

**MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA**

**DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A
NO BINÔMIO MÃE-FILHO E DISTRIBUIÇÃO
INTRAPLACENTÁRIA DE RETINOL**

Apresentada por

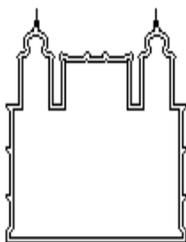
CLÁUDIA SAUNDERS DE PAIVA COELHO

Tese submetida à Coordenação do Curso de Doutorado em Saúde Pública,
como parte dos requisitos para obtenção do título de
Doutor em Ciências na área de Saúde Pública

ORIENTADORES

**PROF^a. DR^a. MARIA DO CARMO LEAL
PROF^a. DR^a. REJANE ANDRÉA RAMALHO NUNES DA SILVA**

Tese defendida e aprovada em 15 de dezembro de 2003.



**MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA**

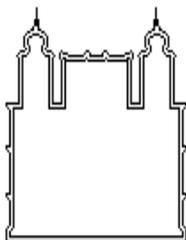
**DEFICIÊNCIA DE VITAMINA A
NO BINÔMIO MÃE-FILHO E DISTRIBUIÇÃO
INTRAPLACENTÁRIA DE RETINOL**

Apresentada por

CLÁUDIA SAUNDERS DE PAIVA COELHO

Foi avaliada pela Banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof^ª. Dr^ª. Ivone Evangelista Cabral
Prof^ª. Dr^ª. Elizabeth Accioly
Prof. Dr. Luiz Antonio dos Anjos
Prof. Dr. Ricardo Ventura Santos
Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Leal – *orientadora principal*



**MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SECRETARIA ACADÊMICA**

AUTORIZAÇÃO

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

Rio de Janeiro, 15 de dezembro de 2003.

Cláudia Saunders de Paiva Coelho

Catálogo na fonte
Centro de Informação Científica e Tecnológica
Biblioteca Lincoln de Freitas Filho

C672d Coelho, Cláudia Saunders de Paiva
Deficiência de vitamina A no binômio mãe-filho e
distribuição intraplacentária de retinol./ Cláudia Saunders
de Paiva Coelho. Rio de Janeiro : s.n., 2003.
198p., tab

Orientadores: Leal, Maria do Carmo; Silva, Rejane
Andréa Ramalho Nunes da
Tese de Doutorado apresentada à Escola Nacional de
Saúde Pública.

1. Deficiência de Vitamina A 2. Placenta 3. Cegueira
Noturna 4. Saúde Materno-Infantil

CDD - 20.ed. – 618.92

Várias pessoas e instituições foram indispensáveis para que eu pudesse concluir a realização deste estudo e, sem dúvida, todas tiveram participação fundamental e estão aqui apresentadas, mas não por ordem de importância. Assim, agradeço sinceramente a todos.

A Deus que me ajudou a tornar possível o que em vários momentos parecia impossível.

À minha família que representa o suporte necessário para manter meu equilíbrio e minha saúde. E que têm sido a motivação constante para o meu crescimento profissional.

Aos meus pais Cláudio Augusto Barreto Saunders e Marília Aparecida Saunders, que me apoiaram em todos os momentos da minha vida, sendo o “meu porto seguro” e que me fizeram acreditar que eu era capaz de alcançar todos os meus objetivos. Ao meu marido Fernando José de Paiva Coelho que sempre me incentivou a continuar estudando e a seguir a carreira docente. Obrigada pelo apoio durante o desenvolvimento da tese e pela paciência nos meus momentos de *stress* com a estatística e com o computador.

À minha avó Maria Ernestina Martins que durante toda minha vida, tem estado de prontidão para me dar carinho e atenção. Aos meus irmãos Cláudio Frederico Saunders e Cláudio Augusto Barreto Saunders Filho, pelos nossos anos de alegre convivência e pelo incentivo constante e, apoio nas questões de informática. E à Doutora Maria Fernanda L.B. Melo pelas orientações importantes sobre fisiologia da gestação.

À Professora Maria do Carmo Leal, de quem tive o privilégio de ser aceita como orientanda, acreditando, apoiando e incentivando o meu trabalho, e que além de orientadora, foi a pessoa por quem desenvolvi uma grande admiração e amizade.

À Professora Andréa Ramalho, que foi minha primeira orientadora científica e é a grande incentivadora da minha trajetória como pesquisadora e de quem eu me tornei fã e amiga. Além de compartilhar comigo o sonho de realização desse “megaprojeto”, me ensinou que todos os achados têm a sua “significância”.

À Professora Elizabeth Accioly que foi uma das grandes responsáveis pelo meu interesse pelo grupo materno-infantil desde a época do mestrado. Além de colega de trabalho, a considero uma amiga de quem nunca ouvi um “não”. E juntamente com a

Professora Elisa Lacerda, a quem também agradeço o apoio e incentivo para o meu ingresso no curso de Doutorado.

Ao Professor Hernando Flores pela valiosa consultoria no desenvolvimento desse estudo e pelo apoio e incentivo irrestritos que sempre me dedicou.

Ao Químico Alexandre Gonçalves Soares responsável por toda a dosagem bioquímica do projeto, obrigada pela paciência e competência com que me atendeu nos momentos cruciais no desenvolvimento das etapas.

Às minhas pupilas, Nutricionistas Ana Paula Pereira Thiapó de Lima, Bianca Amaral dos Santos Silva, Luciana Ferreira Campos e Mirian Martins Gomes que foram estagiárias voluntárias, bolsistas de iniciação científica e aperfeiçoandas, gostaria de dizer muito obrigada, pela responsabilidade, respeito, profissionalismo e competência que dedicaram ao projeto.

Também agradeço aos Nutricionistas Cristiane Barbosa Silva, Leticia de Oliveira Cardoso, Daniel Natalizi, Poliana Alves de Araújo, Carina de Aquino Paes, Iara Souza Ribeiro, Marta Brasil da Rocha, e a todos os estagiários voluntários e bolsistas do Grupo de Pesquisa em Vitamina A que participaram do estudo e ajudaram na obtenção do sucesso do “Projeto Placenta”.

À “quase” Nutricionista Paula Costa Leite, que foi a grande revelação como pesquisadora, demonstrando sua competência, responsabilidade e dedicação, principalmente na etapa final do Projeto Placenta.

À Professora Luciléia Granhen Tavares Colares, que é minha amiga - irmã e, que sempre me cedeu o ombro amigo, me ouvindo com carinho, me ajudando em todos os momentos em que dela precisei, principalmente nos mais difíceis durante o curso de Doutorado.

À Nutricionista Roseli de Souza Santos da Costa, amiga muito querida, que nos dias *cinzas*, sempre teve uma mão estendida ou uma palavra de amizade, carinho e alegria. Diante da admiração que sinto pela sua atuação com as gestantes, espero que possamos realizar juntas, muitos dos nossos projetos científicos.

À Professora Elisabete Queiróz Caldeira Neves, amiga de quase duas décadas, que me ensinou muito, principalmente que a amizade verdadeira é para sempre e que podemos superar nossos limites quando acreditamos.

À Professora Mirian Ribeiro Baião, que em várias ocasiões me cedeu muito do seu equilíbrio pessoal e da sua clareza de raciocínio. Sempre muito atenciosa, percebeu vários momentos nos quais eu precisava da sua atenção e amizade.

À Professora Marta Maria Antonieta Santos da Costa, com quem tenho a sorte de conviver desde o mestrado. Foi sempre carinhosa e disposta a compartilhar, ajudando-me no que fosse necessário.

À Nutricionista Denise Barros, que me recebeu na Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) como uma amiga de muitos anos, com quem tive a sorte de dividir os bancos da escola, e que sempre me tratou com carinho, me incentivou a seguir em frente e não mediu esforços para me ajudar.

À Professora Manuela Dolinsky, pela troca de experiências entre “alunas de doutorado” e que mesmo sendo muito ocupada, se colocou à minha disposição para o que fosse preciso.

Ao Professor Luiz Antonio dos Anjos, que contribuiu significativamente nas discussões do projeto, principalmente, na sua fase inicial.

Ao Professor Ricardo Ventura Santos pelo tratamento privilegiado que me dedicou durante a realização do curso e sua permanência na Coordenação do Curso de Doutorado da ENSP.

Ao Estatístico Paulo Borges, que me assessorou com muita competência na análise dos dados e sempre com muito boa vontade e disponibilidade, apesar da sua agenda apertada.

À Estatística Cynthia Braga, que me ajudou a desvendar o SPSS e auxiliou na análise inicial do banco de dados.

À ENSP pela oportunidade de ser aluna da melhor Escola de Saúde Pública da América Latina, que muito ajudou para meu aperfeiçoamento como pesquisadora.

Aos órgãos de fomento à pesquisa que possibilitaram a realização desse projeto, Fundação de Amparo à Pesquisa (FAPERJ), Fundação José Bonifácio (FUJB), Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro.

Aos coordenadores de Pós-graduação da ENSP, do período no qual fui aluna do curso, em especial aos Professores Aduino José Gonçalves de Araújo, Virgínia Alonso Hortale e Silvana Granado Nogueira da Gama, que não mediram esforços para atender às minhas solicitações.

Aos funcionários da Coordenação de Pós-graduação e da Secretaria Acadêmica, especialmente André Souza Santos, Eduardo Silva Pinto e Marcelo Eduardo, que sempre me atenderam de forma diferenciada.

Aos diretores da Maternidade Escola (ME) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Doutores Pedro Rogério Furniel, Joffre Amin Júnior e Rita Bornia, pelo apoio indispensável para a realização do estudo.

À Nutricionista Sandra Amaral, que muito contribuiu para a realização do convênio institucional entre o Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) e a ME da UFRJ.

Ao Doutor José Bichara pelos esclarecimentos sobre a cegueira noturna e pelo material bibliográfico cedido.

À Kátia Suely, pela presteza e atenção com que me atendeu nos momentos de pane com o computador.

E, um agradecimento muito especial a todas as parturientes/puérperas, que aceitaram participar do estudo e que mesmo nos momentos de “dor do parto” não se opuseram a responder ao questionário e permitir a coleta de sangue. Espero, sinceramente, que o resultado desse estudo traga benefícios para a saúde das mães e filhos por vocês representados.

*“ La carencia persistente de vitamina A em cualquier parte del mundo es cruel
porque expone a las madres y a los niños a grandes riesgos.
Es inmoral porque lleva a hacer caso omiso de los valores humanos básicos.
Es inaceptable porque puede prevenirse”.*

Abraham Horwitz, 1993

O presente estudo investigou a deficiência de vitamina A (DVA) entre 262 puérperas e recém-nascidos atendidos em uma maternidade pública do município do Rio de Janeiro, por meio dos indicadores bioquímico (retinol sérico) e funcional (cegueira noturna - XN). Também foi estudada a distribuição de retinol nas placentas das puérperas. Empregou-se a dosagem espectrofotométrica para determinação dos níveis de retinol séricos e nas placentas. Adotou-se, como ponto de corte para a DVA, retinol sérico $<1,05 \mu\text{mol/l}$. Na avaliação funcional, diagnosticou-se a XN gestacional através de entrevista elaborada com base na proposta da Organização Mundial da Saúde (OMS) e verificou-se que 17,9% das mulheres eram acometidas. Tal sintoma ocular mostrou-se independente das características sociodemográficas, da paridade, do intervalo intergestacional e da presença de intercorrências durante a gestação. Contudo, a baixa cobertura da assistência pré-natal, menor que cinco consultas ($p = 0,04$), e a história de um ou mais abortos foram identificadas como características associadas à XN gestacional ($p = 0,02$). Constatou-se associação entre a DVA materna e a XN gestacional (OR = 3,50; IC 95% = 1,69 - 7,27). A inadequação dos níveis de retinol sérico avaliada em 217 puérperas e no sangue de cordão de 222 conceptos foram, respectivamente, 24,4% e 45,5%. A associação entre o retinol sérico materno e dos recém-nascidos foi observada (OR = 4,79; IC 95% = 2,40 - 9,57). A sensibilidade e especificidade da entrevista padronizada para o diagnóstico da XN, calculadas segundo o indicador bioquímico, foram respectivamente 34% e 87,2%. Na avaliação da distribuição intraplacentária de retinol, realizada em 234 amostras de placentas, de 39 puérperas, verificou-se que, apesar das diferenças observadas nos teores de retinol das amostras, a variação intratecidual não invalidou o uso de qualquer porção do órgão para ser representativa dos níveis de retinol da placenta. Os achados relacionados com a XN sugerem que apesar da baixa sensibilidade, a entrevista pode ser empregada na triagem das mulheres que necessitam de maior investigação do estado nutricional de vitamina A. A alta especificidade do teste reforça o seu uso como estratégia a ser incorporada na rotina da assistência pré-natal, permitindo a detecção de gestantes com DVA. Diante dos achados, pode-se concluir que a carência em questão é um problema significativo entre as puérperas e seus recém-nascidos e que a sua investigação deve ser incorporada às rotinas de assistência pré-natal. Os achados em relação à distribuição intraplacentária

de retinol representam um avanço para as pesquisas que pretendam incorporar coleta de amostras e dosagem da vitamina A na placenta em suas análises. Este método pode contribuir para o aumento do arsenal de marcadores de estado subclínico da DVA, permitindo ações mais precoces de combate aos problemas nutricionais no grupo materno-infantil.

Palavras-chave: cegueira noturna gestacional, recém-nascidos, placenta, puérperas, deficiência de vitamina A.

The present study investigates vitamin A deficiency (VAD) in 262 *post partum* women and newborns seen at a public maternity in the city of Rio de Janeiro, Brazil, using *biochemical* (serum retinol) and *functional* (night blindness - XN) indicators. Placental retinol distribution was also studied. Spectrophotometric dosage was used in order to determine serum and placental retinol. Cutoff point for VAD was established at $<1.05 \mu\text{mol/l}$. In functional evaluation, gestational XN was diagnosed through an interview based on WHO recommendations, which found a 17.9% prevalence. This ocular symptom was unrelated to sociodemographic characteristics, parity, birth intervals, and the presence of intercurrent factors during pregnancy. However, low coverage of antenatal care – under 5 appointments ($p = 0.04$) - and history of one or more abortions were found to be associated with gestational XN ($p = 0.02$). There was an association between maternal VAD and gestational XN (OR = 3.50; 95% CI = 1.69-7.27). The inadequacy levels of serum retinol levels observed in 217 *post partum* women and in umbilical cord blood of 222 newborns was 24.4% and 45.5%, respectively. There was an association between maternal and newborn serum retinol (OR = 4.79; 95 % CI = 2.40-9.57). The sensitivity and specificity of the standardized interview for XN diagnosis, calculated in relation with the biochemical indicator, were 34% and 87.2%, respectively. Intraplacental retinol distribution, carried out on 234 samples from 39 mothers, revealed that, in spite of the differences in retinol content between samples, intra-tissue variation did not invalidate the use of any portion of the organ as representative of placental retinol levels. Findings related with XN suggest that, despite their low sensitivity, interviews may be employed for screening purposes in women that require greater investigation of vitamin A nutritional status. The test's high specificity reinforces its usage as a strategy to be incorporated into routine antenatal care, allowing for VAD mothers to be detected. These findings suggest that VAD is a significant problem among *post partum* women and their newborn, and that its investigation must be consistently incorporated into the routines of antenatal care. The findings related to placental retinol distribution represent an advance for surveys intending to incorporate the collection and dosage of placental vitamin A levels into their analyses. The method proposed may contribute towards an increase in the arsenal of subclinical VAD markers, which can allow for earlier intervention on the maternal-infant group.

Key words: gestational night blindness, newborns, placenta, *post partum* women, vitamin A deficiency.

CAPÍTULOS	PÁGINA
APRESENTAÇÃO	20
INTRODUÇÃO	23
JUSTIFICATIVA	52
OBJETIVOS	53
MATERIAL E MÉTODOS	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
ARTIGOS	84
ARTIGO 1	85
ARTIGO 2	108
ARTIGO 3	129
ARTIGO 4	145
CONSIDERAÇÕES FINAIS	155
ANEXOS	159

TABELAS E QUADROS	PÁGINA
Material e Métodos	
Tabela 1: Comparação das puérperas atendidas na Maternidade Escola/UFRJ com o conjunto de puérperas do MRJ, segundo a faixa etária e assistência pré-natal (1999-2001).	55
Quadro 1: Avaliação Funcional.	60
Artigo 1: Gestational night blindness in women treated at a public maternity hospital in Rio de Janeiro, Brazil.	85
Table 1: Association between gestational night blindness and vitamin A nutritional status (serum retinol levels) in <i>post partum</i> women and mean of serum retinol levels according to presence of gestational night blindness.	98
Table 2: Socio-demographic characteristics of <i>post partum</i> women with and without gestational night blindness.	99
Table 3: Obstetric and prenatal characteristics of <i>post partum</i> women with and without gestational night blindness.	100
Table 4: History of abortion in <i>post partum</i> women with and without gestational night blindness.	101
Table 5: Anthropometric characteristics of <i>post partum</i> women with and without gestational night blindness.	102
Table 6: Results of logistic regression with predictive variables for gestational night blindness in <i>post partum</i> women.	103
Artigo 2: Association between gestational night blindness and serum retinol in mother/newborn pairs in the city of Rio de Janeiro, Brazil.	108
Table 1: Association between vitamin A nutritional status (serum retinol levels) in mother/newborn pairs and presence of gestational night blindness. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001).	125

Artigo 2: Association between gestational night blindness and serum retinol in mother/newborn pairs in the city of Rio de Janeiro, Brazil.	108
Table 2: Association between maternal and neonatal vitamin A nutritional status based on serum retinol levels. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001)	126
Table 3: Mean maternal and neonatal serum retinol levels according to presence of gestational night blindness. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001).	127
Table 4: Distribution of maternal and neonatal serum retinol levels according to presence of gestational night blindness. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001).	128
Artigo 3: Distribuição intraplacentária de retinol.	129
Tabela 1: Valores médios, mínimos e máximos de retinol nas diferentes porções de placentas em 39 puérperas	138
Tabela 2: Distribuição intraplacentária de retinol em 39 puérperas	139
Anexo 1: Notas Metodológicas	
Figura 1: Detalhamento sobre a captação da amostra e coleta de dados.	160
Tabela 1a e b: Comparação de algumas características das puérperas entre os grupos com e sem sangue. Maternidade Escola/UFRJ, MRJ (1999-2001).	161, 162
Tabela 2: Índice de concordância entre os entrevistadores para as variáveis avaliadas no reteste em puérperas atendidas na Maternidade Escola/UFRJ, MRJ (1999-2001).	164
Tabela 3: Matriz para os cálculos.	165

ANEXOS	PÁGINA
Anexo 1: NOTAS METODOLÓGICAS	159
Anexo 2: TERMO DE CONVÊNIO ENTRE A MATERNIDADE ESCOLA E O INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO/UFRJ	166
Anexo 3: PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA DA MATERNIDADE ESCOLA/UFRJ	168
Anexo 4: PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DA ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE Pública/FIOCRUZ	170
Anexo 5: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	173
Anexo 6: CARTAS DE ENCAMINHAMENTO DO DIAGNÓSTICO DO ESTADO NUTRICIONAL DE VITAMINA A AOS SUJEITOS DA PESQUISA	175
Anexo 7: INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	178
Anexo 8: MANUAL DE INSTRUÇÕES PARA O PREENCHIMENTO DO INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS	181

AIG – Adequado para a idade gestacional
AL – América Latina
CCS – Centro de Ciências da Saúde
CIC - Citologia de impressão da conjuntiva
CNPq - Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico
DDVA – Desordens ou transtornos da deficiência de vitamina A
DPT - Vacina tríplice contra difteria, coqueluche e tétano
DUM – Data da última menstruação
DVA – Deficiência de vitamina A
ENSP – Escola Nacional de Saúde Pública
FAPERJ – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FC – Porção da placenta fetal central
FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz
FL 1- Porção da placenta fetal lateral 1
FL 2- Porção da placenta fetal lateral 2
FUJB – Fundação José Bonifácio
GIG – Grande para a idade gestacional
GPVA - Grupo de Pesquisa em Vitamina A
HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência
IC - Intervalo de confiança
ICC – Coeficiente de correlação intraclasse
ICT – Impressão citológica com transferência
IDR – Ingestão dietética de referência
IMC - Índice de massa corporal
IOM – *Institute of Medicine*
INJC - Instituto de Nutrição Josué de Castro
IVACG - *International Vitamin A Consultative Group*
k- *Kappa*
MC – Porção da placenta materna central
ME – Maternidade Escola
ML 1 – Porção da placenta materna lateral 1
ML 2 - Porção da placenta materna lateral 2

MRDR - *Modified relative response dose*
MRJ – Município do Rio de Janeiro
MS - Ministério da Saúde
nv – nascidos vivos
NRC - *National Research Council*
OMS – Organização Mundial de Saúde
OPS – Organização Pan-Americana de Saúde
OR – *odds ratio*
PA – Pressão arterial
PIG – Pequeno para a idade gestacional
RE – Retinol equivalente
RN – Recém-nascido
RBP - *Retinol binding protein*
RDR - *Relative response dose*
RNA – Ácido ribonucléico
rpm – Rotações por minuto
SINASC- Sistema Nacional de Informação sobre Nascidos Vivos
SHG – Síndromes hipertensivas da gravidez
SIDA – Síndrome da imunodeficiência adquirida
+S30DR – *Serum 30-day-response*
TTR – Transtirretina
T3- Hormônio triiodo-tironina
U5MR - Taxa de mortalidade em menores de 5 anos
UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro
UI – Unidades internacionais
VMP – Valor mais provável
XN – Cegueira noturna
X1A - Xerose da conjuntiva
X1B - Mancha de *bitot*
X2 - Xerose corneal
X3A e X3B - Queratomalácia
XS - Cicatriz corneal
XF - *Fundus xerofthalmicus*

As deficiências nutricionais, em especial de micronutrientes, têm merecido destaque e atenção dos pesquisadores, pelo número crescente de evidências que comprovam o seu impacto na morbimortalidade dos grupos de maior vulnerabilidade das populações: as mulheres em idade fértil e as crianças.

Nesse escopo, conforme muitos estudos epidemiológicos publicados periodicamente, encontra-se a deficiência da vitamina A (DVA), cuja relevância como problema de saúde pública é inquestionável. Contudo, ainda existem muitas questões que merecem ser elucidadas e que surgiram com o amadurecimento do Grupo de Pesquisa em Vitamina A (GPVA) do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro (INJC/UFRJ), do qual faço parte desde 1992 como pesquisadora.

No presente estudo, pretende-se contribuir para o conhecimento da situação atual de DVA, que vem se caracterizando como um importante problema de saúde e nutrição nas gestantes, puérperas e conceptos que são atendidos em uma unidade de saúde do município do Rio de Janeiro, cujas características são comparáveis a dos outros indivíduos atendidos em outras unidades de saúde da região. Almeja-se também, diante do número de indivíduos acometidos no Rio de Janeiro, a exemplo de outras regiões do Centro-Sul do país, fornecer subsídios para inclusão desse grupo nos programas de intervenção elaborados para o país.

O retrato da DVA no município do Rio de Janeiro, que o GPVA tem ajudado a revelar sugere que, a deficiência é um problema que merece solução imediata. Apesar da maior prevalência da deficiência ser encontrada seja da sua forma marginal/subclínica (quando os sinais oculares ainda não estão presentes), as medidas devem ser implementadas para que o problema não seja negligenciado.

O presente estudo intitulado “*Deficiência de Vitamina A no binômio mãe-filho e distribuição intraplacentária de retinol*”, foi desenvolvido pela necessidade de se discutir criticamente e validar métodos diagnósticos da carência, com facilidades metodológicas que possam ser incorporados na assistência básica.

O projeto inicialmente foi intitulado “*Níveis séricos de vitamina A maternos e dos recém-nascidos e sua associação com os níveis placentários*”, pois pretendia-se

avaliar o estado nutricional de vitamina A de puérperas e seus conceitos, segundo os indicadores *funcional* (cegueira noturna –XN gestacional) e *bioquímico* (níveis séricos de retinol), além de investigar uma possível associação entre esses indicadores e os teores de retinol da placenta. Com isso, esperava-se contribuir com estudos futuros que objetivassem a construção do indicador “inadequação de vitamina A na placenta” como “preditor” do estado nutricional de vitamina A de puérperas e recém-nascidos, simultaneamente.

Contudo, durante o desenvolvimento desse estudo, verificaram-se questões prioritárias a serem equacionadas, tais como, a necessidade de estabelecimento de metodologia padronizada para a coleta e análise dos teores das placentas de vitamina A, além, das informações sobre a distribuição intraplacentária de retinol. Diante da elucidação dessas questões, seria possível a identificação da porção do órgão mais representativa do conteúdo total de retinol. Assim, a correlação entre os níveis séricos maternos e dos recém-nascidos com os teores de vitamina A das placentas poderia ser estabelecida. O projeto, então, passou a ser intitulado “*Carência de vitamina A no binômio mãe-filho e distribuição intraplacentária de retinol*”.

Paralelamente, constatou-se um crescente interesse pelo indicador XN que, por meio da aplicação de uma entrevista padronizada, mostrava-se capaz de identificar mulheres, famílias e comunidades em risco da DVA. Tais evidências, descritas principalmente a partir de estudos populacionais realizados na Ásia, por pesquisadores de renome internacional, vinham subsidiar a elaboração de medidas preventivas e terapêuticas dos comitês internacionais de saúde.

No Brasil, verificou-se a ausência de informações sobre a XN durante a gestação, o que impulsionou o aprofundamento das questões relacionadas a esse indicador, bem como o estudo da prevalência entre mulheres no período reprodutivo. A validação da entrevista recomendada pela OMS para o diagnóstico da DVA e seu poder “preditivo” para a inadequação sérica do binômio mãe-filho tornou-se um foco de interesse do presente estudo.

A presente tese é apresentada no formato *por artigos*. É composta dos capítulos *introdução*, na qual o problema da DVA é apresentado, *justificativa* para a realização do estudo, *objetivos*, *material e métodos* detalhados, os quatro *artigos* e *anexos*, nos quais são apresentadas informações complementares e indispensáveis para a compreensão do estudo.

São apresentados também os quatro artigos científicos produzidos, sendo um desses já publicado na Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil, um em fase de aceitação pelo *Journal of Population, Health and Nutrition*, um encaminhado para a revista *Nutrition* e outro formatado para ser encaminhado para a *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*.

A viabilidade para o desenvolvimento do projeto deveu-se à infra-estrutura do GPVA do INJC/UFRJ, que viabilizou recursos financeiros, convênios institucionais e internacionais, além de contar com uma equipe de pesquisadores e de pessoal altamente qualificado para atuar em todas as etapas da pesquisa científica, trabalho de campo (coleta de sangue, entrevistas e preenchimento de instrumento de coleta de dados) e avaliação bioquímica (dosagem do retinol sérico e das placentas). Não menos importante foi o convênio firmado com o Departamento de Epidemiologia da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz (ENSP/FIOCRUZ), que através da orientação dessa tese por um professor do referido Departamento, possibilitou o desenvolvimento de várias etapas indispensáveis para a conclusão do estudo. Contou-se também com a consultoria científica de renomado professor da Universidade Federal de Pernambuco e com apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), da Fundação José Bonifácio (FUJB), do Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) e da Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro.

Deficiência de Micronutrientes e Saúde Reprodutiva

Questões relacionadas à saúde reprodutiva, em especial as causas e fatores determinantes da mortalidade de mulheres em idade reprodutiva e seu conseqüente impacto na saúde e mortalidade infantil, constituem um problema de caráter mundial (Hardy, 1998; OMS, 1999; OPS, 2002; Osis, 1998).

É comprovada a desvantagem das mulheres que vivem em países em desenvolvimento, como no Brasil, cuja questão torna-se relevante, pelo grande número de mulheres e crianças em risco. No ano 2002, foram verificados em torno de 3,3 milhões de nascimentos. Embora haja uma tendência de declínio da taxa de fecundidade (número de filhos por mulher) nos últimos quarenta anos, o país ainda detém um dos maiores números registrados na região das Américas (OPS, 2002; PAHO, 2002).

As causas de morte materna são semelhantes em várias partes do mundo, contudo, as taxas de mortalidade são maiores nos países em desenvolvimento, em média 480 por 100.000 nascidos vivos (nv), quase vinte vezes maior do que nos países desenvolvidos. Na América Latina (AL), o Brasil tem uma taxa alarmante, de 200 a 499 por 100.000 nv. Taxas menores são observadas na maioria dos países da AL, como exceção da Bolívia (500 a 999 por 100.000 nv, OMS, 1999).

A Organização Mundial da Saúde (OMS, 1999) declara que a cada minuto do dia, em algum lugar no mundo, uma mulher morre em decorrência de complicações que surgem durante a gestação e o parto. O número de mulheres vitimadas anualmente é aproximadamente 600.000, na faixa etária de 15 a 49 anos.

A *mortalidade materna* é definida como a morte de uma mulher durante a gravidez ou dentro dos 42 dias seguintes ao término da gestação, independente do estágio ou duração da mesma, devido a qualquer causa relacionada ou agravada pela gestação ou seu tratamento, mas não por causas acidentais ou incidentais (OMS, 1999). As causas *diretas* mais importantes são: hemorragia (25%); septicemia (15%); síndromes hipertensivas da gravidez – SHG (eclâmpsia, 12%); parto obstruído (8%); e complicações de aborto perigoso (13%), que resultam de complicações obstétricas da gestação, do parto ou período puerperal. E as causas *indiretas*, que resultam de enfermidades pré-existentes ou são agravadas pelos efeitos fisiológicos da gravidez,

são: malária; anemia; síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA); e enfermidades cardiovasculares (OPS, 2002; OMS, 1999).

Entre os fatores agravantes das causas de morte materna, temos a precária condição socioeconômica, as condições de saneamento inadequadas e o limitado acesso aos serviços de saúde, além da inadequação do estado nutricional materno pré-gestacional e gestacional, destacando-se a desnutrição materna e deficiência dos micronutrientes, vitamina A, ferro, ácido fólico, iodo, cálcio, que também são considerados fatores agravantes dos problemas obstétricos que podem levar a mulher ao óbito (OMS, 1999).

Alguns pesquisadores também evidenciam a associação entre a deficiência nutricional, principalmente de micronutrientes (vitaminas e minerais), com o aumento das taxas de morbi-mortalidade do binômio mãe-filho. Em comunidades e indivíduos em risco nutricional, vários estudos demonstram a eficácia da intervenção nutricional, especialmente com vitamina A, com conseqüentes efeitos benéficos na saúde desse grupo (Christian *et al.*, 2000; 2001b; 2002a; Glasziou & Mackerras, 1993; Goldenberg, 2003; Kennedy-Oji *et al.*, 2001; Rahmathullah *et al.*, 2003; Roberts *et al.*, 2003; Rouse, 2003; Roy *et al.*, 1997; Sivakumar *et al.*, 1997; Villar *et al.*, 2003; West *et al.*, 1999).

