiência de carnitina, caracterizada por concentrações plasmática e tecidual abaixo daquelas necessárias para as funções normais do organismo, e/ou uma insuficiência de carnitina, indicada por uma deficiência relativa de carnitina livre, comparada com necessidades metabólicas aumentadas. Em indivíduos saudáveis, uma dieta pobre em carnitina é compensada pelo organismo, por meio de mecanismos que mantêm a concentração plasmática próxima ao normal. No entanto, em situações clínicas específicas, que envolvem deficiência ou insuficiência de carnitina, esse composto tem sido utilizado como parte do processo terapêutico. As aplicações potenciais da carnitina e seus derivados já foram relatadas para a doença cardíaca e em pacientes submetidos à hemodiálise, sendo promissores os resultados alcançados. Dessa forma, é de grande relevância investigar os possíveis benefícios da suplementação de carnitina em situações clínicas específicas, uma vez que os dados atuais não permitem indicar a suplementação em tais situações.

Palavras-chave: carnitina; nutrição; diálise renal; cardiopatias

INTRODUÇÃO

A carnitina foi descoberta, em 1905, por GULEWITCH e KRIMBERG e sua estrutura química determinada duas décadas mais tarde por TOMITA e SENDJU (1927). No início dos anos 50, CARTER et al. (1952) demonstraram que a carnitina era um nutriente essencial para o crescimento das larvas do verme *Tenebrio molitor*, sendo portanto denominada vitamina Bt (T de *Tenebrio*) e que larvas com deficiência de carnitina morriam com depósitos excessivos de triacilglicerol, mesmo quando desnutridas, pois não eram capazes de metabolizar seus estoques de gordura. Subseqüentemente, FRIEDMAN e FRAENKEL (1955) descobriram que a carnitina era acetilada reversivelmente pela acetil-coenzima A (acetil CoA) e FRITZ (1963) mostrou que a carnitina estimulava a oxidação de ácidos graxos em homogeneizados de fígado. Esses estudos levaram à descoberta de que a carnitina carrega ácidos graxos ativados através da membrana mitocondrial.

A L-carnitina é um importante suplemento nutricional, devido a seu papel na produção de energia celular, porém não é considerada um nutriente essencial em homens adultos saudáveis. No entanto, pacientes com falência hepática ou renal, vegetarianos, recém-nascidos e mulheres grávidas e lactantes podem apresentar risco de deficiência de carnitina (TAYLOR, 2001). Nos últimos anos, inúmeros estudos mostraram o importante papel da carnitina em diversas áreas da medicina, como na nefrologia (GUARNIERI et al., 2001; VESELÁ et al., 2001), na medicina esportiva (BRASS, 2000), na cardiologia (ILICETO et al., 1995), entre outras. Tendo em vista o papel da carnitina associado a determinadas condições clínicas, este trabalho tem por objetivo descrever o uso da carnitina em medicina esportiva e em pacientes portadores de insuficiência renal e de cardiopatias.

OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DE CARNITINA

A carnitina está presente, muito provavelmente, em todas espécies animais, em muitos microrganismos e em muitas plantas, assim como a carnitina palmitoiltransferase, que apresenta uma distribuição similar, quase ubíqua. A ocorrência geral da carnitina e de suas aciltransferases evidencia seu desenvolvimento em um estágio filogenético inicial, provavelmente durante um tempo intimamente associado ao desenvolvimento da mitocôndria (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983).

A concentração de carnitina apresenta uma ampla faixa de variação em diferentes espécies e tecidos. As maiores concentrações encontradas, de até 60mM, estão na musculatura de artrópodes marinhos como siris e caranguejos e no fluido epididimário de ratos. Nos mamíferos, a carnitina tecidual varia usualmente entre 0,1 e uns poucos milimoles/litro, com maiores concentrações no coração e no músculo esquelético, sendo de aproximadamente 1mM no músculo esquelético do rato, 3mM no músculo humano e de até 15mM no músculo de ruminantes. No homem, os músculos têm o maior estoque de carnitina contendo aproximadamente 98% da carnitina total (20g). Em plantas a concentração de carnitina é somente de poucos micromoles/litro (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983).

BIOSSÍNTESE

A carnitina é uma amina quaternária (ácido β -hidroxi - δ -trimetilaminobutírico), sintetizada no organismo humano a partir de dois aminoácidos essenciais, a lisina e a metionina (Figura 1). Sua biossíntese requer ascorbato, niacina, piridoxina e também ferro como co-fatores (BROQUIST e BORUM, 1982). Os primeiros indícios do mecanismo de biossíntese da carnitina foram obtidos em 1961, a partir da demonstração de que os grupos metil da carnitina eram provenientes da metionina e que a δ -butirotetaína era convertida a carnitina (LINDSTEDT e LINDSTEDT, 1961; BREMER, 1962). Esses resultados, no entanto, ainda não esclareciam a origem da cadeia de quatro carbonos da carnitina, estabelecida dez anos mais tarde, quando diversos investigadores mostraram que lisina marcada era convertida a carnitina no microrganismo *Neurospora crassa* (HORNE et al., 1971; HORNE e BROQUIST, 1973) e em ratos, tendo a 6-N-trimetilisina como um intermediário (TANPHAICHITR e BROQUIST, 1973). No *N. crassa* a lisina livre é metilada, tendo a S-adenosilmetionina como metil doador (REBOUCHE e BROQUIST, 1976; BORUM e BROQUIST, 1977). Em mamíferos, a 6-N-trimetilisina é formada pela metilação de resíduos de lisina em proteínas, como a miosina, a actina e as histonas (PAIK e KIM, 1975). No próximo passo a trimetilisina é hidroxilada a 3-hidroxi-6-N-trimetilisina (HOPPEL et al., 1980; NOVAK et al., 1980; SACHAN e HOPPEL, 1980) e a hidroxitrimetilisina é clivada a butirotetaína aldeído e glicina (HOCHALTER e HENDERSON, 1976). A butirotetaína aldeído é então oxidada a butirotetaína que é finalmente hidroxilada a carnitina (LINDSTEDT e LINDSTEDT, 1965; LINDSTEDT e LINDSTEDT, 1970). Muitos tecidos animais, incluindo cérebro e músculo esquelético, contêm as enzimas necessárias para converter a trimetilisina a butirotetaína (COX e HOPPEL, 1974; REBOUCHE e ENGEL, 1980). Contudo, a enzima butirotetaína hidroxilase, também chamada δ -butirotetaína-2-oxoglutarato oxigenase, responsável pela conversão de butirotetaína a carnitina, está presente somente em poucos tecidos. Em todas espécies ela é encontrada no fígado. Em ratos é ainda encontrada nos testículos (COX e HOPPEL, 1974) e em hamsters, coelhos, macacos rhesus e gatos nos rins (ENGLARD e CARNICERO, 1978). Em humanos, a enzima está presente no fígado, rim e cérebro (ENGLARD, 1979; REBOUCHE e ENGEL, 1980). No fígado, a conversão de trimetilisina a butirotetaína, aparentemente, ocorre em qualquer tipo celular deste órgão, enquanto a hidroxilação da butirotetaína para conversão em carnitina ocorre somente nos hepatócitos (ENGLARD, 1979; REBOUCHE e ENGEL, 1980).

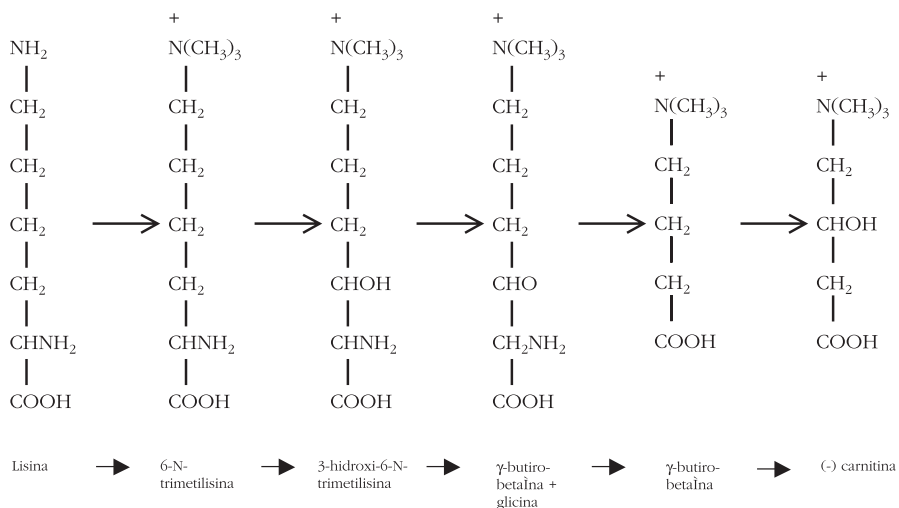


Figura 1 Biossíntese de carnitina

TRANSPORTE DE CARNITINA

Existem diversos estudos, *in vivo*, a respeito do transporte de carnitina em diferentes tecidos (YUE e FRITZ, 1962; BROOKS e McINTOSH, 1975; CEDERBLAD e LINDSTEDT, 1976). Muitos tecidos apresentam uma concentração de carnitina maior que a do plasma, sugerindo que uma captação ativa de carnitina provavelmente deva ocorrer. BROOKS e McINTOSH (1975) mostraram que o tempo de renovação (taxa de "turnover") de carnitina no rim, fígado, coração, músculo esquelético e cérebro é de 0,4h, 1,3h, 21h, 105h e 220 horas, respectivamente. A distribuição e captação de carnitina nos tecidos são em parte controladas por hormônios, particularmente no fígado. Em ratos, a implantação de um tumor produzindo grandes quantidades de prolactina, hormônio do crescimento (somatotropina) e hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) aumentou a concentração de carnitina hepática em aproximadamente 10 vezes e, ao mesmo tempo, diminuiu a carnitina cardíaca (PARVIN et al., 1981). O glucagon aumenta a carnitina hepática em ratos e também estimula a captura de carnitina em hepatócitos isolados. Em humanos, o glucagon reduz a carnitina plasmática, presumivelmente porque a captura hepática é estimulada (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983). Hormônios sexuais também podem influenciar a distribuição de carnitina. Ratas têm um significativo aumento na taxa de concentração de carnitina hepática/plasmática em relação aos ratos (BORUM, 1978). MARQUIS e FRITZ (1965) foram os primeiros a observar concentrações extremamente altas de carnitina na cauda e no fluido do epidídimo e a determinar que esta concentração depende da ação de hormônios andrógenos. No epidídimo, os andrógenos induzem o sistema de transporte de carnitina a concentrá-la no lúmen deste órgão (BÖHMER e HANSSON, 1975). Em ratos esta concentração pode alcançar até 60mM, sendo 2000 vezes maior que a concentração do sangue (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983).

Em relação à captura de carnitina grandes diferenças são observadas nos diversos tecidos. No fígado, células isoladas acumulam tanto butirobetaína quanto carnitina

(CHRISTIANSEN e BREMER, 1976). A taxa máxima de captura de carnitina encontrada foi de 2,4nmol/mg de proteína por minuto, quase duas vezes a de butirbetaína (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983). No músculo, a captura da carnitina foi estudada em células cardíacas em cultura de tecido (MÖLSTAD, 1980), em miócitos cardíacos (BAHL et al., 1981) e em músculo esquelético isolado (REBOUCHE, 1977). A taxa máxima de captura de carnitina no músculo é 1/1000 da taxa máxima do fígado e o tempo de renovação é 100 a 200 vezes mais longo para a carnitina muscular que para carnitina hepática, *in vivo* (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983). Estes dados sugerem que as prioridades do sistema de captura ativo de carnitina no músculo sejam diferentes daquelas do sistema hepático. Já em relação ao cérebro, embora a captura de carnitina seja extremamente lenta *in vivo* (BROOKS e McINTOSH, 1975), uma captura relativamente rápida pode ser observada em cortes deste tecido (HUTH et al., 1981). A discrepância entre as taxas de captura de carnitina *in vivo* e *in vitro* sugere que a barreira hematoencefálica limite o acesso da carnitina ao cérebro. A natureza do transporte através desta barreira é ainda desconhecida (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983). A captura de carnitina também foi estudada em fibroblastos de pulmão de feto e em células musculares lisas da aorta. A taxa de captura encontrada foi de 6 a 8µM, a mesma taxa encontrada em células cardíacas em cultura (CARNICERO et al., 1982).

METABOLISMO

A concentração de carnitina total no plasma humano varia entre 41,3 a 64,3µM, sendo que a carnitina livre representa 70 a 85% do total (CARLIN et al., 1986). Da fração esterificada, aproximadamente 40 a 50% está na forma acetilada. O estoque total de carnitina em um homem adulto de tamanho médio (30Kg de massa muscular) pode ser estimado em aproximadamente 20-25g. A excreção urinária diária de carnitina é de 100-300µM ou 15-50mg (GULEWITCH e KRIMBERG, 1905 apud BREMER, 1983). Pela facilidade de obtenção de plasma e urina, estes são freqüentemente usados para estudos indiretos do “status” de carnitina e da taxa de excreção de carnitina, respectivamente.

A concentração de carnitina no plasma de ratos e do homem é dependente da idade e do sexo. Em humanos, a concentração plasmática aumenta durante o primeiro ano de vida, de aproximadamente 15 para 40µM, e permanece inalterada em ambos os sexos até a puberdade (GIANNACOPOULOU et al., 1998). Da puberdade à idade adulta, a concentração plasmática nos homens (50µM) aumenta e se estabiliza em uma concentração significativamente maior que o das mulheres (40µM) (CEDERBLAD, 1976; SCHMIDT-SOMMERFELD et al., 1988; TAKIYAMA e MATSUMOTO, 1998). Isso sugere um papel dos hormônios sexuais na regulação da concentração de carnitina plasmática (CEDERBLAD, 1976; SCHMIDT-SOMMERFELD et al., 1988). Em ratos adultos, essa diferença é mais pronunciada, sendo a concentração de carnitina no macho (50µM) duas vezes e meia maior que a das fêmeas (20µM) (VAZ e WANDERS, 2002).

A concentração tecidual de carnitina é de no mínimo o dobro da concentração plasmática (CERRETELLI e MARCONI, 1990), sendo resultado de diversos processos metabólicos como absorção e síntese de carnitina, transporte de carnitina dentro e fora do tecido e a excreção de carnitina.

Cerca de 55 a 85% da carnitina dietética é absorvida pelo intestino delgado (TAYLOR, 2001), por um processo ativo sódio-dependente ou por difusão passiva (CERRETELLI e MARCONI, 1990; REBOUCHE e SEIM, 1998). HAMILTON et al. (1986) encontraram evidências, em humanos, dos dois tipos de transporte de carnitina no duodeno e no íleo, mas não no cólon (REBOUCHE e SEIM, 1998).

Assim como a butirbetaína, a carnitina é reabsorvida eficientemente pelo rim. Contudo, a excreção urinária de carnitina é largamente dependente da dieta, e o rim adapta-se ao seu alto consumo reduzindo a eficiência de reabsorção de carnitina (REBOUCHE et al., 1986, 1993).

Em indivíduos normais, a perda de carnitina é quase exclusivamente por excreção renal, sendo em homens adultos sedentários entre 15 e 50mg/dia (CERRETELLI e MARCONI, 1990). Assim como a concentração plasmática, a excreção de carnitina também parece ser dependente do sexo e da idade. MAEBASHI et al. (1976) encontraram médias de 59mg/dia para homens e 44mg/dia para mulheres, respectivamente enquanto CEDERBLAD e LINDSTEDT (1971) encontraram valores correspondentes de 29mg/dia e 14mg/dia. As diferenças dos valores absolutos encontrados pelos autores se devem a diferentes metodologias utilizadas. Em meninos de 4 a 12 anos, a média de excreção de carnitina é de 16mg/dia e pessoas idosas apresentam uma redução na excreção de carnitina (CERRETELLI e MARCONI, 1990).

FUNÇÕES

A carnitina é um metabólito essencial, com importantes papéis no metabolismo intermediário. Ela está envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa, do citosol para a matriz mitocondrial, onde a β -oxidação ocorre (RAMSAY et al., 2001). Ácidos graxos de cadeia longa, tal como ésteres da coenzima A, são transesterificados para L-carnitina, na reação catalisada pela enzima carnitina palmitoiltransferase I, presente na membrana mitocondrial externa. Ésteres de acilcarnitina de cadeia longa entram na mitocôndria via um carreador específico, a carnitina-acilcarnitina translocase. Na membrana mitocondrial interna, o ácido graxo de cadeia longa é transesterificado para a coenzima A intramitocondrial, catalisado pela carnitina palmitoiltransferase II, (Figura 2). Esta função da carnitina é obrigatória: ácidos graxos de cadeia longa não podem entrar na mitocôndria, independente da translocação, como ésteres de carnitina (REBOUCHE e PAULSON, 1986). A L-carnitina também facilita a remoção de ácidos graxos de cadeia média e curta da mitocôndria, que se acumulam como resultado do metabolismo normal e anormal. Ácidos graxos de cadeia curta e média, como ésteres de acil-CoA provenientes da β -oxidação e de outros processos mitocondriais, são transesterificados para carnitina pela ação da carnitina acetiltransferase. Os ésteres de acilcarnitina subseqüentemente são transportados para fora da mitocôndria pela carnitina-acilcarnitina translocase. Esta via fornece um meio para regenerar a coenzima A intramitocondrial livre em condições onde ésteres de acil-CoA de cadeia curta são produzidos mais rapidamente que utilizados (REBOUCHE, 1992).

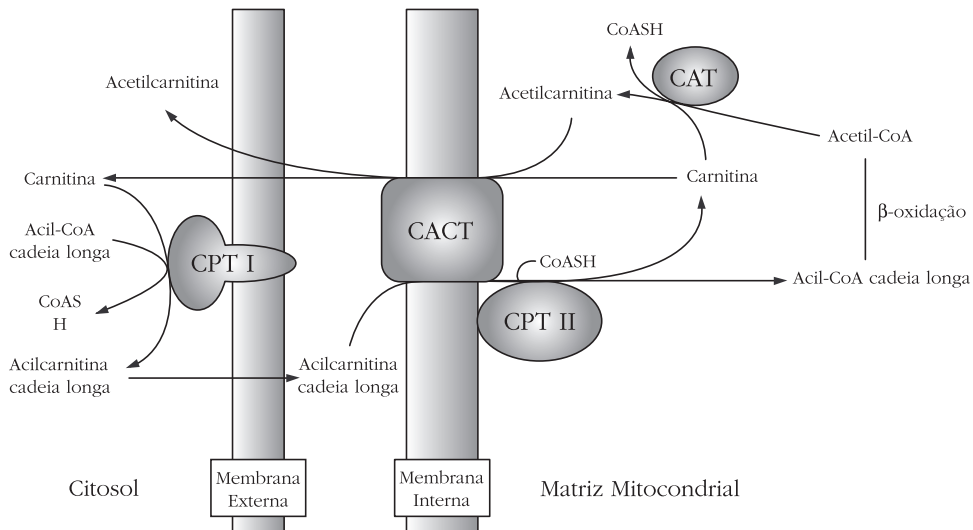


Figura 2 Oxidação de um ácido graxo de cadeia longa

DEFICIÊNCIA E INSUFICIÊNCIA

A deficiência de carnitina é caracterizada por concentrações plasmática e tecidual abaixo daquelas necessárias para as funções normais do organismo. Já a insuficiência de carnitina indica condições nas quais existe uma deficiência relativa de carnitina livre, comparada com necessidades metabólicas aumentadas (GUARNIERI et al., 2001).

As possíveis conseqüências da deficiência/insuficiência de carnitina (GUARNIERI et al., 2001) são:

1. Efeitos tóxicos do acúmulo de ácidos graxos livres nas células;
2. Alterações do metabolismo mitocondrial secundário frente ao acúmulo de acetil-CoA, inibindo enzimas chave tais como acetil-CoA carboxilase, adenina nucleotídeo translocase, citrato sintase, piruvato desidrogenase, piruvato carboxilase, N-acetil glutamato sintetase;
3. Liberação diminuída do excesso de ácidos orgânicos em algumas insuficiências secundárias de carnitina, incluindo hemodiálise.

As deficiências primárias de carnitina incluem desordens genéticas de transporte de carnitina dentro das células ou de reabsorção tubular. Outros erros metabólicos, determinados geneticamente, envolvendo síntese excessiva de ácidos orgânicos de cadeia curta podem levar a deficiências secundárias de carnitina. Algumas condições clínicas adquiridas de deficiência/insuficiência de carnitina podem envolver a biossíntese diminuída (cirrose hepática, doença renal crônica, prematuridade extrema), um consumo diminuído (nutrição parenteral prolongada, desnutrição, dietas vegetarianas), necessidades aumentadas

(gestação, puerpério, trauma severo, infecções, queimaduras) ou perdas aumentadas (síndrome de Fanconi, acidose renal tubular, hemodiálise). Condições iatrogênicas de deficiência/insuficiência incluem hemodiálise e administração de fármacos como o ácido valpróico, derivados do ácido piválico e a zidovidina (GUARNIERI et al., 2001).

APLICAÇÕES CLÍNICAS

Carnitina e doença renal

A hemodiálise melhorou, dramaticamente, a expectativa de vida de pacientes com doença renal em estágio final (DREF). Contudo, apesar dos avanços na tecnologia da diálise e nos tratamentos adjuntos, pacientes com DREF continuam a experimentar alta morbidade, uma qualidade diminuída de vida (EVANS et al., 1985; KIMMEL et al., 1995; SLOAN et al., 1998) e habilidade reduzida para executar atividades físicas. Nestes pacientes, testes objetivos de exercício físico têm confirmado uma capacidade diminuída para realizar o trabalho físico, parcialmente corrigido pela terapia com eritropoetina (ROBERTSON et al., 1990).

A doença renal está associada com anormalidades metabólicas, entre elas alterações na homeostase da glicose e de lipídios (BRASS et al., 2001). O metabolismo da carnitina também está alterado na DREF (GUARNIERI et al., 1987; WANNER et al., 1987). A distribuição do “pool” de carnitina entre carnitina e acilcarnitina fornece um marcador sensível do estado metabólico (BRASS e HOPPEL, 1980). A doença renal em estágio final é caracterizada por uma dramática redistribuição do “pool” de carnitina plasmática para acilcarnitina (WANNER et al., 1987; GOLPER et al., 1990).

Em pacientes cronicamente urêmicos, recebendo tratamento conservador, a concentração plasmática de acilcarnitinas aumenta proporcionalmente à diminuição da taxa de filtração glomerular; com isso, a relativa proporção de acilcarnitinas para carnitina livre também se eleva (GUARNIERI et al., 2001). Acil carnitinas plasmáticas aumentam mais em condições de jejum, devido a uma síntese prejudicada de cetonas corporais observada nestes pacientes (GUARNIERI et al., 2001).

Em pacientes submetidos à diálise peritoneal (CAPD), a concentração plasmática de carnitina total parece ser próxima da normal ou diminuída, com um perfil da fração de carnitina anormal. De fato, comparando com controles normais, a concentração de acil carnitina está aumentada, enquanto a concentração de carnitina livre está diminuída (GUARNIERI et al., 2001). Este modelo anormal indica que o CAPD está freqüentemente associado com insuficiência de carnitina (GUARNIERI et al., 2001).

Pacientes em hemodiálise apresentam diminuição na concentração de carnitina plasmática e tecidual devido à sua síntese diminuída no rim e uma grande perda através da membrana durante sessões de diálise (BATTISTELLA et al., 1978; BÖHMER et al., 1978). Durante cada sessão de diálise as concentrações séricas de todas as frações de

carnitina rapidamente diminuem, causando liberação compensatória de carnitina de estoques musculares (GUARNIERI et al., 1987). Tais mudanças rápidas do conteúdo de carnitina em diferentes compartimentos podem afetar de maneira adversa o metabolismo, especialmente do músculo esquelético (GUARNIERI et al., 2001). A razão entre carnitina livre e acilada diminui em pacientes em hemodiálise devido a uma diminuição na eliminação de acilcarnitina, piorando assim a detoxificação dos ácidos (VESELÁ et al., 2001).

Em adição à remoção de carnitina, causas potenciais de depleção de carnitina na hemodiálise podem incluir: consumo reduzido de precursores de carnitina ou da própria carnitina; má absorção intestinal, capacidade diminuída de síntese no rim, transporte alterado, atividade reduzida das enzimas do sistema da carnitina e aumento das necessidades (GUARNIERI et al., 2001).

Os mecanismos que podem ser considerados na diminuição da razão de carnitina livre/acil carnitina são os seguintes (GUARNIERI et al., 2001):

1. oxidação diminuída de acetil-CoA;
2. remoção preferencial de carnitina livre durante sessões de diálise;
3. acilação secundária de carnitina, aumentada para elevar a disponibilidade de ácidos graxos devido à heparina ou à administração anterior de acetato.

Uma condição de depleção de carnitina, associada com uma diminuída razão carnitina livre/acil carnitina, pode causar diversos distúrbios metabólicos celulares, incluindo oxidação diminuída mitocondrial de ácidos graxos e produção de energia, acúmulo de porções acil tóxicas e inibição de enzimas chave de vias metabólicas (GUARNIERI et al., 2001). Essas anormalidades podem levar a diversas alterações clínicas, freqüentemente observadas em pacientes submetidos à hemodiálise: fraqueza muscular e miopatia, perda de proteína corpórea e caquexia, resistência à insulina e intolerância à glicose, anormalidades de lipídios plasmáticos, anemia refratária ao tratamento com eritropoetina, cardiomiopatia e sintomas intradialíticos como câibra muscular, hipotensão e arritmias cardíacas (GUARNIERI et al., 2001).

Evidências indicam que a administração de carnitina pós-diálise é capaz de repor a carnitina removida, equilibrando rapidamente o “pool” plasmático e mais lentamente o “pool” de carnitina no músculo esquelético, corrigindo, assim, a deficiência de carnitina por aumentar tanto a carnitina livre quanto as acilcarnitinas (EVANS et al., 2000).