Excluindo-se as mortes causadas pelos abortos, a intervenção nutricional pode minimizar o risco da mortalidade relacionada com as demais causas de morte materna (Christian, 2002a). Com isso, a *intervenção nutricional* (suplementação nutricional, fortificação de alimentos e diversificação alimentar) deve fazer parte do elenco de medidas previstas para a melhoria da saúde materno-infantil (IVACG, 2002; OMS, 1999; PAHO, 2001; 2002; Reddy, 2002).

Os progressos observados na redução das taxas de mortalidade na região das Américas não atingiram a meta prevista pela Cúpula Mundial em Favor da Infância e pela Primeira Conferência Internacional sobre a Maternidade sem Risco: redução de 50% da mortalidade materna dos níveis de 1990 para o ano de 2000. Uma gravidez e parto sem riscos podem trazer melhoria para a saúde das crianças, com possível redução nas taxas de mortalidade infantil (OMS, 1999; OPS, 2002). No Brasil, a taxa de mortalidade infantil, que em 2002 foi de 38,3 óbitos por 1.000 nv, embora declinante, ainda se encontra entre as mais altas da região das Américas (OPS, 2002).

O Problema da Deficiência de Vitamina A

Segundo estimativa mundial do grupo canadense *The Micronutrient Initiative* (Mason *et al.*, 2001), cerca de dois bilhões de pessoas sofrem as conseqüências da “*fome oculta*”, na qual se inclui a deficiência subclínica de vitamina A e as deficiências de ferro e iodo. A deficiência subclínica (marginal ou pré-patológica) de vitamina A “é definida como aquela na qual as concentrações de vitamina A nos tecidos são suficientemente baixas para produzir conseqüências adversas para a saúde pública, ainda, que não estejam presentes sinais de *xeroftalmia*” (Underwood, 1993).

Vários termos têm sido empregados internacionalmente para caracterizar o estado nutricional de vitamina A e seu efeito na saúde, tais como: *deficiência de vitamina A (DVA)*; *hipovitaminose A*; *carência de vitamina A*; *xeroftalmia*; e *desordens ou transtornos da deficiência de vitamina A (DDVA)*.

A DVA é caracterizada pela inadequação do estado nutricional de vitamina A, quando as reservas hepáticas dessa vitamina se encontram abaixo de 20µg/g (0,07µmol/g). Níveis séricos de retinol <0,35µmol/l caracterizam a carência grave, fortemente associada a sinais de *xeroftalmia*. Retinol sérico <0,70µmol/l caracteriza a DVA subclínica (McLaren & Frigg, 1999; WHO, 1996). Nível de retinol sérico <1,05µmol/l, também chamado de baixo a deficiente, é sugerido atualmente como o mais adequado para a identificação da DVA subclínica em pré-escolares, gestantes e puérperas (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Sommer & Davidson, 2002; West, 2002; Wondmikun, 2002).

Diante das evidências crescentes das conseqüências múltiplas da DVA, mesmo em nível subclínico, como por exemplo, o comprometimento da diferenciação celular; da reprodução; do crescimento infantil; do metabolismo do ferro; da resposta imune; entre muitas outras, essas são tratadas atualmente como DDVA (Sommer & Davidson, 2002; West, 2002).

O termo *xeroftalmia* é empregado para designar o espectro de sintomas e sinais oculares atribuídos à DVA, cujas manifestações são evolutivas e podem resultar em cegueira nutricional, muitas vezes irreversível. A *xeroftalmia* inclui: cegueira noturna (XN); xerose da conjuntiva (X1A); mancha de *bitot* (X1B); xerose corneal (X2); queratomalácia (X3A e X3B); cicatriz corneal (XS); e *fundus xeroftalmicus* (XF; McLaren & Frigg, 1999; Sommer, 1995; Sommer & Davidson, 2002).

Em uma revisão histórica publicada recentemente (Wolf, 2001), constatou-se que, até o final da década de 1930, vários trabalhos publicados, entre esses alguns experimentais, ajudaram a elucidar o papel da vitamina A no ciclo visual. Com isso, os aspectos epidemiológicos da *xeroftalmia* começaram a ser investigados em várias partes do mundo (McLaren *et al.*, 1965; Oomen *et al.*, 1964; Pillat, 1929).

Alguns pesquisadores, com o intuito de descrever os fatores associados à *xeroftalmia*, começaram a verificar uma possível associação entre a carência nutricional e as condições socioeconômicas, a disponibilidade de alimentos fonte de vitamina A, a desnutrição e as infecções (Dixit, 1966; McLaren *et al.*, 1965; Oomen *et al.*, 1964; Pillat, 1929).

Atualmente, sabe-se que a DVA subclínica intensifica a gravidade de enfermidades como diarreia e outros processos infecciosos, podendo provocar quadros de imunodeficiência de origem exclusivamente nutricional (Glasziou & Mackerras, 1993; Grupo de Trabajo sobre Vitamina A Y Neumonía, 1996; McLaren & Frigg, 1999; OPS, 2001; Ross, 1996; Sommer, 1995; Stoltzfus & Underwood, 1995). Calcula-se que a cada minuto morre uma criança de causa direta ou indiretamente atribuível à DVA (Humphrey *et al.*, 1992; Sommer, 1992). E, diariamente, muitas mulheres também falecem em decorrência de problemas evitáveis, relacionados à gravidez ou ao parto, que podem ser agravados pela DVA (OMS, 1999).

Como os pré-escolares são tradicionalmente considerados como grupo de maior risco para a DVA, representam o foco prioritário das medidas intervencionais ao longo dos tempos. Conseqüentemente, observa-se uma redução significativa do número de crianças acometidas pela carência. Entretanto, a investigação da DVA em mulheres com idade fértil, especialmente gestantes e nutrízes, através dos indicadores funcional (XN) e bioquímico (retinol sérico $<1,05\mu\text{mol/l}$), tem revelado altas prevalências de mulheres acometidas, chegando em algumas regiões a mais de 50% (Biswas *et al.*, 2000; Christian, 2002b; 2003; Christian *et al.*, 1998; Dixit, 1966; Katz *et al.*, 1995; West, 2002).

As novas estimativas de prevalência, com base no indicador funcional, sugerem que existam em torno 50% mais casos de XN materna do que casos de *xeroftalmia* em pré-escolares no mundo, apontando sucesso no controle da DVA infantil e relativa negligência da carência materna (West, 2002). Assim, as gestantes passam a ser consideradas, juntamente com os pré-escolares, como o grupo de maior risco para a DVA. Nas regiões onde é descrita alta prevalência de *xeroftalmia* em pré-escolares, a

carência materna também é um problema de saúde pública (Christian, 2002b; West, 2002).

Os estudos realizados na Ásia, a partir de 1995, são unânimes em apontar a maior vulnerabilidade de gestantes e nutrizes com a DVA para o desenvolvimento de intercorrências gestacionais e processos infecciosos mais severos, bem como a maior desvantagem para seus filhos. Essa desvantagem é expressa em maiores taxas de mortalidade materna e dos lactentes nos primeiros seis meses de vida (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; 2000; 2001b; Katz *et al.*, 1995; Radhika *et al.*, 2002).

A Organização Pan-Americana da Saúde (OPS, 2001) declara que a DVA ainda é considerada um problema de saúde pública em países em desenvolvimento. E além de ser a causa mais importante de cegueira entre as crianças, também contribui significativamente para o aumento das taxas de morbi-mortalidade associadas aos processos infecciosos comuns na infância. Reconhece que na região das Américas, a DVA prevalece como uma enfermidade subclínica generalizada em muitos países, estimando-se que mais de um quarto dos menores de cinco anos sejam afetados por essa carência nutricional (OPS, 2001).

Numa recente revisão dos procedimentos recomendados pelo *International Vitamin A Consultative Group* (IVACG) em 2002 (Sommer & Davidson, 2002), no *Proceedings of the XX International Vitamin A Consultative Group Meeting*, reafirmou-se a importância dos programas de intervenção pautados na *suplementação com vitamina A, fortificação de alimentos, e diversificação alimentar*.

A *suplementação periódica com vitamina A* é a estratégia mais adotada na prevenção e controle da DVA nos países em desenvolvimento e atualmente recomendada pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPS, 2001; PAHO, 2001).

Em decorrência da suplementação periódica de altas doses da vitamina A, tem sido observada a repercussão múltipla na saúde infantil, bem como: redução de 23% do risco de mortalidade infantil por todas as causas; de 50% do risco de morte por sarampo; e de 33% do risco de morte por enfermidades diarréicas (Fawzi *et al.*, 1993; Glasziou & Mackerras, 1993; OPS, 2001). Vale ressaltar que a mortalidade em menores de 5 anos ainda é um problema prioritário em países em desenvolvimento, incluindo o Brasil (Benguigui, 2001).

Com isso, em 1998, o Programa de Alimentação e Nutrição, juntamente com a Divisão de Vacinas e Imunização da OPS e o Programa Ampliado de Imunização, criaram um projeto conjunto que prevê a suplementação com vitamina A para lactentes,

pré-escolares (seis meses a cinco anos) e mulheres até seis semanas pós-parto, para a região das Américas. Essa proposta de associação dos programas tem como objetivo o aumento da cobertura da suplementação (OPS, 2001; PAHO, 2001).

Na região das Américas, além do Brasil, os países que também participam do programa são: Bolívia, Equador, Nicarágua, Peru, e República Dominicana (OPS, 2001). No Brasil, a população alvo é constituída por lactentes e pré-escolares com idade entre seis e 59 meses, residentes na região Nordeste ou no Vale do Jequitinhonha (Norte do estado de Minas Gerais). A suplementação é prevista para ocorrer a cada quatro/seis meses. E como critério para determinação dos grupos alvo, consideram-se as condições socioeconômicas e climáticas (seca). Para as mulheres, é prevista a suplementação com duas doses da vitamina A, ainda na maternidade ou clínica, dentro do período de até seis semanas pós-parto (OPS, 2001).

Em recente avaliação dos avanços obtidos com o referido projeto, constatou-se uma melhora da situação regional da DVA, pois nenhum país da região das Américas foi identificado como tendo a deficiência clínica (sinais de *xerofthalmia*). Contudo, o Brasil e muitos outros países ainda foram considerados como aqueles que apresentam deficiência subclínica grave a moderada (OPS, 2001).

Quanto aos dados sobre a cobertura da suplementação com vitamina A no país, no período de 1998 a 2000, verifica-se, referente à primeira dose, que essa foi mais alta entre lactentes de seis a 11 meses em comparação com a faixa etária entre 12 e 59 meses. Quanto à cobertura da suplementação para mulheres no pós-parto, os dados não foram disponibilizados, embora a intervenção também seja prevista (OPS, 2001; PAHO, 2001).

A eficácia dessa estratégia de intervenção pode ser conferida no estudo realizado por Assis & Barreto (2002) em uma área do Nordeste do Brasil. Os autores observaram redução na incidência de diarreia em 1240 crianças de seis a 48 meses, bem como redução da severidade da diarreia. Os autores observaram ainda que o oferecimento da vitamina A associado ao esquema de imunização em massa (vacinas antipólio oral, tríplice contra difteria, coqueluche e tétano - DPT e anti-sarampo) não elevou a taxa de efeitos adversos, em especial diarreia, febre e vômitos nas crianças.

O IVACG (Sommer & Davidson, 2002) sugere que tal esquema de suplementação deva ser ampliado para outros grupos de risco, como lactentes de zero a cinco meses e crianças com idade superior a 59 meses. Para as regiões nas quais a XN gestacional é um problema de saúde pública (prevalência $\geq 5\%$), a suplementação

materna é recomendada com dose diária de 10.000 unidades internacionais (UI) ou semanal de 25.000 UI de vitamina A por quatro a oito semanas (IVACG, 2002).

A *fortificação de alimentos* consumidos, rotineiramente, pela população é uma estratégia de baixo custo e eficaz para aumentar o suprimento de vitamina A. Tal estratégia é eficaz na redução da prevalência e severidade da DVA, em médio prazo. Contudo, é necessária uma política regulatória própria para a sua implementação (Dary & Mora, 2002; Sommer & Davidson, 2002).

A *diversificação alimentar* como intervenção isolada é pouco eficaz. Mesmo com o aumento da disponibilidade e consumo de alimentos de origem vegetal, fontes da vitamina A, sabe-se hoje que a biodisponibilidade dos carotenóides com atividade vitamínica A é a metade da estimada previamente (IOM, 2001). Além disso, é improvável que uma criança de pouca idade consiga ingerir quantidade suficiente de vegetais e frutas para atingir a sua ingestão dietética de referência (IDR). Deve-se ainda considerar que a absorção dos carotenóides pode ser variável, dependendo, por exemplo, das características da dieta e da presença de diarreia (IOM, 2001; Miller *et al.*, 2002; West *et al.*, 2002; WHO, 1995a). Para aumentar a eficácia dessa estratégia no combate à DVA, é recomendada a ação combinada com a suplementação e fortificação de alimentos (Sommer & Davidson, 2002).

No Brasil, o Ministério de Saúde (MS, 2000c) endossa essas três estratégias de intervenção para o combate à DVA nas áreas reconhecidas como de risco. É previsto o enriquecimento de leite e massas alimentares com vitamina A, ferro e outros nutrientes. Além disso, recomenda a reavaliação das tabelas de composição química dos alimentos disponíveis no país, com inclusão dos alimentos habitualmente consumidos e a atualização das informações sobre biodisponibilidade das diferentes formas de vitamina A presentes nos alimentos.

Reconhecendo que a maior vulnerabilidade para a DVA é observada em indivíduos de países em desenvolvimento (West, 2002), cujas condições socioeconômicas desfavoráveis maximizam o desenvolvimento da DVA e prolongam seu efeito, é recomendada a combinação das medidas intervencionais citadas com outras intersetoriais. Entre elas, *políticas econômicas e sociais*, visando a melhoria das condições socioeconômicas dos indivíduos e comunidades, *políticas de saúde* para a melhoria e garantia do acesso aos serviços de saúde de qualidade e maior cobertura da atenção básica, além da capacitação dos profissionais de saúde para a investigação da DVA (WHO, 1996).

Epidemiologia da Deficiência de Vitamina A

Recentemente foi publicada uma estimativa da prevalência mundial de DVA em pré-escolares e gestantes (West, 2002). Calcula-se que de uma população de aproximadamente 502,5 milhões de pré-escolares (idade inferior a cinco anos), cerca de 127,3 milhões (25,3%) apresentem a DVA (níveis séricos de retinol $<0,7\mu\text{mol/l}$) e que 4,4 milhões apresentem *xerofthalmia*.

As mais altas taxas de prevalência de inadequação de retinol sérico neste grupo são registradas no Sul e Sudeste da Ásia (43,9%); África (26,2%); entre alguns países da região Oeste do Pacífico (13,4%), destacando-se China e Filipinas e; da região Leste do Mediterrâneo (9,9%), destaca-se o Paquistão. Na região das Américas (6,5%), temos 8,2 milhões de crianças acometidas, merecendo destaque o Brasil, onde são estimados 2,2 milhões de casos de pré-escolares com níveis séricos de retinol $<0,7\mu\text{mol/l}$. Além disso, dos 75 mil casos de *xerofthalmia* na região das Américas, 26,7% (vinte mil) são estimados para o Brasil (West, 2002).

Quanto à prevalência estimada de DVA materna, entre as 107,4 milhões de gestantes que têm como resultado da gestação recém-nascidos vivos a cada ano, 19,8 milhões (18,4%) têm DVA, segundo os indicadores retinol sérico ou no leite humano $<1,05\mu\text{mol/l}$. Entre essas, 7,2 milhões (em torno de 36%) têm níveis de retinol sérico $<0,70\mu\text{mol/l}$. As regiões de maior prevalência de inadequação sérica ou no leite humano ($<1,05\mu\text{mol/l}$) são: Sul e Sudeste da Ásia (44,5%), destacando-se Índia, Indonésia e Bangladesh; os países da África (27,2%), destacando-se Etiópia e Nigéria; a região Oeste do Pacífico (13,7%), destacando-se as Filipinas, a China e o Vietnã; a região Leste do Mediterrâneo (10,6%), destacando-se Paquistão, Egito e Marrocos. Na região das Américas encontram-se 4% dos casos, e no Brasil estima-se que 167,2 mil mulheres tenham DVA.

Em relação ao indicador funcional, 6,2 milhões (5,8%) das mulheres no mundo desenvolvem XN gestacional e 63% dos casos ocorrem anualmente no Sul e Sudeste da Ásia. Na região das Américas, calcula-se que 6% das mulheres (376 mil) são acometidas e a maior prevalência é estimada para o Brasil, com 124,9 mil casos, o que corresponde a 33,2% da prevalência prevista para a região das Américas (West, 2002).

Essas estimativas referentes ao Brasil, principalmente para a DVA materna, foram feitas através da extrapolação de resultados de estudos realizados em pré-

escolares no Nordeste e publicados pela OMS (West, 2002; WHO, 1995a), não refletindo adequadamente a situação nacional, nem a da DVA materna.

Embora a maior prevalência de DVA seja descrita nos países em desenvolvimento, Ballew *et al.* (2001), analisando os dados representativos de indivíduos residentes nos Estados Unidos (1988-1994), verificou prevalência importante (16,7 a 33,9%) de níveis séricos de retinol $<1,05\mu\text{mol/l}$ entre as crianças de quatro a oito anos, com diferenças entre sexo e grupo racial. É sugerida pelos autores a necessidade de monitoramento do estado nutricional de vitamina A em crianças e, especialmente nos menores de quatro anos, que embora não incluídos nesta análise, são considerados como grupo de alto risco para a DVA, representando ainda um problema de saúde pública prioritário no país.

No Brasil, acreditou-se durante muito tempo que a DVA estava restrita às áreas pobres da região Nordeste do país (WHO, 1995a). As evidências disponíveis atualmente mostram que todas as regiões estudadas, como Ceará (McAuliffe *et al.*, 1991); Paraíba (McAuliffe *et al.*, 1991; Santos *et al.*, 1983; 1996); Pernambuco (Flores *et al.*, 1984; 1991; McAuliffe *et al.*, 1991); Bahia (Horner *et al.*, 1981; McAuliffe *et al.*, 1991), Manaus (Silva, 1988); São Paulo (Carvalho & Dutra de Oliveira, 1979; Carvalho *et al.*, 1995; Favaro *et al.*, 1986; Roncada, 1972; Roncada *et al.*, 1978, 1981; 1984; Roncada *et al.*, 1985; Roncada & Mazzili, 1989; Vítolo *et al.*, 1999; Wilson *et al.*, 1981); Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais (Araújo *et al.*, 1986); Rio Grande do Sul (Wilson & Nery, 1983), fazem parte do “*mapa nacional*” de DVA (Ramalho *et al.*, 2002). Contudo, somente a região Nordeste e a do Vale do Jequitinhonha são consideradas as áreas prioritárias para a suplementação de crianças com idades entre seis e 59 meses (OPS, 2001).

A situação registrada no Rio de Janeiro, pelo Grupo de Pesquisa em Vitamina A (GPVA) do Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro (INJC/UFRJ), vem confirmar que a DVA também acomete grandes números de pré-escolares, gestantes e puérperas na região (Ramalho *et al.*, 2002).

Em gestantes consideradas de baixo risco obstétrico, atendidas em duas maternidades públicas do município, é descrita inadequação dietética em 12,4% de mulheres avaliadas, pelo método de inquérito dietético *freqüência de consumo semi-quantitativo* (Coelho *et al.*, 1995). Accioly & Souza-Queiróz (2001) observaram inadequação dos níveis séricos de retinol ($<1,05\mu\text{mol/l}$) durante a gestação em 12,5% e 14,8% de inadequação na ingestão dietética de vitamina A no 3º trimestre, tendo sido

encontrada associação estatisticamente significativa entre os indicadores dietético e bioquímico. Dolinsky (1999) observou um decréscimo significativo dos níveis de retinol ao longo da gestação também em mulheres acompanhadas em maternidade pública. Ramalho *et al.* (1999b), descreveram inadequação dos níveis séricos de retinol ($<1,05\mu\text{mol/l}$) em 23,6% de puérperas e em 55,7% dos seus recém-nascidos também no Rio de Janeiro. Em pré-escolares atendidos em Unidade de Saúde da região, 34,3% apresentaram DVA (retinol sérico $<1,05\mu\text{mol/l}$) e não foi verificada associação da carência com a renda familiar e a escolaridade dos pais (Ramalho *et al.*, 2001a).

Vale ressaltar a descrição, no município do Rio de Janeiro, de um caso de *xerofalmia* (ulceração corneal bilateral) em criança de cinco anos e quatro meses, cujo diagnóstico da DVA foi realizado tardiamente e, com isso, houve perda de visão de um dos olhos (Ramalho *et al.*, 1999a).

Além dos grupos tradicionalmente considerados como de risco, os escolares e adolescentes residentes no município do Rio de Janeiro também tiveram o estado nutricional de vitamina A avaliado, e prevalências importantes de inadequação sérica foram registradas (Ramalho *et al.*, 2003b).

A renda e escolaridade não parecem ser os únicos fatores determinantes da DVA entre os grupos estudados no Rio de Janeiro. Tal constatação reforça a tese de que a ingestão inadequada de alimentos fonte de vitamina A seja um importante fator etiológico da carência, e que sua exclusão ou baixo consumo possam estar mais relacionados a hábitos alimentares inadequados do que a fatores econômicos (Brunken & Flores, 1993; 1994; Coelho *et al.*, 1995; Ramalho & Saunders, 2000; Ramalho *et al.*, 2001a; Ramalho *et al.*, 2003a).

Diante do número de indivíduos acometidos pela DVA no Rio de Janeiro, a exemplo de outras regiões do Brasil (Ramalho *et al.*, 2002), mesmo que a forma mais prevalente seja a subclínica, pode-se sugerir que as medidas de intervenção para a prevenção e o combate à deficiência no país não devam ser limitadas à região Nordeste e à do Vale do Jequitinhonha.

Aspectos Etiológicos da Deficiência de Vitamina A

A principal causa da DVA é a ingestão inadequada de fontes alimentares de vitamina A, para satisfazer as necessidades fisiológicas do indivíduo (Flores & Araújo, 1984; Gibson, 1990; West, 2002, WHO, 1995a).

Quando a ingestão dietética é adequada, mais de 90% da vitamina A corporal permanece armazenada no fígado (células de *Kupffer*) na forma de éster de retinil, permitindo a manutenção dos níveis séricos de retinol a um nível normal ($> 0,7\mu\text{mol/l}$; Sommer, 1995). Quando a ingestão é inadequada por longo período, as reservas hepáticas são mobilizadas, causando uma diminuição dos níveis séricos de retinol, precipitando o aparecimento de alterações celulares, fisiológicas e manifestações clínicas da carência (Sommer, 1995; Sommer & Davidson, 2002).

Calcula-se que a reserva adequada da vitamina possa promover proteção contra a deficiência por um período de quatro semanas em indivíduos adultos com dieta sem vitamina A (IOM, 2001; NRC, 1987; Sommer, 1995).

As crianças têm seu risco potencial aumentado para o desenvolvimento da DVA quando a tríade está presente - *DVA materna resultando em baixas concentrações de vitamina A no leite materno, ingestão inadequada de vitamina A durante e após o desmame e a presença simultânea de doenças prevalentes na infância*, principalmente as infecciosas, como a diarreia que é muito prevalente nas crianças de países em desenvolvimento (Ahmed *et al.*, 2000; Benguigui, 2001; Glasziou & Mackerras, 1993; Miller *et al.*, 2002; Sommer, 1995; Sommer *et al.*, 1984; Sommer *et al.*, 1987; Underwood, 1994; WHO, 1995a).

A relação sinérgica entre infecções e o comprometimento do estado nutricional de vitamina A é bem estabelecida. As infecções reduzem o apetite, aumentam as necessidades de vitamina A e contribuem para a depleção das reservas orgânicas da vitamina, causando diminuição sérica e precipitando o aparecimento da *xerofthalmia* que pode evoluir rapidamente para a cegueira irreversível (Ahmed *et al.*, 2000; McLaren & Frigg, 1999; Solomons & Bulux, 1993; Sommer, 1995; Sommer *et al.*, 1984; Sommer *et al.*, 1987; WHO, 1995a).

Entre os fatores contribuintes para o desenvolvimento da DVA, temos a baixa ingestão de proteínas, lipídeos e zinco na dieta, que podem interferir na absorção dos micronutrientes (Arroyave, 1969; Christian *et al.*, 2001a; McLaren & Frigg, 1999; Solomons & Bulux, 1993; Sommer, 1995; WHO, 1995a).

Fatores socioeconômicos como a pobreza dos indivíduos (particularmente das mulheres), o saneamento ambiental inadequado, o abastecimento de água deficitário, tabus e maus hábitos alimentares, além do grau de conhecimentos sobre nutrição, também podem agravar a carência de vitamina A (Ramalho & Saunders, 2000; Yusuf & Islan, 1994; West, 2002; WHO, 1995a).

Como causas secundárias para a DVA, temos as doenças crônicas: diabetes mellitus, hepatopatas crônicas, doenças do coração, do trato gastrointestinal, como doença celíaca, pancreatite crônica, fibrose cística hepatopatia crônica (especialmente cirrose), e erros metabólicos, como deficiência enzimática (dioxigenase), redução heterozigótica de RBP plasmática. Tais situações podem interferir na absorção, armazenamento e transporte de vitamina A, ou na conversão da pró-vitamina A na forma metabolicamente ativa (McLaren & Frigg, 1999; Queiróz *et al.*, 2000; Solomons & Bulux, 1993).

Diagnóstico da Deficiência de Vitamina A

Diante do impacto da DVA na saúde, especialmente no grupo materno-infantil, é fundamental a detecção da deficiência nos indivíduos ou comunidades em risco, sobretudo, por meio de indicadores confiáveis e que sejam capazes de retratar, com fidedignidade, a situação de saúde e nutrição do grupo estudado. Alguns dos atributos desejáveis para os indicadores são: validade e confiabilidade, capacidade para diagnóstico precoce (deficiência subclínica), simplicidade metodológica, boa cobertura, representatividade, aceitabilidade, baixo custo, e que seja facilmente incorporável às rotinas de saúde, principalmente quando os recursos são escassos (Gaze & Perez, 2002; McLaren & Frigg, 1999; OPS, 1989; Pereira, 1999; Underwood, 1990; Vermelho *et al.*, 2002; WHO, 1996).

Os indicadores nutricionais são fundamentais para a decisão sobre quando os programas de intervenção devem ser *iniciados*, *mantidos*, *modificados* ou *concluídos* na população (Martorell & Habich, 1989; McLaren & Frigg, 1999; OPS, 1989; WHO, 1996).

O IVACG revisou recentemente, em reunião com diversos pesquisadores internacionais, os progressos alcançados nos últimos 25 anos no controle da DVA. Diante da magnitude do problema revelado pelas estatísticas mundiais atualizadas (West, 2002), consideraram a revisão e a validação dos métodos diagnósticos e indicadores da DVA um tema prioritário (Christian, 2002b; Ramakrishnan & Darnton-Hill, 2002; Sommer & Davidson, 2002; Schultink, 2002). Os indicadores classicamente empregados para expressar a DVA são os *indicadores biológicos - funcional, bioquímico, histológico, clínico - e ecológicos* (McLaren & Frigg, 1999; WHO, 1996).

- **Indicador Funcional**

Na avaliação funcional, investiga-se a presença de XN, ou dificuldade de adaptação de visão no escuro, que é a primeira manifestação ocular de DVA (IVACG, 1997; 2002; McLaren & Frigg, 1999; Sommer, 1995; WHO, 1996). Outros termos empregados para designar tal sintoma ocular são nictalopia e hemeralopia, porém, atualmente, o mais empregado é XN.

O papel fisiológico da vitamina A na visão foi elucidado por Wald (1968). Na retina, temos dois tipos de células receptoras: *cones* – responsáveis pelo sentido da cor e pela visão na luz brilhante e os *bastonetes* – responsáveis pela acuidade visual à baixa luminosidade. Nos bastonetes, temos o pigmento retiniano – *rodopsina*, que é uma proteína conjugada. A reação fotoquímica da visão tem início quando o estímulo luminoso atinge a retina, a rodopsina é cindida em seu componente protéico - a opsina, e no carotenóide não-protéico - o retinal (aldeído). Na presença da luz, ocorrem alterações na configuração do retinal, que são acompanhadas por uma mudança global da molécula de rodopsina. Tais alterações funcionam como estímulo molecular para um impulso nas terminações do nervo óptico, que é transmitido ao cérebro, propiciando a visão no escuro. Nos casos de DVA, a síntese de rodopsina pode estar prejudicada, devido à falta da substância precursora, podendo ocorrer então a XN (Harper *et al.*, 1982; IVACG, 2002; Sommer, 1995; Wald, 1968).

Os primeiros casos de XN durante a gestação associados à DVA são encontrados na literatura a partir de 1930 (Green *et al.*, 1931; Ricketts, 1939). Em 1966, Dixit chamou a atenção da comunidade científica para a alta prevalência de XN em 203 gestantes residentes em área rural da Índia. O diagnóstico foi realizado com uma entrevista e foi verificada maior prevalência no terceiro trimestre gestacional. Contudo, o autor sugere que esse sintoma ocular pode ser fisiológico, pois constatou o seu desaparecimento espontâneo na primeira semana após o parto.

O indicador XN passou a ser estudado novamente, a partir da década de 1980. Sommer *et al.* (1980) propuseram uma entrevista padronizada para o diagnóstico da XN em 5.925 pré-escolares da Indonésia. Nesse estudo, comprovou-se a validade (sensibilidade e alta especificidade) da entrevista (avaliação considerada subjetiva) em relação à prova objetiva de visão noturna - *visão escotópica* (considerado como o teste padrão) e retinol sérico.

Para a aplicação do método *visão escotópica* é requerido conhecimento oftalmológico, equipamento complexo e caro, o que dificulta a aplicação em trabalhos

de campo. Tal método bem como os outros também capazes de diagnosticar a cegueira noturna tais como, o tempo de restauração da visão ou eletrorretinografia, necessitam da cooperação e do interesse do indivíduo avaliado, o que dificulta o seu emprego em crianças de pouca idade (McLaren & Frigg, 1999; Sommer, 1995; UNICEF, 1980; WHO, 1996).

Face ao exposto e diante da eficácia comprovada da entrevista em diagnosticar a XN de causa nutricional e da facilidade metodológica, a OMS (WHO, 1996) e OPS (McLaren & Frigg, 1999) propõe uma entrevista padronizada, que constitui um algoritmo para aumentar a sensibilidade e reduzir o erro de classificação da XN, e que deve ser empregada usando-se linguagem local. Para a sua aplicação não é requerido o uso de equipamentos caros e conhecimento oftalmológico especializado.