A suplementação de carnitina tem sido proposta como sendo benéfica em pacientes em hemodiálise, baseada nas mudanças observadas na homeostase de carnitina (BRASS et al., 2001). Destina-se uma atenção particular ao efeito da carnitina na função do músculo esquelético devido ao importante papel da carnitina endógena no metabolismo muscular. Estudos mostraram que a suplementação de carnitina pode melhorar o desempenho no exercício (AHMAD et al., 1990), aumentar a massa muscular (AHMAD et al., 1990; SPAGNOLI et al., 1990) e diminuir a percepção de fadiga no paciente

(SPAGNOLI et al., 1990). LABONIA (1995) relatou que a suplementação de L-carnitina em pacientes hemodialíticos, com anemia tratada com eritropoetina recombinante humana, pode reduzir a quantidade de eritropoetina necessária para manter a concentração de hematócrito acima de 30%, uma observação confirmada também por outros investigadores (BORAN et al., 1996). Foi observada uma redução de 38% no consumo de eritropoetina no grupo de pacientes tratados com eritropoetina, que receberam L-carnitina intravenosa três vezes por semana, comparado com os pacientes que receberam somente a eritropoetina (LABONIA, 1995). Segundo VESELÁ et al. (2001), a observação mais freqüente em pacientes em hemodiálise recebendo carnitina é a melhoria da contagem de células vermelhas do sangue. Esses autores observaram ainda um aumento significativo nas concentrações de albumina plasmática e proteína total que pode ser explicado por um metabolismo energético mais eficiente e uma melhoria no estado nutricional dos pacientes. Ao mesmo tempo, a concentração plasmática de fosfato inorgânico mostrou uma tendência ao decréscimo. Isto é muito importante em pacientes em hemodiálise, nos quais a concentração aumentada de fosfato inorgânico representa um sério problema (VESELÁ et al., 2001).

Segundo MANTOVANI e BELISARI (1999), a terapia com carnitina pode reduzir não somente a morbidade dos pacientes, mas também o custo do cuidado com o paciente em diálise, possivelmente devido à redução das necessidades de eritropoetina.

De acordo com GUARNIERI et al. (2001), grupos de trabalho da National Kidney Foundation (US) e da European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association desenvolveram guias de prática clínica para o tratamento de pacientes em DREF. Com respeito à suplementação de carnitina na hemodiálise, os grupos concluíram que existem dados insuficientes para suportar o uso rotineiro da carnitina em pacientes não selecionados. Além disso, níveis de carnitina séricos não podem, necessariamente, ser usados para identificar a depleção de carnitina, porque eles não são prontamente disponíveis e não são suficientemente representativos do conteúdo de carnitina tecidual. Por isso, eles recomendam um teste com suplementação de carnitina para pacientes em diálise que não respondem adequadamente à terapia padrão. Esses pacientes apresentam grave e persistente câibra muscular ou hipotensão durante a diálise, falta de energia intensa, fraqueza do músculo esquelético ou miopatia, cardiomiopatia ou necessidade de altas doses de eritropoetina. Ainda segundo estas associações, pacientes com hormônio paratireóideo elevado ou concentrações proteína C reativa bem como aqueles com toxicidade ao alumínio ou megaloblastose, não podem ser tratados com carnitina. Uma dose de 20mg/Kg de peso corporal de carnitina poderia ser administrada intravenosamente após cada sessão de diálise. Contudo, carnitina oral ou intravenosa em doses menores que 20mg/Kg ou a adição de carnitina no banho de diálise também pode ser efetiva em graus variados. Assim, somente para pacientes selecionados, isto é, aqueles que não respondem bem à terapia padrão, o US Food and Drug Administration (FDA) aprovou recentemente a utilização da carnitina como suplemento (GUARNIERI et al., 2001).

Carnitina e exercício

Os diversos efeitos fisiológicos da L-carnitina influenciaram pesquisadores a investigar seu efeito ergogênico nos esportes. Iniciado nos anos 80, o interesse na suplementação com L-carnitina para atletas tem aumentado. Numerosos estudos têm tentado provar os efeitos da suplementação com L-carnitina na capacidade de desempenho atlético. Porém os resultados não são consistentes (NEUMANN, 1996).

Quando se investiga novos agentes ergogênicos no esporte, sempre existem incertezas. O maior problema é que o desempenho de um atleta somente pode ser realmente aumentado por treinamento atlético e não por suplementação de agentes individuais. Conseqüentemente, é essencial considerar o treinamento básico e o nível de desempenho de cada atleta para decidir quando a suplementação de um agente ergogênico é útil ou não. As substâncias que são conhecidas por seu efeito definido no desempenho atlético são classificadas como substâncias narcóticas (doping) e acarretam sanções quando detectadas. A L-carnitina não cumpre os pressupostos de uma substância narcótica, visto que ela é produzida pelo próprio corpo e é obtida por meio de uma dieta normal. Porém, até agora não existe uma prova definitiva para um aumento no desempenho atlético após a administração de L-carnitina e, como já foi dito, o nível de desempenho em um esporte de elite depende primariamente do volume de treino (NEUMANN, 1996).

Diversas razões podem causar uma deficiência relativa de L-carnitina em atletas de elite, entre elas um metabolismo energético aumentado combinado com uma alimentação não balanceada e ainda um fornecimento deficiente de proteínas, vitamina B₆, vitamina C e ferro (NEUMANN, 1996).

A síntese de L-carnitina endógena é diminuída em atletas de elite quando a vitamina B₆, a vitamina C e o ferro são insuficientemente supridos durante um longo período de tempo. Estudos nutricionais mostram que aproximadamente 20% dos atletas de resistência têm um suprimento deficiente de vitamina B₆ (ROKITZKI et al., 1994). A hemólise secundária ao exercício físico intenso, provavelmente ocasionada por atrito mecânico, causa deficiência de ferro em 5 a 10% dos corredores de longa distância, e suas concentrações de ferritina são menores que 20mg/L. Estudos em animais mostraram uma biossíntese de L-carnitina dificultada pela deficiência de ferro (BARTHOLOMEY e SHERMAN, 1985). A deficiência de ferro em atletas de resistência acontece ainda devido a um fornecimento de ferro deficiente e uma perda adicional de ferro no suor, contendo 140 a 725µg de ferro por litro (NEUMANN, 1996). Numerosos atletas de elite optam pela alimentação vegetariana e freqüentemente apresentam deficiência de ferro associada a uma baixa captura de L-carnitina exógena e a um suprimento deficiente em lisina (NEUMANN, 1996).

O estado metabólico durante o exercício pode ser classificado como de baixa intensidade, quando abaixo do limiar individual de lactato, ou de alta intensidade, quando acima deste limiar (WASSERMAN e WHIPP, 1975). Em cargas de trabalho baixas, o quociente respiratório permanece baixo, o lactato não se acumula, e o

exercício pode ser sustentado. Em contraste, em altas cargas de trabalho, o quociente respiratório pode ser $\geq 1,00$, o lactato se acumula no músculo e no sangue, e os indivíduos tornam-se rapidamente fatigados (BRASS, 2000). Este paradigma, baixa *versus* alta intensidade, permite avaliar o metabolismo da carnitina durante o exercício. Em repouso, o “pool” de carnitina no músculo esquelético é distribuído da seguinte forma: 80 a 90% como carnitina livre, 10 a 20% como acilcarnitina de cadeia curta, e menos que 5% como acilcarnitina de cadeia longa (HIATT et al., 1989). A prática de atividade física por 60 minutos à baixa intensidade não afeta o “pool” de carnitina do músculo esquelético. Contudo, após somente 10 minutos de exercício de alta intensidade, o “pool” de carnitina muscular é redistribuído para aproximadamente 40% de carnitina livre e 60% de acilcarnitina de cadeia curta (HIATT et al., 1989; SAHLIN, 1990). Esta redistribuição é acentuada com 20 minutos de exercício adicional e não é inteiramente normalizada após um período de recuperação de uma hora (HIATT et al., 1989). Em contraste às modificações no “pool” de carnitina muscular, poucas mudanças são vistas no “pool” de carnitina plasmático ou urinário (BRASS, 2000). A relação entre o pool de carnitina muscular e as vias bioenergéticas tem levado a especulações a respeito de possíveis benefícios de concentrações suprafisiológicas de carnitina em indivíduos saudáveis. Vários mecanismos específicos foram postulados para um possível efeito benéfico da carnitina no desempenho atlético (BRASS, 2000):

- Aumento da oxidação muscular de ácidos graxos;
- Diminuição das taxas de depleção do glicogênio muscular;
- Reposição da carnitina muscular redistribuída em acilcarnitina;
- Aumento da resistência à fadiga muscular;
- Reposição da carnitina perdida durante o exercício.

O papel obrigatório da carnitina na oxidação de ácidos graxos na mitocôndria sugere que a suplementação de carnitina pode aumentar a oxidação de ácidos graxos, fornecendo mais ATP disponível para o mecanismo de contração muscular (GOROSTIAGA et al., 1989). Se a administração de carnitina aumenta a oxidação muscular de ácidos graxos, isso deve também atrasar o desenvolvimento da fadiga (MARCONI et al., 1985). Contudo, não existem evidências disponíveis para mostrar se o conteúdo de carnitina muscular é razão limitante para a oxidação de ácidos graxos. Dados experimentais existentes não suportam que a suplementação de carnitina aumente a oxidação de gordura ou conserve o glicogênio muscular durante o exercício no homem saudável (BRASS e HIATT, 1998). Além disso, não está claro se uma mudança significativa no conteúdo de carnitina muscular seria resultante da suplementação de carnitina (NEUMANN, 1996; BRASS, 2000). Estudos mais recentes, como o de WACHTER et al. (2002), mostraram que o tratamento de indivíduos adultos saudáveis com

L-carnitina oral por longo tempo não está associado a um aumento significativo do conteúdo de carnitina muscular, proliferação mitocondrial ou desempenho físico. Segundo estes autores, possíveis efeitos benéficos do tratamento com L-carnitina no desempenho físico de adultos saudáveis não podem ser explicados por aumento dos estoques musculares de L-carnitina.

Carnitina e doenças cardíacas

A carnitina desempenha um papel essencial para a produção de energia no miocárdio. Ela é responsável pelo transporte de ácidos graxos de cadeia longa, principal fator de produção de energia metabólica do coração, para o interior da mitocôndria, onde sofre β -oxidação (MATSUMOTO et al., 2000). Os níveis de carnitina no miocárdio excedem em muito as concentrações plasmáticas e a captura de carnitina ocorre por meio de um transportador sódio-dependente (TAMAI et al., 1998). Porém, várias situações patológicas depletam o “pool” de carnitina do músculo (SAKURAUCHI et al., 1998).

O coração é um dos órgãos mais prejudicados pela deficiência de carnitina. A depleção de carnitina agrava a isquemia do miocárdio, presumivelmente por acelerar a acumulação de acil derivados graxos (SHUG et al., 1978).

Estudos, tanto em humanos como em animais, têm mostrado que concentrações diminuídas de carnitina no miocárdio estão associadas com falência cardíaca (REGITZ et al., 1990; PAULSON, 1998). KUDOH et al. (1983) sugeriram que a deficiência de carnitina está envolvida na patogênese de cardiomegalia. Existem evidências que a suplementação de L-carnitina parece apresentar efeitos benéficos para pacientes com angina (FUGH-BERMAN, 2000; IYER et al., 2000), falência cardíaca congestiva (RETTTER, 1999; FUGH-BERMAN, 2000), arritmia (RETTTER, 1999), doença vascular periférica (RETTTER, 1999) e isquemia aguda (RETTTER, 1999). VESCOVO et al. (2002) sugerem ainda que a L-carnitina pode prevenir a apoptose de células musculares esqueléticas e tem um papel no tratamento da falência cardíaca congestiva associada a miopatia.

O infarto agudo do miocárdio freqüentemente ocasiona uma disfunção regional do ventrículo esquerdo, com conseqüente dilatação progressiva do mesmo. Esta dilatação ocorre por uma possível expansão da zona infartada, mas também por um mecanismo de adaptação do miocárdio não infartado. Quanto maior a dilatação ventricular, pior o prognóstico. Num amplo estudo, denominado CEDIM, foi observada uma importante atenuação da dilatação do ventrículo esquerdo durante o primeiro ano pós-infarto, em pacientes tratados com L-carnitina comparados aos que receberam placebo. O percentual de aumento dos volumes sistólico e diastólico foi significativamente reduzido no grupo tratado com L-carnitina (ILICETO et al., 1995).

Doenças cardíacas são a maior causa de morbidade e mortalidade em pacientes em hemodiálise. Hipertensão, hiperlipidemia, idade avançada, diabetes e outras doenças sistêmicas que podem afetar o coração são comuns em tais pacientes. FOLEY et al. (1996) demonstraram que hipertensão, hipoalbuminemia e anemia são fatores de risco independentes

para doenças cardíacas. SUZUKI et al. (1982) mostraram que a incidência de arritmias durante a hemodiálise foi significativamente reduzida pela suplementação oral de L-carnitina. Contudo, testes ecocardiográficos não mostraram efeitos da L-carnitina na função ventricular esquerda. MATSUMOTO et al. (2000) sugeriram que um tratamento com pequena dose de carnitina (500mg), por tempo prolongado (6 meses), melhoraria a morbidade cardíaca de pacientes em hemodiálise por restaurar as concentrações teciduais de carnitina e aumentar a oxidação de ácidos graxos livres.

As aplicações terapêuticas potenciais da carnitina e seus derivados na doença cardíaca foram retratadas, mais recentemente, em duas revisões. Nestas, os autores destacaram que a maioria dos dados publicados a respeito do papel da carnitina na doença cardíaca é favorável, mas triagens clínicas ainda são necessárias, e que a carnitina é virtualmente isenta de efeitos colaterais significantes (ARSENIAN, 1997; ATAR et al., 1997).

Carnitina e dieta

O organismo humano sintetiza somente 25% da carnitina que utiliza, sendo a maior parte fornecida pela alimentação. Se a carnitina endógena pode suprir a necessidade diária do homem, ainda não se sabe. Por isso, um consumo adequado de carnitina pode ser necessário para prevenir uma possível deficiência muscular (CERRETELLI e MARCONI, 1990). NEUMANN (1996) acredita que seja necessária a ingestão diária de cerca de 200mg (100-300mg) de carnitina para manutenção da homeostase deste composto no organismo humano.

A carnitina aparece nos alimentos como carnitina livre e como ésteres de carnitina de cadeia curta e longa (CERRETELLI e MARCONI, 1990). Em geral, existe uma pequena quantidade de carnitina em alimentos de origem vegetal e um alto conteúdo em alimentos de origem animal (CERRETELLI e MARCONI, 1990). A concentração de carnitina nos vegetais e frutas corresponde a menos que 1% e nos cereais a menos que 5%, quando comparados à concentração nas carnes (LOMBARD et al., 1989). O conteúdo de carnitina é conhecido somente para um limitado número de itens alimentares (CERRETELLI e MARCONI, 1990). Dentre os vegetais, o abacate é o alimento mais rico em carnitina e dentre os animais, a carne de carneiro (MITCHELL, 1978). Provavelmente, dificuldades na execução das metodologias utilizadas para dosagem da carnitina poderiam ser os fatores responsáveis pela escassez de dados referentes ao conteúdo de carnitina nos alimentos. Além disso, os dados existentes referem-se ao conteúdo de carnitina em alimentos crus. Assim, torna-se difícil estimar, com uma maior precisão, o conteúdo de carnitina ingerido, uma vez que se desconhece o quanto é perdido deste composto durante o processo de cocção dos alimentos, já que a carnitina é solúvel em água.

Em uma provável dieta da população brasileira, com cerca de 2500Kcal, encontramos, em geral, uma concentração estimada de carnitina em torno de 160mg. Essa concentração, calculada a partir dos dados apresentados por MITCHELL (1978), encontra-se dentro da faixa indicada por NEUMANN (1996) como sendo necessária para manutenção dos estoques corporais humanos.

Vegetarianos podem apresentar deficiência de carnitina por não consumirem alimentos de origem animal em suas dietas. A partir de uma provável dieta vegetariana, de cerca de 2500Kcal, encontramos uma concentração estimada de 16mg, inadequada para as necessidades do organismo humano. Esta dieta apresenta cerca de dez vezes menos carnitina que a dieta normal consumida pela população brasileira. Devido à falta de dados referentes às leguminosas, não foi possível calcular o conteúdo de carnitina referente ao feijão e à soja, componentes essenciais da dieta vegetariana, mas acreditamos que estes alimentos também não ultrapassem, assim como os cereais, o conteúdo de aproximadamente 5% da concentração de carnitina presente nas carnes, o que não modificaria de maneira relevante o conteúdo de carnitina de uma dieta vegetariana. Entretanto, segundo LOMBARD et al. (1989), indivíduos consumindo dietas vegetarianas, embora apresentem concentrações de carnitina plasmática levemente diminuídas e excreção de carnitina urinária marcadamente menor que indivíduos que consomem uma dieta mista, apresentam concentração plasmática de carnitina dentro da faixa normal. Isto sugere que a biossíntese de carnitina e a conservação da função renal em indivíduos saudáveis são efetivas na manutenção do “status” de carnitina quando o consumo é insuficiente.

Quando analisamos a dieta apresentada por SILVA et al. (2000), destinada a um paciente em hemodiálise, com peso ideal de 65Kg, com alterações metabólicas comuns a este tratamento, verificamos que a quantidade de carnitina desta dieta era de aproximadamente 130mg/dia, o que corresponde às necessidades de carnitina para o organismo humano saudável. Porém, considerando que pacientes em hemodiálise apresentam uma capacidade diminuída de síntese renal de carnitina e uma grande perda através da membrana de diálise, o que os leva a apresentar concentração plasmática de carnitina marcadamente reduzida como mostra SAKURAUCHI et al. (1998), provavelmente esses pacientes apresentam necessidades aumentadas de carnitina, o que poderia indicar a necessidade de se destinar uma maior atenção ao conteúdo de carnitina presente na dieta destes pacientes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados apresentados indicam a necessidade de novos estudos que comprovem a importância da utilização da carnitina como um suplemento em situações clínicas específicas, uma vez que ainda não existem dados conclusivos em relação aos possíveis efeitos benéficos da utilização deste composto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/ REFERENCES

- AHMAD, S.; ROBERTSON, H. T.; GOLPER, T. A.; WOLFSON, M.; KURTIN, P.; KATZ, L. A.; HIRSCHBERG, R.; NICORA, R.; ASHBROOK, D. W.; KOPPLE, J. D. Multicenter trial of L-carnitine in maintenance hemodialysis patients. II. Clinical and biochemical effects. *Kidney Int*, Cambridge, v. 38, n. 5, p. 912-918, Nov. 1990.
- ARSENIAN, M. A. Carnitine and its derivatives in cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis*, Philadelphia, v. 40, n. 3, p. 265-286, Nov-Dec. 1997.
- ATAR, D.; SPIESS, M.; MANDINOVA, A.; CIERPKA, H. NOLL, G.; LÜSCHER, T. F. Carnitine - from cellular mechanisms to potential clinical applications in heart disease. *Eur J Clin Invest*, Berlin, v. 27, n. 12, p. 973-976, Dec. 1997.
- BAHL, J.; NAVIN, T.; MANIAN, A. A.; BRESSLER, R. Carnitine transport in isolated adult rat heart myocytes and the effect of 7,8-diOHchlorpromazine. *Circ Res*, Baltimore, v. 48, n. 3, p. 378-385, Mar. 1981.
- BARTHOLOMEY, S.; SHERMAN, R. Carnitine level in iron deficient rat pups. *J Nutr*, Bethesda, v. 115, p. 138-145, 1985.
- BATTISTELLA, P. A.; ANGELINI, C.; VERGANI, L.; BERTOLI, M.; LORENZI, S. Carnitine deficiency induced during haemodialysis. *Lancet*, London, v. i, n. 8070, p. 939, Apr. 1978.
- BÖHMER, T.; BERGEM, H.; EIKLID, K. Carnitine deficiency induced during intermittent haemodialysis for renal failure. *Lancet*, London, v. i; n. 8056, p. 126-128, Jun. 1978.
- BÖHMER, T.; HANSSON, V. Androgen-dependent accumulation of carnitine by rat epididymis after injection of [³H]butyrobetaine in vivo. *Mol Cell Endocrinol*, Limerick, v. 3, n. 2, p. 103-115, Aug. 1975.
- BORAN, M.; DALVA, I.; GONENC, F.; CETIN, S. Response to recombinant human erythropoietin (rHuEPO) and L-carnitine combination in patients with anemia of end-stage renal disease. *Nephron*, Basel, v. 73, n. 2, p. 314-315, 1996.
- BORUM, P. R. Variation in tissue carnitine concentrations with age and sex in the rat. *Biochem J*, London, v. 176, n. 3, p. 677-681, Dec. 1978.
- BORUM, P. R.; BROQUIST, H. P. Purification of S-adenosylmethionine: epsilon-N-L-lysine methyltransferase. The first enzyme in carnitine biosynthesis. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 252, n. 16, p. 5651-5655, Aug. 1977.
- BRASS, E. P. Supplemental carnitine and exercise. *Am J Clin Nutr*, Bethesda, v. 72, n. 2, Suppl., p. 618S-623S, Aug. 2000.
- BRASS, E. P.; ADLER, S.; SIETSEMA, K. E.; HIA TT, W. R.; ORLANDO, A. M.; AMATO, A. Intravenous L-carnitine increases plasma carnitine, reduces fatigue, and may preserve exercise capacity in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*, Philadelphia, v. 37, n. 5, p. 1018-1028, May 2001.
- BRASS, E. P.; HIATT, W. R. The role of carnitine and carnitine supplementation during exercise in man and in individuals with special needs. *J Am Coll Nutr*, New York, v. 17, n. 3, p. 207-215, Jun. 1998.
- BRASS, E. P.; HOPPEL, C. L. Relationship between acid-soluble carnitine and coenzyme A pools in vivo. *Biochem J*, London, v. 190, n. 3, p. 495-504, Sep. 1980.
- BREMER, J. Carnitine precursors in the rat. *Biochim Biophys Acta*, Amsterdam, v. 57, p. 327-335, 1962.
- BROOKS, D. E.; MCINTOSH, J. E. A. Turnover of carnitine by rat tissues. *Biochem J*, London, v. 148, n. 3, p. 439-445, Jun. 1975. Apud: BREMER, J. Carnitine - metabolism and functions. *Physiol Rev*, Bethesda, v. 63, n. 4, p. 1420-1480, Oct. 1983.
- BROQUIST, H. P.; BORUM, P. R. Carnitine biosynthesis: nutritional implications. *Adv Nutr Res*, New York; v. 4, p. 181-204, 1982.
- CARLIN, J. I.; REDDAN, W. G.; SANJAK, M.; HODACH, R. Carnitine metabolism during prolonged exercise and recovery in humans. *Eur J Appl Physiol*, Berlin, v. 61, n. 4, p. 1275-1278, Oct. 1986.

- CARNICERO, H. H.; ENGLARD, S.; SEIFTER, S. Carnitine uptake and fatty acid utilization by diploid cells aging in culture. *Arch Biochem Biophys*, New York, v. 215, n. 1, p. 78-88, Apr. 1982.
- CARTER, H. E.; BHATTACHARYYA, P. K.; WEIDMAN, K. R.; FRAENKEL, G. Chemical studies on vitamin B12 isolation and characterization as carnitine. *Arch Biochem Biophys*, New York, v. 38, p. 405-416, 1952.
- CEDERBLAD, G. Plasma carnitine and body composition. *Clin Chim Acta*, Amsterdam, v. 67, n. 2, p. 207-212, Mar. 1976.
- CEDERBLAD, G.; LINDSTEDT, S. Excretion of L-carnitine in man. *Clin Chim Acta*, Amsterdam, v. 33, n. 1, p. 117-123, Jun. 1971.
- _____. Metabolism of labelled carnitine in the rat. *Arch Biochem Biophys*, New York, v. 175, n. 1, p. 173-180, Jul. 1976.
- CERRETELLI, P.; MARCONI, C. L-carnitine supplementation in humans. The effects on physical performance. *Int J Sports Med*, Stuttgart, v. 11, n. 1, p. 1-14, Feb. 1990.
- CHRISTIANSEN, R. Z.; BREMER, J. Active transport of butyrobetaine and carnitine into isolated liver cells. *Biochim Biophys Acta*, Amsterdam, v. 448, n.4, p. 562-577, Nov. 1976.
- COX, R. A.; HOPPEL, C. L. Carnitine and trimethyl-aminobutyrate synthesis in rat tissues. *Biochem J*, London, v. 142, n. 3, p. 699-701, Sep. 1974.
- DUNN, W. A.; ENGLARD, S. Carnitine biosynthesis by the perfused rat liver from exogenous protein-bound trimethyllysine. Metabolism of methylated lysine derivatives arising from the degradation of 6-N-[methyl-³H]lysine-labeled glycoproteins. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 256, n. 23, p. 12437-12444, Dec. 1981.
- ENGLARD, S. Hydroxylation of d-butyrobetaine to carnitine in human and monkey tissues. *FEBS Lett*, Amsterdam, v. 102, n. 2, p. 297-300, Jun. 1979.
- ENGLARD, S.; CARNICERO, H. H. d-butyrobetaine hydroxylation to carnitine in mammalian kidney. *Arch Biochem Biophys*, New York, v.190, n.1, p. 361-364, Sep. 1978.
- EVANS, A. M.; FAULL, R.; FORNASINI, G.; LEMANOWICZ, E. F.; LONGO, A.; PACE, S.; NATION, R. L. Pharmacokinetics of L-carnitine in patients with end-stage renal disease undergoing long-term hemodialysis. *Clin Pharmacol Ther*, Saint Louis, v. 68, n. 3, p. 238-249, Sep. 2000.
- EVANS, R. W.; MANNINEN, D. L.; GARRISON, L. P.; HART, L. G.; BLAGG, C. R.; GUTMAN, R. A.; HULL, A. R.; LOWRIE, E. G. The quality of life of patients with end-stage renal disease. *N Engl J Med*, Boston, v. 312, n. 9, p. 553-559, Feb. 1985.
- FOLEY, R. N.; PARFREY, P. S.; HARNETT, J. D.; KENT, G. M.; MURRAY, D. C.; BARRE, P. E. Impact of hypertension on cardiomyopathy, morbidity and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int*, Cambridge, v. 49, n. 5, p.1379-1385, May 1996.
- FRIEDMAN, S.; FRAENKEL, G. Reversible enzymatic acetylation of carnitine. *Arch Biochem Biophys*, New York, v. 59, p. 491-501, 1955.
- FRITZ, I. B. Carnitine and its role in fatty acid metabolism. *Adv Lipid Res*, New York, v. 1, p. 285-334, 1963.
- FUGH-BERMAN, A. Herbs and dietary supplements in the prevention and treatment of cardiovascular disease. *Prev Cardiol*, Darien, v. 3, n. 1, p. 24-32, Winter 2000.
- GIANNACOPOULOU, C.; EVAGELIOU, A.; MATALIOTAKIS, I.; RELAKIS, K.; SBIRAKIS, N.; HATZIDAKI, E.; KOUMANDAKIS, E. Effects of gestation age and of birth weight in the concentration of carnitine in the umbilical plasma. *Clin Exp Obstet Gynecol*, Padova, v. 25, n. 1-2, p. 42-45, 1998.