A entrevista proposta além de ser facilmente aplicada permite a detecção do problema no segmento populacional mais vulnerável às carências nutricionais, como gestantes, nutrizes e até pré-escolares, nos quais a investigação da XN é problemática (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; 2000; 2001b; 2002b; Hussain *et al.*, 1995; Katz *et al.*, 1995; McLaren & Frigg, 1999; Radhika *et al.*, 2002; Sommer *et al.*, 1980; WHO, 1996).

Diante das facilidades metodológicas e da validação do método já comprovada, a investigação da XN, pela entrevista, tem sido rotineiramente empregada nos estudos de base populacional na Ásia, chamando atenção para as altas prevalências (5 a 18%) em gestantes e nutrizes da região. Os estudos indicam o maior risco de morbimortalidade da mãe e dos lactentes nos primeiros seis meses de vida, fortemente associado à XN materna (Biswas *et al.*, 2000; Christian, 2003; Christian *et al.*, 1998; 2000; 2001b; Katz *et al.*, 1995; Radhika *et al.*, 2002; West *et al.*, 1999).

Vale ressaltar que a associação entre a XN e a inadequação dos níveis séricos de retinol materno foi encontrada na maioria dos estudos citados, confirmando a causa nutricional do sintoma ocular e validando a entrevista padronizada para o diagnóstico da DVA materna (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Radhika *et al.*, 2002).

O indicador XN gestacional é atualmente reconhecido como um bom preditor da vulnerabilidade da família para a DVA, e sua investigação rotineira passa a ser recomendada em regiões onde a carência nutricional é prevalente, contribuindo para o fornecimento de subsídios para os programas de intervenção, bem como avaliando o impacto das medidas intervencionais (IVACG, 1997; 2002; Katz *et al.*, 1995; McLaren & Frigg, 1999; WHO, 1996).

Em 2002, a XN durante a gestação passa a ser sugerida como *marcador da gestação de alto risco*, pois permite a identificação de gestantes que necessitam de maior atenção no pré-natal, dada à maior vulnerabilidade para o desenvolvimento de complicações gestacionais, desnutrição, anemia e resultado obstétrico indesejável (IVACG, 2002; Christian, 2002a). Uma prevalência $\geq 5\%$ de XN gestacional passa a ser sugerida para se classificar a DVA como um problema de saúde pública (IVACG, 2002).

Numa revisão sobre os casos de *xeroftalmia* no Brasil, encontram-se alguns casos citados por Pillat (Gama Lobo *apud* Pillat, 1929) a partir de 1866, que descrevem ceratomalácia em criança escrava no Brasil. Em 1883 foi apresentada a primeira descrição de *xeroftalmia*, incluindo a hemeralopia, em escravos brasileiros mal-alimentados (Gouvêa *apud* Pillat, 1929). Castro (1959), no clássico *Geografia da Fome*, apresenta o problema da *fome oculta*, carência de diversas vitaminas, incluindo a de vitamina A. O autor descreve que a XN era comum no início dos anos 1900, principalmente em crianças, na área do sertão nordestino, e aponta a alimentação deficiente como a causa principal. Outros casos de hemeralopia, a falsa cegueira que ocorria durante as secas, também foram citados por Diniz & Santos (2000) nas áreas mais pobres do país. Porém, não se encontrou referência a casos de XN durante a gestação, ou lactação, ou em mulheres na idade reprodutiva e nenhum termo regional foi encontrado para designar o sintoma ocular.

Vale ressaltar que a investigação da XN também atende à preocupação atual dos comitês internacionais de saúde com a saúde ocular, pois a DVA é considerada como uma das causas da cegueira que pode ser prevenida (Hussain *et al.*, 1995, West, 2000; Whitcher *et al.*, 2001).

Como visto, o indicador funcional reúne vantagens metodológicas que permitem seu emprego em estudos populacionais, além de requererem baixo custo operacional para sua aplicação. Entretanto, poucos pesquisadores realizaram uma análise crítica sobre os aspectos relacionados à validação da entrevista padronizada para o diagnóstico da DVA em gestantes, puérperas e nutrizes.

- **Indicador Bioquímico**

Os indicadores bioquímicos são de grande importância e amplamente empregados em estudos epidemiológicos.

O indicador *retinol hepático* é considerado o mais preciso e precoce para a DVA, pois no fígado é encontrada uma percentagem constante (aproximadamente 90%) da reserva corporal de vitamina A. Contudo, o método empregado para tal avaliação, biópsia hepática não é aceitável e eticamente justificável em indivíduos sadios e vivos. Tal metodologia tem sido adotada apenas em indivíduos necropsiados, para caracterizar o estado nutricional de vitamina A de uma população, em locais que não haja restrições culturais ao método (Flores & Araújo, 1984; McLaren & Frigg, 1999; Underwood, 1990).

A dosagem de *retinol sérico* é a mais empregada para avaliar o estado nutricional de vitamina A e identificar populações em risco de DVA (McLaren & Frigg, 1999; Sommer & Davidson, 2002; West, 2002; WHO, 1995a). As prevalências observadas com a aplicação desse método, geralmente, são empregadas no cálculo das estimativas mundiais, revelando a magnitude da DVA em diferentes países (Ballew *et al.*, 2001; Mason *et al.*, 2001; McLaren & Frigg, 1999; OPS, 2001; Pee & Dary, 2002; West, 2002; WHO, 1996).

Além disso, tal dosagem tem sido empregada na validação de outros indicadores do estado nutricional de vitamina A, tais como os indicadores funcional e dietético (Accioly & Souza-Queiróz, 2001; Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Rondó *et al.*, 1999; Sommer *et al.*, 1980).

Contudo, vale ressaltar que os níveis séricos são mantidos sob controle homeostático, não sendo esse indicador muito sensível para pequenas variações da reserva hepática, correlacionando-se melhor com o estoque hepático muito baixo ou muito alto. A ocorrência de infecções e a disponibilidade da proteína carreadora de retinol (*retinol binding protein – RBP*) também podem interferir nos seus níveis. Por essa razão, as concentrações de retinol sérico, nas demais faixas do espectro bioquímico, podem não apresentar boa correlação, no nível individual, com outras medidas bioquímicas (Arroyave & Calcaño, 1979; Blomhoff *et al.*, 1992; Filteau *et al.*, 1993; Flores *et al.*, 1984; McLaren & Frigg, 1999; Olson *et al.*, 1984; Sommer, 1995; Underwood, 1990; WHO, 1996).

Em 1996, a OMS (WHO, 1996) reconheceu que as novas evidências científicas sugeriam risco aumentado de mortalidade entre populações sem sinais clínicos da carência. Tal fato demarcou a necessidade de reavaliação dos pontos de corte e critérios para a interpretação dos níveis séricos de retinol, possibilitando a detecção dos casos de deficiência ainda em estágios subclínicos ou marginais.

Em 1991, demonstrou-se que menos de 5% de crianças brasileiras de baixo nível socioeconômico, com estado nutricional de vitamina A adequado, apresentaram níveis de retinol sérico abaixo de $1,05\mu\text{mol/l}$ (Flores *et al.*, 1991). A partir de análise do *National Health and Nutrition Examinations Survey*, 1988-1994, realizado nos Estados Unidos (Ballew *et al.*, 2001), foi verificado que os níveis séricos de retinol $<1,05\mu\text{mol/l}$ foram mais prevalentes em crianças de quatro a 13 anos e que esses casos foram considerados como estado nutricional de vitamina A subótimo, pois houve aumento dos níveis séricos de retinol após a suplementação com vitamina A (Ballew *et al.*, 2001). Reforçando tal afirmativa, observa-se em populações bem nutridas que os níveis de reserva hepática adequada de vitamina A estão associados aos níveis séricos de retinol maiores que 30mg/dl ($1,05\mu\text{mol/l}$; Ballew *et al.*, 2001; Flores *et al.*, 1991; Sommer, 1995; Sommer & Davidson, 2002; WHO, 1996). Outra evidência é a associação entre o risco persistente de XN e de morbi-mortalidade observada em gestantes e crianças com níveis séricos $<1,05\mu\text{mol/l}$ (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Sommer, 1995; Sommer & Davidson, 2002; West, 2002; WHO, 1996; Wondmikun, 2002).

Este ponto de corte, retinol sérico $<1,05\mu\text{mol/l}$, está sendo utilizado, cada vez mais, para definir a DVA em gestantes, puérperas, recém-nascidos, pré-escolares, escolares e adolescentes (Accioly & Souza-Queiróz, 2001; Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Ramalho *et al.*, 1999b; Ramalho *et al.*, 2001a; Ramalho *et al.*, 2002; Ramalho *et al.*, 2003a; 2003b; Sarni *et al.*, 2002; 2003; Sommer, 1995; Sommer & Davidson, 2002; WHO, 1996; Wondmikun, 2002). E já foi intervalado com outros indicadores bioquímicos (Flores *et al.*, 1991; Flores, 1992; 1993), além de apresentar associação com as alterações funcionais da visão (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Sommer, 1995; Sommer & Davidson, 2002; Wondmikun, 2002). Contudo, essa questão não está totalmente elucidada e alguns pesquisadores continuam a adotar níveis séricos de retinol $<0,70\mu\text{mol/l}$ para a definição da DVA.

Outras medidas e métodos empregados para avaliação bioquímica são: a concentração de RBP no sangue (Pee & Dary, 2002; Underwood, 1990); a resposta relativa à dose – RDR (*relative dose response*) que é aceita como “*padrão ouro*” para avaliar a reserva hepática de vitamina A (Flores *et al.*, 1984; Loerch *et al.*, 1979; Underwood, 1990); a RDR modificada – MRDR (Underwood, 1990; Tanumihardjo *et al.*, 1990); a resposta sérica de trinta dias a uma dose de vitamina A (+S30DR; Flores *et*

al., 1984) e a avaliação das reservas corporais por meio da diluição isotópica (Adams & Green, 1994; Furr *et al.*, 1989).

Um indicador relativamente novo é o teor de vitamina A no leite humano. Esse indicador tem vantagens metodológicas, tais como: ser pouco invasivo, de fácil aceitação e para a obtenção de amostras. É o único indicador capaz de avaliar o estado nutricional de vitamina A do binômio mãe-filho, simultaneamente (Stoltzfus & Underwood, 1995). Tal indicador é recomendado pela OMS (WHO, 1996) para a identificação de grupos ou populações de alto risco de deficiência, e para avaliação da eficácia das medidas de intervenção e monitoramento das mudanças do estado nutricional de vitamina A nas comunidades.

Na seleção dos indicadores bioquímicos, os pesquisadores devem levar em consideração, além das vantagens e desvantagens de cada método, a disponibilidade dos recursos financeiros, de equipamentos e reagentes para a avaliação bioquímica dos teores de vitamina A nas amostras biológicas. Os métodos recomendados pela OMS (WHO, 1996) são: *cromatografia líquida de alta eficiência* (HPLC) que, embora seja o mais específico e sensível, é o de maior custo; *espectrofotometria e fluorescência* que, embora sejam de menor sensibilidade em relação ao HPLC, têm as vantagens de apresentarem resultados confiáveis (uma vez aplicado o procedimento padrão por pesquisadores bem treinados) com menor custo operacional.

- **Indicador Histológico**

Sabe-se que a vitamina A é indispensável para a manutenção da integridade epitelial, pois essa vitamina participa na diferenciação normal das células produtoras de muco. Na avaliação histológica, avalia-se a presença de alterações da conjuntiva ocular, por meio das técnicas Citologia de Impressão da Conjuntiva - CIC e Impressão Citológica com Transferência - ICT (Amedee-Manesme *et al.*, 1987; Natadisastra *et al.*, 1987).

As alterações da conjuntiva ocular podem ocorrer entre quatro e seis semanas antes do aparecimento dos sinais de *xerofthalmia* (McLaren & Frigg, 1999). Embora a interpretação dos resultados do CIC tenha mostrado um grau elevado de reprodutibilidade intra e interobservador, e seja um método diagnóstico recomendado pela OMS (WHO, 1996), a alteração ocular observada por meio dessa técnica diagnóstica não tem mostrado associação com os outros indicadores da DVA em pré-escolares, escolares e adolescentes. Uma possível explicação para tal achado é a

dificuldade em padronizar os critérios adotados para a interpretação dos resultados (Gamadoski *et al.*, 1989; Kjolhede *et al.*, 1989; Valery *et al.*, 2002).

- **Indicador Clínico**

Na avaliação clínica da DVA avalia-se a presença de *xeroftalmia*, cujas alterações funcionais e morfológicas podem evoluir da XN até a cegueira nutricional irreversível (McLaren & Frigg, 1999; Sommer, 1995).

A XN reflete o papel funcional ou fisiológico da vitamina no ciclo visual, que pode ser potencialmente mensurado. Mesmo sendo considerada um sintoma inicial da *xeroftalmia*, a OMS (WHO, 1996) propõe que sua avaliação seja realizada por intermédio da entrevista padronizada, e esse indicador passe a ser considerado como *funcional*.

- **Indicador Ecológico**

Os indicadores *ecológicos* são adequados para indicar o risco de DVA e devem ser associados aos indicadores *biológicos* citados anteriormente. São exemplos de indicadores *ecológicos*: indicadores populacionais do estado nutricional e dietético (tipo de aleitamento materno, estado nutricional de menores de cinco anos, baixo peso ao nascer, disponibilidade de alimentos, hábitos alimentares de grupos vulneráveis, frequência de consumo de alimentos semiquantitativa e qualitativa); indicadores relacionados com enfermidades em pré-escolares (taxa de prevalência de enfermidades, taxa de cobertura de imunização, taxa de casos fatais de sarampo); indicadores socioeconômicos, como grau de escolaridade materna, renda, abastecimento de água, saneamento da moradia, entre outros (McLaren & Frigg, 1999; WHO, 1996).

Na avaliação dietética obtém-se os níveis de ingestão dietética de retinol e carotenóides. O indicador dietético pode ser considerado um indicador precoce, pois reflete a ingestão dietética deficiente que precede as manifestações clínicas (Gibson, 1990; IVACG, 1989). Devido a algumas dificuldades metodológicas de obtenção de informações quantitativas representativas do padrão usual de consumo de alimentos dos indivíduos, tanto em nível individual quanto populacional, esse indicador tem sofrido críticas quanto a sua precisão (Coelho *et al.*, 1995; Diniz & Santos, 2000; Institute of Medicine, 2001; Rondó *et al.*, 1999; Saunders *et al.*, 2000; Underwood, 1990a). Contudo, as vantagens metodológicas dos métodos de inquérito dietético, tais como facilidade operacional, baixo custo, boa aceitabilidade, boa cobertura, fornecimento de

informação rápida acerca do estado nutricional de vitamina A, e possibilidade de ser facilmente incorporado às rotinas das unidades de saúde, têm motivado o aperfeiçoamento das técnicas de investigação dietética.

O método de inquérito dietético mais empregado e recomendado atualmente para avaliação da ingestão dietética de vitamina A é o *freqüência de consumo semi-quantitativo*. Esse método é o mais sensível para captação de surtos de ingestão e de alimentos fontes de vitamina A de consumo sazonal (Coelho *et al.*, 1995; IVACG, 1989; Nimsakul *et al.*, 1994; Saunders *et al.*, 2000; WHO, 1996). Além disso, a validade do método segundo o indicador bioquímico (níveis séricos de retinol) pode ser constatada em estudo realizado com gestantes atendidas em uma maternidade do município do Rio de Janeiro, reforçando a tese que a inadequação dietética é um fator determinante da deficiência nutricional em questão (Accioly & Souza-Queiróz, 2001).

Ainda em relação aos indicadores ecológicos, a taxa de mortalidade em menores de cinco anos (U5MR) é uma proposta de indicador alternativo, recentemente sugerido para avaliação da DVA na população, quando as informações obtidas a partir dos outros indicadores não estão disponíveis (Schultnik, 2002).

Como visto, os indicadores *funcional*, *bioquímico* e *histológico* podem ser considerados como precoces, pois permitem o diagnóstico da *deficiência subclínica*. Enquanto o indicador clínico, apesar de apresentar maior fidedignidade no diagnóstico da DVA, é considerado tardio, pois detecta as manifestações mais avançadas do estado carencial, associadas às alterações morfológicas (McLaren & Frigg, 1999; Sommer, 1995; WHO, 1996).

Cada indicador apresenta vantagens e desvantagens inerentes a cada metodologia empregada. Alguns ainda carecem de validação. Contudo, na tentativa de minimizar as limitações de cada um, recomenda-se a aplicação combinada das provas diagnósticas, bem como a intervalidação entre essas (McLaren & Frigg, 1999; Underwood, 1990b; WHO, 1996).

O Impacto da Deficiência de Vitamina A na Saúde Reprodutiva e do Concepto

A DVA traz profundas repercussões ao organismo e suas conseqüências são: sinais e sintomas oculares (*xerofthalmia* ou “olho seco”), sinais cutâneos (hiperqueratose folicular), e outros sinais, como perda de apetite, inibição do crescimento, anormalidades esqueléticas, perda do paladar e do olfato, litíase renal. A anemia

também pode estar associada à DVA (Bloem *et al.*, 1989; Kothari, 1991; Mejia & Chew, 1988; Mola *et al.*, 1993; Shatrugna *et al.*, 1997) sendo sugerida a suplementação de vitamina A juntamente com a de ferro durante a gestação. Postula-se que a suplementação de ferro ocasione melhor absorção de vitamina A dietética, e o mecanismo proposto é a melhora da função da mucosa intestinal, que pode estar comprometida na deficiência de ferro (Muslimatun *et al.*, 2001; Shatrugna *et al.*, 1997; Suharno *et al.*, 1993).

A vitamina A atua também no metabolismo intermediário, na síntese de ácido ribonucléico (RNA) e proteínas, enzimas, globulinas, glicoproteínas, queratina, na permeabilidade celular e nos metabolismos da hemoglobina e do zinco (Goldblatt & Bernischek, 1927; IOM, 2001; Zile *et al.*, 1979). Blaner (1998), revisando a base molecular de ação da vitamina A, sugere que esta também participe da lista de receptores nucleares e seus ativadores que regulam a expressão de vários genes do metabolismo dos hormônios triiodo-tironina (T3), estrogênio, progesterona, cortisol, aldosterona, testosterona, vitamina D, colesterol e ácidos graxos. Com isso, o estado carencial poderá interferir, por exemplo, na reprodução, no crescimento e desenvolvimento infantil (Panth *et al.*, 1991; Sarni *et al.*, 2002).

Outro importante papel de nutrição da vitamina A é sua participação no sistema imune. Acredita-se que a vitamina A atue na redução da morbi-mortalidade, sendo duas as hipóteses sugeridas (Ross, 1996): a) participação na manutenção da integridade da barreira epitelial; b) participação na manutenção da imunocompetência, melhorando a defesa corporal contra a atuação de agentes patogênicos.

A primeira hipótese diz respeito ao papel da vitamina A na manutenção da integridade do epitélio, pois essa vitamina é indispensável para a diferenciação normal das células produtoras de muco, substância responsável pela hidratação natural da pele e da mucosa. Na DVA ocorre a queratinização do epitélio, tornando-o mais susceptível à penetração de agentes patogênicos, sendo os epitélios dos tratos respiratório e gastrintestinal os mais susceptíveis (Ross, 1992; 1996).

A segunda hipótese diz respeito ao papel da vitamina A na manutenção da síntese de células linfóides; na resposta mediada por anticorpos e por células; participa da ativação de macrófagos; participa da regulação da resposta para patógenos específicos e da manutenção dos níveis adequados de células natural *killer* que tem ação anti-viral e anti-tumoral (IOM, 2001; Ross, 1992; 1996; Semba *et al.*, 1996). A vitamina A estimula ainda a produção de interleucina 1 e outras citocinas que atuam

como mediadoras da inflamação e estimuladoras da produção de linfócitos T e B (IOM, 2001). Também foram descritas alterações nas subpopulações de células T, como diminuição da circulação de CD4/CD8, além de prejuízo na resposta aos antígenos observados na DVA (Semba *et al.*, 1996).

A importância da vitamina A na profilaxia da infecção puerperal foi inicialmente apontada por Green *et al.* (1931). Nesse estudo intervencional, constata que a administração de vitamina A no último mês de gestação e na primeira semana pós-parto reduziu o risco de morbidade puerperal. Recentemente, outros pesquisadores confirmam essa associação e verificaram uma redução de 78% da infecção puerperal após a suplementação com vitamina A (Hakimi *et al.*, *apud* Christian, 2003).

O acúmulo de evidências científicas confirma que a DVA pode comprometer o resultado obstétrico (OMS, 1999). A vitamina A é indispensável para o crescimento e desenvolvimento fetal normal, constituição da reserva hepática fetal e para o crescimento tecidual materno. Como está envolvida na síntese de hormônios esteróides, foi demonstrado que a suplementação de vitamina A traz benefícios para a função fetoplacentária, pois, com o aumento dos níveis de progesterona, um dos responsáveis pelos ajustes corporais gestacionais, favorece o desenvolvimento fetal. A DVA pode promover a reabsorção do embrião, interrompendo o processo reprodutivo pela inter-relação metabólica da vitamina com a síntese dos hormônios progesterona e estrogênio (Panth *et al.*, 1991).

Trabalhos experimentais têm comprovado o papel da vitamina A na embriogênese. A ingestão, tanto deficiente quanto excessiva de vitamina A, está associada aos defeitos congênitos, incluindo o coração, cérebro, crânio, sistema nervoso central, sistemas vascular, urogenital e respiratório, esqueleto, membros, olhos, ouvidos, dependendo de qual sistema está em fase de diferenciação no momento da exposição. Atualmente, sabe-se que muitos dos efeitos são mediados pela expressão gênica regulada por retinóides (Antipatis *et al.*, 1998; IOM, 2001; Sharma & Misra, 1990; Zile, 2001).

Além das alterações no metabolismo do RNA, a DVA na gestação pode favorecer os abortos espontâneos e contribuir para a baixa reserva hepática do recém-nascido (Sharma & Misra, 1990; Simsek *et al.*, 1998; Sivakumar *et al.*, 1997; Underwood, 1987).

Ricketts (1939) relata dois casos de gestantes americanas com DVA (XN) associada com dor de cabeça, falta de concentração, sintomatologia digestiva,

cabelo/pele secos, alteração corneal, sensibilidade a luz, visão borrada, fraqueza, anemia e cansaço. Houve remissão dos sinais e sintomas, observados em ambos os casos, após a suplementação com vitamina A, e houve também uma boa evolução da gravidez. Com base nesses achados, Ricketts (1939) sugere que a XN seja rotineiramente investigada durante a gestação, pois esses dois casos de DVA grave poderiam ter evoluído para o óbito e terem sido erroneamente classificados como toxemia gravídica.

A XN gestacional, que até a década de 1960 foi considerada fisiológica, passou atualmente a ser considerada um preditor de risco para intercorrências gestacionais (Christian *et al.*, 1998; 2000; 2002a; Katz *et al.*, 1995; Radhika *et al.*, 2002).

Sugere-se que as mulheres que apresentam baixas reservas hepáticas de vitamina A, são as mais suscetíveis para o desenvolvimento de sinais clínicos de deficiência durante o período gestacional, no qual ocorre transferência de vitamina A, ininterruptamente, ajustada por processos homeostáticos, visando garantir as necessidades fetais (Christian *et al.*, 1998; Katz *et al.*, 1995). A maior susceptibilidade materna para o desenvolvimento da XN também é observada durante a lactação, principalmente após o 3º mês de amamentação (Katz *et al.*, 1995).

Constata-se também a associação entre a presença da XN e o maior risco de mortalidade materna por infecção respiratória e outras infecções (gastroenterite, sepsis, tuberculose, hepatite, meningite e febre tifóide). A mortalidade materna entre os casos de XN foi significativamente maior, a curto (zero a seis semanas) e longo prazo pós-parto (>52 semanas), do que a das mulheres sem o sintoma ocular (Christian *et al.*, 2000).

Christian *et al.* (2001b), estudando o impacto da XN gestacional na mortalidade infantil nos primeiros seis meses de vida, também no Nepal, constataram mortalidade 63% maior nos lactentes de mães com XN gestacional em comparação com os lactentes de mães sem a XN. E a suplementação materna com pequena dose de vitamina A (7000µg retinol equivalente – RE / semanal) foi mais eficaz na redução da mortalidade infantil, nessa faixa etária, nos filhos de mães com XN gestacional, em comparação com o grupo suplementado com o β-caroteno e o placebo.

Ainda em relação aos achados recentemente disponibilizados a partir dos estudos feitos no Nepal com mulheres em idade reprodutiva, West *et al.* (1999) avaliaram o efeito da suplementação semanal com vitamina A (7000µgRE) ou β-caroteno (42mg) na mortalidade materna, perda fetal e mortalidade infantil. Foram

constatadas 110 mortes maternas: 55 no grupo placebo, 33 no grupo suplementado com vitamina A e 26 no grupo suplementado com β -caroteno. Os achados indicam uma redução de 40% e 49% da mortalidade materna associada à suplementação de vitamina A e β -caroteno respectivamente. Postula-se que o possível mecanismo para esse efeito é o papel da vitamina A na prevenção de hemorragia obstétrica, anemia, hipertensão e infecção na gestação.

Embora o efeito da suplementação durante a gestação, com pequena dose de vitamina A, tenha sido substancial sobre a mortalidade materna, o mesmo benefício ainda não foi confirmado sobre a mortalidade fetal ou de lactentes com até seis meses de idade (Katz *et al.*, 2000).

Evidências epidemiológicas têm sugerido que a DVA é comum entre indivíduos, adultos e crianças infectados pelo HIV. Contudo, a relação causa-efeito ainda não está totalmente elucidada (Kennedy *et al.*, 2000). A transmissão vertical do HIV para o concepto é mais freqüente nas gestantes com DVA. A carência também expõe às mulheres ao maior risco de lesão da mucosa vaginal, que aumenta o risco de transmissão do HIV para o concepto durante o parto vaginal (Kennedy *et al.*, 2000; Ramakrishnan *et al.*, 1999). Semba *et al.* (1997) demonstraram que a DVA em mulheres infectadas pelo HIV é um fator “preditor” para o déficit de crescimento infantil até 2 anos de idade, com redução significativa do peso e comprimento para a idade.

Outra associação, que ainda está em fase de comprovação, diz respeito aos baixos níveis de vitamina A (retinol e carotenóides) entre gestantes com pré-eclâmpsia e eclâmpsia. Sugere-se que a vitamina A atue como antioxidante na prevenção da lesão endotelial, que é uma das alterações fisiopatológicas das SHG (Basu & Arulanantham, 1973; Mikhail *et al.*, 1994; Ramakrishnan *et al.*, 1999; Roberts *et al.*, 2003; Ziari *et al.*, 1996).

Placenta e Transferência Materno-fetal de Vitamina A

Embora a vitamina A seja um dos nutrientes mais estudados da atualidade, as conseqüências da deficiência desse nutriente durante a fase reprodutiva humana ainda intrigam os pesquisadores. Existem limitadas informações sobre o efeito da gestação no metabolismo da vitamina A, bem como sobre os mecanismos de transferência do retinol para o feto e lactente, através da placenta e do aleitamento materno. Alguns autores discutem a suposta regulação exercida pela placenta por meio da análise dos níveis séricos de vitamina A materno e fetal, e já é descrita a presença de receptores para a

vitamina na membrana em borda escova da placenta (Barnes, 1951; Blomhoff *et al.*, 1992; Dimenstein *et al.*, 1996; Sapin *et al.*, 2000; Sivaprasadarao & Findlay, 1988; Sundaram *et al.*, 1998).

Contudo, os níveis de retinol nas placentas humanas têm sido pouco utilizados para a avaliação do estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil, ainda que a placenta seja uma importante via de obtenção deste nutriente para o feto. Talvez por esta razão, não haja metodologia definida para padronização de coleta e análise dos níveis de vitamina A das placentas, o que motivou a proposta de uma metodologia de coleta e análise, visando a utilização potencial do órgão como indicador subclínico dessa carência no grupo materno-infantil.

Até 1950, a maioria dos estudos que objetivaram descrever o estado nutricional de vitamina A maternos e fetais eram pautados na determinação dos níveis plasmáticos de retinol e carotenóides. A placenta começou a ganhar destaque no fim da década de 1940, quando se iniciaram os estudos sobre o transporte materno-fetal de vitamina A em animais e humanos (Barnes, 1951).

A partir de uma observação feita com 20 puérperas, constatou-se não haver correlação entre os teores de vitamina A e de lipídeos da placenta, sugerindo-se que esse órgão não atuava como depósito para a vitamina A. Além disso, foi sugerido que os carotenóides representavam a principal forma de transferência de vitamina A para o feto regulada pelo nível de vitamina A plasmática fetal e independente da placenta (Barnes, 1951).

Esse anexo embrionário, considerado um órgão feto-materno tem um importante papel no desenvolvimento da gestação, pois permite a troca de substâncias entre o sangue materno e o fetal, além de exercer as funções de proteção, nutrição, respiração, excreção e produção de hormônios. Logo nas primeiras semanas de gestação ocorrem modificações no endométrio que vão originar a porção materna da placenta. E a partir do saco coriônico (estrutura do ovo) origina-se a porção fetal da placenta, além do cordão umbilical e as membranas (córion, âmnio, saco vitelino e alantóide) que têm a função de proteger e envolver o conceito (Hyttén & Chamberlain, 1991; Klopper, 1991; Moore & Persaud, 1995). O desenvolvimento fetal está intimamente relacionado à placenta. E muitas anormalidades fetais, incluindo o retardo de crescimento intra-uterino, estão relacionadas à falência desse órgão (Lao & Wong, 1996; Pardi *et al.*, 1997).

A transferência de vitamina A para o feto ocorre por difusão simples, ligada a um complexo protéico envolvendo duas proteínas, a pré-albumina (transtirretina -TTR) e a RBP. A partir de estudos *in vitro*, como os de perfusão e com vesículas de membrana de sinciciotrofoblasto e homogenato de placenta, foram identificados receptores de membrana para RBP em placentas humanas (Dancis *et al.*, 1992; Sivaprasadarao & Findlay, 1988; Sundaram *et al.*, 1998). Tais receptores já foram identificados em membranas de vários tecidos humanos, tais como, retina, células ito e parenquimais do fígado, testículo e cérebro (Blomhoff *et al.*, 1992).

Os mecanismos de transferência de vitamina A através da placenta parecem envolver a transferência direta de RBP materna através da mesma; a liberação do retinol na porção materna da placenta; a associação à apo-RBP (RBP não acoplada com retinol) hepática fetal e a ressíntese de RBP na placenta.

A transferência placentária relacionada às proteínas descritas e associada à deglutição do líquido amniótico representam as primeiras fontes de vitamina A para o feto no período gestacional (Arroyave, 1969; Ismadi & Olson, 1975; Rondó *et al.*, 1997; Underwood, 1974).