- GOLPER, T. A.; WOLFSON, M.; AHMAD, S.; HIRSCHBERG, R.; KURTIN, P.; KATZ, L.A.; NICORA, R.; ASHBROOK, D.; KOPPLE, J. D. Multicenter trial of L-carnitine in maintenance hemodialysis patients. I. Carnitine concentrations and lipid effects. *Kidney Int*, Cambridge, v. 38, n. 5, p. 904-911, Nov. 1990.
- GOROSTIAGA, E. M.; MAURER, C. A.; ECLACHE, J. P. Decreases in respiratory quotient during exercise following L-carnitine supplementation. *Int J Sports Med*, Stuttgart, v. 10, n. 3, p. 169-174, Jun. 1989.
- GUARNIERI, G.; SITULIN, R.; BIOLO, G. Carnitine metabolism in uremia. *Am J Kidney Dis*, Philadelphia, v. 38, n. 4 Suppl 1, p. S63-S67, Oct. 2001.
- GUARNIERI, G.; TOIGO, G.; CRAPESI, L.; SITULIN, R.; DEL BIANCO, M. A.; CORSI, M.; LO GRECO, P.; PAVIOTTI, G.; MIONI, G.; CAMPANACCI, L. Carnitine metabolism in chronic renal failure. *Kidney Int*, Cambridge, v. 22, Suppl., p. S116-S127, Oct. 1987.
- GULEWITCH, V. S.; KRIMBERG, R. Zur Kenntnis der Extraktionsstoffe der Muskeln. 2. Mitteilung über das Carnitin. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, Berlin, v. 45, p. 326-330, 1905. Apud: BREMER, J. Carnitine - metabolism and functions. *Physiol Rev*, Bethesda, v. 63, n. 4, p. 1420-1480, Oct. 1983.
- HAMILTON, J. W.; LI, B. U. K.; SHUG, A. L.; OLSEN, W. A. Carnitine transport in human intestinal biopsy specimens. Demonstration of an active transport system. *Gastroenterology*, Philadelphia, v. 91, n. 1, p. 10-16, Jul. 1986.
- HIATT, W. R.; REGENSTEINER, J. G.; WOLFEL, E. E.; RUFF, L.; BRASS, E. P. Carnitine and acylcarnitine metabolism during exercise in humans. Dependence on skeletal muscle metabolic state. *J Clin Invest*, Thorafare, v.84, n. 4, p. 1167-1173, Oct. 1989.
- HOCHALTER, J. B.; HENDERSON, L. M. Carnitine biosynthesis: the formation of glycine from carbons 1 and 2 of 6-N-trimethyl-L-lysine. *Biochem Biophys Res Commun*, San Diego, v. 70, n. 2, p. 364-368, May 1976.
- HOPPEL, C. L.; COX, R. A.; NOVAK, R. F. N-6-trimethyllysine metabolism. 3-Hydroxy-N-6-trimethyl-lysine and carnitine biosynthesis. *Biochem J*, London, v.188, n. 2, p. 509-519, May 1980.
- HORNE, D. W.; BROQUIST, H. P. Role of lysine and N-trimethyllysine in carnitine biosynthesis. I. Studies in *Neurospora crassa*. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 248, n. 6, p. 2170-2175, Mar 1973.
- HORNE, D. W.; TANPHAICHITR, V.; BROQUIST, H. P. Role of lysine in carnitine biosynthesis in *Neurospora crassa*. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 246, n.13, p. 4373-4375, Jul. 1971.
- HUTH, P. J.; SCHMIDT, M. J.; HALL, P. V.; FARIELLO, R. G.; SHUG, A. L. The uptake of carnitine by slices of rat cerebral cortex. *J Neurochem*, Oxford, v. 36, n. 2, p. 715-723, Feb. 1981.
- ILICETO, S.; SCRUTINIO, D.; BRUZZI, P.; D'AMBROSIO, G.; BONI, L.; DI BIASE, M.; BIASCO, G.; HUGENHOLTZ, P. G.; RIZZON, P. Effects of L-carnitine administration on left ventricular remodeling after acute anterior myocardial infarction: the L-Carnitine Ecocardiografia Digitalizzata Infarto Miocardico (CEDIM) trial. *J Am Coll Cardiol*, New York, v. 26, n. 2, p. 380-387, Aug. 1995.
- IYER, R. N.; KHAN, A. A.; GUPTA, A.; VAJIFDAR, B. U.; LOKHANDWALA, Y. Y. L-Carnitine moderately improves the exercise tolerance in chronic stable angina. *J Assoc Physicians India*, Bombay, v. 48, n. 11, p. 1050-1052, Nov. 2000.
- KIMMEL, P. L.; PETERSON, R. A.; WEIHS, K. L.; SIMMENS, S. J.; BOYLE, D. H.; CRUZ, I.; UMANA, W. O.; ALLEYNE, S.; VEIS, J. H. Aspects of quality of life in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, Hagerstown, v. 6, n. 5, p.1418-1426, Nov. 1995.
- KUDOH, Y.; SHOJI, T.; OIMATSU, H.; YOSHIDA, S.; KIKUCHI, K.; IIMURA, O. The role of L-carnitine in the pathogenesis of cardiomegaly in patients with chronic hemodialysis. *Jpn Circ J*, Kyoto, v. 47, n. 12, p. 1391-1397, Dec. 1983.

- LABONIA, W. D. L-carnitine effects on anemia in hemodialyzed patients treated with erythropoietin. *Am J Kidney Dis*, Philadelphia, v. 26, n. 5, p. 757-764, Nov. 1995.
- LINDSTEDT, G.; LINDSTEDT, S. Cofactor requirements of d-butirobetaine hydroxylase from rat liver. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 245, n. 16, p. 4178-4186, Aug. 1970.
- LINDSTEDT, G.; LINDSTEDT, S. On the biosynthesis and degradation of carnitine. *Biochem Biophys Res Commun*, San Diego, v. 6, p. 319-323, 1961.
- LINDSTEDT, G.; LINDSTEDT, S. Studies on the biosynthesis of carnitine. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 240, p. 316-321, 1965.
- LOMBARD, K. A.; OLSON, A. L.; NELSON, S. E.; REBOUCHE, C. J. Carnitine status of lactoovo vegetarians and strict vegetarian adults and children. *Am J Clin Nutr*, Bethesda, v. 50, n. 2, p. 301-306, Aug. 1989.
- MAEBASHI, M.; KAWAMURA, N.; SATO, M.; YOSHINAGA, K.; SUZUKI, M. Urinary excretion of carnitine in man. *J Lab Clin Med*, Saint Louis, v. 87, n. 5, p. 260-266, May 1976.
- MANTOVANI, L. G.; BELISARI, A. B. L-carnitine use in hemodialyzed patients. *Am J Kidney Dis*, Philadelphia, v. 34, n. 2, p. 400-401, Aug. 1999.
- MARCONI, C.; SASSI, G.; CARPINELLI, A.; CERRETELLI, P. Effects of L-carnitine loading on the aerobic and anaerobic performance of endurance athletes. *Eur J Appl Physiol*, Berlin, v. 54, n. 2, p. 131-135, 1985.
- MARQUIS, N. R.; FRITZ, B. Effects of testosterone on the distribution of carnitine, acetylcarnitine and carnitine acetyltransferase in tissues of the reproductive system of the male rat. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 240, p. 2197-202, 1965.
- MATSUMOTO, Y.; SATO, M.; OHASHI, H.; ARAKI, H.; TADOKORO, M.; OSUMI, Y.; ITO, H.; MORITA, H.; AMANO, I. Effects of L-carnitine supplementation on cardiac morbidity in hemodialyzed patients. *Am J Nephrol*, Basel, v. 20, n. 3, p. 201-207, May-Jun. 2000.
- MITCHELL, M. E. Carnitine metabolism in human subjects. I. Normal metabolism. *Am J Clin Nutr*, Bethesda, v. 31, n. 2, p. 293-306, Feb. 1978.
- MÖLSTAD, P. The efflux of L-carnitine from cells in culture (CCL 27). *Biochim Biophys Acta*, Amsterdam, v. 597, n. 1, p. 166-173, Mar. 1980.
- NEUMANN, G. Effect of L-carnitine on athletic performance. In: SEIM, H.; LÖSTER, H. (Eds). *Carnitine: pathobiochemical basics and clinical applications*. Bochum: Ponte Press, 1996. p. 61-71.
- PAIK, W. K.; KIM, S. Protein methylation: chemical enzymological, and biological significance. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, New York, v. 42, p. 227-286, 1975.
- PARVIN, R.; GIANOULAKIS, C.; PANDE, S. V.; CHRÉTIEN, M. Effect of pituitary tumor MtT-F4 on carnitine levels in the serum, liver and heart of rats. *Life Sci*, Oxford, v. 29, n. 10, p. 1047-1049, Sep. 1981.
- PAULSON, D. J. Carnitine deficiency-induced cardiomyopathy. *Mol Cell Biochem*, The Hague, v. 180, n. 1-2, p. 33-41, Mar. 1998.
- RAMSAY, R. R.; GANDOUR, R. D.; VAN DER LEIJ, F. R. Molecular enzymology of carnitine transfer and transport. *Biochim Biophys Acta*, Amsterdam, v. 1546, n. 1, p. 21-43, Mar. 2001.
- REBOUCHE, C. J. Carnitine function and requirements during the life cycle. *FASEB J*, Bethesda, v. 6, n. 15, p. 3379-3386, Dec. 1992.
- REBOUCHE, C. J. Carnitine movement across muscle cell membranes. Studies in isolated rat muscle. *Biochim Biophys Acta*, Amsterdam, v. 471, n. 1, p. 145-55, Nov. 1977.

- REBOUCHE, C. J.; BROQUIST, H. P. Carnitine biosynthesis in *Neurospora crassa*: enzymatic conversion of lysine to epsilon-N-trimethyllysine. *J Bacteriol*, Washington, v. 126, n. 3, p. 1207-1214, Jun. 1976.
- REBOUCHE, C. J.; ENGEL, A. G. T issue distribution of carnitine biosynthetic enzymes in man. *Biochim Biophys Acta*, Amsterdam, v. 630, n. 1, p. 22-29, Jun. 1980.
- REBOUCHE, C. J.; LEHMAN, L. J.; OLSON, L. Epsilon-N-trimethyllysine availability regulates the rate of carnitine biosynthesis in the growing rat. *J Nutr*, Bethesda, v. 116, n. 5, p. 751-759, May 1986.
- REBOUCHE, C. J.; LOMBARD, K. A.; CHENARD, C. A. Renal adaptation to dietary carnitine in humans. *Am J Clin Nutr*, Bethesda, v. 58, n. 5, p. 660-665, Nov. 1993.
- REBOUCHE, C. J.; PAULSON, D. J. Carnitine metabolism and function in humans. *Annu Rev Biochem*, Palo Alto, v. 6, p. 41-66, 1986.
- REBOUCHE, C. J.; SEIM, H. Carnitine metabolism and its regulation in microorganisms and mammals. *Annu Rev Nutr*, Palo Alto, v. 18, p. 39-61, 1998.
- REGITZ, V.; SHUG, A. L.; FLECK, E. Defective myocardial carnitine metabolism in congestive heart failure secondary to dilated cardiomyopathy and to coronary, hypertensive and valvular heart diseases. *Am J Cardiol*, New York, v. 65, n. 11, p. 755-760, Mar. 1990.
- RETTNER, A. S. Carnitine and its role in cardiovascular disease. *Heart Dis*, Hagerstown, v. 1, n. 2, p. 108-113, may-jun 1999.
- ROBERTSON, H. T.; HALEY, N. R.; GUTHRIE, M.; CARDENAS, D.; ESCHBACH, J. W.; ADAMSON, J. W. Recombinant erythropoietin improves exercise capacity in anemic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*, Philadelphia, v. 15, n. 4, p. 325-332, Apr. 1990.
- ROKITZKI, L.; ANDREE, N.; SAGREDOS, N.; REUSS, F.; BÜCHNER, M.; KEUL, J. Acute changes in vitamin B6 status in endurance athletes before and after a marathon. *Int J Sport Nutr*, Champaign, v. 4, n. 2 p. 154-165, Jun. 1994.
- SACHAN, D. S.; HOPPEL, C. L. Carnitine biosynthesis. Hydroxylation of N-6-trimethyl-lysine to 3-hydroxy-N-6-trimethyl-lysine. *Biochem J*, London, v. 188, n. 2, p. 529-534, May 1980.
- SAHLIN, K. Muscle carnitine metabolism during incremental dynamic exercise in humans. *Acta Physiol Scand*, Oxford, v. 138, n. 3, p. 259-262, Mar. 1990.
- SAKURAUCHI, Y.; MATSUMOTO, Y.; SHINZATO, T.; TAKAI, I.; NAKAMURA, Y.; SATO, M.; NAKAI, S.; MIWA, M.; MORITA, H.; MIWA, T.; AMANO, I.; MAEDA, K. Effects of L-carnitine supplementation on muscular symptoms in hemodialyzed patients. *Am J Kidney Dis*, Philadelphia, v. 32, n. 2, p. 258-264, Aug. 1998.
- SCHMIDT-SOMMERFELD, E.; WERNER, D.; PENN, D. Carnitine plasma concentrations in 353 metabolically healthy children. *Eur J Pediatr*, Berlin, v.147, n. 4, p. 356-360, May 1988.
- SHUG, A. L.; THOMSEN, J. H.; FOLTS, J. D.; BITTAR, N.; KLEIN, K. I.; KOKE, J. R.; HUTH, P. J. Changes in tissue levels of carnitine and other metabolites during myocardial ischemia and anoxia. *Arch Biochem Biophys*, New York, v.187, n. 1, p. 25-33, Apr. 1978.
- SILVA, L. F.; SANTOS, R. M. A.; SOUZA, I. M.; COSTA, J. A. C.; MARCHINI, J. S. Terapia nutricional na insuficiência renal crônica. *Nutrire*, São Paulo, v.19/20, p. 105-127, 2000.
- SLOAN, R. S.; KASTAN, B.; RICE, S. I.; SALLEE, C. W.; YUENGER, N. J.; SMITH, B.; WARD, R. A.; BRIER, M. E.; GOLPER, T. A. Quality of life during and between hemodialysis treatments: role of L-carnitine supplementation. *Am J Kidney Dis*, Philadelphia, v. 32, n. 2, p. 265-272, Aug. 1998.

- SPAGNOLI, L. G.; PALMIERI, G.; MAURIELLO, A.; VACHA, G. M.; D'IDDIO, S.; GIORCELLI, G.; CORSI, M. Morphometric evidence of the trophic effect of L-carnitine on human skeletal muscle. *Nephron*, Basel, v. 55, n. 1, p. 16-23, 1990.
- SUZUKI, Y.; NARITA, M.; YAMAZAKI, N. Effects of L-carnitine on arrhythmias during hemodialysis. *Jpn Heart J*, Tokyo, v. 23, n. 3, p. 349-359, May 1982.
- TAKIYAMA, N.; MATSUMOTO, K. Age and sex-related differences of serum carnitine in a Japanese population. *J Am Coll Nutr*, New York, v. 17, n. 1, p. 71-74, Feb. 1998.
- TAMAI, I.; OHASHI, R.; NEZU, J.; Y ABUUCHI, H.; OKU, A.; SHIMANE, M.; SAI, Y. ; TSUJI, A. Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 273, n. 32, p. 20378-20382, Aug. 1998.
- TANPHAICHITR, V.; BROQUIST, H. P. Role of lysine and N-trimethyllysine in carnitine biosynthesis. II. Studies in the rat. *J Biol Chem*, Baltimore, v. 248, n.6, p. 2176-2181, Mar. 1973.
- TAYLOR, P. M. Absorbing competition for carnitine. *J Physiol*, Cambridge, v.532, pt. 2, p. 283, Apr. 2001.
- TOMITA, M.; SENDJU, Y. Über die oxiaminoverbindungen, welche die biuretreaktion zeigen. III. Spaltung der α -amino-b-oxybuttesläsure in die optisch-aktiven komponenten. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, Berlin, v. 169, p. 263-277, 1927. Apud: BREMER, J. Carnitine: metabolism and functions. *Physiol Rev*, Bethesda, v. 63, n. 4, p. 1420-1480, Oct. 1983.
- VAZ, F. M.; WANDERS, R. J. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem J*, London, v. 361, Pt 3, p. 417-429, Feb. 2002.
- VESCOVO, G.; RAVARA, B.; GOBBO, V.; SANDRI, M.; ANGELINI, A.; DELLA BARBERA, M.; DONA, M.; PELUSO, G.; CALVANI, M.; MOSCONI, L.; DALLA LIBERA, L. L-carnitine: a potential treatment for blocking apoptosis and preventing skeletal muscle myopathy in heart failure. *Am J Physiol Cell Physiol*, Bethesda, v. 283, n. 3, p. C802-810, Sept. 2002.
- VESELÁ, E.; RACEK, J.; TREFIL, L.; JANKOV+CH, V.; POJER, M. Effect of L-carnitine supplementation in hemodialysis patients. *Nephron*, Basel, v. 88, n. 3, p. 218-223, Jul. 2001.
- WACHTER, S.; VOGT, M.; KREIS, R.; BOESCH, C.; BIGLER, P.; HOPPELER, H.; KRAHENBUHL, S. Long-term administration of L-carnitine to humans: effect on skeletal muscle carnitine content and physical performance. *Clin Chim Acta*, Amsterdam, v. 318, n. 1-2, p. 51-61, Apr. 2002.
- WANNER, C.; FORSTNER-WANNER, S.; ROSSLE, C.; FURST, P.; SCHOLLMEYER, P.; HORL, W. H. Carnitine metabolism in patients with chronic renal failure: effect of L-carnitine supplementation. *Kidney Int*, Cambridge, v. 22, p. S132-S135, Oct. 1987.
- WASSERMAN, K.; WHIPP, B. J. Exercise physiology in health and disease. *Am Rev Respir Dis*, New York, v. 112, n. 2, p. 219-249, Aug. 1975.
- YUE, K. T. N.; FRITZ, I. B. Fate of tritium-labeled carnitine administered to dogs and rats. *Am J Physiol*, Bethesda, v. 202, p. 122-128, 1962.

Recebido para publicação em 06/03/03.

Aprovado em 30/06/03.

Composição do leite humano e microbiota predominantemente bífida do lactente em aleitamento materno exclusivo

Composition of the human milk and microbiota predominantly bífida of the infant in exclusive maternal breast feeding

ABSTRACT

BORBA, L.M.; CASTRO, L.C.V.; FRANCESCHINI, S.C.C.; FERREIRA, C.L.L.F. Composition of the human milk and microbiota predominantly bífida of the infant in exclusive maternal breast feeding. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = J. Brazilian Soc. Food Nutr., São Paulo, SP. v.25, p. 135-151, jun., 2003.

Human milk represents a food rich in nutrients and protecting factors for the newborn, whom during the birth process, and in the contact with the mother and surrounding environment, has the intestinal tract colonized by microorganisms. Human milk composition may present variations in regard to vitamins, lactoferrin, oligosaccharides, fatty acid, and minerals, among other components. The development of the intestinal microbiota is favored in infants under exclusive breastfeeding due to components of the human milk that are growth promoting factors for bifidobacteria. This microorganism protects the baby by competitive exclusion with potential pathogens, organic acid production and consequent pH reduction. In this context, Human Milk Banks carry out important function by supplying food requirements of the premature newborn or for those that are disabled to receive their own mother's milk. Processed human milk is pasteurized in the banks to assure microbiological safety of the food. However, this thermic treatment reduces some milk components that can be indispensable for the establishment of the Bifidobacterium in the newborn's intestinal tract.

Keywords: human milk; milk composition, nutritional status, intestinal microbiota; bifidobacteria; pasteurization

LUCIANA MARIA BORBA¹; LUIZA CARLA VIDIGAL CASTRO²; SYLVIA DO CARMO CASTRO FRANCESCHINI³; CÉLIA LÚCIA DE LUCES FORTES FERREIRA⁴

¹Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa, PR; ^{2,3}Departamento de Nutrição e Saúde/UFV;

⁴Departamento de Tecnologia de Alimentos/UFV.

Endereço para correspondência:

Av. PH Rolfs, s/n.
Campus Universitário
CEP 36571-000
Viçosa, MG.
e-mail: sylvia@ufv.br

RESUMEN

La leche humana constituye un alimento rico en nutrientes y factores de protección para el recién nacido. Después del nacimiento y debido al parto, al contacto con la madre y el ambiente, el recién nacido comienza a tener el tracto intestinal colonizado por microorganismos. La composición de la leche humana varía con relación a vitaminas, lactoferrina, oligosacáridos, ácidos grasos y minerales, entre otros componentes. El crecimiento de la microbiota intestinal es favorecido en los lactantes que reciben exclusivamente leche materna debido a los factores promotores del crecimiento de bifido bacterias que esta contiene. Estos microorganismos presentan características que inhiben competitivamente los potenciales patógenos, produciendo ácidos orgánicos con la consecuente disminución del pH. Dentro de este contexto, los Bancos de Leche Humana cumplen una importante función al suplir las necesidades alimentares de recién nacidos prematuros o discapacitados que así reciben la leche de sus propias madres. La leche es pasteurizada en los bancos de leche para garantizar la seguridad microbiológica. Sin embargo, el tratamiento térmico reduce algunos de sus constituyentes los cuales pueden ser indispensables para el establecimiento del género bifido bacterias en el intestino de los recién nacidos.

Palabras clave: leche humana; composición de la leche; microbiota intestinal; bifido bacterias; pasteurización

RESUMO

*O leite humano constitui-se em alimento rico em nutrientes e fatores de proteção para o bebê, que a partir do nascimento, através do parto, no contato com a mãe e meio ambiente, passa a ter o trato intestinal colonizado por microorganismos. A composição do leite humano pode apresentar variações quanto à vitaminas, lactoferrina, oligossacarídeos, ácidos graxos e minerais, entre outros componentes. O desenvolvimento da microbiota intestinal é favorecido em lactentes em aleitamento exclusivo devido aos componentes do leite humano que são fatores promotores do crescimento de bactérias bifidas. Este microorganismo apresenta características protetoras competindo com potenciais patógenos, por exclusão competitiva, produção de ácidos orgânicos e conseqüente redução do pH. Neste contexto, os Bancos de Leite Humano desempenham importante função ao suprir as necessidades alimentares dos recém-natos prematuros ou incapacitados de receberem o leite de sua próprias mães. O leite processado nos bancos é pasteurizado a fim de garantir a segurança microbiológica deste alimento. Entretanto, este tratamento térmico reduz alguns constituintes do leite que podem ser imprescindíveis para o estabelecimento do Gênero *Bifidobacterium* no trato intestinal dos bebês.*

Palavras-chave: leite humano; composição do leite; estado nutricional; microbiota intestinal; bactérias bifidas; pasteurização

INTRODUÇÃO

O leite humano é uma mistura complexa de nutrientes que proporciona ao lactente alimentação e proteção suficientes para seu crescimento e desenvolvimento. Rico em carboidratos, gorduras, proteínas, compostos nitrogenados não-protéicos, vitaminas, minerais, enzimas, imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento e substâncias bioativas, nutre e protege o recém-nascido desde o período inicial de sua adaptação à vida extra-uterina (SLUSSER e POWERS, 1997; POWERS e SLUSSER, 1997).

Diversos fatores podem influenciar na composição do leite humano, como o estágio da lactação, a idade gestacional, o período (anterior, médio ou posterior) da amamentação, a frequência da demanda do recém-nato pelo leite, e o grau de preenchimento das mamas, além da dieta alimentar e do estado nutricional da mãe. São relatadas diferenças inclusive entre mamas, entre os períodos do dia e dias diferentes, inter- e intralactantes, e relacionadas à idade, aspectos físicos e emocionais da nutriz (NEVILLE et al., 1984; NÓBREGA, 1996; PITKIN e HAMOSH, 1991; RIORDAN, 1999). A presente revisão tem por objetivo abordar a composição do leite humano e suas alterações, buscando enfatizar o efeito prebiótico do mesmo, bem como o efeito da pasteurização na concentração de seus nutrientes.

COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO

O colostro, secreção produzida no início da lactação, em média até o 4º dia pós-parto (VIVERGE et al., 1990a), é um líquido espesso, amarelado e com concentração elevada de alguns componentes, como oligossacarídeos, minerais, lactoferrina, carotenóides e proteínas, especialmente as com funções imunológicas, e teor reduzido de gorduras e carboidratos, em comparação aos leites de transição e maduro (RIORDAN, 1999; EUCLYDES, 2000).