A placenta assegura um adequado suprimento de vitamina A para o feto, devido a capacidade adaptativa para variações na ingestão materna de vitamina A, exceto em situações extremas de ingestão excessiva ou em caso de deficiência severa. Acredita-se que a DVA subclínica não exerça efeito na circulação fetal de retinol e carotenóides (Dimenstein *et al.*, 1996; Stoltzfus & Underwood, 1995). Pequena quantidade da vitamina A é transferida para o feto, logo, pode-se supor que mesmo os recém-nascidos de mulheres bem-nutridas nasçam com baixas reservas hepáticas de vitamina A (Stoltzfus & Underwod, 1995).

Contudo, vale ressaltar que em estudo recente realizado em puérperas atendidas em duas maternidades públicas do município do Rio de Janeiro, a associação entre o estado nutricional de vitamina A materno e dos recém-nascidos foi demonstrada. Nesse estudo a DVA subclínica (níveis séricos de retinol $<1,05\mu\text{mol/l}$) foi a mais prevalente e quando a puérpera apresentava a deficiência, 78,4% dos recém-nascidos também apresentavam níveis séricos de retinol inadequados. O que nos leva a pensar que mesmo em populações nas quais a DVA subclínica seja a forma mais prevalente, o conceito também tem risco aumentado de nascer deficiente (Ramalho *et al.*, 1999b).

Os fatores que interferem nos níveis séricos de retinol maternos e conseqüentemente na biodisponibilidade para o feto são: a baixa reserva hepática

materna; mobilização de vitamina A para transferência transplacentária (exacerbada fisiologicamente na fase final da gestação ou em processos infecciosos); prejuízo no transporte do retinol pela redução na síntese de RBP e a inadequação do estado nutricional materno, pois outros nutrientes, como proteínas, lipídeos e zinco, também estão envolvidos na metabolização normal da vitamina A (Arroyave, 1969; Arroyave & Calcaño, 1979; Chen *et al.*, 1996; Christian *et al.*, 2001a; Katz *et al.*, 1995; Rondo *et al.*, 1995; Underwood, 1994).

A teoria da hemodiluição, explicando a diminuição dos níveis séricos maternos, já foi descartada por Sapin *et al.* (2000). Nesse estudo foi constatado em 27 gestantes francesas uma menor proporção de holo-RBP (retinol associada à RBP) nas gestantes e no cordão umbilical, em comparação com 27 controles (não-grávidas), sugerindo modificações no transporte de retinol durante a gestação normal. Os autores concluíram que a quantidade de retinol circulante associado à RBP em gestantes saudáveis é igual a dos controles. Nesse estudo, o teor de retinol médio nas placentas foi apresentado sem nenhuma referência sobre a técnica para obtenção das amostras, não foi feita nenhuma análise crítica dos valores obtidos, nem inferência sobre a associação desses teores ao estado nutricional de vitamina A do binômio mãe-filho.

A reserva hepática fetal é constituída ao longo da gestação, principalmente no terceiro trimestre, sendo o processo mediado pela homeostasia materna (Takasahashi *et al.*, 1975; Underwood, 1987). Logo, supõe-se que a DVA nesta etapa de desenvolvimento intra-uterino pode repercutir mais no estado nutricional de vitamina A do concepto, principalmente no caso de nascimento prematuro, aumentando a suscetibilidade para processos infecciosos, complicações freqüentemente observadas no período neonatal (Coutsoudis *et al.*, 1995; Gebre-Medhin & Valquist, 1984; Newman, 1993; Underwood, 1994).

Dimenstein *et al.* (1996) avaliaram a transferência de vitamina A com base nos níveis de retinol e β -caroteno sérico materno, fetal e na placenta. Verificou-se neste estudo em 31 puérperas do Rio de Janeiro, com estado nutricional de vitamina A classificado como adequado (retinol sérico $\geq 20\mu\text{g/dl}$) e subadequado (retinol sérico $< 20\mu\text{g/dl}$), correlação positiva significativa entre os níveis séricos maternos de β -caroteno e o retinol na placenta. Diante de tal achado, reforçou-se a hipótese que no caso de deficiência materna, o β -caroteno pode ser precursor de retinol na placenta. Além disso, detectou-se a atividade da enzima de clivagem do β -caroteno em membrana

placentária, confirmando a possível conversão da pró-vitamina em vitamina A ativa na placenta (Dimenstein, 1999).

Como pode ser visto, a placenta é um elemento importante na regulação do metabolismo de vitamina A durante a gestação, contudo, não há consenso sobre o teor de vitamina A nesse órgão, padronização da obtenção de amostras da placenta e nem sobre o método para dosagem da vitamina A.

O aleitamento materno pode aumentar as reservas corporais de vitamina A dos lactentes. O colostro é particularmente rico em vitamina A e teores também adequados são encontrados nos leites de transição e maduro. Porém, caso o leite seja proveniente de nutriz com dieta pobre em vitamina A, já que o teor de vitamina A do leite humano apresenta correlação com a ingestão dietética materna, ou ocorra o desmame precoce, as reservas continuarão baixas e aumentarão as chances de desenvolvimento de carência subclínica e *xerofthalmia* em torno de seis meses de vida (IOM, 1991; Miller *et al.*, 2002; Newman, 1993; Stoltzfus & Underwood, 1995; Underwood, 1994).

Sabe-se que as necessidades de vitamina A da mulher durante a lactação excedem as necessidades da gestação para reposição das perdas diárias ocorridas na transferência para o leite humano (IOM, 2001; Lönnerdal, 1986; Underwood, 1993; 1994). A suplementação de vitamina A em nutrizas tem sido descrita como medida para melhorar o estado nutricional de vitamina A das mães e aumentar o teor de vitamina A do leite humano. Conseqüentemente, melhorando a disponibilidade da vitamina para os menores de seis meses de idade, contribuindo para a diminuição da duração de infecções respiratórias e febre nos lactentes (Katz *et al.*, 1995; Roy *et al.*, 1997; Ross & Harvey, 2003).

As gestantes de baixo nível socioeconômico e seus recém-nascidos podem estar em maior risco de DVA. No clássico trabalho de Arroyave *et al.* (1975), é descrita uma diferença altamente significativa entre os níveis séricos de parturientes e de cordão umbilical em mulheres de alto e baixo nível socioeconômico. Verificou-se maior prevalência de níveis deficientes em vitamina A nas mulheres de baixo nível socioeconômico. Tal achado não foi confirmado por Ramalho *et al.* (2003a), em estudo realizado com puérperas brasileiras do município do Rio de Janeiro, no qual foi observado que a DVA materna não apresentou associação estatisticamente significativa às variáveis socioeconômicas - escolaridade materna e renda familiar *per capita*. Com isso, sugere-se que as estratégias de combate à carência, em nível populacional, no

Brasil, devem ser direcionadas a todas as gestantes e puérperas, independentemente das condições socioeconômicas.

Estudando-se ainda a associação entre o estado nutricional de vitamina A e o resultado obstétrico, avaliado segundo o peso ao nascer, alguns autores levantam questões sobre a possível associação entre baixas concentrações de vitamina A no cordão umbilical e crescimento anormal no feto. Essa deficiência nutricional tem sido apontada como possível fator de risco para o retardo de crescimento intra-uterino (Ramalho *et al.*, 1999b; Rondó *et al.*, 1995).

Quanto ao impacto do estado nutricional antropométrico no estado nutricional de vitamina A, achados contraditórios também são descritos. Gebre-Medhin & Vahlquist (1984) observaram menor concentração de retinol hepático em fetos de mulheres mal-nutridas (quando comparadas com mulheres bem-nutridas), embora os níveis circulantes de RBP fossem semelhantes para ambos os casos. Ramalho *et al.* (2001b), estudando o impacto do estado nutricional de puérperas brasileiras na DVA materna e dos conceptos, não evidenciaram a associação entre o estado antropométrico materno pré-gestacional/gestacional com a carência materna e nos recém-nascidos. No estudo de Katz *et al.* (1995), é descrita menor circunferência braquial para mulheres apresentando XN, comparando-se com mulheres sem esse sinal clínico, o que levou os autores a sugerirem que as mulheres mal-nutridas são mais suscetíveis à DVA.

Considerando a dimensão coletiva da DVA e o reconhecimento de que essa carência tem profundas repercussões no processo reprodutivo e na saúde infantil, refletidas nas taxas de morbi-mortalidade desse grupo, torna-se fundamental a identificação precoce dos indivíduos em risco ou com carência ainda em níveis subclínicos. A aplicação de indicadores tais como o cegueira noturna, que reúnem as facilidades metodológicas, baixo custo, pouco invasivos, de metodologia simples, adequados para aplicação rotineira pelo setor saúde, pode fornecer dados que favoreçam a elaboração e implementação de medidas de intervenção direcionadas para os grupos de maior risco. O baixo custo desse procedimento pode viabilizar estudos de diagnóstico em nível nacional, frente à escassez de recursos do setor saúde.

Os conhecimentos sobre a regulação da transferência placentária de vitamina A para o feto, a distribuição intraplacentária, e a relação desta com os níveis séricos da mãe e do recém-nascido ainda são escassos e incompletos. A placenta é uma importante fonte de vitamina A para o feto e, ao mesmo tempo, um reflexo do estado nutricional de vitamina A materno. Assim, apresenta-se com potencial para ser um marcador de DVA no nascimento, uma das etapas cruciais da vida do binômio mãe-filho.

Tais fatos justificam o presente estudo, que pretende adicionar novos conhecimentos sobre a DVA nas puérperas e em seus filhos atendidos em maternidades públicas do município do Rio de Janeiro.

Geral

- ◆ Avaliar o estado nutricional de vitamina A de puérperas e recém-nascidos, e determinar a distribuição intraplacentária dessa vitamina, visando fornecer subsídios para programas de diagnóstico e combate à deficiência.

Específicos

- ◆ Descrever a prevalência de cegueira noturna gestacional em puérperas;
- ◆ Medir os níveis séricos de retinol em puérperas e recém-nascidos (sangue de cordão) e investigar sua possível associação;
- ◆ Avaliar a associação entre a cegueira noturna gestacional e os níveis séricos de retinol materno e dos recém-nascidos;
- ◆ Avaliar a associação entre a cegueira noturna gestacional e as variáveis maternas (história reprodutiva, assistência pré-natal e nutricional, características sociodemográficas e antropométricas);
- ◆ Descrever a distribuição intraplacentária de retinol para definir uma metodologia que permita a utilização de níveis de vitamina A na placenta como marcador da deficiência.

Desenho do Estudo

Com o objetivo de avaliar o estado nutricional de vitamina A de puérperas e recém-nascidos, foram adotados os indicadores *funcional* (XN gestacional) e *bioquímico* (níveis séricos de retinol). Para avaliação da associação entre estes, foi utilizado como marcador de deficiência *os níveis séricos de retinol*. E para estudar a distribuição intraplacentária de vitamina A, foi empregada a avaliação dos *teores de retinol* em diferentes porções da placenta.

Conforme o desenho escolhido para a seleção da amostra e dos procedimentos analíticos e estatísticos, trata-se de um *estudo descritivo do tipo transversal* (Hennekens & Buring, 1987).

Sujeitos da Pesquisa

A população estudada foi constituída por puérperas atendidas em Serviço de Assistência Pré-natal de Maternidade Pública do município do Rio de Janeiro (MRJ).

A amostra estudada correspondeu a 262 puérperas, e seus respectivos recém-nascidos, atendidos na Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (ME/UFRJ), no período de abril de 1999 a dezembro de 2001.

A referida unidade de saúde atende gratuitamente em torno de 1400-1500 puérperas por ano, provenientes de várias regiões do município do Rio de Janeiro, RJ, região sudeste do Brasil (CLAP, 2002).

A escolha da ME para a realização do estudo *a priori*, deveu-se ao fato da referida unidade de saúde, atender clientela acolhida por livre demanda e empregar as rotinas estabelecidas pelo Ministério da Saúde para a assistência pré-natal. Na análise dos dados *a posteriori*, confirmou-se a similaridade entre as características da clientela atendida nessa maternidade das características verificadas para o conjunto das puérperas atendidas pelo setor saúde no MRJ, conforme informações disponibilizadas, via *internet*, pelo Sistema Nacional de Informação sobre Nascidos Vivos – SINASC (DATASUS, 2003) do MS (quadro 1).

Tabela 1: Comparação das puérperas atendidas na Maternidade Escola/UFRJ com o conjunto de puérperas do MRJ, segundo a faixa etária e assistência pré-natal (1999-2001).

Características	Maternidade Escola da UFRJ (1999-2001)		SINASC – Rio de Janeiro, Brasil (2000)	
	n	%	n	%
<i>Idade materna (anos)</i>				
< 20	37	14,1	19069	19,4
20 a 34	199	75,9	68050	69,1
≥ 35	26	10,0	11375	11,5
Total	262	100,0	98494	100,0
<i>Número de consultas na assistência pré-natal</i>				
< 6	60	22,9	26445	27,5
≥ 6	202	77,1	69802	72,5
Total	262	100,0	96247	100,0

Fonte: DATASUS (2003)

O tamanho amostral para o estudo da associação entre a XN gestacional e os níveis séricos de retinol foi obtido segundo as recomendações de Fleiss (1981). Visando a detecção de diferenças de 15% entre duas proporções, para as quais se considerou uma prevalência estimada de 20% de DVA nas puérperas, medida segundo os indicadores bioquímico (níveis séricos de retinol $<1,05\mu\text{mol/l}$) e funcional (XN gestacional). Assim, com α de 5% e um β de 10%, o tamanho amostral estimado foi de 197. Informações complementares sobre a amostra são descritas no tópico 1 do “anexo 1”.

Questões Éticas e Coleta de Dados

A coleta de dados ocorreu depois de firmado o convênio institucional entre o Grupo de Pesquisa em Vitamina A (GPVA) do Instituto de Nutrição Josué de Castro da

Universidade Federal do Rio de Janeiro (INJC/UFRJ) e a referida maternidade (anexo 2) e de aprovado o projeto de pesquisa pela comissão de ética da ME/UFRJ (anexo 3) e comitê de ética da Escola Nacional de Saúde Pública (ENSP) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, anexo 4). Os procedimentos da pesquisa foram elaborados segundo a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde (MS, 1998).

Na tentativa de assegurar que as mulheres atendidas na unidade estudada apresentassem a mesma probabilidade de serem incluídas no estudo, todas as parturientes/puérperas internadas no Centro Obstétrico da ME/UFRJ (até no máximo seis horas após o parto), nos dias de plantão das equipes de entrevistadores, que atendiam aos *critérios de inclusão*, foram convidadas a integrarem o estudo. A coleta de dados ocorreu em três a quatro turnos semanais de plantões de seis horas, em dias da semana alternados e foram incluídos um dia do final de semana e plantão no horário noturno.

Critérios de inclusão: gestação de feto único, não-portadoras de enfermidades clinicamente comprovadas com início no período do pré-gestacional (diabetes mellitus, hepatopatias, cardiopatias e outras) e não-usuárias de suplemento vitamínico-mineral contendo vitamina A no período gestacional.

O entrevistador, após a sua apresentação para a entrevistada, fez os esclarecimentos sobre o *objetivo do estudo*, os *procedimentos* (entrevista, consulta aos prontuários, retirada de sangue da mãe e do cordão umbilical, retirada de amostras da placenta após o parto), os *riscos associados* (os procedimentos de coleta de sangue foram cuidadosamente realizados por técnico de laboratório de análises clínicas capacitado, com material descartável) e os *benefícios* (em nível individual, fornecer o diagnóstico e tratamento da DVA materna, e em nível coletivo, contribuir para o desenvolvimento de novos métodos diagnósticos da deficiência no grupo materno-infantil, por meio de indicadores menos invasivos e mais baratos). No caso da puérpera ter concordado em participar do estudo, foi lido para a entrevistada o termo de consentimento (anexo 5) e solicitada a sua assinatura.

Todas as participantes do estudo receberam uma carta enviada pelo pesquisador responsável (anexos 6), com o diagnóstico do estado nutricional de vitamina A e uma orientação dietética, com ênfase nos alimentos fonte de vitamina A. Para os casos de DVA materna (níveis séricos de retinol $< 1,05\mu\text{mol/l}$), foi oferecido tratamento (suplementação com vitamina A), segundo as recomendações da OMS (1998), respeitando o limite seguro para o grupo.

Informou-se ainda que a recusa das puérperas em participar do estudo não traria nenhum prejuízo para sua assistência na ME/UFRJ, e que tal recusa poderia ocorrer em qualquer momento do estudo. As entrevistadas foram esclarecidas, ainda, sobre a não-existência de qualquer forma de remuneração pela participação no estudo.

Instrumento de Coleta de Dados

O instrumento empregado na coleta de dados foi constituído por questionário preenchido pelo entrevistador (anexo 7), por meio de entrevista e consulta aos prontuários. Esse instrumento foi submetido a pré-teste para sua elaboração final, em subamostra (n = 35; 13,4% da amostra) com as mesmas características da população estudada, cujos dados não foram incorporados à análise final. Foi elaborado um manual de instruções com informações indispensáveis ao preenchimento do instrumento, bem como exemplos de respostas e soluções para as dúvidas que pudessem ocorrer durante o trabalho de campo (anexo 8).

Capacitação dos Pesquisadores

As equipes de trabalho foram compostas pela doutoranda (pesquisador responsável) e por supervisores, entrevistadores e equipes de laboratório. A coleta de dados foi realizada por alunos dos Cursos de Graduação em Nutrição e Enfermagem da UFRJ, que atuaram na qualidade de bolsistas de iniciação científica ou estagiários voluntários supervisionados por bolsistas de aperfeiçoamento e mestrandos do GPVA do INJC/UFRJ. As análises laboratoriais foram realizadas pelas equipes de laboratório do GPVA do INJC/UFRJ, coordenadas e supervisionadas por técnico em análises clínicas (capacitado em dosagem bioquímica de vitamina A). A responsabilidade geral do estudo foi da coordenadora do GPVA do INJC/UFRJ, Prof^ª. Dr^ª. Rejane Andréa Ramalho Nunes da Silva, uma das orientadoras dessa tese, juntamente com a Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Leal, primeira orientadora junto ao Programa de Pós-Graduação da ENSP/FIOCRUZ e da doutoranda responsável.

As equipes foram submetidas a treinamento teórico e prático, de 20 horas, com simulação da aplicação do instrumento de coleta de dados e dos procedimentos empregados na dosagem bioquímica da vitamina A. Os entrevistadores foram orientados a seguir manual de instruções detalhado (anexo 8), elaborado para elucidar dúvidas no trabalho de campo e na padronização da coleta de dados. Ocorreu semanalmente a revisão dos questionários preenchidos, bem como a reciclagem

periodicamente das equipes, visando a obtenção de dados seguros e fidedignos. A confiabilidade das informações obtidas foi avaliada por meio de reteste do instrumento, conforme descrito no tópico “Qualidade dos dados”.

Avaliação do Estado Nutricional de Vitamina A

Foram empregadas as avaliações bioquímica e funcional para o diagnóstico do estado nutricional de vitamina A das puérperas e a avaliação bioquímica para o diagnóstico dos recém-nascidos.

• Avaliação bioquímica (níveis séricos de retinol)

Para determinação dos níveis séricos de retinol maternos, foram analisadas amostras de 5ml de sangue, obtidas por punção venosa em 218 puérperas, em jejum, imediatamente após o parto. Os níveis séricos de retinol, de 223 recém-nascidos foram analisados a partir de amostras de 5 ml de sangue do cordão umbilical, obtidas por ordenha, imediatamente após o parto (Ramalho *et al.*, 1999b). Para avaliação da associação entre o estado nutricional de vitamina A materno e dos recém-nascidos, foram estudados 208 pares de puérperas e seus respectivos conceptos.

As amostras de sangue obtidas foram submetidas à centrifugação (3000 rpm) para separação e extração do soro e imediatamente congeladas a uma temperatura de -20°C no laboratório da maternidade. Periodicamente as amostras congeladas eram transportadas ao Laboratório de Bioquímica do INJC/UFRJ.

As amostras sanguíneas foram processadas, segundo as recomendações do IVACG, para assegurar a qualidade da análise bioquímica de retinol (Arroyave *et al.*, 1982; Barreto-Lins *et al.*, 1988).

A determinação dos níveis séricos de retinol foi realizada por meio da dosagem espectrofotométrica com base no método Bessey *et al.* (1946) modificado (Araújo & Flores, 1978). Tal método tem sido amplamente empregado em estudos realizados no Brasil (Accioly & Souza-Queiróz, 2000; Assis *et al.*, 1997; Ramalho *et al.*, 1999b; Santos *et al.*, 1996; Flores *et al.*, 1991), além de ser recomendado pela OMS (WHO, 1996).

Os níveis séricos de retinol foram agrupados por classes intervalares de $0,35\mu\text{mol/l}$ e o ponto de corte de $< 1,05\mu\text{mol/l}$ foi utilizado para indicar DVA, por ser sugerido como mais apropriado para o grupo materno-infantil e por refletir a deficiência subclínica (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Flores *et al.*, 1991; WHO, 1996).

- **Avaliação bioquímica (teores de retinol nas placentas)**

Para determinação dos teores de retinol em seis diferentes porções de placentas, foram obtidas 276 amostras placentárias, de uma subamostra de 46 puérperas imediatamente após o parto, a separação do recém-nascido e a pesagem dos órgãos. Foram considerados na pesagem, o cordão umbilical e a membrana amniocoriônica (Thomson *et al.*, 1969).

Na seleção das puérperas para essa avaliação, adotou-se como *critérios de inclusão*: idade materna ≥ 20 anos; sem DVA (retinol sérico $\geq 1,05\mu\text{mol/l}$ e sem XN gestacional); não-usuárias de suplemento vitamínico-mineral contendo vitamina A no período gestacional; não-portadoras de enfermidades clinicamente comprovadas com início no período pré-gestacional e sem intercorrências gestacionais; com gestação de feto único e saudáveis e; parto à termo (idade gestacional ≥ 37 semanas) e de recém-nascido saudável e sem más-formações congênicas.

Antes da obtenção das amostras das placentas, foi realizada a separação da membrana amniocoriônica e do cordão umbilical. Foram então obtidas seis amostras de aproximadamente 5g cada, sendo três da porção materna (duas da porção lateral e uma da porção central); e três da porção fetal (duas da porção lateral e uma da porção central). As amostras foram obtidas por incisão realizada com bisturi cirúrgico em ambiente com pouca luminosidade (Arroyave *et al.*, 1982; Barreto-Lins *et al.*, 1988; Flores *et al.*, 1988). As amostras laterais de ambas as porções, materna e fetal, foram obtidas em locais aleatórios e em lados opostos, denominadas lateral 1 e 2.

As amostras das placentas foram lavadas com solução de cloreto de sódio 0,15M até a retirada total de sangue (Dimenstein *et al.*, 1996) e foram estocadas em freezer da ME/UFRJ, em potes individuais esterilizados, com proteção contra a luminosidade, até o transporte para o Laboratório de Bioquímica do INJC/UFRJ.

Antes da análise bioquímica as amostras foram descongeladas e submetidas à homogeneização elétrica, com uma mistura de 1:1 glicerol e água destilada, no total de 5ml para cada grama de placenta. Em seguida, as amostras foram saponificadas com KOH 1N para a remoção de lipídios e proteínas do soro. A extração da vitamina A total foi feita com 2 volumes da mistura de 1:1 de xilol e querosene (Araújo & Flores, 1978; Flores *et al.*, 1988).

A determinação dos teores de retinol nas placentas foi realizada através de dosagem espectrofotométrica (espectrofotômetro marca Beckman DU 650) com base no

método Bessey *et al.* (1946) modificado por Araújo & Flores (1978), e com os mesmos cuidados adotados por Flores *et al.* (1988) para a dosagem de vitamina A hepática.

Para a análise da estabilidade do retinol em amostras congeladas e não-congeladas, avaliou-se a concentração de retinol em 12 amostras de placentas, obtidas imediatamente após o parto, das duas primeiras puérperas a integrarem o estudo, comparando-as com a concentração de retinol de 36 amostras de placentas congeladas por até 6 meses a -20°C , obtidas das seis puérperas na seqüência de coleta estabelecida pela pesquisa.

- **Avaliação funcional (cegueira noturna gestacional)**

Na avaliação funcional da DVA, foi investigada a presença de XN gestacional por meio de entrevista padronizada (quadro 1), segundo recomendações da OMS (WHO, 1996) e OPS (McLaren & Frigg, 1999).

Quadro 1: Avaliação Funcional

- | |
|---|
| <ol style="list-style-type: none">1. Dificuldade para enxergar durante o dia?2. Dificuldade para enxergar com pouca luz ou à noite?3. Tem cegueira noturna? |
|---|

Foram considerados *casos* de XN, aqueles em que a entrevistada relatava dificuldade em enxergar com pouca luz ou à noite durante o período gestacional e não apresentava dificuldade em enxergar durante o dia, ou seja, quando a resposta da pergunta 1 foi *Não* e ao menos uma resposta das perguntas 2 ou 3 foram *Sim* (Christian *et al.*, 1998; 2000; Katz *et al.*, 1995, McLaren & Frigg, 1999; WHO, 1996). Caso a entrevistada apresentasse algum problema ocular corrigido por óculos ou lente de contato, era questionada a capacidade de visão com o uso destes.

Foi explicado para a entrevistada que o termo *cegueira noturna* tratava-se de uma alteração do padrão habitual de visão com pouca luz ou à noite na gestação atual, e da dificuldade de adaptação da visão na mudança de um ambiente claro para um escuro, adotando-se como referência o padrão de visão noturna no período pré-gestacional.

A entrevista foi realizada usando-se linguagem simples e como exemplo foi citada a dificuldade em reconhecer pessoas e identificar objetos em locais com pouca luminosidade ou a dificuldade em caminhar no escuro e em locais com pouca iluminação comuns na cidade onde foi realizado o estudo. Esse recurso foi empregado, pois, não é de conhecimento da autora nenhum termo local para identificação da XN e nem foi referido pelas mulheres entrevistadas a existência de tal termo específico para designar o sintoma ocular na cidade do Rio de Janeiro (Christian, 2002b).

Para validação do diagnóstico da XN gestacional, realizado por meio da entrevista padronizada, estudou-se a associação desse indicador com o indicador bioquímico (níveis de retinol sérico), considerado nesse estudo como teste padrão para a determinação da DVA materna e dos recém-nascidos. Tal procedimento tem sido empregado por diversos pesquisadores (Biswas *et al.*, 2000; Christian *et al.*, 1998; Hussain *et al.*, 1995; Sommer *et al.*, 1980). A validade do indicador funcional (XN gestacional) foi então analisada pelo cálculo da sensibilidade e especificidade em relação ao teste padrão (Pereira, 1999; Szklo & Nieto, 2000). Maior detalhamento acerca do cálculo da sensibilidade e especificidade do diagnóstico da XN é apresentado no tópico 3 do “anexo 1”.

- **Avaliação do estado nutricional antropométrico materno e dos recém-nascidos**

Para avaliação do estado antropométrico materno, foram coletadas as informações sobre as medidas: peso pré-gestacional referido pela mulher durante a assistência pré-natal, ou o peso medido antes da 14ª semana gestacional, para os casos nos quais o peso pré-gravídico não fosse conhecido (WHO, 1995b); peso pré-parto ou o peso registrado na última consulta da assistência pré-natal (Abrams & Parker, 1990); e estatura, tais informações foram coletadas mediante consulta aos prontuários e/ou pesagem das entrevistadas. Vale ressaltar que 96,2% das mulheres estudadas foram acompanhadas pelo serviço de assistência pré-natal da ME/UFRJ, onde suas medidas antropométricas foram registradas nos prontuários. E as demais puérperas foram acompanhadas por serviço de assistência pré-natal de outras unidades de saúde, cujas informações referentes à história obstétrica atual eram disponibilizadas no cartão da gestante.

Para avaliação antropométrica pré-gestacional, foi calculado o Índice de Massa Corporal – IMC (peso [kg]/estatura [m]²) e os pontos de corte recomendados pelo

Institute of Medicine (IOM, 1990; 1992) foram adotados para sua interpretação, classificando as integrantes do estudo classificadas em: Baixo peso (IMC $<19,8$); Normal (IMC $\geq 19,8$ e $\leq 26,0$); Sobrepeso (IMC $> 26,0$ e $\leq 29,0$) e Obesidade (IMC $> 29,0$).

O ganho de peso gestacional total foi calculado por meio de subtração do peso pré-parto pelo peso pré-gestacional. A adequação do ganho de peso foi avaliada segundo as recomendações do IOM (1990; 1992), conforme as faixas de ganho de peso recomendadas pelas categorias de IMC pré-gestacional.

Para os casos nos quais o peso pré-gestacional não era disponível, avaliou-se a adequação do ganho de peso gestacional, segundo a recomendação do MS (2000a).

A escolha das referidas recomendações para avaliação da adequação do ganho de peso gestacional (IOM, 1990; 1992; MS, 2000a) deve-se ao fato das mesmas terem sido validadas para a referida população estudada, pois se verificou a associação significativa entre a adequação do ganho de peso gestacional, avaliada segundo estas metodologias com a variável desfecho de resultado obstétrico - *peso ao nascer*-, em uma subamostra de 208 mulheres incluídas no estudo (Saunders *et al.*, 2002).

Para a avaliação antropométrica dos recém-nascidos, foram coletadas informações dos prontuários, conforme procedimentos adotados pelo serviço de neonatologia da ME/UFRJ. Com base nas informações peso e, idade gestacional ao nascimento corrigida segundo o método proposto por Capurro (1978), avaliou-se a correlação peso/idade gestacional ao nascer, segundo o gráfico de Lubchenco *et al.* (1963), classificando os recém-nascidos em pequeno para idade gestacional (PIG), adequado para idade gestacional (AIG) e grande para idade gestacional (GIG). Obtiveram-se também as medidas comprimento e intercorrências clínicas ao nascer.

Informações Complementares

Em adição, foram colhidas informações pertinentes como dados pessoais, história obstétrica, informações obstétricas da gestação atual (idade gestacional ao parto, segundo a data da última menstruação – DUM - ou ultra-sonografia obstétrica) e dados sociodemográficos por meio de consulta aos prontuários e entrevista com as puérperas.

As informações acerca das intercorrências maternas, desenvolvidas durante o período gestacional, foram coletadas por intermédio de consultas aos pareceres médicos dos prontuários ou cartão da gestante ou, ainda, pela interpretação dos exames

laboratoriais realizados durante a gestação, seguindo as recomendações do MS (1995; 2000a, 2000b).