Em um período intermediário, entre o colostro e o leite denominado maduro, as glândulas mamárias sintetizam o leite de transição, entre o 2º e 5º dias após o parto, cuja composição varia progressivamente com o decorrer do tempo (VIVERGE et al., 1990a).

A secreção láctea começa a estabilizar-se a partir do 5º dia pós-parto e, em média, dentro de duas a três semanas, a composição torna-se menos variável, embora muitos autores relatem diferentes períodos para que o leite possa ser considerado como leite maduro (VALDÉS et al., 1996).

O Quadro 1 apresenta a composição média do colostro e do leite maduro.

Componente	Colostro	Leite maduro (≥ 30 dias)
Proteína total (g)	23	8-10
Caseínas		2,5
Proteínas do soro		7,0
α-lactalbumina		2,6
lactoferrina		1,7
lisozima		0,5
albumina		0,5
imunoglobulinas		1,05
outras		0,7
Nitrogênio não-protéico		0,5
Carboidratos (g)		
Lactose	53	72,0 (± 2,5)
Oligossacarídeos	-	18,5
Gordura (g)	29	39,0 (± 4,0)
Vitaminas		
Vitamina A (μg)	890	670 (± 200)
β-Caroteno (μg)	1120	150
Vitamina D (μg)	-	0,55 (± 0,10)
Vitamina E (mg)	12,8	2,3 (± 1,0)
Vitamina K (μg)	2,3	2,1 (± 0,1)
Vitamina C (mg)	44	40 (± 10)
Vitamina B ₁₂ (μg)	2	0,97
Vitamina B ₆ (mg)	0,12	93 (± 8)
Tiamina (mg)	0,15	0,21 (± 0,033)
Riboflavina (mg)	0,25	0,35 (± 0,025)
Niacina (mg)	0,75	1,5 (± 0,20)
Ácido fólico (μg)	-	85 (± 37)
Biotina (μg)	1	4 (± 1)
Ácido pantotênico (mg)	1,83	1,80 (± 0,20)
Minerais		
Cálcio (mg)	230	280 (± 26)
Magnésio (mg)	34	35 (± 2)
Sódio (mg)	480	180 (± 400)
Potássio (mg)	740	525 (± 35)
Cloro (mg)	910	420 (± 60)
Fósforo (mg)	140	140 (± 22)
Enxofre (mg)	220	-
Cromo (μg)	-	50 (± 5)
Cobre (μg)	0,46	0,25 (± 0,03)
Flúor (μg)	-	16 (± 5)
Ferro (mg)	0,45	0,3 (± 0,1)
Iodo (μg)	120	110 (± 40)
Manganês (mg)	-	6 (± 2)
Selênio (μg)	-	20 (± 5)
Zinco (mg)	5,40	1,2 (± 0,2)

Fonte: adaptado de LÖNNERDAL (1985); LÖNNERDAL e FORSUM (1985); LÖNNERDAL (1996) por EUCL YDES (2000).

Quadro 1 Composição do leite humano em concentração/litro

FATORES QUE INTERFEREM NA COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO

O estado nutricional, composição corporal e nível sócio-econômico da mãe estão entre os fatores que podem influenciar em alguns componentes do leite humano. Efeito reduzido na quantidade total de nutrientes pode ocorrer se a ingestão de um macronutriente encontra-se usualmente abaixo da recomendada; em países com provisão limitada de alimentos e condição marginal de dieta alimentar podem ocorrer alterações significativas no estado nutricional da mãe e conseqüente concentração energética reduzida no leite, como observado na Índia por BROWN et al. (1986).

Por outro lado, o Índice de Massa Corporal não tem sido correlacionado com o desempenho na lactação até o sexto mês pós-parto (BARBOSA et al., 1997; PRENTICE et al., 1994).

Quanto ao volume, o consumo energético, a composição corporal e a situação econômica não parecem interferir no volume do leite humano (VILLALPANDO et al., 1991). Entretanto, a influência específica da dieta no volume de leite tem sido pouco investigada, ainda que alguns estudos em países em desenvolvimento tenham sugerido uma correlação positiva entre a ingestão de proteínas e o volume da secreção láctea (PITKIN e HAMOSH, 1991).

Com relação às proteínas totais e ao nitrogênio não-protéico, há algumas evidências de que a dieta, a composição corporal e o estado sócio-econômico influenciem a concentração protéica específica do leite (FORSUM e LÖNNERDAL, 1980; SANCHEZ-POZO et al., 1987). Estudo realizado com lactantes, no Texas, demonstrou que o balanço de nitrogênio teve relação com a composição do leite, avaliado pelo fluxo de lisina e incorporação de leucina (MOTIL et al., 1989).

Estudos avaliando mães brasileiras, observaram que o nível sócio-econômico não interferiu na composição protéica do leite, exceto para nitrogênio não-protéico (BRASIL et al., 1996; QUEIROZ et al., 1996). A concentração de nitrogênio não-protéico aumentada em mães de nível sócio-econômico baixo deve-se, possivelmente, à elevação de imunoglobulinas, pela exposição mais freqüente aos contaminantes ambientais (SANCHEZ-POZO et al., 1987). Porém, os mesmos autores observaram que na Espanha, em mães com nível sócio-econômico alto, a β -caseína e α -lactalbumina foram, em média, significativamente elevadas no leite (SANCHEZ-POZO et al., 1987).

Entre as proteínas, a lisozima e a lactoferrina têm função protetora importante. A lisozima é uma enzima termo-sensível, que degrada a parede celular bacteriana, protegendo o hospedeiro de infecções e apresenta-se em concentração média de 0,4g/l (SANCHEZ-POZO et al., 1987; KASSIM, 1996). A lactoferrina, uma das proteínas presentes em maior concentração no leite humano (aproximadamente 1,5g/l) é sintetizada na glândula mamária. Apresenta resistência parcial à proteólise e termossensibilidade; inibe microrganismos patogênicos pela competição por íons férricos, e tem efeito positivo para bactérias bífidas (LÖNNERDAL, 1985; MILLER-CATCHPOLE, 1997).

A lisozima e a lactoferrina variam com o período da lactação e padrão sócio-econômico, havendo, em média, uma correlação negativa sob o segundo aspecto para ambas as proteínas, ou seja, nutrízes de menor nível sócio-econômico apresentaram maior teor destas proteínas protetoras no leite (SANCHEZ-POZO et al., 1987).

A imunoglobulina A apresenta variação ligada ao estado nutricional da mãe em decorrência da época do ano (estação seca ou de chuvas), e entre as mamas da nutriz (WEAVER et al., 1998).

Com relação aos carboidratos, a concentração de lactose é relativamente constante entre as lactantes, porém pode ser afetada pela dieta materna e, inclusive, em função das estações chuvosa ou seca, em que há, respectivamente, escassez ou abundância de alimentos, o que foi verificado por PRENTICE (1999) em mães na Gâmbia.

Em adição à lactose, o leite humano contém cerca de 130 oligossacarídeos diferentes em concentração média de 1,85g/100ml, variando de 1,2 a 1,4g/100ml no leite maduro a 2,0-2,2g/100ml no colostro (GUDIÉL-URBANO e GOÑI, 2001). Os oligossacarídeos são os componentes mais variáveis do leite, apresentando diferenças temporal e individual, ou seja, de acordo com o estágio da lactação e a capacidade genética da mãe em sintetizar ligações específicas no metabolismo destes compostos na glândula mamária (VIVERGE et al. 1990b; GUDIÉL-URBANO e GOÑI, 2001). Entretanto, GUDIÉL-URBANO e GOÑI (2001) relatam que esses componentes não são afetados pela dieta materna. De acordo com esses autores, os oligossacarídeos exercem um efeito antiinfecioso através de dois mecanismos: inibindo o crescimento de patógenos e estimulando o crescimento de bactérias benéficas, como as bifidobactérias.

Quanto aos lipídios, são os componentes mais variáveis do leite humano. Os tipos de ácidos graxos e suas concentrações têm relação direta com o nível sócio-econômico e a dieta da nutriz. PITA et al. (1985) verificaram que o conteúdo de ácido oléico foi menor no leite de mulheres de baixo e médio níveis sócio-econômicos, enquanto que o de ácidos linoléico e linolênico foi maior, o que pode ser explicado pelo fato de esse grupo consumir mais óleos vegetais, como o de soja, puro ou associado a outros óleos (girassol e oliva).

BRASIL et al. (1996), em investigação com mães brasileiras, concluíram que o nível sócio-econômico afetou significativamente as quantidades de gordura total e valor calórico do leite de mães adultas e, em adolescentes, houve tendência a valores aumentados, embora a idade da lactante não tenha demonstrado relação com a composição de ácidos graxos saturados e insaturados. ROCQUELIN et al. (1998) verificaram que o conteúdo de lipídios e a composição em ácidos graxos estão relacionados com o estado nutricional de mães congoleesas, de modo que a amamentação parcial pode não atender às necessidades dos lactentes.

Os minerais presentes em maiores concentrações, como cálcio, fósforo, magnésio, cloro, sódio e potássio não são afetados pela ingestão dietética da mãe. Porém, os minerais selênio, iodo, zinco, ferro e cobre estão positivamente associados com a dieta materna

(LÖNNERDAL et al., 1982; PITKIN e HAMOSH, 1991). Especificamente com relação à concentração de selênio, QUEIROZ e NÓBREGA (1996) observaram que o nível sócio-econômico das lactantes não determinou diferenças significativas, embora tenham conduzido a investigação com grupos de mães eutróficas.

A respeito das vitaminas, a dieta e os estoques corporais da mãe influenciam o seu conteúdo no leite, e a extensão da variação depende do tipo de vitamina. A ingestão constantemente diminuída de vitaminas pode resultar na produção de leite com quantidades menores destes nutrientes essenciais, ou alguns podem ser mantidos em níveis satisfatórios no leite às expensas dos estoques maternos (PITKIN e HAMOSH, 1991; RIORDAN, 1999; EUCLYDES, 2000).

BRONNER e AUERBACH (1999) afirmam que se a dieta materna está com conteúdo elevado de vitaminas hidrossolúveis, o nível no leite estará acrescido, pois esta classe de compostos associa-se mais aos padrões de ingestão e suplementação que as vitaminas lipossolúveis. Porém, conforme tem sido observado, a concentração de vitaminas A, E, D e K têm correlação com a dieta e sua suplementação (GEBRE-MEDHIN et al., 1976; GLASZIOU e MACKERRAS, 1996; IMONG, 1996; MINOUNI e TSANG, 1996; KRIES, 1996).

Segundo alguns autores, com exceção das vitaminas B₆ (STYSLINGER e KIRKSEY, 1985) e D (HOLLIS et al., 1991), iodo (GUSHURST et al., 1991) e selênio (MANNAN E PICCIANO, 1987), outros componentes do leite não são alterados se a lactante tem a dieta em níveis superiores aos recomendados.

O conteúdo de biotina no leite humano varia extremamente (0-27µg/l), aumentando com o tempo de lactação e está diretamente relacionado com a concentração plasmática materna (SALMENPERÄ et al., 1991), havendo elevação bastante acentuada quando há suplementação da dieta (de 13 a 485µg/l, após suplementação diária com 3mg) (HOOD e JOHNSON, 1991).

O ácido pantotênico, de forma semelhante, tem correlação direta significativa com a ingestão na dieta e suplementação, sendo verificado que o valor médio de 2,6µg/l elevou-se para 4,8µg/l mediante ingestão de mais de 1,0mg/dia (SONG et al., 1984). Quanto à vitamina B₁₂, as concentrações não tem relação direta com a ingestão pela mãe e não há resposta à suplementação. Segundo IMONG (1996), situações de carência se relacionam diretamente à deficiência presente em dietas exclusivamente vegetarianas.

Níveis de fosfato de piridoxal (CHANG e KIRKSEY, 1991) e de folatos (BROWN et al., 1991; CZEIZEL, 1996), respectivamente em concentrações de 50-250µg/l e 85µg/l, tem correlação positiva com a dieta; lactante em estado de deficiência relativa apresenta teores reduzidos no leite humano.

Quanto à tiamina, riboflavina e niacina, os valores médios encontrados são de 70-100µg/l, 350µg/l, e 1µg/l, respectivamente. As concentrações são dependentes da dieta da mãe e, se diminuídas, respondem com suplementação (NAIL et al., 1980; BATES et al., 1981; PRATT et al., 1991).

O quadro 2 relaciona a possível influência da dieta materna na composição do leite humano.

Componentes ou classe de componentes	Efeito da ingestão materna na composição do leite ^a	Componentes ou classe de componentes	Efeito da ingestão materna na composição do leite ^a
Macronutrientes		Minerais	
Proteínas	+	Cálcio	o
Lipídios	+ ^b	Fósforo	o
Carboidratos	o	Magnésio	o
Vitaminas		Sódio	o
Vitamina C	+	Potássio	o
Tiamina	+	Cloro	o
Riboflavina	+	Iodo	o
Niacina	+	Cobre	o
Ácido pantotênico	+	Zinco	+
Vitamina B ₆	+	Manganês	+
Biotina	+	Selênio	+
Folato	+	Iodo	+
Vitamina B ₁₂	+	Flúor	+
Vitamina A	+	Ferro	+
Vitamina D	+		
Vitamina E	+		
Vitamina K	+		

^a + significa efeito positivo da ingestão no conteúdo de nutriente no leite.

o significa que não há efeito conhecido da ingestão no conteúdo de nutriente do leite.

^b efeito parece ser no tipo de ácidos graxos presentes mas não no conteúdo de triglicérides ou colesterol no leite.

Fonte: adaptado de PITKIN e HAMOSH (1991).

Quadro 2 Possíveis influências da ingestão materna na composição do leite humano

É necessário considerar, entretanto, que a interferência dos esquemas de amostragem, nem sempre reflete o conjunto da produção láctea no decorrer de um dia, e pode ser causa de resultados que venham a sub- ou superestimar as taxas de secreção verificadas, e o desempenho na lactação, dissimulando as possíveis influências da nutrição materna no leite, assim como as metodologias que apresentem variações, no que concerne não somente às determinações, mas também à forma de interpretação dos resultados (VILLALPANDO et al., 1991).

MICROBIOTA INTESTINAL DO LACTENTE EM ALEITAMENTO MATERNO EXCLUSIVO

O trato gastrointestinal do feto normal é estéril, porém durante o processo de nascimento e, logo após, a exposição aos microrganismos provenientes da mãe e do meio ambiente iniciam o desenvolvimento de uma microbiota densa, amplamente diversa e relativamente estável ao longo da vida (ADLERBERTH, 1998; MACKIE et al., 1999).

Em seguida ao parto, os recém-nascidos são continuamente expostos a novos microrganismos veiculados com o alimento, inclusive o leite materno, pois este possui uma carga microbiana contaminante variável entre $10^2 - 10^9$ microrganismos/ml, originada do mamilo, ductos lactíferos, pele circundante e mãos maternas (ALMEIDA, 1986; TANNOCK et al., 1990).

O isolamento, identificação e caracterização do grande número de espécies presentes no intestino tem sido objeto de estudos, mas a completa avaliação qualitativa e quantitativa constitui-se em um processo extremamente difícil e demorado. Certamente, a aplicação das modernas técnicas moleculares têm permitido avanços relevantes para o estudo da aquisição e desenvolvimento desta comunidade microbiana, que está possibilitando a compreensão não somente da aquisição inicial e colonização, mas de subsequente sucessão e dos mecanismos de interação entre microrganismos e o hospedeiro (MACKIE et al., 1999).

A colonização pode ser descrita como uma população bacteriana estável em tamanho, ao longo do tempo, sem a necessidade de reintrodução periódica, o que implica em multiplicação do microrganismo em um nicho particular, em uma relação que iguala ou excede sua taxa de eliminação ou ocorrência naquele sítio (FRETER, 1992). A microbiota intestinal é um ecossistema complexo que se inicia com a colonização do trato gastrointestinal, e se estabelece gradualmente pela implantação de diferentes cepas de microrganismos, com predominância de bactérias, em que interações simbióticas e antagônicas acontecem simultaneamente (BENGMARK, 1998).

Bactérias nativas não se distribuem ao acaso no trato gastrointestinal, e sim são encontradas em níveis populacionais e em distribuições de espécies que são características de regiões específicas. O estômago e o intestino delgado proximal contém números relativamente baixos de microrganismos ($10^3 - 10^5/g$) devido ao baixo pH e fluxo rápido desta região. A região distal ou íleo mantém uma microbiota mais diversa e um número maior de bactérias ($10^4 - 10^8/g$) que a região superior, sendo considerada uma zona de transição precedendo o intestino grosso. Essa região, de baixo *turnover*, caracteriza-se por elevada densidade populacional de bactérias ($10^{10} - 10^{12}/g$) e relativa estabilidade. No cólon, há a estimativa de cerca de 400 espécies presentes, ainda que, provavelmente, 30 a 40 espécies constituam 99 por cento da microbiota. (MITSUOKA, 1977; BERG, 1996; MITSUOKA, 1996; TANNOCK, 1998).

No estabelecimento da microbiota intestinal, o teor elevado de oxigênio no intestino do recém-nascido favorece inicialmente o crescimento de bactérias aeróbias ou anaeróbias facultativas, como enterobactérias, enterococos e estafilococos. Com o consumo

do oxigênio por estes grupos, o ambiente torna-se altamente reduzido e, portanto, adequado ao crescimento de bactérias anaeróbias obrigatórias, promovendo a proliferação de bifidobactérias, bacteróides e clostrídios. Pelo aumento das populações de anaeróbios estritos, as espécies de aeróbios e anaeróbios facultativos tendem a diminuir, possivelmente devido à redução nos nutrientes utilizáveis em meio com baixo potencial de óxido-redução (MITSUOKA, 1977; MITSUOKA, 1996; MACKIE et al., 1999). Esta colonização microbiana é regulada, portanto, pelo próprio meio devido à presença dos diversos grupos que se estabelecem à medida que as condições apresentam-se favoráveis com relação ao potencial redox, substâncias inerentes ao metabolismo dos próprios microrganismos, interações microbianas, fatores fisiológicos do hospedeiro, e aos nutrientes provenientes da dieta alimentar (BENNO et al., 1984; BERG, 1996).

A presença da microbiota bífida é situação desejável em todos os bebês, especialmente nos prematuros, que geralmente apresentam baixo peso, imaturidade imunológica e, muitas vezes, maior predisposição a infecções gastroentéricas, entre outras complicações. As bactérias do gênero *Bifidobacterium* ssp. exercem efeitos regulatórios no crescimento de outras bactérias colônicas, produzem ácidos orgânicos (acético e lático), e mantém o meio adverso ao desenvolvimento de espécies potencialmente patogênicas, além de exercerem efeitos probióticos para o hospedeiro (FULLER, 1989; GIBSON e WANG, 1994; WOLIN et al., 1998).

O leite humano apresenta características de baixo conteúdo protéico e reduzida capacidade tamponante, que mantém o meio intestinal ácido, desestimulando o crescimento de espécies bacterianas indesejáveis, além de conter substâncias promotoras do crescimento de bifidobactérias (COLLINS e GIBSON, 1999). Neste contexto, bebês exclusivamente amamentados apresentam populações superiores de bifidobactérias quando comparados com os alimentados com fórmulas lácteas ou leite de vaca, nos quais predominam enterobactérias, clostrídios e enterococos (LIEPKE et al., 2002).

Recentemente, RUBALTELLI et al. (1998) verificaram que neonatos amamentados têm a incidência significativamente maior de *Bifidobacterium*, reinterando resultados similares aos previamente descritos na literatura por muitos outros pesquisadores (MITSUOKA, 1977; BALMER e WHARTON, 1989; BENNO et al., 1984; MITSUOKA, 1996).

Os fatores promotores do crescimento de bactérias bífidas estão presentes na secreção láctea e, embora variáveis em concentração e composição, têm influência marcante sobre a composição da microbiota intestinal. Constituintes com propriedades estimuladoras do crescimento de bifidobactérias, como oligossacarídeos nitrogenados, glicoproteínas, lactoferrina e proteínas têm sido estudados.

BEZKOROVAINY e NICHOLS (1976) verificaram que glicoproteínas de soro de leite maduro estimularam uma espécie de bifidobactéria. PETSCHOW e TALBOTT (1990) demonstraram *in vitro* o efeito de frações protéicas do leite humano (proteínas do soro e caseína) e de nitrogênio não protéico no crescimento de espécies de bactérias bífidas de origem infantil. Segundo MILLER-CATCHPOLE et al. (1997) a lactoferrina está envolvida

na transferência de ferro diretamente para o microrganismo, num mecanismo de resistência à presença de oxigênio no meio. LIEPKE et al. (2002) identificaram peptídeos do leite humano que estimulam o crescimento de *B. bifidum*, derivados da lactoferrina (leite maduro) e receptores de imunoglobulinas solúveis (colostró).

COMPOSIÇÃO DO LEITE HUMANO E ALTERAÇÕES NAS CARACTERÍSTICAS NORMAIS DA MICROBIOTA INTESTINAL PREDOMINANTEMENTE BÍFIDA

O Genêro *Bifidobacterium* caracteriza-se, em termos nutricionais, por necessidades de nutrientes essenciais para seu crescimento, podendo ser considerado fastidioso e exigente. Necessita das vitaminas biotina, B₆ e B₁₂, folato, pantotenato de cálcio, e mesmo riboflavina, pois algumas cepas não tem capacidade de síntese, além do aminoácido cisteína, conforme verificado *in vitro* por HASSINEN et al. (1951) com base no meio de NORRIS et al. (1950). Em adição, necessitam de sais de magnésio, ferro, manganês, sulfato e cloreto de sódio, podendo utilizar sais de amônia como única fonte de nitrogênio (HASSINEN et al., 1951; SCARDOVI, 1986; BLAVATI et al., 1992).

Diante do exposto anteriormente, quanto à composição do leite humano relacionada com as diferenças devidas ao estado nutricional e à dieta da mãe, as concentrações reduzidas de vitaminas, oligossacarídeos e lactoferrina podem determinar o grau de favorecimento para a colonização do trato intestinal por espécies de *Bifidobacterium* spp.

Portanto, há a possibilidade de que o leite de mães de nível sócio-econômico baixo, e conseqüente dieta alimentar comprometida em termos quali-quantitativos, possa ter influência no desenvolvimento e estabelecimento da microbiota intestinal dos recém-natos.

EFEITO DA PASTEURIZAÇÃO DO LEITE HUMANO E POSSÍVEL INTERFERÊNCIA NO ESTABELECIMENTO DA MICROBIOTA PREDOMINANTEMENTE BÍFIDA DO RECÉM-NATO

Os bancos de leite humano desempenham função importante para o aleitamento de bebês prematuros e/ou de baixo peso ao nascer; bebês impossibilitados de sugar ou de mães que estejam impossibilitadas de amamentá-los; recém-natos infectados, especialmente com enteroinfecções; portadores de deficiências imunológicas; diarreia protraída, entre outras indicações.

A pasteurização do leite nos Bancos de Leite Humano constitui-se em um processo imprescindível do ponto de vista de segurança microbiológica deste alimento, que tem uma carga microbiana contaminante proveniente do procedimento de coleta ou ordenha.

Considerando que o leite humano dos bancos provém de mães que espontaneamente o doam e que, portanto, têm diferentes características sociais e econômicas, e que os bebês receptores encontram-se em diferentes condições fisiológicas, ou mesmo

patológicas, as possíveis alterações decorrentes da pasteurização passam a ter importância fundamental no sentido de que podem vir a influenciar no desenvolvimento e balanço de sua microbiota intestinal.

A influência de diferentes tratamentos térmicos do leite humano sobre a estabilidade de alguns de seus constituintes foi investigada por FORD et al. (1977), que demonstraram que a pasteurização reduziu a lactoferrina do leite cerca de 70%. Entre outros componentes avaliados, como a capacidade de ligação de constituintes do leite às vitaminas cianocobalamina e ácido fólico, os autores observaram que a pasteurização afetou a ligação à cianocobalamina, que foi reduzida em cerca de 50%. Para ácido fólico a redução foi de cerca de 10% e de 75%, respectivamente por aquecimento a 62,5°C por 30 minutos ou 65°C por 15 minutos. A pasteurização lenta (62,5°C por 30 minutos) influenciou, ainda que de forma discreta, a absorção de ácido fólico por *B. bifidum*.

Quanto aos efeitos da pasteurização na composição de ácidos graxos e no conteúdo de gorduras disponível, FIDLER et al. (1998) e WU et al. (2001), constataram não ser afetado, em contraste com o processo de esterilização, que reduziu o conteúdo de gorduras disponível em cerca de 10%, e levou à discreta alteração na composição dos ácidos graxos.

Ao avaliar os efeitos de diferentes tratamentos térmicos do leite humano, é importante considerar a extensão das alterações de constituintes com funções protetoras, uma vez que o leite de doadoras se destina aos bebês que se encontram em condições que requerem cuidados especiais.

MAY (1988) em revisão sobre os fatores protetores presentes no leite humano, relata que, quando submetido à pasteurização lenta (62,5°C/ 30 minutos), o leite tem preservada a totalidade de oligossacarídeos e glicopeptídeos, porém perde cerca de 30% de IgA secretória, 30% de IgG, 75% de lisozima e 60% de lactoferrina.

Recentemente, COSTA e CARMO (2000) avaliaram o efeito da pasteurização do leite humano na redução de oligoelementos. Analisando leite de puérperas de parto a termo, encontraram reduções significativas ($p < 0,05$) para zinco (3%), cobre (9,4%), ferro (10,7%) e bromo (4,5%).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora pouca informação esteja disponível sobre os efeitos da pasteurização do leite humano, assim como informação limitada sobre a relação entre dieta materna e composição do leite, algumas considerações podem ser feitas.