Qualidade dos Dados

No estudo da confiabilidade das informações obtidas, verifica-se a consistência dos resultados quando a medição se repete, por diferentes entrevistadores ou em diferentes momentos (Almeida Filho & Rouquayrol, 1992; Pereira, 1999). Nesse estudo, foi realizado reteste do instrumento por dois entrevistadores em uma subamostra correspondendo a 13% das puérperas (n=33), selecionadas aleatoriamente ainda no período de internação que variou de dois a três dias. Vale ressaltar que o reteste foi aplicado apenas para a coleta das informações obtidas por meio de entrevista ou consultas aos prontuários. A escolha desse período para o reteste foi com o intuito de que as puérperas recordassem com mais facilidade da informação acerca da sua capacidade de visão do período gestacional atual, pois a XN pode evoluir para a cura ainda nos primeiros dias do período pós-parto (Dixit, 1966).

Para avaliar a concordância entre os entrevistadores, empregou-se a estatística *kappa* (*k*), que é apropriada para avaliação da reprodutibilidade de variáveis categóricas (Pereira, 1999; Szklo & Nieto, 2000), e definiu-se o intervalo de confiança (IC) de 95% (Abramson & Gahlinger, 1993-1999). Na interpretação do *k* adotou-se a classificação proposta por Landis & Koch (1977), considerando-se $k > 0,61$ como boa concordância. O coeficiente de correlação intraclassa (ICC) com IC de 95% foi calculado para avaliar a concordância de variáveis contínuas ou ordinais (Pereira, 1999; Szklo & Nieto, 2000) no pacote estatístico SPSS for windows versão 10.0.

Maior detalhamento sobre o estudo da confiabilidade dos dados é encontrado no tópico 2 do “anexo 1”.

Análise Estatística

Iniciou-se a análise dos dados com uma avaliação exploratória, identificação e exclusão dos *outliers* (valores extremos) de retinol sérico materno e dos recém-nascidos, e de retinol das placentas, definidos como média mais ou menos três desvios padrões (Hair *et al*, 1995). Com isso, foram excluídos os casos de retinol sérico com valores $3,83\mu\text{mol/l}$ e $4,38\mu\text{mol/l}$, respectivamente, observados em um recém-nascido e em uma puérpera. Na análise dos valores de retinol nas placentas, foram encontrados sete casos de valores extremos, sendo dois valores ($17,17\mu\text{g/g}$ e $12,54\mu\text{g/g}$) na porção fetal central;

um valor (13,07µg/g) na porção fetal lateral 1; dois valores (18,13µg/g e 21,97µg/g) na porção materna central; um valor (7,92µg/g) na porção materna lateral 1; e um valor (4,54µg/g) na porção materna lateral 2. Com isso, tais casos foram excluídos.

Foram calculadas as medidas de tendência central e de dispersão das variáveis contínuas. Aplicou-se o teste de aderência à curva normal *Kolmogorov-Smirnov*, visando avaliar a simetria da curva de distribuição dos níveis de retinol sérico materno e dos recém-nascidos. Identificou-se a distribuição dos valores referidos como não normal e tentou-se fazer a transformação pelo cálculo da raiz quadrada das medidas, porém, o nível de significância das estimativas não foi alterado.

O teste *t-Student* foi empregado para testar a igualdade de duas médias, para uma significância estatística de 5%. Os testes *Mann-Whitney* e *Kruskal-Wallis* foram empregados para testar diferenças entre valores de retinol nas placentas, também adotando-se uma significância estatística de 5%.

Na análise “bivariada”, verificou-se a associação entre a variável desfecho (XN gestacional) e as variáveis independentes, por meio do teste do qui-quadrado, para uma significância estatística de 5%. Calculou-se também a *odds ratio* (OR) *bruta*, com o IC de 95%.

Na análise multivariada, testou-se um modelo de regressão logística, pelo método *stepwise*, para a identificação das variáveis preditoras da XN gestacional (variável dependente). Calcularam-se as OR ajustadas, bem como o IC de 95%. Adotaram-se, nesta análise, os níveis de significância $p < 0,10$ e $p > 0,05$, como critérios de inclusão e remoção das variáveis no modelo, respectivamente. As análises foram realizadas no pacote estatístico SPSS for windows versão 10.0.

No estudo da distribuição intraplacentária de retinol, calculou-se o valor médio das seis porções de placentas para cada órgão, definido como o *valor mais provável* (VMP) do conteúdo de vitamina A de cada placenta. O valor de vitamina A de cada porção analisada foi comparado com o VMP, e foi testada a significância da diferença entre as razões médias obtidas de cada região com o VMP por meio da regressão linear. Foram calculados os coeficientes de correlação de cada porção de placenta analisada com o VMP, cuja significância foi testada pelos testes F e *t-Student*, adotando-se 5% como nível de significância estatística (Flores *et al.*, 1988). As análises foram realizadas no pacote estatístico SPSS for windows versão 8.0.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMS, B. & PARKER, J.D., 1990. Maternal weight gain in women with good pregnancy outcome. *Obstetrics and Gynecology*, 76: 1-7.
- ABRAMSON, J.H. & GAHLINGER, P.M., 1993-1999. *Computer Programs for Epidemiologists (PEPI). Kappa – Agreement between categorical ratings*. Versão 3.0. Stone Mountain: USA. <<http://www.usd-inc.com>>.
- ACCIOLY, E. & SOUZA-QUEIRÓZ, S., 2001. Deficiência de vitamina A em embarazadas assistidas em uma maternidade pública em Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Chilena de Nutrición*, 27: 352-357.
- ADAMS, W.R. & GREEN, M.H., 1994. Prediction of liver vitamin A in rats by an oral isotope dilution technique. *Journal of Nutrition*, 124: 1265-1270.
- AHMED, F.U.; RAHMAN, E. & MAHMOOD, C.B., 2000. Vitamin A deficiency in children with acute diarrhoea: a community-based study in Bangladesh. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 18: 119-122.
- ALMEIDA FILHO, N. & ROUQUAYROL, M.Z., 1992. A definição de caso na epidemiologia. In: *Introdução à Epidemiologia Moderna*, pp. 28-44, Belo Horizonte: COOPMED Editora.
- AMEDEE-MANESME, O.; LUZEAU, R.; CARLIER, C. & ELLRODT, A., 1987. Simple impression cytology method for detecting vitamin A deficiency. *Lancet*, 1: 1263.
- ANTIPATIS, C.; ASHWORTH, C.J.; GRANT, G.; LEA, R.G.; HAY, S.M. & REES, W., 1998. Effects of maternal vitamin A status on fetal heart and lung: changes in expression of key developmental genes. *American Journal of Physiology*, 275: L1184-L1191.
- ARAÚJO, C.R.C. & FLORES, H., 1978. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clinical Chemistry*, 24: 386.
- ARAÚJO, R.L.; ARAÚJO, M.B.D.G.; SIEIRO, R.O.; MACHADO, R.D.P. & LEITE, B.V., 1986. Diagnóstico da situação de hipovitaminose A e da anemia nutricional na população do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 36: 642-652.
- ARROYAVE, G., 1969. Interrelations between protein and vitamin A and metabolism. *American Journal of Clinical Nutrition*, 22: 1119-1128.

ARROYAVE, G. & CALCAÑO, M., 1979. Descenso de los niveles sericos de retinol y su proteina de enlace (RBP) durante las infecciones. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 29: 233-260.

ARROYAVE, G.; CHICHESTER, C.O.; FLORES, H.; GLOVER, J.; MEJÍA, L.A.; OSLON, J.A.; SIMPSON, K.L. & UNDERWOOD, B.A., 1982. *Biochemical methodology for the assessment of vitamina A status*. Washington: International Vitamin A Consultative Group. The Nutrition Foundation.

ARROYAVE, G.; MOSCOSO, Y.M. & LECHTIG, A., 1975. Vitamin A en sangre de embarazadas y sus recién nacidos de dos grupos socio economicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 25: 283-290.

ASSIS, A.M.O. & BARRETO, M.L., 2002. Suplementação com vitamina A: impacto na morbidade e efeitos adversos. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 5: 84-92.

ASSIS, A.M.O.; PRADO, M.S.; FREITAS, M.C.S. & CRUZ, M.M., 1997. Deficiência de vitamina A e desnutrição energético protéica em crianças de localidades do semi-árido baiano. *Revista de Nutrição da PUCCAMP*, 10: 70-78.

BALLEW, C.; BOWMAN, B.; SOWELL, A.L. & GILLESPIE, C., 2001. Serum retinol distributions in residents of the United States: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 586-593.

BARNES, A.C., 1951. The placental metabolism of vitamin A. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 61: 368-372.

BARRETO-LINS, M.H.C.; CAMPOS, F.A.C.S.; AZEVEDO, M.N.A. & FLORES, H., 1988. A re-examination of the stability of retinol in blood and serum, and effects of standardized meal. *Clinical Chemistry*, 34: 2808-2810.

BASU, R.L. & ARULANANTHAM, R., 1973. A study of serum protein and retinol levels in pregnancy and toxemia of pregnancy in women of low socio-economic status. *Indian Journal of Medical Research*, 61:589-595.

BENIGUI, Y., 2001. Perspectiva en el control de enfermedades en los niños: Atención Integrada a las Enfermedades Prevalentes de la Infancia. *Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil*, 1: 7-19.

BESSEY, O.A.; LOWRY, O.H.; BROCK, M.J. & LÓPEZ, J.A., 1946. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *Journal of Biological Chemistry*, 1: 177-188.

- BISWAS, A.B.; MITRA, N.K.; CHAKRABORTY, I.; BASU, S. & KUMAR, S., 2000. Evaluation of vitamin A status during pregnancy. *Indian Medical Association*, 98: 525-529.
- BLANER, W.S., 1998. Recent advances in understanding the molecular basis of vitamin A action. *Newsletter*, 2:3-6.
- BLOEM, M.W.; WEDEL, EGGER, R.J.; SPEEK, A.J.; SCHRIJVER, J.; SAOWAKONTHA S. & SCHREURS, W.H., 1989. Iron metabolism and vitamin A deficiency in children in Northeast Thailand. *American Journal of Clinical Nutrition*, 50: 332-338.
- BLOMHOFF, R.; GREEN, M.H. & NORUM, K.R., 1992. Vitamin A: Physiological and biochemical processing. *Annual Review of Nutrition*, 12: 37-57.
- BRUNKEN, G.S. & FLORES, H., 1993. Consumption of vitamin A rich foods. *Xerophthalmia Club*, 54: 3-4.
- BRUNKEN, G.S. & FLORES, H., 1994. Why do diets lack vitamin A. *Nutriview*, 3:1-3.
- CAPURRO, H.; KONICHEZKY, S.; FONSECA, D. & CALDEYRO-BARCIA, 1978. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *Journal of Pediatrics*, 93: 120-122.
- CARVALHO, C.M.G.; FARFAN, J.A; WILKE, B.C. & VENCOVSKY, R., 1995. Prevalência de hipovitaminose A em crianças da periferia do município de São Paulo, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 11: 85-96.
- CARVALHO, P.B.M. & DUTRA DE OLIVEIRA, J.E., 1979. Disponibilidade de Vitamina "A" na alimentação de um grupo de pré-escolares na cidade de Ribeirão Preto. *Revista da Associação Brasileira da Indústria de Alimentos ABIA/SAPRO*, 44: 18-28.
- CASTRO, J., 1959. *Geografia da fome*. Rio de Janeiro: Livraria Editora Casa do Estudante do Brasil.
- CHEN, H-W.; LII, C-K; OU, C-C.; WONG, Y-C.; KUO, B-J. & LIU, C-H., 1996. Plasma vitamins A and E and red blood cell fatty acid profile in newborns and their mothers. *European Journal of Clinical Nutrition*, 50: 556-559.
- CHRISTIAN, P., 2002a. Maternal nutrition, health, and survival. *Nutrition Reviews*, 60: S59-S63.
- CHRISTIAN, P., 2003. Micronutrients and Reproductive Health Issues: An International Perspective. *Journal of Nutrition*, 133: 1969S-1973S.

- CHRISTIAN, P., 2002b. Recommendations for indicators: night blindness during pregnancy – a simple tool to assess vitamin A deficiency in a population. *Journal of Nutrition*, 132: 2884S-2888S.
- CHRISTIAN, P.; KHATRY, S.K.; YAMINI, S.; STALLINGS, R.; LeCLERQ, S.; SHRESTHA, S.R.; PRADHAN, E.K. & WEST, JR.K.P., 2001a. Zinc supplementation might potentiate the effect of vitamin A in restoring night vision in pregnant Nepalese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73: 1045-1051.
- CHRISTIAN, P.; WEST, JR.K.P.; KHATRY, S.K.; KATZ, J.; LeCLERQ, S.C.; KIMBROUGH-PRADHAN, E.; KATZ, J. & SHRESTHA, S.R., 2001b. Maternal night blindness increases risk of mortality in the first 6 months of life among infants in Nepal. *Journal of Nutrition*, 131: 1510-1512.
- CHRISTIAN, P.; WEST, JR.K.P.; KHATRY, S.K.; KATZ, J.; SHRESTHA, S.R.; KIMBROUGH-PRADHAN, E.; LeCLERQ, S.C. & POKHREL RP., 1998. Night blindness of pregnancy in rural Nepal – nutritional and health risks. *International Journal of Epidemiology*, 27:231-237.
- CHRISTIAN, P.; WEST, JR.K.P.; KHATRY, S.K.; KIMBROUGH-PRADHAN, E.; LeCLERQ, S.C.; KATZ, J.; SHRESTHA, S.R.; DALI, S.M. & SOMMER A., 2000. Night blindness during pregnancy and subsequent mortality among women in Nepal: Effects of vitamin A and β -carotene supplementation. *American Journal of Epidemiology*, 152:542-547.
- CLAP (Centro Latinoamericano de Perinatología y Desarrollo Humano. Oficina Sanitaria Panamericana. Organización Mundial de La Salud), 2002. Sistema Informático Perinatal SIP para windows e internet. Versión 1.4. Montevidéo: CLAP <<http://www.clap.ops-oms.org>>.
- COELHO, C.S.P.; RAMALHO, R.A. & ACCIOLY, E., 1995. Vitamina A: Inquérito dietético na avaliação do estado nutricional em gestantes. *Ars Cvrandi Clínica Médica*, 6: 44-60.
- COUSOUDIS, A.; ADHIKARI, M. & COOVADIA, H.M., 1995. Serum vitamin A (retinol) concentrations and association with respiratory disease in premature infants. *Journal of Tropical Pediatrics*, 41: 230-233.
- DANCIS, J.; LEVITZ, M.; KATZ, J.; WILSON, D.; BLANER, W.S.; PIANTEDOSI, R. & GOODMAN, D., 1992. Transfer and metabolism of retinol by the perfused human placenta. *Pediatric Research*, 32: 195.

DARY, O. & MORA, J., 2002. Food fortification to reduce vitamin A deficiency: International Vitamin A Consultative Group Recommendations. *Journal of Nutrition*, 132: 2927S-2933S.

DATASUS., 2003. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. Dados sobre o Sistema Nacional de Informação sobre Nascidos Vivos (SINASC). 9 de agosto de 2003. <<http://www.datasus.gov.br>>

DIMENSTEIN R., 1999. *Estudo da transferência materno fetal de vitamina A e carotenóides sob condições adequadas e sub-adequadas do estado nutricional materno em vitamina A*. Tese de Doutorado, Rio de Janeiro: Instituto de Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

DIMENSTEIN, R.; TRUGO, N.M.F.; DONANGELO, C.M.; TRUGO, L.C. & ANÁSTACIO, A.S., 1996. Effect of subadequate maternal vitamin A status on placental transfer of retinol and beta-carotene to the human fetus. *Biology of the Neonate*, 69: 230-234.

DINIZ, A.S. & SANTOS, L.M.P., 2000. Hipovitaminose A e xeroftalmia. *Jornal de Pediatria*, 76: S311-S322.

DIXIT, D.T., 1966. Night-blindness in third trimester of pregnancy. *Indian Journal of Medical Research*, 54: 791-795.

DOLINSKY, M., 1999. *Avaliação do estado nutricional de vitamina A de gestantes atendidas em uma maternidade pública do município do Rio de Janeiro*. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

FAVARO, R.M.O.; SOUZA, N.V.; BATISTA, S.M.; FERRIANI, M.G.C.; DESAI, I.D. & DUTRA DE OLIVEIRA, J.E., 1986. Vitamin A status of young children in southern Brazil. *American Journal of Clinical Nutrition*, 43: 852-858.

FAWZI, W.W.; CHALMERS, T.C.; HERRERA, M.G. & MOSTELLER, F., 1993. Vitamin A supplementation and child mortality- A meta-analysis. *Journal of The American Medical Association*, 269: 898-903.

FILTEAU, S.M.; MORRIS, S.M.; ABBOT, R.A.; TOMKINS, A.M.; KIRKWOOD, B.R. & ARTHUR, J., 1993. Influence of morbidity n serum retinol of children in a community-based study in northen Ghana. *American Journal of Clinical Nutrition*, 58:192-197.

FLEISS, J.L., 1981. Determining sample sizes needed to detect a difference between two proportions. In: *Statistical methods for rates and proportions* (J.L.Fleiss), pp. 33-49, New York: John Wiley & Sons.

FLORES, H., 1993. Frequency distribution of serum vitamin A levels in cross-sectional surveys and in surveys before and after vitamin A supplementation. In: *A brief guide to current methods of assessing vitamin A status* (International Vitamin A Consultative Group – IVACG), pp. 9-11, Washington: The Nutrition Foundation.

FLORES, H., 1992. The Relative Dose Response (RDR) in malnourished children. *Xerophthalmia Club*, 49: 4-5.

FLORES, H. & ARAÚJO, C.R., 1984. Liver levels of retinol in unselected necropsy specimens: a prevalence survey of vitamin A deficiency in Recife, Brazil. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40: 146-152.

FLORES, H.; AZEVEDO M.N.A.; CAMPOS, F.A.C.S.; BARRETO-LINS, M.H.C.; CAVALCANTI, A.A.; SALZANO, A.; VARELA, R.M. & UNDERWOOD, B., 1991. Serum vitamin A distribution curve aged 2-6 know to have adequate vitamin A status: a reference population. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54: 707-711.

FLORES, H.; CAMPOS, F.A.C.S.; ARAÚJO, C.R.C. & UNDERWOOD, B. A., 1984. Assessment of marginal vitamin A deficiency in Brazilian children using the relative dose response procedure. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40:1281-1289.

FLORES, H.; RAMALHO, R.A.G. & RIBEIRO, A.R.L.P., 1988. Intrahepatic distribution of vitamin A in humans and rats. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 58: 276-280.

FURR, H.C.; AMEDEE-MANESME, O., CLIFFORD, A.J., BERGEN H.R.3rd; JONES, A.D.; ANDERSON, D.P. & OLSON, J.A., 1989. Vitamin A concentrations in liver determined by isotope dilution assay with tetradeuterated vitamin A and by biopsy in general healthy adult humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 713-716.

GADOMSKI, A.M.; KJOLHEDE, C.L.; WITTPENN, J.; BULUX, J.; ROSAS, A.R. & FORMAN, M.R., 1989. Conjunctival impression cytology (CIC) to detect subclinical vitamin A deficiency: comparison of CIC with biochemical assessments. *American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 495-500.

GAZE, R. & PEREZ, M.A., 2002. Vigilância Epidemiológica. In: MEDRONHO, R. *Epidemiologia*, pp. 73-89, Rio de Janeiro: Atheneu.

GEBRE-MEDHIN, M. & VALQUIST, A., 1984. Vitamin A nutrition in human fetus: A comparison in Sweden and Ethiopia. *Acta Paediatrica Scandinavica*, 73: 333-340.

- GIBSON, R.S., 1990. Food Consumption of individuals. In: *Principles of Nutritional Assessment*, pp. 34-57, New York: Oxford University Press.
- GLASZIOU, P.P. & MACKERRAS, D.E.M., 1993. Vitamin A supplementation in infectious disease: a meta-analysis. *British Medical Journal*, 306: 366-370.
- GOLDBLATT, H. & BENISCHIEK, M., 1927. Vitamin A deficiency and metaplasia. *The Journal of Experimental Medicine*, 46: 699-707.
- GOLDENBERG, R.L., 2003. The plausibility of micronutrient deficiency in relationship to perinatal infection. *Journal of Nutrition*, 133: 1645S-1648S.
- GREEN, H.N.; PINDAR, D.; DAVIS, G. & MELLANBY, E., 1931. Diet as a prophylactic agent against puerperal sepsis. *British Medical Journal*, 2: 595-598.
- GRUPO DE TRABALHO SOBRE VITAMINA A Y NEUMONÍA, 1996. Posibles intervenciones para prevenir la neumonía infantil en los países en desarrollo: metanálisis de datos de ensayos sobre el terreno para evaluar los efectos de los suplementos de vitamina A en la morbilidad y la mortalidad por neumonía. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 121: 25-39.
- HAIR, J.F.; ABDERSON, R.E.; TATHAM, R.L. & BLACK, W.C., 1995. Examining your data. In: *Multivariate data analysis with readings*, pp. 32-75, New Jersey: Prentice Hall.
- HARDY, E.E., 1998. Editorial. *Cadernos de Saúde Pública*, 14: 4-5.
- HARPER, H.A.; RODWELL, V.W. & MAYES, P.A., 1982. Vitaminas Lipossolúveis. In: *Manual de Química Fisiológica*, pp. 154-166, São Paulo: Atheneu Editora São Paulo.
- HENNEKENS, CH. & BURING, J.E., 1987. Descriptive Studies. In: *Epidemiology in Medicine* (S.L. Mayrent), pp.100-131, Boston: Little, Brown and Company.
- HORNER, M.R.; DOREA, J.G.; PEREIRA, M.G.; BEZERRA, V.L. & SALOMON, J.B., 1981. Inquérito dietético com base no consumo familiar: o caso de Ilhéus, Bahia, Brazil, em 1979. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 31: 726-739.
- HUMPHREY, J.H.; WEST, JR.K.P. & SOMMER, A., 1992. Vitamin A deficiency and attributable mortality among under-5-year-olds. *Bulletin of the World Health Organization*, 70: 225-32.
- HUSSAIN, A.; KVALE, G. & ODLAND, M., 1995. Diagnosis of night blindness and serum vitamin A level: a population-based study. *Bulletin of the World Health Organization*, 73: 469-476.

- HYTTEN, F. & CHAMBERLAIN, G., 1991. *Clinical Physiology in Obstetrics*. (F. Hytten & G. Chamberlain), Great Britain: Blackwell Scientific Publications.
- IOM (Institute of Medicine), 2001. Vitamin A. In: *Dietary Reference Intakes for Vitamins A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*, pp.82-161. Washington: National Academy Press.
- IOM (Institute of Medicine), 1991. *Nutrition during Lactation*. Washington: National Academy Press.
- IOM (Institute of Medicine), 1990. *Nutrition during Pregnancy*. Washington: National Academy Press.
- IOM (Institute of Medicine), 1992. *Nutrition during Pregnancy and Lactation. An implementation Guide*. Washington: National Academy Press.
- ISMADI, S.D. & OLSON, J.A., 1975. Vitamin A transport in human fetal blood. *American Journal of Clinical Nutrition*, 28: 967-972.
- IVACG (International Vitamin A Consultative Group), 1989. *Guidelines for the development of a simplified assessment to identify groups at risk for inadequate intake of vitamin A*. New York: IVACG.
- IVACG (International Vitamin A Consultative Group), 2002. *IVACG Statement. Maternal Night Blindness: A new indicator of vitamin A deficiency*. USA: IVACG.
- IVACG (International Vitamin A Consultative Group), 1997. *IVACG Statement. Maternal Night Blindness: Extent and associated risk factors*. USA: IVACG.
- KATZ, J.; KHATRY, S.K.; WEST, JR.K.P., HUMPHREY, J.H.; LECLERQ, S.C.; PRADHAN, E.K.; POHKREL, R.P. & SOMMER, A., 1995. Night blindness is prevalent during pregnancy and lactation in rural Nepal. *Journal of Nutrition*, 125: 2122-2127.
- KATZ, J.; WEST, JR.K.P.; KHATRY, S.K.; PRADHAN, E.K.; LeCLERQ, S.C.; CHRISTIAN, P.; WU, L.S-F; ADHIKARI, R.K.; SHRESTHA, S.R.; SOMMER, A. & STUDY GROUP, NNIPS-2, 2000. Maternal low-dose vitamin A or β -carotene supplementation has no effect on fetal loss and early infant mortality: a randomized cluster trial in Nepal. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 1570-1576.
- KENNEDY, C.M.; KUHN, P.H. & STEIN, Z., 2000. Vitamin A and HIV Infection: Disease progression, mortality, and transmission. *Nutrition Reviews*, 58: 291-303.

- KENNEDY-OJI, C.; COUTSOUDIS, A.; KUHN, L.; PILLAY, K.; MBURU, A.; STEIN, Z. & COOVADIA, H., 2001. Effects of vitamin A supplementation during pregnancy and early lactation on body weight of South African HIV-infected women. *Journal of Health, Population, and Nutrition*, 19: 167-176.
- KJOLHEDE, C.L.; GAMADOMSKI, A.M.; WITTPENN, J.; BULUX, J.; ROSAS, A.R.; SOLOMONS, N.W.; BROWN, K.H. & FORMAN, M.R., 1989. Conjunctival impression cytology: feasibility of a field trial to detect subclinical vitamin A deficiency. *American Journal of Clinical Nutrition*, 49: 490-494.
- KLOPPER, A., 1991. Placental Metabolism. In: *Clinical Physiology in Obstetrics* (F. Hytten & G. Chamberlain, org.), pp. 393-414, Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- KOTHARI, G., 1991. The effect of vitamin A prophylaxis on mortality among children in urban slums in Bombay. *Journal of Tropical Pediatrics*, 37: 141, 1991.
- LANDIS, J.R. & KOCH, G.G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, 33: 159-174.
- LAO, T.T. & WONG, W.M., 1996. Placental ratio and intrauterine growth retardation, *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 103: 924-926.
- LOERCH, J.D.; UNDERWOOD, B.A. & LEWIS, K.C., 1979. Response of plasma levels of vitamin A to a dose of vitamin A as an indicator of hepatic vitamin A reserves in rats. *Journal of Nutrition*, 109: 778-786.
- LÖNNERDAL, B., 1986. Effects of maternal dietary on human milk composition. *Journal of Nutrition*, 116: 499-513.
- LUBCHENCO, L.O.; HANSMAN, C. & DRESSLER, M., 1963. Intrauterine growth as estimated from liveborn birth-weight data at 24 to 42 weeks of gestation. *Pediatrics*, 32: 793-800.
- MARTORELL, R. & HABICH, J., 1989. Indicadores nutricionales e los sistemas de vigilancia alimentaria y nutricional. In: *Vigilancia alimentaria y nutricional en las Americas. Una Conferencia Internacional, Mexico, 5-9 de septiembre de 1988*, pp. 55-70, Publicación Científica, 516. Washington: OPS/OMS.
- MASON, J.B.; LOTFI, M.; DALMIYA, N.; SETHURAMAN, K. & DEITCHLER M., 2001. *The Micronutrient Report. Current progress and trends in the control of vitamin A, iodine, and iron deficiencies*. Ottawa, Canada: The Micronutrient Initiative/UNICEF.
- McAULIFFE, J.; SANTOS, L.M.P.; DINIZ, A.S.; BATISTA FILHO, M. & BARBOSA, R.C.C., 1991. A deficiência de vitamina A e estratégias para seu controle. Um guia para Secretarias Municipais de Saúde. Fortaleza: Project HOPE.

- McLAREN, D.S. & FRIGG, M., 1999. *Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD)*. Washington: OPS.
- McLAREN, D.S.; SHIRAJIAN, E.; TCHALIAN, M. & KHOURY G., 1965. Xerophthalmia in Jordan. *American Journal of Clinical Nutrition*, 17:117-130.
- MEJIA, L.A. & CHEW, F., 1988. Hematological effect of supplementation anaemic children with vitamin A alone and in combination with iron. *American Journal of Clinical Nutrition*, 48: 595-600.
- MIKHAIL, M.; ANYAEGBUNAM, A.; GARFINKEL, D.; PALAN, P.R.; BASU, J. & ROMNEY, S.L., 1994. Preeclampsia and antioxidant nutrients: decreased plasma levels of reduced ascorbic acid, α -tocopherol, and beta-carotene in women with preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 171:150-157.
- MILLER, M.; HUMPHREY J.; JOHNSON E.; MARINDA E.; BROOKMEYER, R. & KATZ, J., 2002. Why do children become vitamin A deficient? *Journal of Nutrition*, 132: 2867S-2880S.
- MS (Ministério da Saúde), 2000a. *Assistência Pré-natal. Manual Técnico*. 3ª edição, Brasília: Secretaria de Políticas, MS.
- MS (Ministério da Saúde), 1998. *Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde*. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz.
- MS (Ministério da Saúde), 1995. *Gestação de Alto Risco*. Brasília: Programa de Assistência Integral à Saúde da Mulher/PAISM, MS.
- MS (Ministério da Saúde), 2000b. *Gestação de Alto Risco. Manual Técnico*. 3ª edição. Brasília: Secretaria de Políticas, Área Temática da Saúde da Mulher, MS.
- MS (Ministério da Saúde), 2000c. *Política Nacional de Alimentação e Nutrição*. Brasília: Secretaria de Políticas de Saúde, MS.
- MOLA, A.; KHURSHID, M.; MOOLLA, A.M.; BADRUDDIN, S.H.; HENDRICKS, K. & SNYDER, J.D., 1993. Is Anemia an Accurate predictor of vitamin A status in pakistani children? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49: 276-279.
- MOORE, K.L. & PERSUAD, T.V.N., 1995. A placenta e as membranas fetais. In: *Embriologia Básica*, pp. 82-101, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- MUSLIMATUN, S.; SCHMIDT, M.K.; SCHULTNIK, W.; WEST, C.; HAUTVAST, J.A.J.; GROSS, R. & MUHILAL, 2001. Weekly supplementation with iron and vitamin A during pregnancy increases hemoglobin concentration but decreases serum ferritin concentration in Indonesian pregnant women. *Journal of Nutrition*, 131: 85-90

- NATADISASTRA, G.; WITTPENN, JR.; WEST, JR. K.P.; MUHILAL, H. & SOMMER, A. 1987. Impression cytology for detection of vitamin A deficiency. *Archives of Ophthalmology*, 105: 1224-1228.
- NEWMAN, V., 1993. *Vitamin A and breastfeeding: a comparison of data from developed and developing countries*. San Diego: Wellstart International.
- NIMSAKUL, S.; COLLUMBIEN, M. & LIKIT-EKARAJ, V., 1994. Simplified Dietary Assessment to detect vitamin A deficiency. *Nutrition Research*, 4: 325-336.
- NRC (National Research Council), 1987. *Vitamin A Supplementation. Methodologies for Field Trials*. Washington: National Academy Press.
- OLSON, J.A., GRUNNING, D. & TILTON, R., 1984. Liver concentrations of vitamin A and carotenoids, as a function of age and other parameters of American children who died of various causes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 39: 903-910
- OMS (Organización Mundial de la Salud), 1999. *Reducción de la mortalidad materna*. Declaración conjunta OMS/FNUAP/UNICEF/Banco Mundial. Clasificación NLM:HB 1322.5. Ginebra: OMS.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1998. *Supplémentation en vitamine A*. Genève: OMS.
- OOMEN, H.A.P.C.; McLAREN, D.S. & ESCAPINI, H., 1964. Epidemiology and public health aspects of hypovitaminosis A. *Tropical and Geographical Medicine*, 16: 271-315.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud), 1989. Conclusiones y recomendaciones. In: *Vigilancia alimentaria y nutricional en las Americas. Una Conferencia Internacional, Mexico, 5-9 de septiembre de 1988*, pp.7-14, Publicación Científica, 516. Washington: OPS/OMS.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud), 2002. *La salud em las Américas*. 2 v. Edición de 2002. Publicación Científica y Técnica, 587. Washington: OPS.
- OPS (Organización Panamericana de la Salud), 2001. *Visión Integrada de la suplementación con vitamina A en las Américas. 2-4 de mayo del 2001, Managua, Nicaragua. Informe de la Reunión Regional*. HPP/HPN/MN/49-17. Washington: OPS.
- OSIS, M.J.M.D., 1998. Paism: um marco na abordagem da saúde reprodutiva no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 14:25-32.
- PAHO (Pan American Health Organization), 2002. Demographic and Mortality Trends in the Region of the Americas, 1989-2000. *Epidemiological Bulletin*, 23:1-4.