Quanto às diferenças na composição do leite associadas ao estado nutricional da mãe, pode-se esperar que concentrações diminuídas de vitaminas, lactoferrina e minerais, associadas às perdas decorrentes do processo de pasteurização do leite humano nos bancos, venham a interferir de modo significativo no estabelecimento da microbiota intestinal dos recém-nascidos.

Além desta consideração, há a questão das condições higiênico-sanitárias, que embora não seja objeto da presente revisão, pode constituir-se em um fator que interfira na colonização do trato intestinal. Em países em desenvolvimento, grande parte da população vive em condições higiênico-sanitárias precárias e, portanto, os bebês encontram-se em ambientes em que há grande exposição a contaminantes, levando a maior competição pelos nichos ecológicos orgânicos.

Certamente mais estudos são necessários a fim de elucidar o nível de comprometimento dos bebês que recebem o leite dos bancos de leite, assim como esclarecer o efeito da pasteurização sobre componentes bioativos com função protetora, e a relevância da dieta materna na composição do leite, abrindo possibilidades, inclusive, para investigações no sentido de suprir as deficiências do leite humano que sejam decorrentes do tratamento térmico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/ REFERENCES

- ADLERBERTH, I. Estabelecimento da micr oflora intestinal normal do recém-nascido. In: *Probióticos, outros fatores nutricionais e a microflora intestinal*. Vevey, Suíça: Nestlé Ltd., 1998. p.7-10. [Nestlé Nutrition Workshop Series].
- ALMEIDA, J.A.G. *Qualidade do leite humano coletado e processado em bancos de leite*. Viçosa, MG. 1986. 68p. Dissertação. (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, MG.
- BALMER, SE; WHARTON, B.A. Diet and faecal flora in the newborn: breasts milk and infant formula. *Arch. Dis. Child.* v. 64. p.1672-77, 1989.
- BARBOSA, L.; BUTTE, N.F.; VILLALPANDO, S.; WONG, W.W.; SMITH, E.O. Maternal energy balance and lactation performance of Mesoamericans as a function of body mass index. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 66. p.575-83, 1997.
- BATES, C.J.; PRENTICE, A.M.; PAUL, A.A.; SUTCLIFFE, B.A.; WATKINSON, M.; WHITEHEAD, R.G. Riboflavin status in Gambian pregnant and lactating women and its implications for Recommended Dietary Allowances. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 34, p. 928-935, 1981.
- BENGMARK, S. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut.* v. 42, p. 2-7, 1998.
- BENNO, Y.; SAWADA, K.; MITSUOKA, T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Microbiol. Immunol.* v. 28. p.975-86, 1984.
- BERG, R.D. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends. Microbiol.* v. 4. p.430-5, 1996.
- BEZKOROVAINY, A.; NICHOLS, J.H. Glycoproteins from mature human milk whey. *Pediatr. Res.* v. 10. p. 1-5, 1976.
- BIAVATI, B.; CROCIANI, F.; MATTARELLI, P.; SCARDOVI, V. The genus *Bifidobacterium*. In: BALOWS, A.; TRUPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHEIFER, KH. *The Prokaryotes*. 2nd ed. v. 2, p. 816-33, 1992.
- BRASIL, A.L.D.; VITOLO, M.R.; LOPES, F.A.; NOBREGA, F.J. Lipid and protein composition of mature milk of high and low socioeconomic level adolescent and adult mothers. In: NÓBREGA, F.J. (Ed). *Human milk composition*. São Paulo, SP: Revinter. 1996, p. 153-70.

- BRONNER, Y.L.; AUERBACH, K.G. Maternal nutrition during lactation. In: RIORDAN, J.; AUERBACH, K.G. (Eds). *Breastfeeding and human lactation*. 2nd ed. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Publishers, 1999. p.515-39.
- BROWN, C.M.; SMITH, A.M.; PICCIANO, M.F. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation: milk composition*. Washington, D.C: National Acad. Press, 1991. p. 113-52.
- BROWN, K.H.; ROBERTSON, A.D.; AKHTAR, N.A. Lactational capacity of marginally nourished mothers: relationships between maternal nutritional status and quantity and proximate composition of milk. *Pediatr.* v. 78, n. 5, p. 909-19, 1986.
- CHANG, S.J.; KIRKSEY, A. Piridoxine supplementation of lactating mothers: relation to maternal status and vitamin B₆ concentrations in milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 51, p. 826-31, 1991.
- COLLINS, M.D; GIBSON, G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbiota ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 69, n. 5, p. 1052S-57S. 1999.
- COSTA, R.S.; CARMO, M.G.T. Efeito da pasteurização sobre os níveis de oligoelementos de colostros de puérperas no Rio de Janeiro, Brasil. In: CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. *Anais*. 2000.
- CZEIZEL, A.E. Ácido fólico. In: Vitaminas na gravidez e na primeira infância. *Anais Nestlé*. v.53, p. 22-9, 1996.
- EUCLYDES, M.P. Nutrição do lactente: base científica para uma alimentação adequada. 2.ed. rev. atual. Viçosa, MG, 2000. 488p.
- FIDLER, N.; SAUERWALD, T.U; KOLETZKO, B.; DEMMELMAIR, H. Effects of human milk pasteurization and sterilization on available fat content and fatty acid composition. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, v. 27, n.3, p.317-322, 1998.
- FORD, J.E.; LAW, B.A.; MARSHALL, V.M.; REITER, B. Influence of the heat treatment of human milk on some its protective constituents. *J. Pediatr.* v. 90, n. 1, p. 29-35. 1977.
- FORSUM, E.; LÖNNERDAL, B. Effect of protein intake on protein and nitrogen composition of breast milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 33, p. 1809-13, 1980.
- FRETER, R. Factors affecting the microecology of the gut. In: Fuller, R. (Ed.) *Probiotics – the scientific basis*. New York: Chapman and Hall, 1992. p. 111-44.
- FULLER, R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* v. 66, p. 365-78, 1989.
- GEBRE-MEDHIN, M.; VAHLQUIST, A.; HOFVANDER, Y.; UPPSALL, L.; VAHLQUIST, B. Breast milk composition in Ethiopian and Swedish mothers. I. Vitamin A and β -carotene. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 29, p. 441-51. 1976.
- GIBSON, G.R; WANG, X. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* v. 77, p. 412-20, 1994.
- GLASZIOU, P.P; MACKERRAS, E.M. Vitamina A. In: Vitaminas na gravidez e na primeira infância. *Anais Nestlé*. v.53, p. 1-11, 1996.
- GUDIÉL-URBANO, M.; GOÑI, I. Oligosacáridos de la leche humana. Papel en la salud y en el desarrollo del lactante. *Arch. Latinoamericanas Nutr.* v.51, n.4, 2001, <www.scielo.org>
- GUSHURST, J.; MUELLER, J.A.; GREEN, J.A.; SEDOR, F. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C.: National Acad. Press. 1991. p. 113-52.
- HASSINEN, J.B.; DURBIN, G.T.; TOMARELLI, R.M.; BERNHART, F.W. The minimal nutritional requirements of *Lactobacillus bifidus*. *J. Bacteriol.* v. 62, p. 771-777. 1951.
- HOLLIS, B.W.; ROOS, B.A.; LAMBERT, P.W. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C. National Acad. Press. 1991. p.113-52.
- HOOD, R.L.; JOHNSON, A.L. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C.: National Acad. Press, 1991. p.113-52.

- IMONG, S. Resumo de artigos selecionados na literatura recente sobre vitaminas na gravidez e na infância. In: *Vitaminas na gravidez e na primeira infância. Anais Nestlé.* v. 53. p. 37-47. 1996.
- KASSIM, O.O. Review of selected papers from the recent literature on bioactive factors in milk. *Annales Nestlé.* v. 54, n. 3, p. 113. 1996.
- KRIES, R.V. Vitamina K. In: *Vitaminas na gravidez e na primeira infância. Anais Nestlé.* v. 53, p. 30-36. 1996.
- LIEPKE, C.; ADERMANN, K.; RAIDA, M.; MAGERT, H.J.; FORSSMANN, W.G.; ZUCHT, H.D. Human milk provides peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria. *Eur J Biochem.* v. 269, p. 712-718, 2002.
- LÖNNERDAL, B. Biochemistry and physiological function of human milk proteins. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 42, p. 1299-1317. 1985.
- LÖNNERDAL, B. Lactoferrin in milk. *Annales Nestlé.* v. 54. p. 79-87. 1996.
- LÖNNERDAL, B.; FORSUM, E. Casein content of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 41, p.113-120. 1985.
- LÖNNERDAL, B.; HOFFMAN, B.; HURLEY, L.S. Zinc and copper binding proteins in human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 36, p. 1170-1176. 1982.
- MACKIE, R.I.; SGHIR, A.; GASKINS, H.R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 69. n. 5. 1035S-45S. 1999.
- MANNAN, S.; PICCIANO, M.F. Influence of maternal selenium status on human milk selenium concentration and glutathione peroxidase activity. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 46, p. 95-100. 1987.
- MAY, J.T. Microbial contaminants and antimicrobial properties of human milk. *Microbiol. Sci.* v. 5, p. 42-6. 1988.
- MILLER-CATCHPOLE, R.; KOT, E.; HALOFTIS, G.; FURMANOV, S.; BEZKOROVAINY, A. Lactoferrin can supply iron for the growth of *Bifidobacterium breve*. *Nutr. Research.* v. 17, n. 2, p. 205-213. 1997.
- MINOUNI, F.; TSANG, R. Vitamina D. In: *Vitaminas na gravidez e na primeira infância. Anais Nestlé.* v. 53. p. 12-21. 1996.
- MITSUOKA, T. Ecology of the bifidobacteria. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 30, p. 1799-10. 1977.
- _____. Intestinal flora and human health. *Asia Pacific. J. Clin. Nutr.* v. 5, n. 1, p.2-9. 1996.
- MOTIL, K.J.; MONTANDON, C.M.; HACHEY, D.L.; BOUTTON, T.W.; KLEIN, P.D.; GARZA, C. Relationships among lactation performance, maternal diet, and body protein metabolism in humans. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 43, p. 681-91. 1989.
- NAIL, P.A.; THOMAS, M.R.; EAKIN, R. The effect of thiamin and riboflavin supplementation on the level of those vitamins in human breast milk and urine. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 33, p. 198-204. 1980.
- NEVILLE, M.C.; KELLER, R.P.; SEACAT, J.; CASEY, C.E.; ALLEN, J.C.; ARCHER, P. Studies on human lactation. I. Within- feed and between- breast variation in selected components of human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 40, p. 635-46. 1984.
- NÓBREGA, F.J. *Human milk composition.* São Paulo, SP, Revinter. 1996. 236p.
- NORRIS, R.F.; FLANDERS, T.; TOMARELLI, R.M.; GYÖRGY, P. The isolation and cultivation of *Lactobacillus bifidus*: a comparison of branched and unbranched strains. *J. Bacteriol.* v. 60, p. 681-696. 1950.
- PETSCHOW, B.W.; TALBOTT, R.D. Growth promotion of *Bifidobacterium* species by whey and casein fractions from human and bovine milk. *J. Clin. Microbiol.* v.28, n.2, p.287-292. 1990.
- PITA, M.L.; MORALES, J.; SANCHEZ-POZO, A.; MARTINEZ-VALVERDE, J.A.; GIL, A. Influence of the mother's weight and socioeconomic status on the fatty acids composition of human milk. *Ann. Nutr. Metab.* v. 29, p. 366-73. 1985.
- PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. Summary, conclusions, and recommendations. In: *Nutrition during lactation.* Washington, D.C., National Acad. Press. 1991. p. 1-19.

- POWERS, N.G.; SLUSSER, W. Breastfeeding Update 2: clinical lactation management. *Pediatrics in Review*, v.18, n.4, p. 147-161. April, 1997.
- PRATT, J.P.; HAMIL, B.M.; MOYER, E.Z.; KAUCHER, C. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C. National Acad. Press. 1991. p. 113-52.
- PRENTICE, A.M. The biological specificity of breastmilk. In: RIORDAN J.; AUERBACH KG. (Eds.). *Breastfeeding and human lactation*. 2nd ed. Sudbury, MA: Ed. Jones and Bartlett Publishers. 1999. p. 121-61.
- PRENTICE, A.M.; GOLDBERG, G.R.; PRENTICE, A. Body mass index and lactation performance. *Eur. J. Clin. Nutr.* v. 48, Suppl. 3. S78-S89. 1994.
- QUEIROZ, S.S.; NÓBREGA, F.J. Selenium composition in the milk of high and low socioeconomic level adult nursing mothers. In: NÓBREGA F.J. (Ed.). *Human milk composition*. São Paulo, SP: Revinter. 1996. p. 206-14.
- QUEIROZ, S.S.; NÓBREGA, F.J.; RUGULO, L.M.S.; TRINDADE, C.E.P.; CURI, P.R. Total protein, protein nitrogen, and non protein nitrogen in colostrum, transitional and mature milk of mothers of term and preterm infants from different socioeconomic levels. In: NÓBREGA F.J. (Ed). *Human milk composition*. São Paulo, SP: Revinter. 1996. p. 225-36.
- RIORDAN, J. The biological specificity of breastmilk. In: RIORDAN J.; AUERBACH KG. (Eds.). *Breastfeeding and human lactation*. 2nd ed. Sudbury, MA: Ed. Jones and Bartlett Publishers. 1999. p. 121-61.
- ROCQUELIN, G.; TAPSOBA, S.; DOP, M.C.; MBEMBA, F.; TRAISSAC, P.; MARTIN-PRÉVEL, Y. Lipid content and essential fatty acid (EFA) composition of mature Congolese breast milk are influenced by mother's nutritional status: impact on infants' EFA supply. *Eur. J. Clin. Nutr.* v.52, n.3, p.164-171, 1998.
- RUBALTELLI, F.F.; BIADAIOLI, R.; PECILE, P.; NICOLETTI, P. Intestinal flora in breast- and bottle- fed infants. *J. Perinat. Med.* v. 26. p. 186-1919. 1998.
- SALMENPERÄ, P.; PERHEENTUPA, J.; PISPA, J.P. Milk composition. In: PITKIN, R.M.; HAMOSH, M. (Eds.). *Nutrition during lactation*. Washington, D.C: National Acad. Press. 1991. p. 113-52.
- SANCHEZ-POZO, A.; LOPEZ MORALES, J.; IZQUIERDO, A.; MARTINEZ-VALVERDE, A.; GIL, A. Protein composition of human milk in relation to mothers weight and socioeconomic status. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 41, p. 115-25. 1987.
- SCARDOVI, V. Genus *Bifidobacterium*. In: SNEATH, P.H.A.; MAIR, N.S.; SHARPE, M.E.; HOLT, J.G. (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9th ed. v. 2, p. 1418-34. 1986.
- SLUSSER, W.; POWERS, N.G. Breastfeeding Update 1: Immunology, Nutrition, and Advocacy. *Pediatrics in Review*, v.18, n.4, 111-119. 1997.
- SONG, W.O.; CHAN, G.M.; WYSE, B.W.; HANSEN, R.G. Effect of pantothenic acid status on the content of the vitamin in human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 40, p. 317-24. 1984.
- STYSLINGER, L.; KIRKSEY, A. Effects of different levels of vitamin B₆ supplementation on vitamin B₆ concentrations in human milk and vitamin B₆ intakes of breastfed infants. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 41, p. 21-31. 1985.
- TANNOCK, G.W. *Microecologia dos lactobacilos e bifidobactérias que habitam o aparelho digestivo: conhecimentos básicos para o êxito na pesquisa sobre probióticos*. Vevey, Suíça: Nestlé Ltd., 1998. p.1-3. [Nestlé Nutrition Workshop Series].
- TANNOCK, G.W.; FULLER, R.; SMITH, S.L.; HALL, M.A. Plasmid profiling of members of the family *Enterobacteriaceae*, lactobacilli, and bifidobacteria to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J. Clin. Microbiol.* v. 28, n. 6. p. 1225-28. 1990.

- VALDÉS, V.; PÉREZ-SANCHES, A.; LABBOK, M. Manejo clínico da lactação. Assistência à nutriz e ao lactente. Rio de Janeiro: Revinter. 1996p. 29-90.
- VILLALPANDO, S.; SANTIAGO, S.; FLORES-HUERTA, S. Maternal nutritional status and milk volume. Is there a cause-effect relationship? *Archiv. Latin. Nutr.* v. 41. n. 3. p. 293-03. 1991.
- VIVERGE, D.; GRIMMONPREZ, L.; CASSANAS, G.; BARDET, L.; SOLERE, M. Discriminant carbohydrate components of human milk according to donor secretor types. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* v. 11, p. 365-70. 1990a.
- _____. Variations in oligosaccharides and lactose in human milk during the first week of lactation. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* v. 11, p. 361-64. 1990b.
- WEAVER, L.T.; ARTHUR, H.M.; BUNN, J.E.; THOMAS, J.E. Human milk IgA concentrations during the first year of lactation. *Arch. Dis. Child.* v. 78. p. 235-39. 1998.
- WOLIN, M.J.; ZHANG, Y.; BANK, S.; YERRY, S.; MILLER, T.L. NMR detection of $^{13}\text{CH}_3$ $^{13}\text{COOH}$ from 3- ^{13}C -glucose: a signature for *Bifidobacterium* fermentation in the intestinal tract. *J. Nutr.* v. 128, p. 91-96. 1998.
- WU, Z.C.; CHIJIANG, C.C.; LAU, B.H.; HWANG, B.; SUGAWARA, M.; IDOTA, T. Fat content and fatty acid composition of fresh, pasteurized, or sterilized human milk. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 501, p. 485-95. 2001.

Recebido para publicação em 25/03/03.

Aprovado em 30/06/03.

Anemia during pregnancy: influence of mild/moderate/severe anemia on pregnancy outcome

Anemia durante a gravidez: influência da anemia leve/moderada/grave no nascimento

ABSTRACT

PIZARRO, C.F.; DAVIDSSON, L. Anemia during pregnancy: influence of mild/moderate/severe anemia on pregnancy outcome. *Nutrition: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* = *J. Brazilian Soc. Food Nutr.*, São Paulo, SP, v.25, p. 153-180, jun., 2003.

Maternal mortality is a major health problem, especially in developing countries, where the risk of dying either during pregnancy or delivery is 50-100 times greater than in developed countries. The influence of anemia on pregnancy outcome, the subject of this review, has been largely discussed for many years. During pregnancy iron requirements are significantly increased due to the fetus, placenta, expansion of red blood cell mass and maternal blood loss during delivery. A woman needs to begin the pregnancy with adequate iron stores and should have a diet with sufficient iron to meet these requirements. Scientists are trying to find a causal relationship between mild, moderate and severe anemia and maternal mortality, preterm delivery and low birth weight. Most of them agree that the association between severe anemia and maternal mortality, low birth weight and preterm delivery is strong. What is not clear is the causal relationship between mild and moderate maternal anemia and poor pregnancy outcome. There are serious difficulties to establish this causal relationship. Many studies correlate hemoglobin concentration at the time of birth in very sick women that already enter hospital with a high risk of dying. These studies do not provide an adequate basis to define how anemia affects maternal survival. An ideal study design should involve a large group of non-treated anemic pregnant women, and they would be compared with pregnant women without anemia. However, this study design would not be ethical, since anemic women should be always treated. Another serious problem involving these studies is the assessment of iron status during pregnancy. Most indicators (hemoglobin concentration, hematocrit, serum iron, etc.) are affected by profound hemodynamic changes during pregnancy, making it difficult to have a definitive diagnosis. Transferrin receptor has shown to be the best indicator, not being affected by these hemodynamic changes. The WHO (World Health Organization) recommends a supplementation of 60 mg iron/day for all pregnant women but many scientists question these supplementation programs for many reasons: the relationship between mild and moderate anemia and poor pregnancy outcome is weak, there is no strong evidence of outcome benefits, no support of a plausible mechanism and high hemoglobin values are associated with adverse birth outcomes. Other risk factors for poor pregnancy outcomes are also discussed in this study: prevalence of malaria and helminth infection as well as other factors in the etiology of anemia, the need of improving antiseptic techniques and obstetric care intervention in hospitals of developing countries, the risk of obstructed labor in stunted and young women, giving birth for the first time.

Keywords: anemia; pregnancy

**CLARISSA FLÜELER
PIZARRO¹; LENA
DAVIDSSON²**

^{1,2}ETHZ Swiss Federal
Institute of Technology
Zurich

Corresponding author:
Ribistrasse, 35
8280 Kreuzlingen,
Switzerland
e-mail:
clarissaflueeler@hotmail.com

Acknowledgment:
To Carlos Alberto Santos
de Oliveira MD (São Paulo,
SP, Brazil) for his
collaboration in subjects
related to the medical area.

Work of the post-
graduation in Human
Nutrition of the Swiss
Federal Institute of
Technology Zurich

RESUMEN

La mortalidad materna es un problema prioritario de salud pública, principalmente en los países en desarrollo en los cuales el riesgo de vida materno, tanto durante el embarazo como en el parto, es 50 a 100 veces mayor que en los países desarrollados. La necesidad de hierro durante el embarazo aumenta significativamente por el crecimiento del feto y la placenta que provocan expansión de la masa de glóbulos rojos y la pérdida de sangre durante el parto. Para satisfacer estas demandas una mujer debe comenzar el embarazo con reservas suficientes de hierro y mantener durante todo el proceso una alimentación rica en hierro biodisponible. Los estudios científicos han tratado de establecer una relación de causa y efecto entre anemias leve, moderada y severa y mortalidad materna, parto prematuro y bajo peso al nacer. La relación es clara entre anemia severa y mortalidad materna, bajo peso al nacer y parto prematuro. La que no es clara es la relación entre anemia leve y moderada y los problemas mencionados. El establecimiento de esta relación ha sido complicado. Muchos estudios correlacionan la concentración de hemoglobina en el momento del parto, de mujeres que ingresan en los hospitales con alto riesgo de vida y no son un modelo apropiado para estudiar la relación anemia - sobre vivencia materna. Razones éticas impiden acompañar el embarazo de mujeres anémicas, porque tendrían que ser tratadas. Otro problema de estos estudios es que la evaluación de los niveles de hierro durante el embarazo (sea concentración de hemoglobina, hematocrito, hierro sérico, etc.) es dificultada por las profundas transformaciones hemodinámicas que ocurren en este periodo y dificulta un diagnóstico. El receptor de transferrina ha mostrado ser un buen indicador que no es afectado por esas transformaciones. La organización mundial de la salud (OMS) recomienda una complementación diaria de 60mg de hierro para todas las embarazadas, pero eso es contestado por la escasa correlación entre anemia leve y moderada y los problemas durante el parto, la falta de evidencias para los beneficios, ausencia de un mecanismo comprobatorio y las complicaciones del parto en mujeres con concentraciones elevadas de hemoglobina. Son discutidos otros factores de riesgo durante el parto: presencia de malaria, infecciones helmínticas, otros factores en la etiología de la anemia y la necesidad de mejoría de las técnicas antisépticas y los servicios de obstetricia en los países en desarrollo. Y también, el riesgo del parto en mujeres de constitución pequeña y de primíparas jóvenes.

Palabras clave: embarazo; anemia

RESUMO

A mortalidade materna é um dos principais problemas de saúde pública, principalmente em países em desenvolvimento, onde o risco de vida da mãe, seja na gravidez ou durante o parto, é 50-100 vezes maior do que nos países desenvolvidos. A influência da anemia sobre o resultado da gravidez, tema desta revisão, tem sido amplamente discutida há muitos anos. A demanda por ferro durante a gravidez aumenta significativamente em função do feto e da placenta, da expansão da massa de glóbulos vermelhos e da perda de sangue durante o parto. Uma mulher deve iniciar a gravidez com suficientes reservas de ferro e manter uma alimentação rica em ferro biodisponível para suprir a demanda. Os cientistas têm tentado estabelecer uma relação causal entre anemia leve, moderada e severa e mortalidade materna, parto prematuro e baixo peso neonatal. A maioria concorda que a relação entre anemia severa e mortalidade materna, baixo peso neonatal e parto prematuro é bastante forte. O que não está claro é a relação causal entre anemias leve/ moderada e uma resolução insatisfatória da gravidez. Existem sérios problemas para o estabelecimento desta relação. Muitos estudos correlacionam a concentração de hemoglobina, no momento do nascimento, em mulheres muito doentes que já entram no hospital com alto risco de vida. Esses estudos não fornecem uma base adequada para se definir como a anemia afeta a sobrevivência materna. Um estudo ideal deveria envolver um grupo grande de grávidas anêmicas que não seriam tratadas e estas mulheres deveriam ser comparadas com grávidas sem anemia. Entretanto, esse modelo de estudo não seria ético, uma vez que grávidas anêmicas sempre devem ser tratadas. Outro problema envolvendo estes estudos é a avaliação dos níveis de ferro durante a gravidez. Muitos indicadores (concentração de hemoglobina, hematócrito, ferro sérico, etc.) são afetados pelas profundas transformações hemodinâmicas durante a gravidez, tornando difícil a realização de um diagnóstico definitivo. O receptor para transferrina tem demonstrado ser o melhor indicador, não sendo afetado pelas transformações hemodinâmicas. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda suplementação diária de 60mg ferro/dia para todas as grávidas. Entretanto, muitos cientistas questionam esses programas por várias razões: a relação entre anemia leve e moderada e problemas no nascimento é fraca, não existem fortes evidências de benefícios no nascimento, não há o suporte de um mecanismo aceitável e valores altos de concentração de hemoglobina estão associados com complicações no parto. Outros fatores de risco que acarretam problemas relacionados ao parto também serão discutidos: prevalência de malária e infecções helmínticas bem como outros fatores na etiologia da anemia, a necessidade de melhorar técnicas anti-sépticas e o serviço obstétrico intervencionista nos hospitais de países em desenvolvimento, o risco de parto obstruído em mulheres de constituição pequena e jovens dando à luz pela primeira vez.