- PAHO (Pan American Health Organization), 2001. *Providing vitamin A supplements through immunization and other health contacts for children 6-59 months and women up to 6 weeks postpartum. A guide for health workers*. Washington: PAHO.
- PANTH, M.; RAMAN, L.; RAVINDER, P. & SIVAKUMAR, B., 1991. Effect of Vitamin A supplementation on plasma progesterone and estradiol levels during pregnancy. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 61:17-19.
- PARDI, G., MARCONI, A.M. & CETIN, I., 1997. Pathophysiology of intrauterine growth retardation: role of the placenta. *Acta Paediatrica. Supplementum*, 423:170-172.
- PEE, S. & DARY, O., 2002. Biochemical indicators of vitamin A deficiency: serum retinol and serum retinol binding protein. *Journal of Nutrition*, 132: 2895S-2901S.
- PEREIRA, M.G., 1999. *Epidemiologia. Teoria e Prática*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan.
- PILLAT, A., 1929. Does xerofthalmia exist in adults? *Archives of Ophthalmology*, 2: 256-287.
- QUEIRÓZ, E.; RAMALHO, A.; SAUNDERS, C.; PAIVA, F. & FLORES, H., 2000. Vitamin A status in diabetic children. *Diabetes, Nutrition & Metabolism*, 13: 298- 299.
- RADHIKA, M.S.; BHASKARAM, P.; BALAKRISHNA, N.; RAMALAKSHMI, B.A.; DEVI, S. & KUMAR, B.S., 2002. Effects of vitamin A deficiency during pregnancy on maternal and child health. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 109: 689-693.
- RAHMATHULLAH, L.; TIELSCH, J.M.; THULASIRAJ, R.D.; KATZ, J.; COLES, C.; DEVI, S.; JOHN, R.; PRAKASH, K.; SADANAND, A.V.; EDWIN, N. & KAMARAJ, C., 2003. Impact of supplementing newborn infants with vitamin A on early infant mortality: community based randomised trial in southern India. *British Medical Journal*, 327: 254.
- RAMAKRISHNAN, U. & DARNTON-HILL, I., 2002. Assessment and control of vitamin A deficiency disorders. *Journal of Nutrition*, 132: 2947S-2953S.
- RAMAKRISHNAN, V.; MANJREKAR, R.; RIVERA, J.; GONZÁLES-COSSIO, T. & MARTORELL, R., 1999. Micronutrients and pregnancy outcome: a review of the literature. *Nutrition Research*, 19: 103-159.
- RAMALHO, A., ACCIOLY, E & FLORES, H., 1999a. Xerofthalmia no diagnosticada em Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Chilena de Nutrición*, 26: 316-319.

- RAMALHO, R.A.; ANJOS, L.A. & FLORES, H., 1999b. Estado nutricional de vitamina A no binômio mãe / recém-nascido em duas maternidades no Rio de Janeiro, Brasil. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49: 318-321.
- RAMALHO, R.A.; ANJOS, L.A. & FLORES, H., 2001a. Estado nutricional de vitamina A e teste terapêutico em pré-escolares no Rio de Janeiro. *Revista de Nutrição*, 14: 23-28.
- RAMALHO, R.A.; FLORES, H.; ACCIOLY, E.; CARDOSO, L.O.; NATALIZI, D.A. & SAUNDERS, C., 2003a. Associação entre hipovitaminose A e situação sócio-econômica de mães e recém-nascidos do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública (in press)*.
- RAMALHO, R.A.; FLORES, H. & SAUNDERS, C., 2002. Hipovitaminose A: Um problema de Saúde Pública no Brasil? *Revista Panamericana de Salud Pública*, 12: 117-122.
- RAMALHO, R.A. & SAUNDERS, C., 2000. Reflexões sobre alimentação na busca de superar carências nutricionais. *Revista de Nutrição*, 13: 11-16.
- RAMALHO, R.A.; SAUNDERS, C.; ACCIOLY, E.; NATALIZI, D. & CARDOSO, L.O., 2003b. Níveis séricos de retinol em escolares de 7 a 17 anos no município do Rio de Janeiro. *Revista de Nutrição (in press)*.
- RAMALHO, R.A.; SAUNDERS, C.; ACCIOLY, E.; PAIVA, F.; CARDOSO, L.O. & NATALIZI, D., 2001b. A associação entre antropometria materna e o estado nutricional de vitamina A materno e dos recém-nascidos. *Revista de Ciências Médicas*, 10: 5-10.
- REDDY, V., 2002. History of the International Vitamin A Consultative Group 1975-2000. *Journal of Nutrition*, 132: 2852S-2856S.
- RICKETTS, W.A., 1939. Vitamin A deficiency in pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 38: 484-488.
- ROBERTS, J.M.; BALK, J.L.; BADNAR, L.M.; BELIZÁN, J.M.; BERGEL, E. & MARTINEZ, A., 2003. Nutrient involvement in Preeclampsia. *Journal of Nutrition*, 133: 1684S-1692S.
- RONCADA, M.J. & MAZZILLI, R.N., 1989. Fontes de vitaminas nas dietas de populações de São Paulo, Brasil. *Alimentação e Nutrição*, 1: 71-86.
- RONCADA, M.J.; WILSON, D.; LUI NETO, A.; BERETTA NETTO, O.L.; KALIL, A.C.; NUNES, M.J. & OKANI, E.T., 1978. Hipovitaminose A em filhos de migrantes nacionais em trânsito pela capital do Estado de São Paulo. *Revista de Saúde Pública*, 12: 345-350.

- RONCADA, M.J.; MARUCCI, M.F. & LAMONICA, J.M., 1985. Serum levels of vitamin A and carotene in middle-aged and aged subjects, in 11 localities of the State of São Paulo, Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 19: 336-343.
- RONCADA, M.J.; WILSON, D.; MAZZILLI, R.N. & GANDRA, Y.R., 1981. Hipovitaminose A em comunidades do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 15: 338-349.
- RONCADA, M.J., 1972. Hipovitaminose A: Níveis séricos de vitamina A e caroteno em populações litorâneas do Estado de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 6: 3-18.
- RONCADA, M.J.; WILSON, D.; OKANI, E.T. & ANIMO, S., 1984. Prevalência de hipovitaminose A em pré-escolares de municípios de área metropolitana de São Paulo, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 18; 218-224.
- RONDÓ, P.H.C.; ABBOTT, R.; RODRIGUES, L.C. & TOMKINS, A.M., 1995. Vitamin A, folate, and iron concentrations in cord and maternal blood of intra-uterine growth retarded and appropriate birth weight babies. *European Journal of Clinical Nutrition*, 49: 391-399.
- RONDÓ, P.H.C.; ABBOTT, R. & TOMKINS, A.M., 1997. Vitamina A e retardo de crescimento intra-uterino. *Jornal de Pediatria*, 73: 335-339 .
- RONDÓ, P.H.C; VILLAR, B.S. & TOMKINS, A.M., 1999. Vitamin A status of pregnant women assessed by a biochemical indicator and a simplified food frequency questionnaire. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49: 322-325.
- ROSS, A.C., 1996. Vitamin A in defences against infection. *Nutriview*, Issue 2: 1-3.
- ROSS, A.C., 1992. Vitamin A and Protective Immunity. *Nutrition Today*, 27: 18-25.
- ROSS, J.S. & HARVEY, P.W.J., 2003. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. *Bulletin of the World Health Organization*, 81: 80-86.
- ROUSE, D.J., 2003. Potential cost-effectiveness of nutrition interventions to prevent adverse pregnancy outcomes in the developing world. *Journal of Nutrition*, 133: 1640S-1644S.
- ROY, S.K.; ISLAM, A.; MOLLA, A.; AKRAMUZZAMAN, S.M.; JAHAN, F. & FUCHS, G., 1997. Impact of a single megadose of vitamin A at delivery on breast milk of mothers and morbidity of their infants. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51: 302-307.

- SANTOS, L.M.P.; ASSIS, A.M.O.; MARTINS, M.C.; ARAÚJO, M.P.N.; MORRIS, S.S. & BARRETO, M.L., 1996. Situação nutricional e alimentar de pré-escolares no semi-árido da Bahia (Brasil): II – Hipovitaminose A. *Revista de Saúde Pública*, 30: 67-74.
- SANTOS, L.M.P.; DRICOT, J.M.; ASCIUTTI, L.S. & DRICOT, D.C., 1983. Xerophthalmia in the state of Paraíba, northeast of Brazil clinical findings. *American Journal of Clinical Nutrition*, 38: 139-144.
- SAPIN, V.; ALEXANDRE, M.C.; CHAÏB, S.; BOURNAZEAU, J.A.; SAUVANT, P.; BOREL, P.; JACQUETIN, B.; GROLIER P.; LÉMERY, D.; DASTUGUE B. & AZAÏS-BRAESCO V., 2000. Effect of vitamin A status at the end of term pregnancy on the saturation of retinol binding protein with retinol. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71: 537-543.
- SARNI, R.S.; KOCHI, C.; RAMALHO, R.A.; SCHOEPS, D.O.; SATO, K.; MATTOSO, L.C.Q.; XIMENES, C.F.; SOUZA, F.I.S. & DAMIANI, F.M., 2002. Vitamina A: Nível sérico e ingestão dietética em crianças e adolescentes com déficit estatural de causa não hormonal. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 48: 48-53.
- SARNI, R.S.; KOCHI, C.; RAMALHO, R.A.; SCHOEPS, D.O.; SATO, K.; MATTOSO, L.C.Q.; XIMENES, C.F.; SOUZA, F.I.S. & DAMIANI, F.M., 2003. Impact of vitamin A megadose supplementation on the anthropometry of children and adolescents with non-hormonal status deficit: a double-blind and randomized clinical study. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 73:303-311.
- SAUNDERS, C.; LEAL, M.C.; RAMALHO, R.A.; SILVA, C.B.; LIMA, A.P.P.T.; SILVA, B.A.S.; GOMES, M.M.; CAMPOS, L.F.; COSTA LEITE, P. & PAIVA, F., 2002. Avaliação antropométrica de gestantes: um estudo comparativo. In: XVII Congresso Brasileiro de Nutrição, *Resumos*, p.28, Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Nutrição Clínica.
- SAUNDERS, C.; RAMALHO, A.; ACCIOLY, E.; & PAIVA, F., 2000. A utilização das tabelas de composição química dos alimentos na avaliação do risco de hipovitaminose A. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50: 237-242.
- SCHULTNIK, W., 2002. Use of under-five mortality rate as an indicator for vitamin A deficiency in a population. *Journal of Nutrition*, 132: 2881S-2883S.
- SEMBA, R.D.; BULTERYS, M.; MUNYESHULI, V.; GATSINZI, T.; SAAK, A.; CHAO, A. & DUSHIMIMANA, A., 1996. Vitamin A deficiency and T-cell sub-populations in children with meningococcal disease. *Journal of Tropical Pediatrics*, 42: 287-290.

- SEMBA, R.D.; MIOTTI, P.; CHIPHANGWI, J.D.; HENDERSON, R.; DALLABETTA, G.; YANG, L-P & HOOVER, D., 1997. Maternal Vitamin A deficiency and child growth failure during human immunodeficiency virus infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 14: 219-222.
- SHARMA, H.S. & MISRA, U.K., 1990. Maternal vitamin A restriction alters biochemical development of the brain in rats. *Experientia*, 46: 208-210.
- SHATRUGNA, V.; RAMAN, L.; UMA & SUJATHA, T., 1997. Interaction between vitamin A and iron: effects of supplements in pregnancy. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 67: 145-148.
- SILVA, N.B., 1988. Prevalência de anemia ferropriva em crianças pré-escolares da cidade de Manaus – AM. In: I Congresso Nacional da SBAN, *Resumos*, p. 36, São Paulo: Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição.
- SIMSEK, M.; NAZIROĞLU, M., SIMSEK, H.; ÇAY, M.; AKSAKAL, M. & KUMRU, S., 1998. Blood plasma levels of lipoperoxides, glutathione peroxidase, beta carotene, vitamin A and E in women with habitual abortion. *Cell Biochemistry and Function*, 16: 227-231.
- SIVAPRASADARAO, A. & FINDLAY, J.B.C., 1988. The mechanism of uptake of retinol by plasma-membrane vesicles. *Biochemical Journal*, 255: 571-579.
- SIVAKUMAR, B.; PANTH, M.; SHATHRUGNA, V. & RAMAN, L., 1997. Vitamin A requirements assessed by plasma response to supplementation during pregnancy. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 67: 232-236.
- SZKLO, M. & JAVIER NIETO, F., 2000. Quality assurance and control. In: *Epidemiology. Beyond the Basics*, pp. 343-404. Maryland: Aspen Publishers.
- SOLOMONS, N.W. & BULX, J., 1993. Plant Sources of Provitamin A and Human Nutrition. *Nutrition Reviews*, 51: 199-204.
- SOMMER, A., 1995. *La carencia de vitamina A y sus consecuencias. Guía práctica para la detección y el tratamiento*. Ginebra: OMS .
- SOMMER, A., 1992. Vitamin A deficiency and childhood mortality. *Lancet*, 340: 488-489.
- SOMMER, A. & DAVIDSON, F.R., 2002. Assessment and control of vitamin A deficiency: the annecy accords. *Journal of Nutrition*, 132: 2845S-2850S.
- SOMMER, A.; KATZ, J. & TARWOTJO, I., 1984. Increased risk of respiratory disease and diarrhea in children with preexisting mild vitamin A deficiency. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40: 1090-1095.

SOMMER, A.; TARWOTJO, I. & KATZ, J., 1987. Increased risk of xerophthalmia following diarrhea and respiratory disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 45: 977-980.

SOMMER, A.; HUSSAINI, G.; MUHILAL; TARWOTJO, I.; SUSANTO, D. & SAROSO, S., 1980. History of nightblindness: a simple tool for xerophthalmia screening. *American Journal of Clinical Nutrition*, 33: 887-891.

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

SUHARNO, D.; WEST, C.E; MUHILAL; KARYADI, D. & HAUTUAST, J.G., 1993. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet*, 342: 1325-1328.

SUNDARAM, M.; SIVAPRASADARAO, A.; DeSOUSA, M.M. & FINDLAY, J.B.C., 1998. The transfer of retinol from serum retinol-binding protein to cellular retinol-binding protein is mediated by a membrane receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 273: 3336-3342.

TAKASAHASHI, Y.L.; SMITH, J.E.; WINICK, M. & GOODMAN, D.S., 1975. Vitamin A deficiency and fetal growth and development in the rat. *Journal of Nutrition*, 105: 1299-1310.

TANUMIHARDJO, S.A.; KOELLNER, P.G. & OLSON, J.A., 1990. The modified relative-dose response assay as an indicator of vitamin A status in population of well-nourished American children. *American Journal of Clinical Nutrition*, 52:1064-1067.

THOMSON, A.M.; BILLEWICZ, W.Z. & HYTTEN, F.E., 1969. The weight of the placenta in relation to birthweight. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of the British Commonwealth*, 76: 865-872.

UNDERWOOD, B., 1990a. [26] Biochemical and histological methodologies for assessing vitamin A status in human populations. *Methods in Enzymology*, 190: 242-251.

UNDERWOOD, B., 1990b. Methods for assessment of vitamin A status. *Journal of Nutrition*, 120:1459-1463.

UNDERWOOD, B., 1987. Hypovitaminosis A and its control. *Bulletin of the World Health Organization*, 56: 525-541.

UNDERWOOD, B., 1994. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59: 517S-524S.

- UNDERWOOD, B., 1993. *Tercer Taller Regional sobre deficiencias de vitamina A y otros micronutrientes en America Latina y el Caribe. Recife, Brasil, agosto, 23-27, 1993.* USA: USAID.
- UNDERWOOD, B., 1974. The determination of vitamin A and some aspects of its distribution, mobilization and transport in health and disease. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 19: 123-172.
- UNICEF (Fundo das Nações Unidas para a Infância), 1980. Carência de vitamina A e xeroftalmia. Informe de uma reunião conjunta OMS/USAID. Brasília: UNICEF, 1980.
- VALERY, M.C.P.; SOLANO, L. & REAL, S., 2002. Indicadores de riesgo para la deficiencia de vitamina A en menores de 15 años de una comunidad marginal de Valencia, Venezuela. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 52: 12-19.
- VERMELHO, L.L., COSTA, A.J.L. & KALE, P.L., 2002. Capítulo 3. Indicadores de Saúde. In: MEDRONHO, R. *Epidemiologia*, pp. 33-55, Rio de Janeiro: Atheneu.
- VILLAR, J.; MERIALDI, M.; GÜLMEZOGLU, A.M.; ABALOS, E.; CARROLI, G.; KULIER, R. & ONI, M., 2003. Nutritional interventions during pregnancy for the prevention or treatment of maternal morbidity and preterm delivery: an overview of randomized controlled trials. *Journal of Nutrition*, 133: 1606S-1625S.
- VÍTOLO, M.R.; ACCIOLY, E.; RAMALHO, R.A.; SOARES, A.G.S.; CARDOSO, C.B. & CARVALHO, E.B., 1999. Níveis de vitamina A no leite maduro de nutrízes adolescentes e adultas de diferentes estratos socioeconômicos. *Revista de Ciências Médicas*, 8: 3-10.
- ZIARI, S.A.; MIRELES, V.L.; CANTU, C.G.; CERVANTES, M.^{3rd}; IDRISA, A.; BOBSON, R.; TSIN, A.T. & GLEW, R.H., 1996. Serum vitamin A, vitamin E, and beta-carotene levels in preeclamptic women in northern Nigeria. *American Journal of Perinatology*, 13: 287-291.
- ZILE, M.H., 2001. Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. *Journal of Nutrition*, 131: 705-708.
- ZILE, M.H.; BUNGE, E.C. & DeLUCA, H.F., 1979. On the physiological basis of vitamin A-stimulated growth. *Journal of Nutrition*, 109: 1787-1796.
- WALD, G., 1968. The molecular basis of visual excitation. *Nature*, 219: 800-807.
- WEST, JR.K.P., 2002. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *Journal of Nutrition*, 132: 2857S-2866S.

WEST, C.E.; EILANDER, A. & van LIESHOUT, M., 2002. Consequences of revised estimates of carotenoid bioefficacy for dietary control of vitamin A deficiency in developing countries. *Journal of Nutrition*, 132: 2920S-2926S.

WEST, S.K., 2000. Looking forward to 20/20: A focus on the epidemiology of eye diseases. *Epidemiologic Reviews*, 22: 64-70.

WEST, JR.K.P.; KATZ, J.; KHATRY, S.K.; LECLERQ, S.C., PRADHAN, E.K., SHRESTHA, S.R., CONNOR, P.B., DALI, S.M., CHRISTIAN, P., POKHREL, R.P. & SOMMER A., 1999. Double blind, cluster randomised trial of low dose supplementation with vitamin A or β carotene on mortality related to pregnancy in Nepal. *BMJ*, 318: 570-575.

WILSON, D., & NERY, M.E.S., 1983. Hipovitaminose A in Rio Grande do Sul, Brazil. Preliminary study. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 24: 35-44.

WILSON, D.; RONCADA, M.J.; NETTO, A.L. & NETTO, O.B., 1981. Vitamin A deficiency in institutionalized preschool children in the capital of the State of São Paulo, Brazil. *Revista de Saúde Pública*, 15:395-400.

WHITCHER, J.P.; SRINIVASAN, M. & UPADHYAY, M.P., 2001. Corneal blindness: a global perspective. *Bulletin of the World Health Organization*, 79: 214-221.

WHO (World Health Organization), 1995a. *Global Prevalence of Vitamin A Deficiency*. WHO/NUT/95.3. Geneva: WHO.

WHO (World Health Organization), 1996. *Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes*. WHO/NUT/96.10. Geneva: WHO.

WHO (World Health Organization), 1995b. *Physical status: the use and interpretation of anthropometry*. Geneva: WHO.

WOLF, G., 2001. The discovery of the visual function of vitamin A. *American Journal of Clinical Nutrition*, 131: 1647-1650.

WONDMIKUN, Y., 2002. Dark adaptation pattern of pregnant women as an indicator of functional disturbance at acceptable serum vitamin A levels. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56: 462-466.

YUSUF, H.K.M. & ISLAN, M.N., 1994. Improvement of nightblindness situation in children through simple nutrition education intervention with the parents. *Ecology of Food and Nutrition*, 31: 247-256.

Artigo 1: SAUNDERS, C.; LEAL, M.C., GOMES, M.M.; CAMPOS, L.F.C.; SILVA, B.A.S.; LIMA, A.P.P.T.; RAMALHO, R.A. *Gestational night blindness in women treated at a public maternity hospital in Rio de Janeiro, Brazil.*

Artigo 2: SAUNDERS, C.; RAMALHO, R.A.; LIMA, A.P.P.T.; GOMES, M.M.; CAMPOS, L.F.C.; SILVA, B.A.S.; SOARES, A.G.; LEAL, M.C. *Association between gestational night blindness and serum retinol in mother/newborn pairs in the city of Rio de Janeiro, Brazil.*

Artigo 3: SAUNDERS, C.; LEAL, M.C.; FLORES, H.; SOARES, A .G.; LIMA, A.P.P.T.; LEITE, P.C.; SOUZA JR, P.R.B.; RAMALHO, R.A. *Distribuição intraplacentária de retinol.*

Artigo 4: SAUNDERS, C.; RAMALHO, R.A. & LEAL, M.C., 2001. *Estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil.*

Artigo 1:

SAUNDERS, C.; LEAL, M.C., GOMES, M.M.; CAMPOS, L.F.C.; SILVA, B.A.S.;
LIMA, A.P.P.T.; RAMALHO, R.A. *Gestational night blindness in women treated at a
public maternity hospital in Rio de Janeiro, Brazil.*

Encaminhado para apreciação pela comissão editorial da *Journal of Health, Population
and Nutrition*, Dhaka, Bangladesh em janeiro/03, revisado e em fase de aprovação.

**GESTATIONAL NIGHT BLINDNESS IN WOMEN TREATED AT A PUBLIC
MATERNITY HOSPITAL IN RIO DE JANEIRO, BRAZIL**

*Cláudia Saunders¹, Maria do Carmo Leal², Mirian Martins Gomes³,
Luciana Ferreira Campos³, Bianca Amaral dos Santos Silva⁴,
Ana Paula Pereira Thiapó de Lima³, Rejane Andréa Ramalho⁵*

1. D. Sc. Student (National School of Public Health - ENSP, Oswaldo Cruz Foundation - FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Vitamin A Research Group (GPVA). Institute of Nutrition (IN), Federal University in Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.
2. D. Sc. Department of Epidemiology and Quantitative Methods in ENSP/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil.
3. M. Sc. Students in Human Nutrition (IN/UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil). Vitamin A Research Group (GPVA). IN/UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil.
4. Volunteer researcher, Vitamin A Research Group (GPVA). IN/UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil.
5. D. Sc. (ENSP/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil). Vitamin A Research Group (GPVA). IN/UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil.

Short title: Gestational night blindness in Brazil

Sources of support: Rio de Janeiro Research Support of State Health Foundation (FAPERJ), Rio de Janeiro State Health Department (SES-RJ), and the Brazilian National Research Council (CNPq)

Author responsible for correspondence: Cláudia Saunders

Rua Comandante Rubens Silva, 576, bloco 1, apto. 408 - Jacarepaguá

Rio de Janeiro – RJ – Brazil - CEP. 22750.054

Telefax. 55.21.2447.4379

e-mail: cfcoelho@osite.com.br; csaunders@ig.com.br

ABSTRACT

The present study evaluated the prevalence of gestational night blindness among *post partum* women seen at the Rio de Janeiro Public Maternity, in Brazil, and the association of this symptom with a biochemical indicator (serum retinol) and sociodemographic, anthropometric, and antenatal care variables. We interviewed 262 *post partum* women that did not receive vitamin A supplementation during pregnancy. Gestational night blindness was diagnosed according to a standardized WHO interview; serum retinol levels were evaluated through spectrophotometric dosage. Gestational night blindness related to low levels of serum retinol ($<1.05\mu\text{mol/l}$; $p=0.000$) was diagnosed in 17.9% of interviewed subjects. Less than 5 antenatal care appointments (OR = 2.179; CI 95% = 1.078-4.402) and a history of one or more miscarriages (OR = 2.306; CI 95% = 1.185-4.491) were predictors for gestational night blindness. These findings justify the need for nutritional counseling, aimed at the improvement of vitamin A nutritional status, especially among pregnant women with a history of previous miscarriages and poor antenatal care.

Key words: night blindness, pregnancy, prenatal care, abortion, vitamin A deficiency, Brazil

INTRODUCTION

The impact of vitamin A deficiency (VAD) on reproductive health has been well-documented in terms of its repercussions on maternal and infant health (1-5). The identification of women at risk for VAD in pregnancy allows for intervention with a view towards improving maternal hepatic vitamin A reserves and preventing insufficient placental transfer to the fetus, as observed in cases of severe maternal deficiency (6, 7).

The prevention measures currently recommended for the prevention and treatment of gestational VAD and night blindness (XN) are based on supplementation, food enrichment with vitamin A, and alimentary diversification (4,8,9), always considering the ingestion amount safe for each biological moment (10).

To meet the expectations of international health committees and the scientific community, several less invasive, low-cost indicators have been tested and validated for diagnosing VAD, which is still a public health problem in various parts of the world (4,5,8).

Evaluation of XN through a standardized interview has been widely employed by researchers in population-based studies, through a low-cost, simple, culturally accepted methodology, allowing for the detection of high maternal and infant VAD prevalence rates (1-3,11,12).

During the 1930s, Ricketts (13) reported two cases of pregnant women in the United States with VAD, presenting XN associated with vomiting, headache, and anemia. In the 1960s, Dixit (14) reported 38.9% of pregnant women in India with XN, principally in the third trimester, with remission of ocular symptoms during *post partum*. In both studies, vitamin A supplementation during pregnancy was followed by remission of symptoms and XN.

Gestational XN was formerly attributed to physiological adjustments in pregnancy (14), but recent studies conducted in Asia have described the association between this ocular symptom and a five-fold risk of maternal mortality during two years *post partum* as compared to women without gestational XN (2). Increased mortality in infants during the first six months of life also appears to be associated with gestational XN (3). In addition, pregnant women with XN and VAD appear to be more predisposed to complications during pregnancy such as spontaneous abortion, urinary, genital, and gastrointestinal infections, pregnancy-induced hypertension, other digestive signs and

symptoms, and decreased appetite (1,15,16). Hence, gestational XN was recently suggested as a marker for high risk gestations (17).

The International Vitamin A Consultative Group – IVACG (4,18) recognizes the need for studies to promote an understanding of this ocular disorder, given the associated risk for health and nutritional status. The committee also recommends gestational XN evaluation in regions such as Africa and Latin America (18).

Thus, the aim of the present study was to describe the prevalence of gestational XN among *post partum* women and to evaluate the association of the ocular symptom with a biochemical indicator (serum retinol levels), and with obstetric history, antenatal care, sociodemographic, and anthropometric variables.

MATERIALS AND METHODS

Study design

The study population consisted of *post partum* women who had received prenatal care at the University Maternity Hospital of the Federal University in Rio de Janeiro (UFRJ). The above-mentioned health care facility provides free childbirth care to 1.400-1.500 patients per year from various areas in the city, with characteristics similar to those of women treated at other public maternity hospitals in the city of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro State, in the Southeast region of Brazil.

Selection of the 262 participants in the study occurred on alternating days in four weekly shifts, in 1999-2001. The sampling and procedures followed a descriptive, cross-sectional study design (19).

All women were included who were in hospital on the days that data were collected at the maternity hospital and who signed the free informed consent form, met the inclusion criteria and were considered low obstetric risk patients (singleton pregnancy, no disease diagnosed prior to the target pregnancy, and no utilization of supplements containing vitamin A during the gestational period), were interviewed (until six hours after delivery), and their respective patient files or prenatal cards were consulted to help fill out a pre-tested questionnaire. After the data were collected, all the mothers received dietary counselling.

Sample size was calculated in order to allow for a comparison of VAD prevalences diagnosed by means of functional (gestational XN) and biochemical (serum retinol levels) indicators, and to detect a 15% difference between both proportions. Thus, with an α of 5% and a β of 10%, the minimum estimated sample size was 197 (20).

Evaluation of vitamin A nutritional status

Both functional (gestational XN) and biochemical (serum retinol levels) indicators were employed for nutritional vitamin A status evaluation of *post partum* women.

To identify XN in the study group, we used the standardized interview as proposed by WHO (21) and OPS/PAHO (8), including the questions: 1) Do you have difficulty seeing during the day?; 2) Do you have difficulty seeing with decreased light or at night?; 3) Do you have night blindness? Question number 3 was explained to the interviewee as an alteration in her habitual sight pattern under decreased light or at night, adopting the patient's pre-gestational nocturnal vision as the reference. The

interview was conducted using simple language and examples of places with decreased light which are common in the same city (17). Were considered as *cases* subjects that answered “no” to Question 1 and “yes” to Questions 2 and/or 3, since this ocular symptom reflects the functional role of vitamin A in the formation of rhodopsin (21,22).

For determination of serum retinol levels, a fasting 5ml sample of blood was taken by venipuncture in the women during immediate *postpartum*, using manual expression (23). Serum retinol was determined using spectrophotometric dosing based on the modified Bessey *et al.* method (24). A cut-off of serum retinol $<1.05\mu\text{mol/l}$ was used to define VAD (1,25).