Palavras-chave: anemia; gravidez

INTRODUCTION

Maternal mortality continues to be a major health problem in the developing world. Nearly 600,000 women die each year as a result of complications of pregnancy and childbirth; most of these deaths could be prevented with attainable resources and skills (WHO, 1996). The worldwide maternal mortality ratio is estimated to be 390/100 000 live births, 30/100 000 in the developed world and 450/100 000 in the developing countries. Within the developing world, regional rates are as high as 660-700/100 000 live births in east, middle and West Africa, and 650/100 000 live births in South Asia. Even at these high levels, the reported rates for the developing world are probably underestimated because so many deaths are unattended and unregistered (RUSH, 2000).

In the developing world, causes of maternal death like hemorrhage, eclampsia, and infection are those that prevailed in Europe and in the United States more than 2 centuries ago. The decline in maternal mortality ratio is largely due to the introduction of antiseptic techniques and emergency obstetric care into hospitals (RUSH, 2000). The need for intensive and widespread improvements in obstetric services in the developing world is clear. What remains unclear is the extent to which improving the nutritional status of women, from early in life through the reproductive years, is important or even essential as an adjunct to improved health services (RUSH, 2000). BRABIN et al. (2001) in their analysis of anemia and pregnancy-related maternal mortality cited the "Safe Motherhood Initiative", established in 45 countries in 1987. A key component of "Safe Motherhood Initiative" is the eradication of anemia during pregnancy (BRABIN et al., 2001).

Anemia is a disorder characterized by blood hemoglobin concentration lower than the defined normal cut-off level. This may result from decreased generation of red blood cells, or from their premature destruction, or from loss related to chronic blood loss or hemorrhage (WHO, 1992). The WHO hemoglobin cut-off value commonly used to define anemia ranges from 110g/L for pregnant women and for children 6 months-5 years of age, to 120g/L for nonpregnant women, to 130g/L for men (DAVIDSSON and NESTEL, 2002). Mild anemia is often defined as a hemoglobin value below 10g/L of the anemia cut-off value. The World Health Organization recommends that severe anemia during pregnancy be defined as a hemoglobin concentration < 70g/L. Hemoglobin concentrations below that of the mild anemia concentration and > 70g/L can be regarded as indicating moderate anemia. Some investigators have defined very severe anemia as hemoglobin concentration <50g/L (YIP, 2000).

Anemia can be due to different causes: *iron deficiency*, folate and vitamin B-12 deficiency (Nutritional anemias); intestinal bleeding caused by hookworm or other parasites; vaginal bleeding; malaria, particularly in primigravid or young women; hemoglobinopathies such as sickle cell disease and thalassemia; and concurrent infections (RUSH, 2000). Iron deficiency is a major cause of anemia and the leading single-nutrient deficiency in the world (BEARD, 2000).

Several studies have shown a relation between maternal hemoglobin concentrations and birth weight. This review discusses the existing data about the relation between anemia, iron deficiency and iron deficiency anemia on maternal mortality and low birth weight in the developing world. It also examines the efficacy of iron supplementation during pregnancy in relation to pregnancy outcome (maternal health and low birth weight infants).

Other risk factors for maternal health such as: body height, weight, age, use of emergency obstetric care, antiseptic techniques in hospital obstetric practice, etc., are also discussed, as well as other important factors in the etiology of anemia during pregnancy, in addition to iron deficiency (particularly malaria and intestinal bleeding caused by hookworm or other parasites). Severe anemia shall be discussed in relation to public health problems, such as malaria.

IRON AND ANEMIA

As already mentioned, iron deficiency is a major cause of anemia in the world.

This chapter describes iron metabolism and physiological changes during pregnancy.

It shows how iron deficiency anemia can be detected and indicates methodological problems related to its diagnosis.

IRON METABOLISM

Iron is a component of proteins required for crucial cellular processes. Iron-containing proteins have essential roles in oxygen transport (hemoglobin), ATP production, DNA synthesis and other physiological processes.

The main metabolic iron pathways are described as follows:

Absorption: the amount of iron absorbed by the body depends not only on the amount ingested, but also on its bioavailability and iron status of the consumer.

Iron absorption is higher from iron in foods of animal origin (heme iron) than in vegetable foods (non heme or inorganic iron). Most heme is ingested in the form of hemoglobin or myoglobin and absorbed directly by mucosal cells after removal of globin by proteolytic duodenal enzymes, or the protein portion may be removed within the mucosal epithelium.

Nonheme iron is solubilized and ionized by the acid gastric juice, reduced to the ferrous form (Fe II - more readily soluble than Fe III at the alkaline pH of intestinal fluid) and chelated.

Fe II traverses the mucous layer more readily to reach the brush border of intestinal epithelial cells. Before it enters the epithelial cell, Fe II must be oxidized to Fe III.

Most of the iron that is absorbed from the intestinal lumen passes rapidly through the mucosal cells. As the iron enters plasma, it is oxidized to Fe III by ceruloplasmin,

which functions as a ferroxidase. The absorption of nonheme iron is enhanced in the presence of vitamin C and inhibited in the presence of phytic acid (present in cereals, seeds, nuts, vegetables and fruits), polyphenol (tea, coffee), because they form insoluble complexes with nonheme iron (FAIRBANKS, 1994).

Transport: absorbed iron is taken up and transported by a protein called transferrin. Transferrin distributes iron throughout the body to wherever it is needed, mostly to erythrocyte precursors in the bone marrow to be used for hemoglobin synthesis.

The normal concentration of transferrin in plasma is 22-35 μ mol/L. Because iron is the natural ligand of transferrin, the plasma concentration of transferrin may be measured by the amount of iron that it will bind. This determination is called the total iron binding capacity (TIBC) (FAIRBANKS, 1994).

The amount of iron bound to transferrin is measured as the serum iron concentration. The serum iron concentration ranges from 12 to 31 μ mol/L in males and from 11 to 29 μ mol/L in women. Transferrin saturation (Tsat) is calculated as $100 \times \text{serum iron concentration} / \text{TIBC}$ (FAIRBANKS, 1994).

In iron deficiency, serum iron concentration usually is lowered, TIBC is increased and Tsat is less than 16% (FAIRBANKS, 1994).

When transferrin is 100% saturated, iron that is absorbed by the intestinal mucosa cannot be bound by transferrin: most of this excess iron is deposited in hepatocytes of the liver, the first organ through which flows the blood containing absorbed nutrients including iron (FAIRBANKS, 1994).

Uptake by cells: cell membranes contain a receptor called transferrin receptor. On the cell membrane, diferric transferrin binds to transferrin receptors and then the iron transferrin - transferrin receptor complex - is internalized by endocytosis (FAIRBANKS, 1994).

Reutilization: the avid manner in which the body conserves and reutilizes iron is an important characteristic of iron metabolism. Hemoglobin iron is repeatedly recycled by phagocytosis of old erythrocytes (FAIRBANKS, 1994).

Iron regulatory mechanisms: the uptake and metabolic fate of iron can be influenced by various parameters including alterations in iron availability, the level of specific hormones, growth factors and cytokines, as well as the state of cell proliferation and differentiation. Major processes responsible for modulating mammalian iron homeostasis are intestinal absorption, inter-organ transport and uptake, and cellular utilization (FAIRBANKS, 1994).

Storage: iron in excess of need is stored as ferritin and hemosiderin in the liver, spleen and bone marrow. The protein ferritin is the basic storage of iron molecule. Normal iron stores are estimated to be 300 to 1000mg for adult women and 500 to 1500mg for adult men (FAIRBANKS, 1994).

In humans, the total quantity of body iron varies according to weight, hemoglobin concentration, sex and size of the storage compartment (FAIRBANKS, 1994).

Iron balance is the difference between iron retention and iron requirements. The retention of iron is the product of iron intake and the bioavailability of dietary, supplemental or contamination iron. The excess accumulated beyond that necessary for daily requirement is stored as ferritin and hemosiderin. As already mentioned, this stored iron can be made available for cellular need whenever dietary intake falls below the needs. When negative iron balance persists for a prolonged period of time, iron stores are depleted and iron supply to the essential iron pools of the body is diminished. Then, functional consequences result from insufficient iron-dependent functioning for oxygen transport, oxidative metabolism, nuclear metabolism and gene transcription. Clinical sequelae to poor iron status include iron deficiency anemia, poor immune function and decreased work performance (TAPIERO et al., 2001).

IRON DEFICIENCY AND IRON DEFICIENCY ANEMIA

Iron deficiency can be caused by insufficient dietary intake of iron and/or low bioavailability, blood loss (WHO, 1992).

Development of iron deficiency and iron deficiency anemia is summarized as follows:

1. Depleted iron stores: decreased tissue iron, decreased bone marrow iron, decreased serum ferritin level ($<12\mu\text{g/L}$), increased transferrin level;
2. Decrease in iron for erythropoiesis: decreased mean corpuscular volume, decreased mean corpuscular hemoglobin, decreased transferrin saturation, increased free erythrocyte protoporphyrin;

The first and second stages describe the development of iron deficiency.

3. Development of iron deficiency anemia: iron supply is inadequate for hemoglobin synthesis, resulting in hemoglobin concentrations below the established cut-off levels.
4. Decrease in peripheral tissue oxygen delivery: clinical signs, clinical symptoms, for example fatigue, shortness of breath, reduced physical work capacity (BAKER, 2000); (DAVIDSSON and NESTEL, 2002). However, these clinical symptoms do not constitute a clear measurement of iron deficiency, because they can be due to causes other than iron deficiency.

CHANGES IN ABSORPTION AND IRON DEMANDS DURING PREGNANCY

The Recommended Dietary Allowance (NRC, 1989) for iron is 10mg for an adult man (25-50 years) and 15mg for an adult woman. The RDA for a pregnant woman is 30mg.

a) Changes in absorption

Major changes in iron metabolism during pregnancy include the cessation of menses, expansion of the red blood cell mass by about 20%¹ and deposition of substantial amounts of iron in the fetus and placenta (ALLEN, 1997)

Transfer of iron from mother to fetus is supported by a substantial increase in maternal iron absorption during pregnancy and is regulated by the placenta. Serum ferritin usually falls markedly between 12 and 25 wk of gestation, probably as a result of iron utilization for expansion of the maternal red blood cell mass. Most iron transfer to the fetus occurs after week 30 of gestation, which corresponds to the time of peak efficiency of maternal iron absorption (ALLEN, 2000).

BOTHWELL (2000) cited studies with radioactive and stable isotope of iron that have provided insights into the changes that occur in iron absorption during pregnancy. The studies can be divided into those in which the absorption of nonheme iron from different mixed diets was measured and those in which the absorption of various doses of inorganic supplemental iron was measured (BOTHWELL, 2000).

In one of these studies, the median iron absorbed from a mixed meal is described in Table 1 (SVANBERG, 1975).

Table 1 Percentage of iron absorbed from mixed meals

Time during pregnancy	% Iron absorbed
1-12 wk	0.7
24 wk	4.5
36 wk	13.5
8-10 wk after delivery	6.5

In another study, supplemental ferrous iron was administered. The absorption rates for a 5 and 100mg dose of supplemental iron during pregnancy are shown in Table 2. Increasing the dose of supplemental ferrous iron to 100mg lowered the absorption rate (SVANBERG et al., 1976).

¹Other scientists would suggest that the red blood cell mass expands about 50% (YIP, 2000). It is not well defined, because of the difficulties to measure it.

Table 2 Percentage of iron absorbed from a 5 and 100mg dose supplement

Time during pregnancy	% Supplemental iron absorbed (5mg dose)	% Supplemental iron absorbed (100mg dose)
12 wk	7.2	6.5
24 wk	21.1	9.2
36 wk	36.3	14.3
8-12 wk after delivery	26.3	11.1

The main conclusions from these studies are that iron absorption decreases during the first trimester of pregnancy, probably because menstruation stops. The only iron losses that must be met during this period are the obligatory ones for the body via the gut, skin, and urine, which amount to $\approx 0.8\text{mg/d}$ (BOTHWELL, 2000). During the second trimester iron absorption rises and continues to increase throughout the remainder of pregnancy. Iron absorption remains elevated during the first months after delivery, which allows for some reconstitution of body iron stores (BOTHWELL, 2000).

b) Iron demands during pregnancy

As already mentioned, fractional iron absorption is determined by bioavailability from the diet, the requirements and the size of body iron stores (TAPIERO et al., 2001). Iron must be mobilized from the body stores or absorbed from the diet by the end of pregnancy to meet both the requirements of the mother for the expansion of her circulating red cell mass and the demands of the developing fetus (Table 3) (TAPIERO et al., 2001).

If a woman's diet is deficient in iron, fetal requirements can be met only by additional contributions of iron from maternal stores. This demand of the developing fetus may cause the mother to develop iron deficiency anemia if she had inadequate iron stores at the beginning of pregnancy.

Diets of many women in developing countries do not contain sufficient bioavailable iron to meet the needs during the second and third trimesters of pregnancy and many women already enter pregnancy with depleted iron stores (TAPIERO et al., 2001); (STEER, 2000).

Table 3 Iron requirements in pregnancy (from BOTHWELL, 2000)

	Amount (mg)
<i>Total cost of pregnancy</i>	
Fetus	270
Placenta	90
Expansion of red blood cell mass	450
Obligatory basal losses	230
Sum	1040
Maternal blood loss at delivery	150
Total cost	1190
<i>Net cost of pregnancy</i>	
Contraction of maternal red blood cell mass	-450
Absence of menstruation during pregnancy	-160
Subtotal	-610
Net cost	580

ASSESSMENT OF IRON STATUS IN PREGNANCY

The biochemical indicators of iron status used for detection of iron deficiency and iron deficiency anemia include hemoglobin, hematocrit, serum iron, transferrin saturation, serum ferritin and transferrin receptor (BAKER, 2000). It is difficult to make a definitive diagnosis of iron deficiency in pregnancy because the profound hemodynamic changes associated with pregnancy affect most of these biochemical indicators (BOTHWELL, 2000).

During the first and second trimesters of pregnancy, hemoglobin and hematocrit decrease as the maternal blood volume expands (BAKER, 2000). Plasma volume increases more than does red blood cell mass, which produces a declining hemoglobin concentration during the first half of pregnancy. This is known as the physiologic anemia of pregnancy (YIP, 2000).

Serum iron is low because of placental transfer and transferrin increases, with a rise in total iron-binding capacity during pregnancy to ^a50% above normal. As a result, there is a drop in transferrin saturation (ALLEN, 1997); (BOTHWELL, 2000).

Ferritin concentrations (detecting depleted and subsequently exhausted iron stores) decrease substantially during the second and third trimester owing to hemodilution and increased iron utilization (ALLEN, 1997).

Another factor that confounds ferritin concentration is the presence of infection or inflammation. During infection, serum ferritin concentrations are elevated, reflecting the

increased rate of ferritin synthesis in the reticulo-endotelial system and its response as an acute phase reactant protein. These effects make it difficult to detect iron deficiency and to distinguish anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. Consequently the use of serum ferritin may underestimate the prevalence of iron deficiency in the presence of infection and/or inflammation.

A study by SCHOLL (1998) showed the correlation between high third trimester ferritin concentration caused by infection with preterm delivery (<37 weeks of gestation). A total of 1162 pregnant were followed prospectively from entry in prenatal care in Camden, New Jersey, between 1985 and 1995. Anemia accompanied by low serum ferritin concentration (less than 12mg/L) was considered iron deficiency anemia. The results showed that high concentrations of serum ferritin at week 28, but not at entry into prenatal care, increased risk of preterm delivery, concluding that high serum ferritin concentration in the third trimester is associated with preterm delivery and markers of maternal infection (SCHOLL, 1998).

In contrast, the concentrations of circulating transferrin receptor have been found to be normal in pregnancy, obviously only being raised if iron deficiency is present (or when there is a greater need for hematopoiesis) (BOTHWELL, 2000). Therefore, transferrin receptor measures should be especially useful in countries where the prevalence of infection is high and the use of serum ferritin data is often confounded by the coexistence with iron deficiency anemia. However, few studies have used serum transferrin receptor to investigate the prevalence of iron deficiency in communities with significant levels of infection and hemoglobin, hematocrit and ferritin remain the most used test in all areas of the world, because of their low cost and ease measurement (HUDDLE et al., 1999).

A combination of transferrin receptor, serum ferritin (especially in areas with low levels of infection) and hemoglobin concentrations may prove to be the best indicator of iron status in pregnancy (ALLEN, 1997).

RELATIONSHIP BETWEEN IRON DEFICIENCY OR IRON DEFICIENCY ANEMIA ON MATERNAL MORTALITY AND LOW BIRTH WEIGHT IN THE DEVELOPING WORLD

The literature on anemia during pregnancy is extensive, but the available data on the association between anemia, low birth weight and maternal survival are limited. There are also methodological problems in such studies that will be discussed in this chapter.

Evidence is strong that severe anemia during pregnancy is associated with increased maternal mortality, preterm delivery and low birth weight. Evidence in a relation to mild-moderate anemia is limited. Epidemiological studies have found an association between high maternal hemoglobin and an increased risk of poor pregnancy outcome and low birth weight. Thus, a U-shaped pattern is observed for the association between maternal hemoglobin concentration and low birth weight, duration of gestation as well as maternal

mortality, i.e., prevalence of poor pregnancy outcome or low birth weight infants rises when maternal hemoglobin values are either at the low or high end of the range.

Figure 1 shows an example of a U-shaped curve, from a study by ZHOU et al. (1998) in Shanghai, China, relating hemoglobin values measured at different times in pregnancy to percentage of preterm birth.

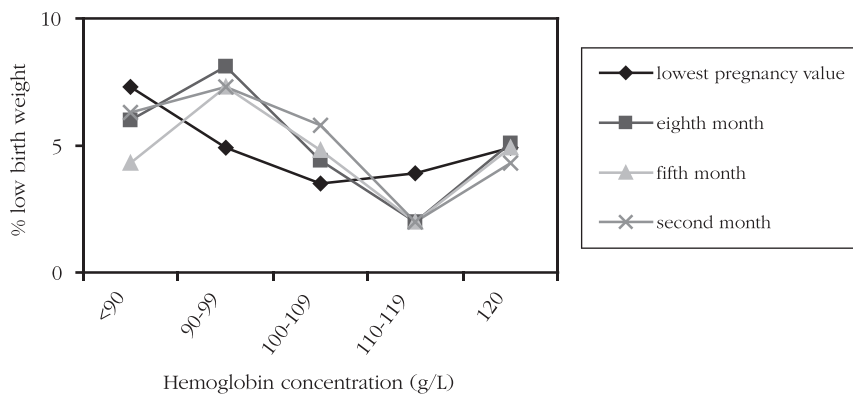


Figure 1 Rates of preterm birth by hemoglobin strata based on measurements in the second, fifth or eighth month of pregnancy or the lowest pregnancy hemoglobin in Shanghai, China (1991-1992)

METHODOLOGICAL PROBLEMS RELATING ANEMIA TO MATERNAL MORTALITY AND LOW BIRTH WEIGHT

Ideally, to determine a causal relation between mild/moderate/severe anemia and low birth weight and maternal mortality during pregnancy, a study would have to be conducted between groups of pregnant women with and without anemia. These two groups would be followed and percentage anemia would be measured before pregnancy, early in pregnancy (1st trimester), during 2nd and 3rd trimester and at delivery. Anemia would be classified into 3 groups: mild, moderate and severe anemia. The incidence of low birth weight babies and maternal mortality would be compared with the percentage of mild/moderate/severe anemia in each period to verify when, during pregnancy, anemia is considered a risk factor and whether there is a causal relation or not. However, this study design is not possible, as it is unethical not to treat anemic pregnant women.

Most studies have correlated hemoglobin concentration only at the time of delivery, in moribund women entering hospital with subsequent death, which does not provide an adequate basis on which to determine how anemia affects maternal survival. Women who arrive at the hospital at time of birth are often very sick and do so after an arduous

and unsettling journey. They are at high risk of dying. It is difficult to justify comparing survivors with those who die among women who end up in the hospital and then imputing the results to the larger population from which they were drawn (RUSH, 2000).

Furthermore, no available studies have taken into account the effect of anemia prophylaxis or treatment, other than transfusion in the treatment of very severe anemia (hemoglobin <50g/L) on the risk of dying (RUSH, 2000). Another problem pointed out by BEATON (2000) and RASMUSSEN (2001) is related to anemia during pregnancy defined as hemoglobin concentration (<110g/L by current WHO criteria). Because of hematological changes during pregnancy it is very difficult to define a cut-off value during this period.

In the review by Rasmussen, she cited 3 large studies that showed a U-shaped curve between maternal anemia and birth weight: the National Collaborative Perinatal Project from the United States (GARN et al., 1981), the Cardiff Births Survey from the United Kingdom (MURPHY et al., 1986) and data from the North West Thames region in the United Kingdom (STEER et al., 1995). In the first study, low birth weight rate was minimal at maternal hemoglobin values of 105-125g/L in Caucasian women. In the second, low birth weight was minimal when maternal hemoglobin value at booking was 104-132g/L. In the data from the United Kingdom, low birth weight rates were lowest at maternal hemoglobin values of 96-105g/L. Some of the hemoglobin values related to optimal birth outcomes are below the WHO cut-off value, especially in the recent study from STEER (1995); RASMUSSEN (2001). BEATON (2000) also criticised the current cut-off value suggesting that it may be too high considering the hematological changes and the increase in iron absorption during pregnancy (BEATON, 2000).

ANEMIA, MATERNAL MORTALITY AND LOW BIRTH WEIGHT

In his review, RUSH (2000) cited studies by LLEWELYN-JONES (1965), HARRISON (1982), HARRISON and ROSSITER (1985), THONNEAU et al. (1992), ZUCKER et al. (1994), DIALLO et al. (1995), SARIN (1995), McDERMOTT (1996), that tried to establish a relationship between mild, moderate and severe anemia and maternal mortality. He pointed out many problems in these studies, for example, in some of them, anemia was not defined, hemoglobin concentrations were not given and it was not always clear if it was measured before term.

On the basis of the fragmentary evidence available, he concluded that the risk of maternal mortality is greatly increased with severe anemia. Immediate action should be taken to correct severe anemia during pregnancy. He also pointed out the lack of evidence of an association between maternal death and mild-moderate anemia. Until further data is available, many scientists agree that the association between severe anemia and poor pregnancy outcome is strong and that mild-moderate anemia is considered unrelated to maternal mortality.

HIGH HEMOGLOBIN CONCENTRATION, POOR PREGNANCY OUTCOMES AND LOW BIRTH WEIGHT

As already cited in the beginning of this chapter, epidemiological studies have found an association between high maternal hemoglobin concentrations and an increased risk of poor pregnancy outcomes. Elevated hemoglobin concentration is usually the result of increased red blood cell production as a compensatory mechanism when blood oxygen carrying capacity is compromised to meet the demand of tissue (with a net increase in red cell mass).

Throughout pregnancy, blood volume expands by an average of 20-50% compared with the nonpregnant state. The most notable consequence is increased blood viscosity. The relation between hemoglobin and blood viscosity is linear when the hematocrit is < 50 (equivalent to a hemoglobin value of 160g/L). Above this hemoglobin concentration, the relation becomes exponential – a small increase in hemoglobin or hematocrit results in a large increase in viscosity. Once hemoglobin concentrations reach $\geq 180\text{g/L}$, the blood viscosity reaches a level that impairs microcirculation and an inadequate amount of oxygen is transported to tissues, similarly to the situation with severe anemia (YIP, 2000). This is often manifested as peripheral cyanosis and impaired mental function resulting from compromised cerebral blood circulation. Additionally, because of the poor blood flow, the risk of thromboembolism increases substantially. Long-term survival with hemoglobin > 200g/L is not possible (YIP, 2000).

Evidence does not suggest that the association between high hemoglobin concentration and perinatal morbidity and mortality is causal. The most plausible explanation is that both conditions are often the result of hypertensive disorders of pregnancy or preeclampsia (a syndrome of hypertension, proteinuria and multi organ dysfunction, which complicates $\approx 2\%$ of all pregnancies). Reductions of normal plasma expansion can also increase hemoglobin concentration and cause fetal stress (interfering negatively with adequate fetal growth) due to the reduction in placental-fetal perfusion. This is attested by several studies that showed an increased incidence of low birth weight (<2,5kg) in association with either a high maternal hemoglobin concentration (>120g/L) or high hematocrit (STEER, 2000).

Another known condition that elevate maternal hemoglobin concentration and cause low birth weight is smoking during pregnancy (YIP, 2000). Accordingly, hemoglobin concentrations higher than normal (>120g/L) should be regarded as an indicator of possible pregnancy complications.

BIOLOGICAL MECHANISMS THAT MIGHT UNDERLIE IRON'S EFFECTS ON FETAL GROWTH AND PRETERM BIRTH

As already mentioned, a negative association between anemia and the duration of gestation and low birth weight has been reported in many studies, although a causal link

remains to be proven. ALLEN (2001) published a review with the purpose of exploring the biological mechanisms through which anemia or iron deficiency might cause poor fetal growth and preterm delivery. The understanding of biological mechanisms that control the timing of delivery is relatively recent, with major advances occurring in the mid 1990s. Because of the lack of studies effects of iron deficiency on these factors and the complex and physiological factors that affect pregnancy outcome, the biological mechanisms proposed by Allen are hypothetical.

The postulated biological mechanisms for the effects of iron deficiency and anemia in preterm delivery and low birth weight are that anemia can cause hypoxia and iron deficiency increase serum norepinephrine (NE) concentrations, which can induce maternal and fetal stress, which is a stimulus for the synthesis of corticotrophin-releasing hormone (CRH). The process of delivery is regulated by CRH to a great extent. CRH is produced in maternal and fetal compartments of the placenta and, in most women, levels are low until the third trimester and from then on they rise rapidly. CRH stimulates the production of adrenocorticotrophic hormone (ACTH). Increasing concentrations of these 2 hormones stimulate the production of dehydroepiandrosterone that is converted into estrogen by the placenta. Increased estrogen concentration leads to physiological changes resulting in labor contractions: cells of the myometrium synthesize connexin molecules, which move to the cell membrane and connect cells electrically so that they will contract synchronously during labor; muscle cells in the uterus produce large numbers of oxytocin receptors, necessary for this hormone to cause contraction of the cells during labor.