The interviews aimed at diagnosing XN were validated based on their association with the biochemical indicator (serum retinol levels; 1).

Complementary information

Gestational age was calculated based on date of last menstrual period, and the inter-gestational interval was defined as the time interval (in months) between the end of the previous pregnancy, regardless of having resulted in abortion or childbirth, and the beginning of the current or index gestation.

Pre-gestational anthropometric evaluation was calculated according to pre-gestational body mass index (BMI) based on pre-gestational weight, measured up to the 13th week of pregnancy or reported by women, as described in patient records (26). Total gestational weight gain was obtained by subtracting pre-gestational weight from pre-partum weight. Adequate weight gain was defined as falling within the ranges established for weight gain according to the pre-gestational BMI categories. Was defined adequate total gestational weight gain for adults and adolescents as ranging from 12.5 to 18 kg for women with BMI $<19.8\text{kg/m}^2$; from 11.5 to 16 kg for BMI from 19.8 to $<26\text{kg/m}^2$; from 7 to 11.5kg for BMI from 26.0 to 29.0kg/m^2 ; and 7.0kg for BMI $>29.0\text{kg/m}^2$. When maternal height was $<1.57\text{m}$, adequate weight gain corresponded to the lower limit of the recommended range according to the pre-gestational BMI categories (27).

Sanitation was defined as adequate when the household had regular garbage collection, piped running water, and connection to the public sewage main system, and inadequate when one of these services was absent.

Statistical analysis

The bivariate analysis showed an association between the outcome variable gestational XN and the independent variables, using the chi-square test. The Student t-

test was used to test the equality of means at a statistical significance of 5%. A stepwise logistic regression model was used for multivariate analysis. Criteria adopted for the inclusion/removal of variables in the model were $p < 0.10$ and $p > 0.05$, respectively. Crude and adjusted odds ratios were calculated (the latter adjusted by the variables included in the model), with a 95% confidence interval. The analysis were performed using SPSS version 10.0

Ethical issues

The study was conducted through an institutional agreement between the Vitamin A Research Group at the Institute of Nutrition of the Federal University in Rio de Janeiro (UFRJ), and the University Maternity Hospital, following approval by the ethics commission of the maternity hospital and ethics committee of the National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil.

RESULTS

The prevalence of gestational XN was 17.9% and an association was detected between the ocular symptom and VAD, evaluated through serum retinol levels. Table 1 shows that women with XN had lower levels of serum retinol. 38.8% of women with gestational XN had serum retinol levels between 0.70 and 1.049 $\mu\text{mol/l}$, and 7.7% had levels below 0.70 $\mu\text{mol/l}$ (data not shown). No local terms were used by interviewed subjects, during fieldwork, to describe the ocular symptoms of XN.

The majority of the mothers were non-white adults with little schooling. Most lived with a husband or partner and the majority of their homes had adequate sanitation (Table 2). The bivariate analysis did not show any association between XN and these characteristics.

No association was observed between gestational XN and parity, presence of complications in the pregnancy and inter-gestational interval (Table 3). 96.2% of the women had received prenatal care at the University Maternity Hospital.

The number of antenatal care appointments was associated to the presence of XN. Women who had up to 5 antenatal care appointments had a greater prevalence of gestational XN (table 3).

A history of 1 or more abortions was reported by 28.6% of patients, and induced abortion was the most frequent type in the pregnancy prior to the index gestation (Table 4). Among all the interviewees, 34 women reported abortion in the pregnancy prior to the index gestation; of these, 32.4% presented current gestational XN (Table 4). Another finding was the association between history of abortion in the pregnancy prior to the index gestation and inter-gestational interval of less than 24 months ($\chi^2 = 38.2$; $p = 0.000$).

Concerning type of miscarriage in the previous gestation, there was a tendency towards association between spontaneous miscarriage and gestational XN (table 4). This finding was confirmed by the lower serum retinol levels observed among women with spontaneous miscarriages in the previous gestation in comparison with those with no history of miscarriages (1.31 $\mu\text{mol/l} \pm 0.45$ and 1.74 $\mu\text{mol/l} \pm 0.87$; $t = 3,014$ $p = 0.008$).

77.5% of the *post partum* women presented inadequate gestational weight gain. Gestational XN was independent of pre-gestational BMI and gestational weight gain (Table 5).

Multivariate analysis confirmed the previously described findings, and the predictive variables for gestational XN identified in the logistic regression model included limited prenatal care (≤ 5 visits) and a history of 1 or more abortions (Table 6).

DISCUSSION

The prevalence of gestational XN (17.9%) observed in post partum women treated at a public maternity hospital in the city of Rio de Janeiro, Brazil, emphasizes that VAD is a major reason for nutritional concern in the region, confirming other findings among pregnant and post partum women and newborns in the city (28). However, the data of the present study refer to women with no history of chronic pathologies, and who were seen at a healthcare unit.

The magnitude of gestational XN observed in the current study was also similar to that reported in other regions of the world (29). Findings on XN from population-based studies have indicated high prevalence rates among pregnant women in Asia. Katz *et al* (11) observed XN in 11.7% of pregnant women and 16.2% in breastfeeding women evaluated in Nepal. In rural India, Dixit (14) reported XN in 38.9% of pregnant women, and more recently Biswas *et al* (25) reported 6% prevalence in pregnant women treated in hospital in Calcutta. For the Americas, it is estimated that 6% of women are affected, and that Brazil has the highest proportion of cases in this region, based on the extrapolation of prevalence data from preschool children (29).

Christian (30) calculates that between 4.8 and 18% of women develop XN during gestation in different regions worldwide. XN can suggest chronic VAD, and women presenting the ocular symptom have 4 to 6 times greater probability of presenting the symptom again in subsequent pregnancies, as well as 10 times greater probability of developing XN in the first months *post partum* (1,11).

In the current study, an association was found between VAD as diagnosed by the standardized interview and that identified by maternal serum retinol levels, suggesting that the ocular symptom described in the study sample has a nutritional origin. Validation of the standardized interview by means of serum retinol levels and scotopic vision has also been described in studies conducted on pregnant women and preschool children (1,12,25). It should be mentioned that the classic English term “night blindness” was employed in the present study for the identification of the ocular symptom of VAD, due to the lack of an adequate Portuguese term known to both subjects and researcher to designate the symptom. Thus the explanation provided to subjects about the meaning of the term may have contributed for a correct diagnosis, this strategy being suggested (17).

XN is the first functional manifestation of VAD, characterized by diminished vision at night or under limited lighting, which can manifest itself during pregnancy and extend throughout lactation (11) or disappear immediately after delivery (14). This evolution was not examined in this study. The ability of vision to adapt to limited lighting depends on the presence of retinal (a compound with vitamin A activity that could be formed by serum retinol), which binds to opsin to form rhodopsin, allowing vision under limited lighting (2,25).

Vitamin A requirements increase during pregnancy, especially in the third trimester (31). Physiological hemodilution during pregnancy may contribute to late gestational reduction in maternal serum retinol levels (1). However, recently Sapin *et al* (32) have suggested that there are alterations in retinol transport during pregnancy, since they report a difference between the percentages of holo- and apo-RBP (retinol-binding protein) in pregnant compared to non-pregnant women. However, the clinical significance of this finding is still unknown.

In undernourished women, this blood volume expansion may be less effective. In addition, a habitual vitamin A deficient pre-gestational diet can lead to a low hepatic reserve of this nutrient which, if persisting deficient dietary intake of the vitamin during the gestational period, particularly in the third trimester (31), increases the risk of developing vitamin A deficiency disorders such as XN. It has been suggested that women with low hepatic vitamin A reserves, that can be associated with poor intake (25), are more susceptible to developing ocular signs of this deficiency during the gestational period, due to the continuous transfer of vitamin A through the placenta to the fetus, adjusted by homeostatic processes aimed at ensuring the latter's needs (7, 11).

Physiological adjustments combined with high risk of infections can precipitate acute vitamin A deficiency, because of this nutrient's role in the immune system, and trigger the appearance of gestational XN (1,33). Still, the problem has still not been totally elucidated, and the IVACG (4,18) recommends routine screening for this ocular symptom in areas at risk of vitamin A deficiency, in addition to developing preventive strategies.

In the current study, *post partum* women who had received fewer prenatal consultations and presented a history of abortion were more susceptible to gestational XN and low serum retinol levels. The beneficial effect of prenatal care for obstetric outcome has been demonstrated (34) and can be associated with educational practices and prophylactic and therapeutic measures by health professionals, aimed at the

prevention or treatment of infections and complications during pregnancy, thereby improving maternal nutritional status and health.

As for the history of abortions, the study showed an association between this variable and a short inter-gestational interval, which can contribute to the depletion of hepatic vitamin A reserves and serve as a contributing factor to the appearance of gestational XN (35).

The abortion rate recorded in this study, similar to the international rate, was cause for concern (36). A potential association between XN and spontaneous miscarriage was observed. This association is currently being studied by other researchers, with contradictory findings. Simsek *et al* (15) described lower serum vitamin A levels in women with a history of habitual spontaneous abortion. Still, a case-control study by Neela & Raman (37) reported increased serum retinol levels in women with a history of spontaneous abortion.

The current study found no association between XN and maternal gestational complications. However, studies in Nepal suggest that pregnant women with a history of XN are more susceptible to more severe anemia, in addition to urinary and genital tract infections, abdominal pain, diarrhea, pregnancy-induced hypertension, nausea, vomiting, and lack of appetite as compared to women without the ocular symptom (1). Note that 51.8% of the cases of VAD reported by Christian *et al* (1) involved more severe deficiency (serum retinol $<0.70\mu\text{mol/l}$).

The lack of association between maternal VAD and anthropometric nutritional status in the present study suggests that normal pre-gestational weight and adequate gestational weight gain are not sensitive nor specific indicators for VAD. A similar finding was reported in 170 Brazilian *post partum* women, treated at another public maternity hospital in Rio de Janeiro (23).

It may be concluded that the prevalence of XN observed in the present study is a sufficient argument for the implementation of antenatal care measures, such as gestational XN diagnosis and nutritional counseling, aimed at the prevention and treatment of VAD. Although the women in this study were regular users of the prenatal care program, which includes medical follow-up, the results showed a high prevalence of gestational XN. These findings should call the attention of health professionals in primary health care facilities to the public health dimension of VAD, and the need to address it, especially among pregnant women with a history of abortion and with fewer than 5 prenatal visits.

Table 1: Association between gestational night blindness and vitamin A nutritional status (serum retinol levels) in *post partum* women and mean of serum retinol levels according to presence of gestational night blindness.

Vitamin A nutritional status	VAD+ †		VAD - ††		Total	Mean of retinol (µmol/l)± SD
	n	%	n	%		
Total	53	24.4	164	75.6	217	
XN+ *	18	46.2	21	53.8	39	1.37 ± 0.67
XN - **	35	19.7	143	80.3	178	1.78 ± 0.87

$\chi^2 = 12.16$ (p = 0.000); t = 2.654 (p = 0.009)

XN+ * – with history of gestational night blindness; XN-** – without history of gestational night blindness; VAD+ † - with vitamin A deficiency; VAD -†† - without vitamin A deficiency; χ^2 - chi-square; t-test value; SD – standard deviation

Table 2: Socio-demographic characteristics of *post partum* women with and without gestational night blindness

Characteristics	XN+*		XN-**		Total	χ^2	p value
	n	%	n	%			
Total	47	17.9	215	82.1	262		
<i>Maternal age</i>							
Under 20 years	5	10.6	32	14.9	37	0.96	0.62
20 to 34 anos	36	76.6	163	75.8	199		
≥ 35 anos	6	12.8	20	9.3	26		
<i>Schooling</i>							
Incomplete secondary	36	76.6	160	74.4	196	0.97	0.76
Complete secondary and university	11	23.4	55	25.6	66		
<i>Marital status</i>							
Married/lives with partner	35	74.5	134	62.3	169	2.48	0.11
Single	12	25.5	81	37.7	93		
<i>Color</i>							
White	19	40.4	97	45.1	116	3.44	0.56
Non-white	28	59.6	118	54.9	146		
<i>Sanitation</i>							
Inadequate	5	10.6	12	5.6	17	1.62	0.20
Adequate	42	89.4	203	94.4	245		

XN+* – with history of gestational night blindness; XN-**- without history of gestational night blindness; χ^2 - chi-square

Table 3: Obstetric and prenatal characteristics of *post partum* women with and without gestational night blindness

Characteristics	XN+*		XN-**		Total	χ^2	p value
	n	%	n	%			
Total	47	17.9	215	82.1	262		
<i>Parity</i>							
Nulliparous	25	53.2	96	44.6	121	3.21	0.20
1 to 2 deliveries	17	36.2	106	49.3	123		
3 or more deliveries	5	10.6	13	6.1	18		
<i>Gestational complications</i>							
None	28	59.6	122	56.7	150	0.13	0.94
Anemia	13	27.6	63	29.3	76		
Other†	6	12.8	30	14.0	36		
<i>Number of prenatal visits</i>							
5 or fewer visits	16	34.0	44	20.5	60	4.03	0.04
6 or more visits	31	66.0	171	79.5	202		
<i>Inter-gestational interval††</i>							
Total†††	33	20.1	131	79.9	164		
<24 months	9	27.3	32	24.4	41	0.11	0.74
≥24 months	24	72.7	99	75.6	123		

XN+* – with history of gestational night blindness; XN-** – without history of gestational night blindness; χ^2 - chi-square; Other†- pregnancy-induced hypertension, gestational diabetes, urinary tract infection and sexually transmitted disease; Inter-gestational interval††- was defined as the time interval (in months) between the end of the previous pregnancy; and the beginning of the current or index gestation; Total†††- Corrected n, excluding primiparas.

Table 4: History of abortion in *post partum* women with and without gestational night blindness.

Characteristics	XN+*		XN-**		Total	χ^2	p value
	n	%	n	%			
Total	47	17.9	215	82.1	262		
<i>History of abortion</i>							
None	27	57.4	160	74.4	187	5.44	0.02
1 or more	20	42.6	55	25.6	75		
<i>History of abortion in the gestation prior to the current</i>							
Yes	11	23.4	23	10.7	34	5.51	0.02
No	36	76.6	192	89.3	228		
<i>Type of abortion in the previous gestation</i>							
Spontaneous	5	10.6	9	4.2	14	5.10	0.08
Induced	5	10.6	12	5.6	17		
None	37	78.8	194	90.2	231		

XN+*– with history of gestational night blindness; XN-**– without history of gestational night blindness; χ^2 = chi-square. The chi-squares for each stratum of abortion across XN+ and XN- is as follows: spontaneous (p=0.07); induced (p=0.20)

Table 5: Anthropometric characteristics of *post partum* women with and without gestational night blindness

Characteristics	XN+*		XN-**		Total	χ^2	p value
	n	%	n	%			
<i>Pre-gestational body mass index (BMI)</i>							
Total	45	18.3	201	81.7	246		
Underweight	8	17.8	48	23.9	56	1.56	0.67
Normal	30	66.7	120	59.7	150		
Overweight	5	11.1	18	8.9	23		
Obese	2	4.4	15	7.5	17		
<i>Adequacy of gestational weight gain</i>							
Total	44	18.3	196	81.7	240		
Inadequate	33	75.0	153	78.1	186	0.19	0.66
Adequate	11	25.0	43	21.9	54		

XN+* – with history of gestational night blindness; XN-** – without history

of gestational night blindness; χ^2 = chi-square

Table 6: Results of logistic regression with predictive variables for gestational night blindness in *post partum* women.

Variables	β	Crude OR*	95% CI†	Adjusted OR*	95% CI†
History of abortion					
1 or more abortions	0.836	2.155	1.120-4.146	2.306	1.185-4.491
None		1.000	-	1.000	-
<i>Number of prenatal visits</i>					
5 or fewer visits	0.779	2.006	1.008-3.992	2.179	1.078-4.402
6 or more visits		1.000	-	1.000	-
Constant	-2.012				

*OR - odds ratio; 95% CI† – confidence interval

ACKNOWLEDGMENTS

We wish to thank Professor Hernando Flores for the valuable consultancy in developing this study; the research agencies which supported the project (FAPERJ, SES/RJ, CNPq); the directors of the Maternity Hospital/UFRJ, Drs. Pedro Rogério Furniel, Joffre Amin Júnior, and Rita Bornia for their indispensable support in conducting the study; and the GPVA volunteer interns and introductory scientific scholarship students who collaborated in the project. Special thanks to and Paulo Borges for his statistical consultancy and Dr. Bichara for his scientific consultancy.

REFERENCES

1. Christian P, West JR KP, Khattry SK, Katz J, Shrestha SR, Kimbrough-Pradhan E *et al.* Night blindness of pregnancy in rural Nepal – nutritional and health risks. *Int J Epidemiol* 1998; 27:231-237.
2. Christian P, West JR KP, Khattry SK, Kimbrough-Pradhan E, Leclerq SC, Katz J *et al.* Night blindness during pregnancy and subsequent mortality among women in Nepal: Effects of vitamin A and β -carotene supplementation. *Am J Epidemiol* 2000; 152(6):542-547
3. Christian P, West JR KP, Khattry SK, Katz J, Leclerq SC, Kimbrough-Pradhan E *et al.* Maternal night blindness increases risk of mortality in the first 6 months of life among infants in Nepal. *J Nutr* 2001; 131:1510-1512
4. International Vitamin A Consultative Group. IVACG Statement. Maternal Night Blindness: A new indicator of vitamin A deficiency. USA: IVACG, 2002.
5. Mason JB, Lotfi M, Dalmiya N, Sethuraman K, Deitchler M. The Micronutrient Report. Current progress and trends in the control of vitamin A, iodine, and iron deficiencies. Ottawa, Canada: The Micronutrient Initiative/UNICEF, 2001: 1-79.
6. Sivakumar B, Panth M, Shatrugna V, Raman L. Vitamin A requirements assessed by plasma response to supplementation during pregnancy. *Int J Vitam Nut Res* 1997; 67(4):232-236.
7. Underwood B. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(suppl): 517S-524S
8. McLaren DS, Frigg M. Manual de ver y vivir sobre los transtornos por deficiencia de vitamina A (VADD). Washington: Organization Panamericana de la Salud, 1999: 1-142
9. Sommer A, Davidson FR. Assessment and control of vitamin A deficiency: the annecy accords. *J Nutr* 2002; 132: 2845S-2850S.
10. Organisation Mondiale de la Santé. Supplémentation en vitamine A. Deuxième édition. Genève: OMS, 1998: 22.
11. Katz J, Khattry SK, West KP, Humphrey JH, Leclerq SC, Pradhan EK *et al.* Night blindness is prevalent during pregnancy and lactation in rural Nepal. *J Nutr* 1995; 125: 2122-2127.
12. Sommer A, Hussaini G, Muhilal, Tarwotjo I, Susanto D, Saroso S. History of nightblindness: a simple tool for xerophthalmia screening. *Am J Clin Nutr* 1980; 33(4): 887-891

13. Ricketts WA. Vitamin A deficiency in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1939; 38(3): 484-488.
14. Dixit DT. Night-blindness in third trimester of pregnancy. *Ind J Med Res* 1966; 54 (8): 791-795
15. Simsek M, Naziroğlu M, Simsek H, Çay M, Aksakal M, Kumru S. Blood plasma levels of lipoperoxides, glutathione peroxidase, beta carotene, vitamin A and E in women with habitual abortion. *Cell Biochem Funct* 1998; 16(4): 227-231
16. Zhang C; Williams MA; Sanchez SE; King IB; Ware-Jauregui S; Larrabure G *et al.* Plasma concentrations of carotenoids, retinol, and tocopherols in preeclamptic and normotensive pregnant women. *Am J Epidemiol* 2001; 153(6): 572- 580
17. Christian P. Maternal nutrition, health, and survival. *Nutr Rev* 2002; 60: S59-S63.
18. International Vitamin A Consultative Group. IVACG Statement. Maternal Night Blindness: Extent and associated risk factors. USA: IVACG, 1997. 5p.
19. Hennekens CH, Buring JE. 5. Descriptive Studies. *In: Epidemiology in Medicine.* Little, Brown and Company: Boston, 1987: 100-131.
20. Fleiss JL. Determining sample sizes needed to detect a difference between two proportions. *In: Statistical methods for rates and proportions.* New York: John Wiley & Sons, 1981: 33-49
21. World Health Organization. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva, Switzerland: WHO, 1996: 66p. (WHO/NUT 96.10)
22. Wald G. The molecular basis of visual excitation. *Nature* 1968; 219(5156): 800-807
23. Ramalho A, Saunders C, Paiva F, Accioly E, Cardoso LO, Natalizi D. Estado de vitamina A de puérperas e recém-nascidos e estado antropométrico materno. *Rev Cien Med – PUCCAMP* 2001; 10(1): 5-10
24. Araújo CRC, Flores H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clin Chem* 1978; 24(2): 386
25. Biswas AB, Mitra NK, Chakraborty I, Basu S, Kumar S. Evaluation of vitamina A status during pregnancy. *J Indian Med Assoc* 2000; 98(9): 525-529
26. World Health Organization. Pregnant and lactating women. *In: Physical status: the use and interpretation of anthropometry.* Geneva: WHO, 1995: 37-120.
27. Institute of Medicine. The first prenatal visit. *In: Nutrition during Pregnancy and Lactation. An implementation Guide.* Washington: National Academy Press, 1992: 37-52

28. Ramalho RA, Flores H, Saunders C. Hipovitaminose A: Um problema de Saúde Pública no Brasil. *Rev Panam Salud Pública* 2002; 12(2): 117-122
29. West JR KP. Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J Nutr* 2002; 132: 2857S-2866S.
30. Christian P. Micronutrients and Reproductive Health Issues: An International Perspective. *J Nutr* 2003; 133: 1969S-1973S.
31. Institute of Medicine. Vitamin A. *In: Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc*. Washington: National Academy Press, 2002: 82-161
32. Sapin V, Alexandre MC, Chaïb S, Bournazeau JA, Sauvant P, Borel P *et al*. Effect of vitamin A status at the end of term pregnancy on the saturation of retinol binding protein with retinol. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(2): 537-543
33. Ross AC. Vitamin A and Protective Immunity. *Nutrition Today* 1992; 27(4): 18-25
34. Gama SGN, Szwarcwald CL, Leal MC, Theme Filha MM. Gravidez na adolescência, como fator de risco para baixo peso ao nascer no município do Rio de Janeiro, 1996 a 1998. *Rev Saúde Pública* 2001; 35(1): 74-80
35. Fundo das Nações Unidas para a Infância. 4. Ecologia da xeroftalmia. *In: Carência de Vitamina A e Xeroftalmia. Informe de uma Reunião Conjunta OMS/USAID*. Brasília: UNICEF, 1980: 32-39
36. Berer M. Making abortions safe: a matter of good public health policy and practice. *Bull World Health Organ* 2000; 78(5): 580-592
37. Neela J, Raman L. The relationship between maternal nutritional status and spontaneous abortion. *Natl Med J India* 1997; 10(1): 15-16

Artigo 2:

SAUNDERS, C.; RAMALHO, R.A.; LIMA, A.P.P.T.; GOMES, M.M.; CAMPOS, L.F.C.; SILVA, B.A.S.; SOARES, A.G.; LEAL, M.C. *Association between gestational night blindness and serum retinol in mother/newborn pairs in the city of Rio de Janeiro, Brazil.*

Encaminhado para apreciação pela comissão editorial da *Nutrition*, Nashville, USA em abril/03.

**ASSOCIATION BETWEEN GESTATIONAL NIGHT BLINDNESS AND
SERUM RETINOL IN MOTHER/NEWBORN PAIRS IN THE CITY
OF RIO DE JANEIRO, BRAZIL**

Running head: *Gestational night blindness and serum retinol in Brazil*

*Cláudia Saunders¹, Rejane Andréa Ramalho²,
Ana Paula Pereira Thiapó de Lima³, Mirian Martins Gomes³,
Luciana Ferreira Campos³, Bianca Amaral dos Santos Silva⁴,
Alexandre Gonçalves Soares⁵, Maria do Carmo Leal⁶*

1. D. Sc. Student (National School of Public Health - ENSP, Oswaldo Cruz Foundation - FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). Research Group on Vitamin A (GPVA). Institute of Nutrition, Federal. University in Rio de Janeiro (UFRJ), RJ. *Address:* Edifício dos Institutos Bloco J, 2º. andar, Instituto de Nutrição, Departamento de Nutrição e Dietética, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CEP. 21.941.590. Rio de Janeiro, RJ, Brazil. E-mail: cfcoelho@osite.com.br; csaunders@ig.com.br. Tel/Fax. 55.21.2447.4379
2. D. Sc. Research Group on Vitamin A (GPVA). Institute of Nutrition, UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil.
3. M. Sc. Students. Research Group on Vitamin A (GPVA). Institute of Nutrition, UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil.
4. Research Group on Vitamin A (GPVA). Institute of Nutrition, UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil.
5. M. Sc. Research Group on Vitamin A (GPVA). Institute of Nutrition, UFRJ, Rio de Janeiro, Brazil.
6. D. Sc. Department of Epidemiology and Quantitative Methods in Public Health, National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil.

Sources of support: Rio de Janeiro Research Support of State Health Foundation (FAPERJ), Rio de Janeiro State Health Department (SES-RJ), and the Brazilian National Research Council (CNPq)

Author responsible for correspondence:

Cláudia Saunders

Rua Comandante Rubens Silva, 576, bloco 1, apto. 408 - Jacarepaguá

Rio de Janeiro – RJ – Brazil - CEP. 22750.054

Telefax. 55.21.2447.4379

E-mail: cfcoelho@osite.com.br; csaunders@ig.com.br

ABSTRACT

OBJECTIVE

Gestational night blindness (XN) is associated with increased risk of reproductive morbidity and mortality. The objective of this study was to describe the prevalence of gestational XN among post partum women treated in a public maternity hospital in the city of Rio de Janeiro, Brazil, and to evaluate its association with maternal and neonatal (cord blood) serum retinol levels.

METHODS

XN was evaluated using an interview according to WHO and OPS guidelines, in 222 women after singleton births, with low obstetric risk. Serum retinol levels were measured according to the modified Bessey Lowry method, with a cut-off point for vitamin A deficiency (VAD) of $<1.05 \mu\text{mol/l}$.

RESULTS

Prevalence of gestational XN was 18%, and inadequate maternal and cord blood serum retinol levels were found in 24.4% and 45.5% of samples, respectively. The results showed that XN can predict maternal VAD (OR=3.50; 95%CI=1.69-7.27). An association was observed between maternal and neonatal serum retinol (OR=4.79; 95%CI= 2.40-9.57), as was a trend for gestational XN to predict neonatal VAD (OR=1.91; 95%CI=0.96-3.80). The sensitivity and specificity of the standardized interview were 34.0% and 87.2%, respectively.

CONCLUSIONS

Despite the low sensitivity, the interview can be used to screen for women who need more in-depth investigation of their vitamin A nutritional status, along with other diagnostic techniques, while the test's high specificity reinforces its use as a strategy to be incorporated into routine prenatal care, allowing the detection of VAD in pregnant women.

KEY WORDS: night blindness, serum retinol, pregnancy, *post partum* women, newborn, vitamin A deficiency, sensitivity, specificity, indicators.

SUMMARY

The history of gestational night blindness in *post partum* women (evaluated using an interview) can predict maternal vitamin A deficiency and the interview can be used as a strategy to screen for pregnant who need more in-depth investigation of their vitamin A nutritional status, along with other diagnostic techniques.

INTRODUCTION

The control and eradication of micronutrient, vitamin A, iron, and iodine deficiencies, known collectively as “hidden hunger”, continue to pose a challenge for researchers, since some 3 billion individuals are affected worldwide, thereby further compromising socioeconomic development in affected countries (1,2).

Vitamin A deficiency (VAD) remains a public health problem in various parts of the world, leading researchers and international health committees to focus on diagnostic programs to identify the magnitude of the problem and on strategies for intervention and control of such malnutrition, as observed principally since 1990 (2,3,4,5). According to the World Health Organization – WHO (6), Brazil is classified as having major prevalence of subclinical nutritional deficiency.

The functional indicator *night blindness* (XN), defined as decreased night vision in individuals with normal daytime vision (7), has merited attention in recent years and has been widely employed in population-based studies to detect VAD. Using an easy, low-cost methodology, it allows the detection of cases in the population segment most vulnerable to nutritional deficiencies, namely pregnant and nursing women, infants, and preschoolers (5,8,9,10,11,12). According to the International Vitamin A Consultative Group (7), the extent of XN is still unknown in regions like Africa and Latin America.

Studies performed in Asia call attention to the high maternal mortality rates associated with VAD and XN during pregnancy and suggest that periodic vitamin A supplementation has been capable of reducing maternal mortality in the short and long term (10,13). In a randomized study conducted in Nepal, infant mortality in the first 6 months of life is 63% higher among children whose mothers presented gestational XN and received placebo as compared to those that received vitamin A and β -carotene (11). The mechanism is still not totally clear, but it may be due to the importance of an adequate vitamin A nutritional state for the maintenance of epithelial integrity and immune competence (4,10).

Due to the impact of vitamin A deficiency on health, especially that of pregnant and post partum women, newborns, and infants, detection of individuals at risk is crucial, especially using sensitive indicators with a simple methodology for the subclinical phase. In addition, the indicators should allow to monitor and evaluate the efficacy of low-cost interventions, especially in populations with scarce available resources for health and in keeping with public health principles.

The current study aimed to evaluate the vitamin A nutritional status of *post partum* women and their newborns in a public maternity hospital in the city of Rio de Janeiro, Brazil, according to functional indicators (gestational XN) and biochemical indicators (maternal and neonatal serum retinol levels), as well as to assess the association between them.

METHODS AND MATERIALS

Study design

The study population consisted of *post partum* women and their respective newborns, with the mothers having been enrolled in prenatal care at the Maternity Hospital of the Federal University in Rio de Janeiro (UFRJ). The hospital provides free obstetric health care to some 1400-1500 women per year from various neighborhoods in the city of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro State, in the Southeast region of Brazil.

Selection of 217 *post partum* women and their 222 newborns was based on spontaneous demand at the maternity hospital, every other day in four different regular weekly hospital shifts, including one weekend day and one night shift. Based on the design chosen for the sample and procedures, it was a descriptive, cross-sectional study (14).

The women who were hospitalized on the days when the data were collected, who signed the informed consent form, and who met the inclusion criteria (singleton pregnancy, with no disease diagnosed prior to the index pregnancy, and who had not utilized vitamin-mineral supplements containing vitamin A during the pregnancy) were interviewed. In addition, their medical files were consulted with a view towards filling out the pre-tested questionnaire.

After the data-collection procedures, all of the women received nutritional orientation, and those with serum retinol $<1.05\mu\text{mol/l}$ were treated with a vitamin supplement as recommended by the WHO (5).