As expected from the discussion above, elevated CRH concentrations (induced by anemia and iron deficiency) are a major risk factor for preterm labor, pregnancy-induced hypertension and eclampsia, and premature rupture of the membranes.

IRON SUPPLEMENTATION DURING PREGNANCY

Iron supplementation is recommended by WHO for all pregnant women to reduce the incidence of maternal anemia. WHO recommends supplementation of all pregnant women with 60mg ferrous iron daily, as soon as possible after gestation starts - no later than the 3rd month and continuing for the rest of pregnancy (WHO, 2001). Although this is believed to be desirable for both the health of the mother and the well being of the growing fetus, some scientists disagree. Intervention programs in developed countries have met some success, but often not in the developing world (BEARD, 2000). Risks associated with iron supplementation will be discussed in this chapter, as well as weekly supplementation programs and the potential impact of iron supplementation during adolescence on iron status in pregnancy.

INTERVENTION PROGRAMS

There is little doubt that iron supplementation improves maternal iron status. Iron supplements have been reported to increase hemoglobin, serum ferritin, mean cell volume,

serum iron, and transferrin saturation (ALLEN, 2000). Benefits of iron supplementation on maternal iron status during pregnancy become even more apparent postpartum. The benefits on postpartum maternal iron status may be especially important when inter-pregnancy intervals are short because the supplemented mother will enter a subsequent pregnancy with a better iron status. In addition, many women are anemic in the postpartum period because of blood loss during delivery. Although a similar benefit could be obtained if women were supplemented during lactation, pregnancy is a time when iron absorption is efficient and when there is usually more opportunity to provide, encourage, and monitor the use of supplements (ALLEN, 2000).

What seems to be clear for scientists is that the prevention of iron deficiency in pregnancy is desirable in order to prevent severe anemia because it is related to poor maternal outcomes.

However, for several reasons iron supplementation programs are still being discussed:

First, the association between mild-moderate anemia and adverse reproductive outcomes is weak and there is no support of a plausible biological mechanism, as already discussed in chapter 3. This leads to the question: why provide iron supplementation if there is no evidence of beneficial reproductive outcomes? (RUSH, 2000).

Second, in many developing countries, the main reason that makes common iron deficiency is a poor diet and a low intake of bioavailable iron. Additionally, the usual diet in poor areas often consists mainly of unprocessed grain products that are relatively high in phytate, which is a known inhibitor of iron absorption (BOTHWELL, 2000). Programmatically, several factors limit the effectiveness of iron supplement interventions, including problems related to costs and logistics that affect the supply of iron tablets, poor access to prenatal care, insufficient counseling on the need for and benefits of iron supplementation, and an unwillingness by pregnant women to take iron supplements. Available literature from several countries suggests that one of the most important reasons for the failure of supplementation programs is a lack of supplies, but noncompliance on the part of pregnant women can also be a significant factor (BOTHWELL, 2000).

Also infections, including malaria, hookworm, etc. often coexist with iron deficiency in developing countries and contribute to the failure of interventions programs. The more appropriate approach for the areas with endemic malaria is to provide malaria treatment or prophylaxis when iron supplementation is indicated and discontinue supplementation during the peak malaria transmission season (OPPENHEIMER, 2001).

IRON SUPPLEMENTATION PROGRAMS INCLUDING OTHER MICRONUTRIENTS

A poor quality diet is limited in not only iron but also other micronutrients, including vitamin A, zinc, calcium, riboflavin, and vitamin B-12. Some of these micronutrient deficiencies are also important in the etiology of anemia. Therefore, supplementation

with iron alone may not be effective in correcting nutritional anemia and may address only part of the problem concerning nutritional deficiencies (YIP, 2000). Consequently, where multiple micronutrient deficiencies are common, supplementation beyond iron should be considered. Combining other micronutrients with iron supplements would increase the effectiveness of programs because the same amount of effort would be exerted to provide not only iron, but other micronutrients as well (YIP, 2000).

KULIER et al. (1998) cited a randomized controlled trial of vitamin A and iron supplementation (combined or alone) in pregnant women with nutritional anemia (hemoglobin between 80 and 110g/L) in West Java, Indonesia. All groups showed a statistically significant decrease in the number of women with anemia, which was most prominent in the combined supplementation group (SUHARNO et al., 1993). ZAVALETA et al., (2000) studied the effect of iron supplementation on hematological changes during pregnancy and the effect on the changes of adding zinc to the supplements of pregnant Peruvian women. Because of the known competition between iron and zinc, they examined whether adding zinc to the supplements affected iron status indicators in the mothers and the newborns. Women were supplemented with iron and folate with or without zinc. Results showed that zinc did not significantly affect the hematological changes in either the mothers or the newborns. Inclusion of zinc did, however, improve zinc status of both the mothers and infants.

RISKS ASSOCIATED WITH IRON SUPPLEMENTATION

An indirect risk associated with iron supplementation is accidental iron poisoning of young children through ingestion of iron tablets intended for maternal supplementation. Acute iron poisoning is one of the most common fatal accidental childhood poisonings in some countries (YIP, 2000).

The WHO recommends a dose of 60mg ferrous iron daily for all pregnant women. BEATON (2000) suggests that the current approach of estimated iron requirements for pregnant women may seriously overestimate iron needs and discourages food-based programs because iron deficiency anemia in pregnancy is defined by values of iron status indexes and concentrations that can only be achieved with supplementation. He believes that iron supplementation interventions are driven by the myth and assumption that "bigger is better". Beaton referred to studies by HEINRICH et al. (1968), HAHN et al. (1951) which showed that the increased capacity to absorb iron during pregnancy in parallel with the demand for iron and that at maximum potential hemoglobin concentrations (reflecting maximal absolute absorption) the expected efficiency of iron absorption is low. Thus, a high target iron utilization or high target hemoglobin concentration could be expected to increase dietary iron needs disproportionately (BEATON, 2000).

BEARD (2000) pointed out that higher iron doses are frequently associated with side effects, including gastrointestinal upset, constipation, and nausea. Slow-release iron

preparations and other gastric delivery systems could be an alternative, providing substantial relief from these side effects while still providing the desired therapeutic amounts of iron. Beard also suggests that higher doses of iron often do not provide any greater benefit for the pregnant woman to correct anemia and there is no advantage of iron doses >60mg/d and perhaps no advantage of doses > 30mg/d (BEARD, 2000).

RUSH (2000) questions the benefit of routine iron supplementation in relation to the evidence of the harm caused by anemia effects on reproductive outcomes. Specifically, he notes that if a high hemoglobin value during pregnancy is associated with adverse birth outcomes, efforts to prevent anemia through iron supplementation can put some women at risk by increasing their hemoglobin to a higher range which is associated with poor pregnancy outcomes (RUSH, 2000).

Formation of free radicals, and subsequent oxidation damage resulting in cardiovascular disease, cancer and neurological disorders have been discussed as negative consequences of high iron intake (TAPIERO et al., 2001); (GRAVES and BARGER, 2001).

DAILY AND WEEKLY SUPPLEMENTATION

An alternative approach to daily supplementation therapy, be it for pregnant women or other individuals, is to give iron intermittently once or twice a week. The approach is based on experimental evidence that iron absorption in rats is reduced in the days immediately after the initial administration of a large dose of iron but is resumed after \approx 3 d. It was therefore argued that iron administration weekly or twice a week/ would be both more rational and cost-effective with fewer side effects.

BEATON and McCABE (1999), who analyzed 14 completed trials data, have evaluated the relative efficacy of intermittent iron supplementation in different situations. The final prevalence of anemia was greater with intermittent weekly therapy in each of the 4 trials conducted during pregnancy and it was concluded that weekly iron administration, instead of daily, is not recommended for pregnancy regardless of the degree of supervision that can be arranged (BEATON and McCABE, 1999).

Weekly and daily supplementations were compared in a study conducted in Bangladesh (EKSTROM et al., 1999). The results showed that iron absorption was not improved in the weekly group and that daily iron supplementation was more effective because of the higher dosage of iron that it provided (BOTHWELL, 2000). A double blind, randomized clinical trial was conducted in Northern Pakistan to compare the efficacy of intermittent iron supplementation. Anemic pregnant women were assigned to receive daily (200mg ferrous sulfate) or twice weekly (2 X 200mg ferrous sulfate) iron supplementation. Serum ferritin concentrations increased significantly in the daily supplemented group and did not change in the twice-weekly group. Equally important, women in the daily supplementation group achieved hemoglobin concentrations

≥110g/L in a shorter time than women in the twice-weekly group. This is significant because time is a limiting factor in the attempts to normalize the hematological status of pregnant women (MUMTAZ et al., 2000).

POTENTIAL IMPACT OF IRON SUPPLEMENTATION DURING ADOLESCENCE ON IRON STATUS IN PREGNANCY

Iron deficiency and iron deficiency anemia is also prevalent among adolescent girls because the expansion of the blood volume associated with the adolescent growth spurt and onset of menstruation increase iron requirements. Women who conceive during or shortly after adolescence, which is the case in many developing countries, are likely to enter pregnancy with low iron stores or iron deficiency anemia (LYNCH, 2000). Iron supplementation during adolescence is one of the strategies advocated to improve iron balance in pregnancy. A reduction in the burden of anemia for adolescents entering pregnancy would be anticipated and supervised supplementation would be possible in school-based programs (LYNCH, 2000).

However, it is important to note that the benefit of iron supplementation in terms of iron stores accumulation is temporary. The percentage of absorption is high at the beginning of supplementation in an iron-deficient individual. More iron is absorbed than is needed to replace losses. The additional iron is used to correct any present anemia or functional tissue iron deficiency. Iron not needed by functional compartment enters the stores. As stores increase, absorption is down regulated. A new equilibrium is eventually established, and then the quantity of iron absorbed (derived both from the diet and the supplement) matches the requirement again. The percentage of absorption is much lower than it was before supplementation.

If the supplement is withdrawn, initially the percentage of iron absorption from the diet will be too low to maintain iron balance because the store regulator has been set for higher iron intake during supplementation period. First iron will be withdrawn from the store to make up the shortfall. The initial rate of loss from stores will equal the difference between the requirement and the rate of absorption at the time the supplement was withdrawn. As stores are used up, the rate of absorption will increase proportionately until it matches the requirements again. Therefore, the average consumption rate of storage iron will equal half the initial rate. The period of time between the removal of supplement and reestablishment of the pre-supplementation ready state is expected to be between 5 and 16 months (LYNCH, 2000).

Thus, iron supplementation during adolescence is criticized because the improvement in storage iron status in early pregnancy that can be achieved by supplementation is modest if more than a few months separate the end of the supplementation period from the time of conception.

OTHER RISK FACTORS FOR MATERNAL HEALTH

Other risk factors responsible for maternal health, such as the introduction of antiseptic techniques into hospital, emergency obstetric care, maternal age, parity and height and fetal size are discussed in this chapter.

ANTISEPTIC TECHNIQUES AND INTERVENTIVE OBSTETRIC CARE

One cause for the decline in maternal mortality in the developed world was the introduction of antiseptic techniques into hospital obstetric practice, two centuries ago. For example, in Swedish hospitals in 1880, it is estimated that maternal mortality ratios derived from sepsis declined from 2701/ 100 000 live births to 96/ 100 000 births in the subsequent fifteen years after the obligatory introduction of antisepsis, a decline of 96% (RUSH, 2000). Improvement in obstetric care also declined the number of deaths from hemorrhage and eclampsia. Obstructed labor, for example, has been virtually eliminated as a cause of maternal death in industrialized countries. With the development of safe and universally available operative delivery, cephalopelvic disproportion poses minimal risks to the mother and infant (RUSH, 2000).

The current rates of maternal mortality in many developing countries are similar to the ones in the developed world before the introduction of the practices cited above, showing clearly that there is urgent need of antiseptic techniques improvement and interventional obstetric care to decrease high maternal mortality rates. In addition, nutrition programs in developing countries will not achieve much benefit if they are not done concurrent with better availability and quality of health care (RUSH, 2000).

MATERNAL AGE, PARITY AND HEIGHT

Obstructed labor is strongly related to a woman's age, parity and body height. Very young women giving birth for the first time are at much higher risk of obstructed labor. Many studies have also related maternal height to obstructed or prolonged labor. Greater height appears to protect against trauma during delivery for the mother and her baby. For example, in Lagos, Nigeria, the rate of cesarean delivery was 7.7% in women with a maximum height of 1.54m and 1.6% among women 1.64m or taller (AKINGBA, 1971).

Height is clearly associated with nutrition. Many women in developing countries are stunted because they have no access to an adequate diet and are chronically undernourished.

MATERNAL HEIGHT, FETAL SIZE AND OPERATIVE DELIVERY

HARRISON (1990) reported the Zaria birth survey, which showed an association between operative delivery by both birth weight and maternal height in 4702 primigravidae

(Table 4). The association between operative delivery and maternal height was strong. Whatever the birth weight, 23-56% of women with heights < 1.5m, but no more than 16% of women with heights >1.65m required operative delivery. The association with birth weight was also strong. In every height stratum, the frequency of operative delivery was much higher. One half of the women with heights < 1.5m had operative delivery when birth weights were >2.5kg, and one-half of the women with heights between 1.5 and 1.54m had operative delivery if birth weights were >3.5kg.

Table 4 Operative delivery by birth weight and maternal height among 4702 primigravidae, Zaria birth survey

Maternal height (m)	Birth weight (kg)		
	≤ 2.5	2.5-3.5	> 3.5
		%	
≤ 1.5	23	46	56
1.5-1.54	17	25	52
1.54-1.59	12	15	27
1.59-1.64	7	11	23
≥ 1.65	15	8	16

This study clearly shows a much increased need for operative delivery associated with larger baby size. Supplementing pregnant mothers who are at risk of delivering low birth weight infants with foods of low or moderate protein density has generally been associated with increases in birth weight of 30-60g (RUSH, 2000). Potential benefits of such relatively small increments in birth weight must be pondered carefully over the increased risk of obstructed labor to both the mother and the child because in developing countries many women do not have access to obstetric intervention. Therefore, unless access to operative obstetrics is good, large babies are more likely to traumatize the mother and to be traumatized during delivery. Energy supplementation programs should be offered to women <1.5m tall only if there is access to adequate obstetric care (RUSH, 2000).

OTHER FACTORS IN THE ETIOLOGY OF ANEMIA

Besides genetic disorders, iron and other nutrient deficiencies, other causes of anemia are general infections and chronic diseases including HIV/AIDS, as well as malaria and helminth infections (such as hookworms). This chapter discusses specifically the importance of malaria and helminth infections in the etiology of anemia in endemic areas.

MALARIA AND HELMINTH INFECTIONS

Malaria, especially from the protozoan *Plasmodium falciparum*, causes anemia by rupturing red blood cells and by suppressing the production of new red blood cells. Malaria does not, however, cause iron deficiency, because much of the iron in hemoglobin released from ruptured cells stays in the body (DAVIDSSON and NESTEL, 2002). Helminthes such as hookworms and flukes such as schistosomes can cause blood loss and therefore iron loss. Adult hookworms attach themselves to the gut wall, where the mature larvae and adult worms ingest both the gut wall and blood. Hookworms change feeding sites every 4-6 hours and during feeding secrete anticoagulant, resulting in secondary blood loss from the damaged gut wall after the worms have stopped feeding. The number of adult hookworms and the fecal egg count, which is an indirect estimate of the number of worms, are strongly correlated with the amount of blood lost, which can result in iron deficiency anemia, if chronic (DAVIDSSON and NESTEL, 2002).

The nematode *Trichuris trichiura* can cause anemia when the worm burden is heavy. Heavy infections also cause inflammation and dysentery, which in turn can cause further blood loss (DAVIDSSON and NESTEL, 2002). The trematode *Schistosoma haematobium* can cause significant urinary blood loss in severe infection. The effect of this blood loss can be significant even in moderate infections if the person is young and already anemic (DAVIDSSON and NESTEL, 2002). With *Schistosoma mansoni*, emerging eggs rupture the intestinal lining, resulting in the leakage of blood and other fluids and nutrients into the lumen (DAVIDSSON and NESTEL, 2002).

MALARIA INTERVENTION TRIALS

Malaria is an important public health problem during pregnancy, particularly in primigravidae. The most serious effects are severe maternal anemia and low birth weight (MENENDEZ et al., 2000); (NDYOMUGYENYI and MAGNUSSEN, 2000). Malaria chemoprophylaxis has been the main strategy to reduce morbidity associated with malaria infection in pregnant women. However, the effect of this strategy has been questioned, due to increasing drug resistance, and failure to demonstrate benefit of chemoprophylaxis on birth weight and maternal hemoglobin levels.

NDYOMUGYENYI and MAGNUSSEN (2000) examined the effects of weekly chloroquine prophylaxis, daily iron-folic acid supplementation or passive case management on maternal hemoglobin and parasitemia and on birth weight in primigravidae in a randomized double-blind placebo controlled intervention trial in 1996-1998 in Hoima District, western Uganda. The results showed that iron and folic acid supplementation significantly increased mean birth weight and maternal hemoglobin levels at delivery compared to case management and the effect was similar to that of chloroquine prophylaxis (Tables 5 and 6). The effect of chloroquine prophylaxis on maternal hemoglobin levels and fetal outcome observed in the study indicates that chloroquine is still effective against

P. falciparum. However, frequent surveillance is needed where chloroquine is still effective, to determine changes to unacceptable levels of chloroquine resistance in order to introduce alternative groups of drugs (NDYOMUGYENYI and MAGNUSSEN, 2000).

Table 5 Maternal mean Hb levels at first antenatal visit and at delivery, and anemia status among 510 primigravidae in Hoima District, western Uganda

Maternal hemoglobin	Chloroquine group A (n = 168)	Case management group B (n = 168)	Iron-folic acid suppl. Group C (n = 1174)	P value
Hb in g/L, mean				
<i>At first visit</i>	102.0 ± 16	101.5 ± 15	101.6 ± 16	0.93
<i>At delivery</i>	109.6 ± 17	105.1 ± 15	109.7 ± 16	0.01
Mean Hb increment in g/L	7.6	3.6	8.1	0.02
<i>P value</i>	0.000025	0.03	0.000003	
Anemia status at delivery				
Hb <100g/L, number (%)	43 (25.6%)	64 (38.1%)	43 (24.7%)	0.02

Table 6 Mean birth weight of live singleton babies in relationship to maternal Hb and parasitemia at first visit to antenatal clinic in Hoima District, western Uganda

Hemoglobin and parasitemia status	Chloroquine group A	Case Management group B	Iron-folic acid suppl. group C	P value
Hb < 100g/L and aparasitemic	2.959 ± 0.43 (39)	2.846 ± 0.34 (22)	2.916 ± 0.36 (30)	0.51
Hb < 100g/L and parasitemic	3.006 ± 0.39 (39)	2.828 ± 0.55 (58)	3.037 ± 0.43 (53)	0.04
Hb ≥ 100g/L and aparasitemic	2.862 ± 0.34 (34)	2.941 ± 0.23 (34)	2.992 ± 0.37 (36)	0.36
Hb ≥ 100g/L and parasitemic	3.011 ± 0.32 (47)	2.875 ± 0.42 (44)	2.967 ± 0.26 (46)	0.15

In order to reduce malaria episodes in pregnant women, the Ghanaian Ministry of Health issued guidelines on the introduction of chloroquine prophylaxis in routine antenatal care. A study was performed by GEELHOED et al. (2001) at the district hospital of Berekum, in rural Ghana, to assess the effect of introducing prophylaxis during pregnancy on

prevalence of anemia at childbirth and perinatal outcome. Prevalence of anemia at childbirth decreased from 29.4% to 13.3%, concluding that routine chloroquine prophylaxis in pregnancy is useful in reducing anemia at childbirth in malaria-endemic regions (GEELHOED et al., 2001).

LUXEMBURGER et al. (2001) conducted a study in a Karen population living in Thailand, an area of low malaria transmission. A cohort of 1,495 mothers and their infants was followed weekly from the admission of the mother to antenatal clinics until the first birthday of the infant. Malaria increased neonatal mortality indirectly by reducing birth weight and was responsible for 20 percent of low birth weight in this community. ATUKORALA et al. (1994) found in an observational study in pregnant tea plantation workers in Sri Lanka that among women supplemented with iron and folate, only those who also received antihelminthic treatment had increased hemoglobin and serum ferritin concentrations.

All the studies cited above show that malaria is an important factor in the etiology of anemia in many pregnant women in developing countries and that iron treatment in a malarious area should be covered or preceded by effective antimalarial therapy. It doesn't mean that iron intervention shouldn't be done in these areas, but where most of anemia is not the result of iron deficiency, iron supplementation or the fortification of food with iron will be inadequate by themselves to prevent and control anemia (OPPENHEIMER 2001); (DAVIDSSON and NESTEL, 2002).

CONCLUSIONS

Maternal mortality is a major health problem in developing countries, especially in Africa and South Asia. The improvement in nutritional status of women from early life through reproductive years is an issue that has been discussed as an important contributor for the reduction of maternal mortality rates. Influence of anemia on pregnancy outcome is a very complex subject that has been discussed for many years and many questions still remain unanswered. During pregnancy iron requirements are enormously increased for the fetus, placenta, expansion of the red blood cell mass and maternal blood losses at delivery. A woman needs to enter pregnancy with adequate iron stores and her diet has to contain sufficient bioavailable iron to meet these high requirements.

In many developing countries the problem is that the diet is usually poor in bioavailable iron. In many cases women cannot afford a source of heme iron (meat), from which absorption is high. Their diet is usually based on cereals that contain iron inhibitors, such as phytic acid and they enter pregnancy already with depleted stores, increasing the risk of developing iron deficiency anemia at the end of pregnancy.

Most scientists agree that the relation between severe anemia and maternal mortality, preterm delivery and low birth weight is very strong and severe anemic women need urgent treatment. What remains unclear is a causal relation between mild-moderate

anemia and poor pregnancy outcome. There are several difficulties to establish this causal relation. Many studies (serving as the basis for the current iron recommendation) have measured hemoglobin concentration at the time of delivery in women that were very sick and at a high risk of dying and imputed the results to the large population. An ideal study is not possible to be done. It would involve large groups of pregnant women with and without anemia. Anemic women would be classified among mild, moderate and severe, they would not be treated and would be followed until the end of pregnancy. Anemia would be measured in each trimester, to verify a possible causal relation and when, during pregnancy, it would be considered a risk factor. This study design would be not ethical since anemic pregnant women should always be treated.

Another serious problem is the fact that anemia is defined as hemoglobin concentration. Because of the profound hemodynamic changes most of the biochemical indicators of iron status are affected during pregnancy and it is very difficult to make a definitive diagnosis. Some studies have shown minimal low birth rates at hemoglobin values lower than the defined cut-off (110g/L). Transferrin receptor has been found to be the best indicator of iron status during pregnancy because it remains normal, obviously only being raised if iron deficiency is present. Unfortunately, few studies have been using transferrin receptor to assess iron status during pregnancy.

The WHO recommends 60mg iron supplementation/ day for all pregnant women, but this recommendation and the need for iron supplementation during pregnancy have been recently discussed. There is no doubt that severe anemic women need urgent treatment, but many scientists question non targeted supplementation programs because an association between mild-moderate anemia is weak, there is no evidence of beneficial reproductive outcomes and no support for a plausible mechanism. Furthermore, high hemoglobin values are associated with adverse birth outcomes, and it has been suggested that increasing hemoglobin could put some women at risk.

In developed countries, supplementation and fortification programs have met some success, but this is not the case in developing countries. Reasons for the failure are financial and distribution problems that affect the supply of iron tablets. Also, there are side effects associated with the ingestion of the tablets and the fact that women are often not well informed about the need and the benefits of supplementation; as a result many of them don't take the tablets. No compliance by pregnant women to take the supplements is a serious problem that impairs the success of such programs. Another point that has been discussed about iron supplementation is the formation of free radicals, and the oxidation damage that is a risk factor for cardiovascular disease, cancer and neurological disorders.

Daily iron supplementation program has demonstrated to be more effective than weekly supplementation because of the higher iron dosage that it provides and also because it achieves hemoglobin values > 100 g/L in a shorter time. Weekly supplementation programs are not recommended for pregnant women. Iron supplementation programs combined with other micronutrients could be an effective strategy of providing not only

iron, but other micronutrients as well, including some that are also important in the etiology of anemia. Iron supplementation during adolescence is criticized when the end of supplementation period is near to conception because iron absorption from the diet is lower than it was before supplementation, and the period of reestablishment of the pre-supplementation absorption rates is expected to be between 5 and 16 months.

In addition to anemia, other risk factors for maternal health have been discussed. There is a clear and urgent need to improve antiseptic techniques and interventive obstetric care in hospitals of developing countries. Experiences in developed countries showed that maternal mortality ratios decreased substantially only after the introduction of antiseptic techniques and obstetric care. Nutritional programs alone will not be effective in reducing maternal mortality ratios, if women do not have access to adequate hospital care.

Risk of obstructed labor is increased either for stunted or young women giving birth for the first time. A woman shorter than 1.5m is at high risk of obstructed labor and careful considerations about energy supplementation during pregnancy is needed due to increased risk of delivering larger babies.

Other two factors in the etiology of anemia that are relevant in developing countries are the presence of malaria and helminth infection. Iron treatment in endemic areas should be preceded by the treatment of these infections to reduce the prevalence of anemia. Where most of the anemia is not the result of iron deficiency, iron supplementation would be inadequate to prevent and control anemia.

REFERENCES

- AKINGBA, J.B. Outcome of pregnancy in short Nigerians. *J. Nigerian Med. Assoc.*, v. 1, p.52-7, 1971.
- ALLEN, L.H. Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71, Suppl., p.1280S-4S, 2000.
- _____. Biological mechanisms that might underlie iron's effects on fetal growth and preterm birth. *J. Nutr.*, v. 131 p. 581S-589S, 2001.
- _____. Pregnancy and iron deficiency: unresolved issues. *Nutr. Rev.*, v. 55 n. 4, p. 91-101, 1997.
- ATUKORALA, T.M.; DE SILVA, L.D.; DECHERING, W.H.; DASSENAEIKE, T.S.; PERERA, R.S. Evaluation of effectiveness of iron-folate supplementation and antihelminthic therapy against anemia in pregnancy: a study in the plantation sector of Sri Lanka. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 60, p. 286-92, 1994.
- BAKER, W.F. Iron deficiency in pregnancy, obstetrics and gynecology. *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, v. 14, n. 5, p. 1062-1077, Oct., 2000.

- BEARD, J.L. Effectiveness and strategies of iron supplementation during pregnancy. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71, Suppl., p. 1288S-94S, 2000.
- BEATON, G.H. Iron needs during pregnancy: do we need to rethink our targets? *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 72, Suppl., p. 265S-71S, 2000.
- BEATON, G.H.; McCABE, G.; ZLOTKIN, S.; YIP, R. Efficacy of intermittent iron supplementation in the control of iron deficiency anemia in developing countries: an analysis of experience. Final report to the micronutrient initiative, April 1999 (unpublished).
- BOTHWELL, T.H. Iron requirements in pregnancy and strategies to meet them. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 72, Suppl., p. 257S-64S, 2000.
- BRABIN, J.B.; HAKIMI, M.; PELLETIER, D. An analysis of anemia and pregnancy related maternal mortality, *J. Nutr.*, v. 131, p. 604S-615S, 2001.
- DAVIDSSON, L.; NESTEL, P. *Anemia, iron deficiency and iron deficiency anemia - reviewed by Davidsson and Nestel*. Washington D.C.: revised by the International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG) Steering Committee, 2002.
- DIALLO, M.S.; DIALLO, T.S.; DIALLO, F.B.; DIALLO, Y.; CAMARA, A.Y.; ONIVOGUI, G.; KEITA, N.; DIAWO, S.A. Anemia and pregnancy: epidemiological, clinical and prognostic study at the university clinic of the Ignace Deen Hospital, Conakry (Guinea). *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, v. 90, p. 128-141, 1995 (in French).
- EKSTROM, E.C.; HYDER, Z.; CHOWDHURY, A.M.R.; CHOWDHURY, S.; HABICHT, J.P.; LONNERDAL, B.; PERSSON, L.A. Efficacy of weekly iron supplementation: new evidence from a study among pregnant women in rural Bangladesh. *FASEB J.*, v. 3, p. A536.5, 1999 (Abstracts).
- FAIRBANKS, V.F. *Iron in medicine and nutrition*. In: SHILS, OLSEN and SHIKE (Eds). *Modern nutrition in health and disease*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1994, p. 185-212.
- GARN, S.M.; KEATING, M.T.; FALNER, F. Hematological status and pregnancy outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 34, p. 115-117, 1981.
- GEELHOED, D.W.; VISSER, L.E.; ADDAE, V.; ASARE, K.; SCHAGEN VAN LEEUWEN, J.H.; VAN ROOSMALEN, J. Malaria prophylaxis and the reduction of anemia at childbirth. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, v. 74, p. 133-138, 2001.
- GRAVES, B.W.; BARGER, M.K. A Conservative approach to iron supplementation during pregnancy. *J. Midwifery Women's Health.*, v. 46, n. 3, p. 159-166, May/June, 2001.
- HAHN, P.F.; CAROTHERS, E.L.; DARBY, W.J.; MARTIN, M.; SHEPPARD, C.W.; CANNON, R.O.; DENSEN, P.M.; PETERSON, J.C.; McCLELLAN, G.S. Iron metabolism in human pregnancy as studied with the radioactive isotope ^{59}Fe . *Am. J. Obstet. Gynecol.*, v. 61, p. 477-86, 1951.
- HARRISON, K.A. Anemia, malaria and sickle cell disease. *Clin. Obstet. Gynaecol.*, v. 9, p. 445-7, 1982.
- _____. Predicating trends in operative delivery for cephalopelvic disproportion in Africa. *Lancet*, v. 335, p. 861-2, 1990.
- HARRISON, K.A.; ROSSITER, C.E. Maternal mortality. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, v. 92, Suppl., p. 100-15, 1985.
- HEINRICH, H.C.; BARTELS, B.; HEINISCH, B.; HAUSMANN, K.; KUSE, R.; HUMKE, W.; MAUSS, H.J. Intestinal ^{59}Fe absorption and pre-latent iron - International Nutritional Anemia Consultative group/WHO/UNICEF deficiency in human pregnancy. *Klin. Wochenschr.*, v. 46, p. 199-202, 1968 (in German).
- HUDDLE, J.M.; GIBSON, R.S.; CULLINAM, T.R. The impact of malarial infection and diet on the anemia status of rural pregnant Malawian women. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v. 53, p. 792-801, 1999.
- KULIER, R.; ONIS, M.; GÜLMEZOĞLU, A.M.; VILLAR, J. Nutritional interventions for the prevention of maternal morbidity. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, v. 63, p. 231-246, 1998.

- LLEWELYN-JONES, D. Severe anemia in pregnancy as seen in Kuala Lumpur. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.*, v. 5, p. 191-7, 1965.
- LUXEMBURGER, C.; MCGREADY, R.; KHAM, A.; MORISON, L.; CHO, T.; CHONGSUPHAJASIDDHI, T.; WHITE, N.J.; NOSTEN, F. Effects of malaria during pregnancy on infant mortality in an area of low malaria transmission. *Am. J. Epidemiol.*, v. 154, n. 5, p. 459-465, 2001.
- LYNCH, S.R. The potential impact of iron supplementation during adolescence on iron status in pregnancy. *J. Nutr.*, v. 130, p. 448S-451S, 2000.
- MCDERMOTT, J.M.; SLUTSKER, L.; STEKETEE, R.W.; WIRIMA, J.J.; BREMAN, J.G.; HEYMANN, D.L. Prospective assessment of mortality among a cohort of pregnant women in rural Malawi. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 55, p. 66-70, 1996.
- MENENDEZ, C.; FLEMING, A.F.; ALONSO, P.L. Malaria-related anemia. *Parasitology today*, v.16, n. 11, p. 469-476, 2000.
- MUMTAZ, Z.; SHAHAB, S.; BUTT, N.; ABDUR RAB, M.; DEMUYNCK, A. Daily iron supplementation is more effective than twice weekly iron supplementation in pregnant women in Pakistan in a randomized clinical trial. *J. Nutr.*, v. 130, p. 2697-2702, 2000.
- MURPHY, J.F.; O'RIORDAN, J.; NEWCOMBE, R.G.; COLES, E.C.; PEARSON, J.F. Relation of hemoglobin levels in first and second trimesters to outcome of pregnancy. *Lancet*, v. 1, p. 992-995, 1986.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Recommended Dietary Allowances*. 10th ed. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1989. 284 p.
- NDYOMUGYENYI, R.; MAGNUSSEN, P. Chloroquine prophylaxis, iron-folic acid supplementation or case management of malaria attacks in primigravidae in western Uganda: effects on maternal parasitemia and hemoglobin levels and on birth weight. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 94, p. 413-418, 2000.
- OPPENHEIMER, S.J. Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J. Nutr.*, v. 131, p. 616S-635S, 2001.
- RASMUSSEN, K.M. Is there a causal relationship between iron deficiency or iron deficiency anemia and weight at birth, length of gestation and perinatal mortality? *J. Nutr.*, v. 131, p. 590S-603S, 2001.
- RUSH, D. Nutrition and maternal mortality in the developing world. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 72, Suppl, p. 212S-40S, 2000.
- SARIN, A.R. Severe anemia of pregnancy, recent experience. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, v. 50, Suppl., S43-9, 1995.
- SCHOLL, T.O. High third-trimester ferritin concentration: associations with very preterm delivery, infection and maternal nutritional status. *Obstet. Gynec.*, v. 92, n. 2, p. 161-166, aug. 1998.
- STEER, P.J. Maternal hemoglobin concentration and birth weight. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71, Suppl., p. 1285S-7S, 2000.
- STEER, P.J.; ALAM M.A.; WADSWORTH, J.; WELCH, A. Relation between maternal hemoglobin concentration and birth weight in different ethnic groups. *Br. Med. J.*, v. 310, p. 489-491, 1995.
- SUHARNO, D.; WEST, C.E.; MUHILAL KARYADI, D.; HAUTVAST, J. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet*, v. 342, p. 1325-1328, 1993.
- SVANBERG, B. Iron absorption in early pregnancy: a study of the absorption of non-heme iron and ferrous iron in early pregnancy. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, v. 48, Suppl, p. 69-85, 1975.
- SVANBERG, B.; ARVIDSSON, B.; NORRBY, A.; RYBO, G.; SÖLVELL, L. Absorption of supplemental iron during pregnancy – a longitudinal study with repeated bone-marrow studies and absorption measurements. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, v. 48, Suppl, p. 87-108, 1976.
- TAPIERO, H.; GATÉ, L.; TEW, K.D. Iron: deficiencies and requirements. *Biomed. Pharmacother.*; v. 55, p.324-32, 2001.

- THONNEAU, P.; TOURE, B.; CANTRELLE, P.; BARRY, T.M.; PAPIERNIK, E. Risk factors for maternal mortality: results of a case-control study conducted in Conakry (Guinea). *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, v. 39, p. 87-92, 1992.
- WHO WORLD HEALTH ORGANIZATION. The prevalence of anemia in women. A tabulation of available information, 2nd ed., Geneva: WHO, 1992
- WHO / UNICEF. Estimate of maternal mortality: a new approach by WHO and UNICEF. Geneva: WHO, 1990 [revised 1996].
- WHO / UNICEF / ONU. Iron deficiency anemia, assessment, prevention and control: a guide for programme managers. Geneva: WHO, 2001.
- YIP, R. Significance of an abnormally low or high hemoglobin concentration during pregnancy: special consideration of iron nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*; v. 72, Suppl., p. 272S-9S, 2000.
- ZAVALETA, N.; CAULFIELD, L.E.; GARCIA, T. Changes in iron status during pregnancy in Peruvian women receiving prenatal iron and folic acid supplements with or without zinc. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 71, p. 956-61, 2000.
- ZHOU, L.-M.; YANG, W.-W.; HUA, J.-Z.; DENG, C.-Q.; TAO, X.; STOLTZFUS, R.J. Relation of hemoglobin measured at different times in pregnancy to preterm birth and low birth weight in Shanghai, China. *Am. J. of Epidemiol.*, v. 148, n. 10, p. 998-1006, 1998
- ZUCKER, J.R.; LACKRITZ, E.M.; RUEBUSH, T.K.; HIGHTOWER, A.W.; ADUNGOSI, J.E.; WERE, J.B., CAMPBELL, C.C. Anemia, blood transfusion practices, HIV and mortality among women of reproductive age in western Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v. 88, p. 173-6, 1994.

Recebido para publicação em 25/04/03.

Aprovado em 30/06/03.

ÍNDICE DE AUTOR/AUTHOR INDEX

ABREU, E.S., 7

BORBA, L.M., 135

CASSETTARI, M.L., 23

CASTRO, L.C.V., 135

CEREDA, M.P., 47

COSTA, M.A.L., 47

COSTA, N.M.B., 71

DAVIDSSON, L.A., 153

DIAS, L.C.C.G., 23

FERREIRA, C.L.L.F., 135

FRANCESCHINI, S.C.C., 135

GIAROLA, L.C., 23

HOLLAND, C.V., 61

MANCINI FILHO, J., 31

MARCHINI, J.S., 113

MOREIRA, A.V.B., 31

ORTEGA-FLORES, C.I., 47

PADOVAN, G.J., 113

PELUZIO, M.C.G., 71

PENTEADO, M.V.C., 47

PIZARRO, C.F., 153

RODRIGUES, L.P., 113

ROGERO, M.M., 87

SALES, R.L., 71

SOUZA, N., 23

SZARFARC, S.C., 61

TIRAPÉGUI, J., 87

TORRES, E.A.F.S., 7

ÍNDICE DE ASSUNTO

- Alimentação e modernidade, 7
Alimentos
 consumo, 61
Aminoácidos, 47
Anemia, 153
Antioxidante
 atividade, 31
Aterosclerose, 71
Atividade física, 87
- Bactérias Bífidas, 135
- Canela, 31
Cardiopatas, 113
Carnitina, 113
CLAE Cromatografia líquida de alta eficiência, 23
Composição do leite ver Leite composição
Consumo Energético ver Alimentos, consumo
Creche, 61
Cromatografia líquida de alta eficiência ver CLAE
- Diálise renal, 113
Doenças cardiovasculares, 71
- Erva-doce, 31
Estado nutricional, 135
Exercício ver Atividade física
- Fibra, 47
Folhas de mandioca ver Mandioca
- Gestante, 23
Glutamina
 suplementação, 87
Gravidez, 153
- Hábitos alimentares
 mudança, 7
- Leite
 composição, 135
 humano ver Leite mater no
Leite materno, 135
Lipoproteínas, 71
- Mandioca, 47
Merenda escolar, 61
Microbiota intestinal, 135
Microondas ver Forno de microondas
Mostarda, 31
Mudança de hábitos alimentar es ver Hábitos alimentares
Modernidade ver Alimentação e modernidade
- Nutrição, 87, 113
- Pasteurização, 135
Pré-escolares, 61
Proteína, 47
- RANCIMAT, 31
Refeições, 61
Restaurantes 'por quilo', 7
- Sistema imune, 87
- Vitamina A, 23

SUBJECT INDEX

- Amino acid, 47
- Anemia, 153
- Anise, 31
- Antioxidant
 - activity, 31
- Atherosclerosis, 71

- Bifidobacteria, 135
- By the weight r estaurants, 7

- Cardiovascular diseases, 71
- Carnitine, 113
- Cassava leaf, 47
- Cinnamon, 31
- Composition of milk see Milk, composition

- Day care centers, 61
- Dialysis
 - renal, 113

- Energy intake, 61
- Exercise see Physical exer cise

- Feeding and moder nity, 7
- Fiber, 47
- Food
 - changes, 7
 - intake, 61
 - habits, 7

- Glutamine
 - supplementation, 87

- Heart diseases, 113
- High performance see HPLC
- HPLC High Performance Liquid Chromatography, 23
- Human milk see milk

- Immune system, 87
- Intestinal microbiota, 135

- Lipoproteins, 71

- Meals see School meal
- Microbiota intestinal see Intestinal micr obiota
- Milk
 - composition, 135
 - human, 135

- Modernity see Feeding and moder nity
- Mustard, 31

- Nutrition, 87, 113
- Nutritional
 - status, 135

- Pasteurization, 135
- Physical exercise, 87
- Pre-school children, 61
- Pregnancy, 23, 153
- Protein, 47

- RANCIMAT, 31
- Renal dialysis see Dialysis r enal

- School meal, 61

- Vitamin A, 23

INSTRUÇÕES AOS AUTORES/INSTRUCTIONS TO AUTHORS

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO/PUBLICATION RULES

Os artigos devem ser redigidos na ortografia oficial em uma só face e em espaço duplo, em folhas tamanho ofício (A4), com letras corpo 12, com margens de 3cm em cada um dos lados e enumeradas em algarismos arábicos no ângulo inferior direito. Não devem ser cortadas as palavras no final das linhas.

Devem ser encaminhados um (1) original e duas (2) vias;

Quando aceito para publicação enviar cópia em disquete no programa 3/5 6.0 MS Word for Windows

Os artigos podem ser: originais, de revisão, atualização ou notas e informações:

- a) originais: divulgam resultados de pesquisas que possam ser replicados ou generalizados
- b) revisão: avaliação crítica da literatura sobre determinados assuntos. Devem conter conclusões ou comentários
- c) atualização: baseada na literatura recente, descritos e interpretativos da situação em que se encontra determinado assunto
- d) notas e informações: relatos curtos e notas prévias
- e) são aceitos artigos em inglês e espanhol

FOLHA DE ROSTO (IDENTIFICAÇÃO)

- a) título e subtítulo devem ser concisos e precisos; versão em inglês e espanhol
- b) indicar título abreviado para legenda
- c) nome e sobrenome de cada autor; filiação à instituição e respectivo endereço
- d) nome do departamento onde o trabalho foi realizado
- e) nome e endereço do autor responsável
- f) se foi baseado em Tese, indicar o título, ano e instituição onde foi apresentada
- g) se foi apresentado em reunião científica, indicar o evento, local e data de realização

h) se foi subvencionado indicar o tipo de auxílio, nome do agente financeiro e o número do processo

i) agradecimentos

1. contribuições (assessoria científica, coleta e dados, revisão crítica da pesquisa)
2. instituições (apoio econômico, material e outros)

Introdução: deve ser curta, definindo o problema estudado sintetizando sua importância

Métodos e materiais empregados, a população estudada, a fonte dos dados e critérios de seleção, dentre outros

Resultados: deve se limitar a descrever os resultados encontrados sem incluir interpretações/comparações

Discussão: deve começar apreciando as limitações do estudo, seguida da comparação com a literatura e a interpretação dos autores, extraíndo conclusões, indicando novos caminhos para pesquisa.

Conclusão: para os artigos originais

RESUMO E PALAVRAS-CHAVE

- a) português, inglês e espanhol (até 250 palavras)
- b) descritores (usar o vocabulário) português e espanhol: Descritores em Ciências da Saúde, da Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde-LILACS inglês: Medical Subject Headings-MESH, da National Library of Medicine

TABELAS E QUADROS

- a) apresentação em folhas separadas (enumeradas em ordem consecutiva, na ordem do texto) devem ter título breve

b) não usar traços horizontais ou verticais internos

FIGURAS (FOTOGRAFIAS, DESENHOS, GRÁFICOS)

Apresentação em folhas separadas (enumeradas em ordem consecutiva, na ordem do texto); Legendas à parte

UNIDADES

Seguir as normas do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial-INMETRO, Homepage. www. inmetro.gov.br

ABREVIATURAS E SIGLAS

- a) forma padrão da língua portuguesa e inglesa
- b) não usar no título e no resumo

AGRADECIMENTOS VER FOLHA DE ROSTO

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS (ABNT NBR-6023, 2000)

- a) ordem alfabética
- b) abreviatura dos periódicos (Index Medicus)
<ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/online/journals/ljiweb.pdf>
- c) todos os autores são citados, separados por ponto e vírgula (;)
CORDEIRO, J.M.; GALVES, R.S.; TORQUATO, C.M.
- d) indicação do autor e data **no texto**: citar entre parênteses o nome do autor e data (BRIAN, 1929)
- e) substituir **&** por **e** no texto e, por **ponto e vírgula (;)** nas referências bibliográficas (BRITTO e PASSOS, 1930)
- f) a exatidão das referências é de responsabilidade dos autores

REGULAMENTO DA NUTRIRE: REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO= JOURNAL OF THE BRAZILIAN SOCIETY OF FOOD AND NUTRITION

Da Revista, Sede e Fins

Art. 1º - A Nutrire: revista Brasileira de Alimentação e Nutrição=Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition, órgão oficial da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição – SBAN, criado em 1985, com sede* na Av. Prof. Lineu Prestes, 580 Bloco 14, Cidade Universitária, São Paulo, Brasil, tem por finalidade publicar trabalhos técnico-científicos nas áreas de alimentação e nutrição.

Parágrafo 1: a Nutrire: revista Brasileira de Alimentação e Nutrição=Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition contará com as seguintes seções: artigos originais, de revisão, atualização, notas e informações, cartas ao editor, índices de autores e assuntos

Parágrafo 2: A Comissão Editorial, o Editor-científico e o Conselho Editorial compõem a Comissão de Redação.

*A sede da SBAN fica na jurisdição do Presidente eleito.

Art. 2º - A revista será editada, no mínimo, uma vez por ano.

Art. 3º - Periodicidade semestral.

Da Direção e Redação

Art. 4º - O editor-responsável será o Presidente da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição-SBAN

Art. 5º - A Comissão Editorial será composta de 7 membros, com mandato de 5 anos e escolhidos dentre seus sócios efetivos. Os membros da Comissão elegerão o editor-científico pelo mesmo período

Parágrafo único: a renovação de seus membros será de 4 e 3, respectivamente, a cada três (3) anos.

Art. 7º - Compete à Comissão Editorial e ao Editor-científico julgar todo o material encaminhado para publicação.

Art. 8º - Compete à Comissão Editorial fazer cumprir este regulamento e seu respectivo Cronograma.

Art. 9º - Compete ao Conselho Editorial a revisão científica dos artigos recebidos.

Parágrafo único: O Conselho Editorial não terá número de membros definidos e será composto de especialistas nacionais e internacionais de cada área de Alimentação e Nutrição indicados pela Comissão Editorial.

Art. 10º - Os trabalhos aprovados para publicação deverão trazer o visto do Editor-científico.

Parágrafo único: os trabalhos serão publicados em ordem cronológica de recebimento, salvo as notas prévias.

Art. 11º - A data de recebimento do artigo constará obrigatoriamente no final do mesmo.

Art. 12º - Todo trabalho entregue para publicação deverá ser assinado pelo autor e trazer endereço para correspondência. **No caso de mais de um autor deverá expressamente ser indicado o autor responsável pela publicação**

Art. 13º - A primeira prova gráfica será revisada pelo Editor-científico e conferida pelo autor que a rubricará. Haverá apenas duas provas gráficas.

Art. 14º - Os originais de trabalhos aceitos para publicação não serão devolvidos.

Art. 15º - É proibida a reprodução, no todo ou em parte, de trabalhos publicados na Nutrire: revista da Sociedade Brasileira

de Alimentação e Nutrição= Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition sem prévia autorização do autor e do Presidente da SBAN. É permitida a reprodução de resumos com a devida citação da fonte.

Art. 16º - Os autores deverão assinar a declaração de responsabilidade e transferência.

Art. 17º - Os artigos serão recebidos para publicação até 30 de janeiro e 30 de julho, de cada ano.

Art. 18º - A organização e revisão do material a ser publicado compete ao bibliotecário responsável pela normalização técnica e indexação.

Art. 19º - Os artigos devem ser enviados para o Editor-científico (1 original e 2 cópias):

Dra. Célia Colli

Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição-SBAN

Av. Prof. Lineu Prestes, 580 B14 - Cidade Universitária, Cep 05508-900 - São Paulo, SP - Brasil

Referência Bibliográfica

1. Associação Brasileira de Normas Técnicas, NBR 6023: Informação e Documentação; Referência, Elaboração. Rio de Janeiro, 2000. 22p.

2. Comitê Internacional de Editores de Periódicos Médicos. Requisitos de uniformidade para manuscritos submetidos a periódicos biomédicos. An. Bras. Dermatol., Rio de Janeiro. v.72, supl. 1, p.41-53, jul./ago., 1997. [4.ed.]

3. International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann. Intern. Med. v.126, p.36-47, 1997. [updated may, 1999, 5th ed.]

NUTRIRE: REVISTA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO

Comissão Editorial / Editorial Committee

Célia Colli - *Editor Científico / Scientific editor*

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Elizabeth Wenzel de Menezes - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Fernando Salvador Moreno - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Franco Maria Lajolo - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Hélio Vannucchi - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Conselho Editorial / Editorial Board

Álvaro Oscar Campana - Faculdade de Medicina de Botucatu da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho

Anita Sachs - Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina

Dirce Maria Sigulem - Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina

Elizabeth de Souza Nascimento - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Elizabeth Aparecida Ferraz Silva Torres - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Felix Reyes - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade de Campinas

José Augusto de Aguiar Taddei - Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina

José Alfredo Gomes Areas - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Júlio Cesar Moriguti - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Júlio Tirapegui - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Lilian Cuppari - Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina

Luiz Antonio Gioielli - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Maria de Fátima N. Marucci - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Maria de Lourdes Pires Bianchi - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Maria José Roncada - São Paulo, SP

Maria Lúcia Rosa Stefanini - Instituto de Saúde da Secretaria da Saúde de São Paulo

Maria Sylvania de Souza Vitale - Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina

Olga Maria S. Amancio - Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina

Rebeca C. de Angelis - São Paulo, SP

Regina Mara Fisberg - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Rejane Andréa Ramalho - Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rui Cury - Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Semiramis Martins Álvares Domene - Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Silvia Berlanga de Moraes Barros - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Sonia Tucunduva Philippi - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Sophia Cornbluth Szarfarc - Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Tasso Moraes e Santos - Universidade Federal de Minas Gerais

Thaís Borges César - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho

Tullia M. C. C. Filisetti - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo

Normalização e indexação / Normalization and indexing

Bibl. M. Della Fuente

The SBAN reserves all rights, including translation rights, in all signatory countries of the Panamerican Copyright Convention and of the International Copyright Convention. The SBAN will not be responsible for concepts expressed in signed articles, and do not accept payed articles.

The views, political views and opinions expressed here by authors or by advertisers do not always reflect the policies or position of the *Nutrire*. No articles published here may be reproduced or distributed for any purpose whatsoever without the express written permission. Reproduction of abstracts is allowed as long as the right source is quoted.

À Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição reservam-se todos os direitos, inclusive os de tradução, em todos os países signatários da Convenção Panamericana e da Convenção Internacional sobre os direitos autorais. Não nos responsabilizamos por conceitos emitidos em matéria assinada e também não aceitamos matéria paga em nosso espaço editorial. Os pontos de vista, as visões políticas e as opiniões aqui emitidas, tanto pelos autores como pelos anunciantes, nem sempre refletem a orientação desta revista.

A *Nutrire* é indexada pelas seguintes bases de dados: Chemical Abstracts, Lilacs (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e Peri (Esalq)