The minimum sample size was set at 197 *post partum* women to detect differences of 15% between the two proportions, based on an estimated 20% VAD prevalence, considering an α of 5% and a β of 10% .

Evaluation of vitamin A nutritional status

The evaluation of vitamin A nutritional status in mother/newborn pairs employed *biochemical* indicators – maternal and neonatal (cord blood) serum retinol levels – and *functional* indicators (gestational XN).

For determination of serum retinol levels, a fasting 5ml sample of blood was taken by venipuncture in the women during immediate postpartum, as well as 5 ml of neonatal (umbilical cord) blood, using manual expression (15).

Serum retinol was determined using spectrophotometric dosing based on the modified Bessey *et al* method (16). Serum retinol levels were classified using 0.35 μ mol/l intervals, and a cut-off of <1.05 μ mol/l was used to define VAD (5).

Gestational XN was diagnosed using a standardized interview (3,5), considering as cases those women who reported difficulty in seeing with limited light or at night during the index gestation and who reported no difficulty in seeing during the day.

Data quality

With a view towards standardizing procedures, the interviewers were trained, recycled, and supervised periodically and oriented to follow an instructions manual. Reliability of the gestational XN diagnosis based on the interview was tested using a retest questionnaire by two interviewers in 15% of the sample (n=33) while the post partum women were still hospitalized. To evaluate inter-observer agreement, the *kappa* (*k*) index was calculated, setting the confidence interval at 95% (17).

Statistical analysis

Exploratory analysis of the data identified outliers for maternal and neonatal serum retinol, defined as the mean plus or minus 3 standard deviations. This led to the exclusion of the values 3.83 μ mol/L and 4.38 μ mol/L, respectively, recorded for one neonate and one mother.

The Student t-test was used to test the equality of means at a statistical significance of 5%. Odds ratios were calculated for the categorical variables, using a 95% confidence interval. Analyses were performed using SPSS version 10.0

Interview validity for the gestational XN diagnosis was evaluated using serum retinol as the standard. The test's sensitivity and specificity values were calculated (17).

Ethical Issues

The study was conducted through an institutional agreement between the Vitamin A Research Group at the Institute of Nutrition of the Federal University in Rio de Janeiro (UFRJ) and the University Maternity Hospital, following approval by the ethics committees of the maternity hospital and the National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation.

RESULTS

Mean maternal age was 26 years, with a standard deviation of 5.8 (SD±5.8). Mean pregestational body mass index (BMI) was 22.6 kg/m² (SD± 3.7) and mean gestational weight gain was 12.9 kg (SD±5.7). As for obstetric history, the mean number of gestations was 2 (SD±1.7), mean gestational age at delivery based on date of last menstrual period was 39 weeks (SD±1.7). In relation to conditions at birth, mean birth weight was 3.26 kg (SD±0.5) and mean length was 49.2 cm (SD±3.07).

This study showed an optimum agreement rate ($k = 1.00$) in the diagnosis of gestational XN, evaluated with the retest of the standardized interview by two interviewers.

Mean postpartum vitamin A serum concentration, measured in 217 mothers, was 1.70 µmol/L (SD±0.86), varying from 0.07 to 4.26 µmol/l, and prevalence of maternal VAD was 24.4%. For the 222 newborns analyzed, mean retinol in the umbilical cord blood was 1.29 µmol/L (SD±0.75), varying from 0.01 to 3,6µmol/l, and VAD prevalence was 45.5%. Furthermore, mean cord blood retinol was 75.9% of the mean maternal retinol concentration.

Of the 217 mothers, 18.0% presented gestational XN, and the inadequacy of serum retinol was 3.5 greater in women who presented XN (Table 1). A trend was observed for maternal gestational XN to predict VAD in newborns, although the differences were not statistically significant (table 1).

The sensitivity and specificity of the standardized interview for diagnosing XN in relation to serum retinol were 34.0% and 87.2%, respectively.

There was a strong and significant association between maternal and neonatal vitamin A nutritional status as measured by serum retinol (Table 2).

As shown in table 3, serum retinol levels among mothers presenting gestational XN were significantly lower than those not presenting this visual symptom. However, the observation was not made with cord blood retinol levels.

The findings suggest that the gestational XN described in this study may be of nutritional origin, since 46.2% of the cases of gestational XN among mothers were observed with serum retinol levels less than 1.05µmol/l, and of these 38.5% were between 0.7µmol/l and 1.05µmol/l. Among the newborns whose mothers presented

gestational XN, 58.5% had serum retinol less than 1.05 μ mol/l and 24.4% presented serum retinol less than 0.7 μ mol/l (Table 4).

DISCUSSION

In the current study, the reliability of findings on gestational XN was confirmed by the high agreement obtained by retesting questionnaires. The interview during the first few days postpartum was also shown to be capable of capturing the visual alterations occurring during the index gestation.

Important XN prevalence and inadequate serum retinol levels were found in mother/newborn pairs, with findings similar to those of other public maternity hospitals in the city of Rio de Janeiro (15,18), emphasizing the need for intervention measures in the target group.

The prevalence of gestational XN observed in the current study was also similar to that reported in pregnant women in other regions of the world. Population-based studies conducted in rural areas of South and Southeast Asia indicate XN prevalence rates of 10 to 20% in pregnant women (7). Katz *et al* (12) observed XN in 11.7% of pregnant women and in 16.2% of breastfeeding mothers evaluated in Nepal. In India there have been quite disparate findings, with Dixit (19) reporting a XN prevalence of 38.9% in pregnant women in rural regions, and more recently Biswas *et al* (8) referring to a 6% prevalence rate in pregnant women treated in hospital in Calcutta.

Note that XN can occur in the same woman in subsequent pregnancies, increasing the maternal morbidity and mortality rates, and that it can extend throughout postpartum, compromising the amount of vitamin A in the breastmilk, increasing the risk of VAD in infants who have already been born with a limited reserve (11,20).

XN is related to rod dysfunction due to the vitamin A deficiency, resulting in a subjective sensation of incapacity to see adequately under diminished lighting, for example at dusk, and preceding the appearance of conjunctival xerosis and *Bitôt's spots* (3,10,21). XN can be related to degenerative disorders such as retinitis pigmentosa or Sjögren's syndrome, which are rare and do not respond to vitamin A treatment. The epidemiologically accepted cause for XN is deficient dietary intake of vitamin A, which can be aggravated by the presence of infections, deficient lipid, zinc, and vitamin E intake, and intestinal parasites, among other pathological factors (3,5,11).

In the current study, gestational XN proved to be a good indicator of maternal VAD. The validation of gestational XN with serum retinol levels has been described by other authors (8,12), and the findings have oriented vitamin A supplementation programs, with improved morbidity and mortality rates in mothers and infants (9,10,11). However, the association between maternal XN and neonatal VAD has not been

described previously, although the association between maternal and neonatal vitamin A nutritional status based on serum retinol levels is a consensus among researchers (15,22) and was observed in the current study.

The interview validity as described by the standard scotopic vision test was first described by Sommer *et al* (23) in preschool children in Indonesia, with high sensitivity and specificity (97%). Association with serum retinol levels was also described in the same population, with lower sensitivity and specificity, 55.9% and 81.8%, respectively (23).

Researchers have used the interview for diagnosis of XN in pregnant and breastfeeding women and preschoolers, based on the study by Sommer *et al* (23), but few have discussed the sensitivity and specificity found in their studies. The low sensitivity of the indicator gestational XN observed in the present study can also be found in another study, on pregnant women in India (8). Some physiological aspects proper to pregnancy, such as dizziness, hypotension, and hypoglycemia can confound the interpretation of gestational XN by the woman.

Even so, advantages cited with the standardized interview for diagnosis of gestational XN were methodological ease, low cost (desirable in regions with limited health sector resources), and the non-invasive technique allowing for the evaluation of large samples, not even requiring specialized knowledge in ophthalmology. In addition, it allows for the detection of familial vulnerability (3) and provides early diagnosis of individuals with subclinical deficiency, reflecting the metabolic activity of vitamin A in the visual cycle (24).

The method's disadvantages include difficulty in measuring the decrease in visual capacity under diminished light or at night. To minimize this limitation in the method, the visual symptom was evaluated as difficulty in seeing under diminished lighting, using night vision before and after pregnancy as the reference. Considering that during pregnancy there is an uninterrupted transfer of vitamin A to the fetus, in women with a low hepatic reserve the adjustment can precipitate the appearance of XN, principally in the second half of pregnancy (25).

Another finding that merits highlighting in the present study is the prevalence of XN in women with serum retinol levels from ≥ 0.70 to $1.05\mu\text{mol/l}$, underscoring the current discussion of the need to review the cut-off points for VAD.

Flores *et al* (26) demonstrated that low-income Brazilians without vitamin A deficiency presented serum retinol levels from 0.70 to $1.05\mu\text{mol/l}$ after the therapeutic

vitamin A test, suggesting that percentile 5 for the population without deficiency is $1.05\mu\text{mol/l}$.

In 1996 the WHO (5) suggested that higher cut-off-points (e.g. $<0.70\mu\text{mol/l}$ or $<1.05\mu\text{mol/l}$) may be useful in identifying that proportion of the population possibly at risk of inadequate vitamin A status. Sommer (27) reports that with the decrease in the hepatic vitamin A reserve, a reduction also occurs in serum levels. The physiological consequence may be difficulty in visual adaptation to diminished lighting or abnormal differentiation of the conjunctival epithelium, both observed with serum retinol less than $1.0\mu\text{mol/L}$. McLaren & Frigg (3) recognize that XN is prevalent and may be associated with serum retinol levels from 0.70 to $1.05\mu\text{mol/l}$ (20 and $30\mu\text{g/dl}$). Christian *et al* (9) call attention to the excess risk of persistent XN in pregnant women with serum retinol levels from 0.70 to $1.05\mu\text{mol/l}$, suggesting that the symptom may appear in the presence of physiologically acceptable circulating retinol levels, and thus that the $<0.70\mu\text{mol/l}$ cut-off point adopted for children by the WHO (5) is inadequate for pregnant women. Biswas *et al* (8) suggest that values below 30 mg/dl ($1.05\mu\text{mol/l}$) in pregnant women are more associated with the hepatic reserve and retinol intake.

Such evidence substantiates the increased risk of mortality among populations with deficiency and without ocular signs, suggesting the need to reassess the cut-off points and criteria for the interpretation of distribution of serum retinol levels.

Based on the above, one can conclude that the prevalence of gestational XN and inadequate serum retinol levels among post partum women and newborns is a concern, calling attention to the need for studies in other parts of Brazil.

The results also suggest that evaluation of gestational XN using the standardized interview can serve as an appropriate strategy for evaluating maternal vitamin A nutritional status, with methodological advantages. Despite the low sensitivity, the interview can be used in screening women requiring further investigation of their vitamin A nutritional status, in combination with other diagnostic techniques. Meanwhile, the test's high specificity reinforces its use as a strategy to be incorporated into routine prenatal care, allowing for both the detection of pregnant women with VAD and having a major impact on maternal and child health, as well as orienting measures aimed at improving the vitamin A nutritional status of mothers and their newborn.

REFERENCES

1. Mason JB, Lotfi M, Dalmiya N, *et al.* *The Micronutrient Report. Current progress and trends in the control of vitamin A, iodine, and iron deficiencies.* Ottawa, Canada: The Micronutrient Initiative/UNICEF, 2001:79
2. Ramakrishnan U. Prevalence of micronutrient malnutrition worldwide. *Nutr Rev* 2002; 60(5 pt II): S46
3. McLaren DS, Frigg M. *Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD). [SIGHT AND LIFE Manual on Vitamin A Deficiency Disorders (VADD)].* Washington: Organizacion Panamericana de la Salud (OPS), 1999: 143
4. World Health Organization (WHO). *Global Prevalence of Vitamin A Deficiency.* Geneva, Switzerland: WHO, 1995: 116 (WHO/NUT 95.3)
5. World Health Organization (WHO). *Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes.* Geneva, Switzerland: WHO, 1996: 66 (WHO/NUT 96.10)
6. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). *Supplémentation en vitamine A. Utilisation des suppléments dans le traitement et la prévention de la carence en vitamine A et de la xérophthalmie.* Genève, Switzerland: OMS, 1998: 28.
7. International Vitamin A Consultative Group (IVACG). *IVACG Statement. Maternal Night Blindness: Extent and associated risk factors.* USA: IVACG, 1997: 5
8. Biswas AB, Mitra NK, Chakraborty I, *et al.* Evaluation of vitamin A status during pregnancy. *J Indian Med Assoc* 2000; 98(9): 525
9. Christian P, West Jr KP, Khattry SK, *et al.* Night blindness of pregnancy in rural Nepal – nutritional and health risks. *Int J Epidemiol* 1998; 27(2):231.
10. Christian P, West Jr KP, Khattry SK, *et al.* Night blindness during pregnancy and subsequent mortality among women in Nepal: Effects of vitamin A and β -carotene supplementation. *Am J Epidemiol* 2000; 152(6):542
11. Christian P, West Jr KP, Khattry SK, *et al.* Maternal night blindness increases risk of mortality in the first 6 months of life among infants in Nepal. *J Nutr* 2001; 131(5): 1510
12. Katz J, Khattry SK, West KP, *et al.* Night blindness is prevalent during pregnancy and lactation in rural Nepal. *J Nutr* 1995; 125 (8): 2122.

13. West Jr KP, Katz J, Khattry SK, *et al.* Double-blind, cluster randomised trial of low dose supplementation with vitamin A or β carotene on mortality related to pregnancy in Nepal. *Br Med J*; 1999; 318(7183): 570
14. Hennekens CH, Buring JE. Descriptive Studies. In: *Epidemiology in Medicine*. Little, Brown and Company: Boston; 1987: 100
15. Ramalho RA, Anjos LA, Flores H. Estado nutricional de vitamina A no binômio mãe/recém-nascido em duas maternidades no Rio de Janeiro, Brasil. [Vitamin A status in mother/newborn pairs from two health facilities in Rio de Janeiro, Brazil]. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49(4): 318
16. Araújo CRC, Flores H. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clin Chem* 1978; 24(2): 386
17. Szklo M, Javier Nieto F. Quality assurance and control. In: *Epidemiology. Beyond the Basics*. Maryland: Aspen Publishers, 2000: 343
18. Accioly E, Souza-Queiróz S. Deficiência de vitamina A en embarazadas asistidas en una maternidade pública en Rio de Janeiro, Brasil. [Assessment of vitamin A status in pregnant women at a public maternity hospital in Rio de Janeiro, Brazil]. *Rev Chil Nutr* 2001; 27(3): 352
19. Dixit DT. Night-blindness in third trimester of pregnancy. *Ind Jour Med Res* 1966; 54 (8): 791
20. Stoltzfus RJ, Underwood BA. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World Health Organ* 1995; 73(5): 703.
21. Duester G. Families of retinoid dehydrogenases regulating vitamin A function: production of visual pigment and retinoic acid. *Eur J Biochem* 2000; 267(14):4315
22. Chen H-W, Lii C-K, Ou C-C, *et al.* Plasma vitamin A and E and red blood cell fatty acid profile in newborns and their mothers. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50(8): 556
23. Sommer A, Hussaini G, Muhilal, *et al.* History of nightblindness: a simple tool for xerophthalmia screening. *Am J Clin Nutr* 1980, 33(4): 887
24. Wald G. The molecular basis of visual excitation. *Nature* 1968; 219(5156): 800.
25. Underwood B. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *Am J Clin Nutr* 1994; 59 (suppl 2): 517S
26. Flores H, Azevedo MNA, Campos FACS, *et al.* Serum vitamin A distribution curve for children aged 2-6 y known to have adequate vitamin A status: a reference population. *Am J Clin Nutr* 1991; 54(4): 707

27. Sommer A. *La carencia de vitamina A y sus consecuencias. Guía práctica para la detección y el tratamiento*. Geneva: OMS; 1995: 73.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank Professor Dr. Hernando Flores for his valuable advice in developing this study, the research support agencies that sponsored the work, Rio de Janeiro Research Support of State Health Foundation (FAPERJ), José Bonifácio Foundation (FUJB), Rio de Janeiro State Health Department (SES-RJ), and the Brazilian National Research Council (CNPq), the directors of the Maternity Hospital of the Federal University in Rio de Janeiro, Drs. Pedro Rogério Furniel, Joffre Amin Júnior, and Rita Bornia for their indispensable support in conducting the study, and the volunteer interns and scientific initiation scholarship students who collaborated in the data collection. Special thanks to Paulo Borges for his statistical consultancy.

Table 1: Association between vitamin A nutritional status (serum retinol levels) in mother/newborn pairs and presence of gestational night blindness. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001).

Vitamin A nutritional status	XN+		XN-		<i>Total</i>	OR (95% CI)
	n	%	n	%		
<i>Post partum women</i>						
VAD	18	34.0	35	66.0	53	3.50 (1.69-7.27)
Adequate	21	12.8	143	87.2	164	1.00
<i>Total</i>	39	18.0	178	82.0	217	
<i>Newborns (cord blood)</i>						
VAD	24	23.8	77	76.2	101	1.91(0.96-3.80)
Adequate	17	14.0	104	86.0	121	1.00
<i>Total</i>	41	18.5	181	81.5	222	

XN – gestational night blindness; OR - odds ratio; 95%; CI - confidence interval; VAD- vitamin A deficiency

Table 2: Association between maternal and neonatal vitamin A nutritional status based on serum retinol levels. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001).

Maternal vitamin A nutritional status	Neonatal vitamin A nutritional status (cord blood)					
	<i>VAD</i>		<i>Adequate</i>		<i>Total</i>	OR (95% CI)
	n	%	n	%		
VAD	39	73.6	14	26.4	53	4.79(2.40-9.57)
Adequate	57	36.8	98	63.2	155	1.00
<i>Total</i>	96	46.2	112	53.8	208	

VAD– vitamin A deficiency; OR - odds ratio; 95% CI - confidence interval; VAD- vitamin A deficiency

Table 3: Mean maternal and neonatal serum retinol levels according to presence of gestational night blindness. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001).

Serum retinol	n	Mean	Standard deviation	Mean difference	p
<i>Maternal</i>					
XN+	39	1.37	0.68	-0.40	0.009
XN-	178	1.77	0.87		
<i>Neonatal</i>					
XN+	41	1.19	0.64	-0.12	0.337
XN-	181	1,31	0.77		

XN – gestational night blindness

Table 4: Distribution of maternal and neonatal serum retinol levels according to presence of gestational night blindness. Maternity Hospital, Federal University in Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil (1999-2001).

<i>Serum retinol levels</i>									
<i>Gestational</i>	<i><0.35µmol/l</i>		<i>0.35µmol/l to 0.69 µmol/l</i>		<i>0.70 to 1.049 µmol/l</i>		<i>≥ 1.05µmol/l</i>		<i>Total</i>
<i>night blindness</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	
<i>Maternal serum retinol</i>									
XN+	1	2.6	2	5.1	15	38.5	21	53.8	39
XN-	6	3.4	7	3.9	22	12.4	143	80.3	178
<i>Neonatal (cord blood) serum retinol</i>									
XN+	1	2.4	9	22.0	14	34.1	17	41.5	41
XN-	7	3.9	28	15.5	42	23.2	104	57.4	181

XN – gestational night blindness

Artigo 3:

SAUNDERS, C.; LEAL, M.C.; FLORES, H.; SOARES, A .G.; LIMA, A.P.P.T.;
LEITE, P.C.; SOUZA JR, P.R.B.; RAMALHO, R.A.

Distribuição intraplacentária de retinol.

Formatado segundo as normas do *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, Rüşchlikon, Suíça, dezembro/03

DISTRIBUIÇÃO INTRAPLACENTÁRIA DE RETINOL**INTRAPLACENTAL RETINOL DISTRIBUTION**

Cláudia Saunders¹; Maria do Carmo Leal²

Hernando Flores³; Alexandre Gonçalves Soares¹;

Ana Paula Pereira Thiapó de Lima¹; Paula Costa Leite¹;

Paulo Roberto Borges de Souza Júnior²; Rejane Andréa Ramalho¹

6. Instituto de Nutrição Josué de Castro da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *Endereço:* Edifício dos Institutos bloco J, 2º andar. Instituto de Nutrição Josué de Castro. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro – RJ, Brasil. CEP. 21.941.590. Telefax. 55.21.2562.6599. E-mail: cfcoelho@osite.com.br; aramalho@rionet.com.br
7. Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz. Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde Pública. *Endereço:* Rua Leopoldo Bulhões, 1480, sala 809. Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz. Manguinhos. CEP.21041.210. Rio de Janeiro – RJ, Brasil. E-mail: duca@ensp.fiocruz.br
8. Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Departamento de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco. *Endereço:* Laboratório de Bioquímica da Nutrição, Departamento de Nutrição. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária. CEP. 50739. Recife – PE, Brasil. E-mail: hflores@nlink.com.br

Running title: vitamina A em placenta humana

RESUMO

Objetivando-se avaliar a distribuição intraplacentária de vitamina A, foram coletadas e analisadas 234 amostras placentárias, correspondendo a seis amostras de cada placenta, sendo duas da porção materna lateral, uma da porção materna central além de, duas da porção fetal lateral e uma da porção fetal central, obtidas de 39 puérperas adultas, de gestação de baixo risco e sem deficiência de vitamina A sérica ou cegueira noturna. A determinação dos teores de retinol foi realizada através do método espectrofotométrico. Os valores de retinol de cada região foram correlacionados com o valor mais provável de cada placenta ($p < 0,001$). Apesar das diferenças observadas nos teores de retinol nas amostras, a análise estatística dos dados mostrou que a variação intratecidual não influenciou as conversões dos dados em informação, podendo qualquer porção do órgão ser usada na determinação dos níveis de retinol, pois, apresentam correlação com o valor mais provável. Com isso, os achados do estudo representam um avanço para as pesquisas que pretendam incorporar coleta e dosagem dos teores placentários de vitamina A em suas análises aumentando assim, o arsenal de marcadores de estados pré-patológicos ou subclínicos da deficiência de vitamina A, o que pode permitir ações mais precoce de combate nutricional no grupo materno-infantil.

Palavras-chave: retinol, placenta, puérperas, vitamina A, Brasil.

ABSTRACT

With the objective of evaluating intraplacental vitamin A distribution, 234 placental samples were collected, corresponding to six samples from each of the placentas analyzed: two from the lateral maternal portion, one from the central maternal portion, two from the lateral fetal portion, and one from the central fetal portion. Samples were obtained from 39 adult puerperal mothers with low-risk pregnancies, without vitamin A deficiency or night blindness. Retinol content determination was done through spectrophotometry. Retinol values obtained for each region were correlated with the most probable value for each placenta ($p < 0,001$). Despite differences in retinol content between samples, statistical data analysis showed that intratissue variation had no influence on the conversion of data into information. Consequently, any portion of the placenta may be used for retinol level determination purposes, due to the correlation between all portions and the most probable value. The findings of the present study represent an advance for surveys intending to incorporate the collection and dosage of placental vitamin A levels into their analyses, thus increasing the arsenal of pre-pathological or subclinical vitamin A deficiency markers, which can allow for earlier intervention on the maternal-infant group.

Key words: retinol, placenta, post partum women, vitamin A, Brazil.

INTRODUÇÃO

A deficiência de vitamina A (DVA) tem sua relevância comprovada como problema de saúde pública em várias partes do mundo, inclusive no Brasil [1,2]. Como conseqüências da DVA na saúde do grupo materno-infantil, os estudos mais recentes confirmam a associação dessa carência nutricional com maiores taxas de morbimortalidade materna e nos lactentes [3,4,5,6,7].

Embora o principal grupo atingido pela DVA seja o materno-infantil, existem ainda escassas informações acerca da transferência da vitamina A para o feto, da associação entre os níveis séricos de retinol com os níveis placentários bem como sobre a distribuição intraplacentária de vitamina A. Alguns autores discutem a suposta regulação exercida pela placenta através da análise dos níveis séricos de vitamina A materno e fetal, e já é descrita a presença de receptores para a vitamina na membrana em borda escova da placenta [8,9,10,11,12]. Contudo, os níveis de retinol nas placentas humanas têm sido pouco utilizados para a avaliação do estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil, ainda que a placenta seja uma importante via de obtenção deste nutriente para o feto. Talvez por esta razão, não haja metodologia definida para padronização de coleta e análise dos níveis placentários de vitamina A, o que nos motivou a propor uma metodologia de coleta e análise, visando a utilização potencial da placenta como indicador subclínico dessa carência no grupo materno-infantil.

MATERIAL E MÉTODOS

População e Amostra

A população estudada foi constituída por puérperas atendidas pelo serviço de assistência pré-natal da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Foram selecionadas 46 puérperas acompanhadas pelo Serviço de Assistência Pré-natal da Unidade de Saúde, com idade entre 18 a 40 anos, que atenderam aos *critérios de seleção* - gestação de feto único e saudável, idade gestacional ao parto maior ou igual a 37 semanas, não portadoras de deficiência de vitamina A (níveis séricos de retinol $<1,05\mu\text{mol/l}$ ou cegueira noturna), nem enfermidades com início prévio à gestação ou intercorrências gestacionais e não-usuárias de suplementos vitamínico-minerais com vitamina A durante a gestação.

Todas as participantes do estudo foram informadas sobre os objetivos e procedimentos do estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. As informações foram obtidas através de consultas aos prontuários e visando melhorar a qualidade das informações obtidas, os pesquisadores foram treinados e reciclados periodicamente e orientados a seguir um manual de instruções. Após a coleta dos dados, todas as puérperas receberam orientação nutricional.

Coleta e Análise das Amostras de Placentas

A obtenção das placentas, bem como a pesagem das mesmas, foi realizada imediatamente após o parto e separação do recém-nascido [13].

Antes da obtenção das amostras da placenta, fez-se a separação da membrana amniocoriônica e do cordão umbilical. Das 46 puérperas, foram obtidas no total 276 amostras das placentas, correspondendo a 6 (seis) amostras de 5g de cada placenta. De cada placenta foram obtidas 2 (duas) amostras da porção materna lateral, 1 (uma) da porção materna central além de, 2 (duas) amostras da porção fetal lateral e 1 (uma) da porção fetal central, através de incisão feita com bisturi, realizada em ambiente com pouca luminosidade [14,15].

As amostras foram lavadas com solução de cloreto de sódio 0,15M [10] e foram estocadas em freezer da Maternidade em potes individuais esterilizados e com proteção contra a luminosidade, até o transporte para o laboratório de Bioquímica do Instituto de Nutrição Josué de Castro (INJC) da UFRJ.

A determinação dos níveis de retinol foi realizada através de dosagem espectrofotométrica com base no método Bessey *et al* [16] modificado por Araújo & Flores [17] e, conforme os procedimentos adotados por Flores *et al* [15] para a dosagem de vitamina A hepática.

Para a análise da estabilidade do retinol em amostras congeladas e não congeladas, foram coletadas 12 amostras de placentas das 2 primeiras puérperas a integrarem o estudo, obtidas imediatamente após o parto e comparou-se com as 36 amostras de placentas congeladas por até 6 meses a -20°C , obtidas das 6 puérperas ingressas na seqüência de coleta estabelecida pela pesquisa. Os resultados obtidos sobre a estabilidade da vitamina A nas amostras obtidas nas diferentes condições descritas na fase inicial, norteou a coleta e posterior análise dos teores de vitamina A descrito do presente estudo.

Análise Estatística

Foram identificados os valores de retinol considerados como *outliers* em sete amostras de placentas, definidos como média mais ou menos 3 desvios padrões [18]. Com isso, todas as amostras de placentas das puérperas nas quais foram detectados esses valores extremos, foram excluídas da análise final, sendo então estudadas 234 porções de placentas, correspondentes a 39 puérperas.

Na análise exploratória comparou-se os valores obtidos nas diferentes porções das placentas através do teste *Kruskal-Wallis*, adotando-se 5% como nível de significância estatística. A seguir calculou-se o valor médio das seis porções para cada órgão, definido como o Valor Mais Provável (VMP) do conteúdo de vitamina A de cada placenta. O valor de vitamina A de cada porção da placenta analisada foi comparado com o VMP, e foi testada a significância da diferença entre as razões médias obtidas de cada região com o VMP através da regressão linear. Foram calculados os coeficientes de correlação de cada porção de placenta analisada com o VMP, cuja significância foi testada pelos testes F e t – *Student*, adotando-se 5% como nível de significância estatística [15].

Para a comparação entre o teor de retinol das placentas submetidas ao congelamento e das não congeladas, utilizou-se o teste *Mann-Whitney* adotando-se 5% como nível de significância estatística. As análises foram realizadas no pacote estatístico SPSS for windows versão 8.0.

Questões Éticas

O estudo foi realizado através de acordo institucional entre o Grupo de Pesquisa em Vitamina A do INJC/UFRJ e a Maternidade Escola da UFRJ. A coleta de dados ocorreu após a aprovação pela comissão de ética da referida maternidade e pelo comitê de ética da Escola Nacional de Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

RESULTADOS

Os valores médios de retinol observados em cada porção de placenta, como podem ser analisados na tabela 1, variaram entre 1,07 e 1,63 $\mu\text{g/g}$, e verificou-se não haver diferença significativa entre esses.

Apesar da variação nos teores de retinol nas porções de placenta analisadas, os valores de todas as porções foram correlacionadas com o VMP, sendo que os coeficientes de correlação mais altos foram observados nas amostras obtidas da porção fetal (tabela 2).

Na comparação dos teores de retinol nas amostras congeladas e não congeladas, obteve-se as médias 0,79 $\mu\text{g/g}$ ($\pm 0,48$) e 0,68 $\mu\text{g/g}$ ($\pm 0,42$), respectivamente, cuja diferença não foi significativa ($p=0,56$).

Tabela 1: Valores médios, mínimos e máximos de retinol nas diferentes porções de placentas em 39 puérperas

Porções	n	Média	DP(1)	Mínimo	Máximo	p
		µg/g				
FC	39	1,32	1,88	0,06	7,82	0,54
FL1	39	1,33	1,24	0,05	4,75	
FL2	39	1,63	1,77	0,01	8,67	
MC	39	1,45	1,98	0,04	8,56	
ML1	39	1,18	0,90	0,01	3,39	
ML2	39	1,07	0,99	0,01	4,41	
Total	234	1,33	1,51	0,01	8,67	

Porções: FC - fetal central, FL1 - fetal lateral 1; FL2 - fetal lateral 2; MC - materna central; ML1 -materna lateral 1; ML2 - materna lateral 2. EP da média - Erro padrão da média.

(1) DP – Desvio padrão

Tabela 2: Distribuição intraplacentária de retinol em 39 puérperas

Porções	n	Média µg/g	EP da média	Média da razão: valores das porções e VMP (1)	EP da média da razão	Regressão dos valores das porções sobre o VMP	
						r(2)	b(3)
FC	39	1,32	0,30	0,91	0,11	0,65	1,34
FL1	39	1,33	0,19	0,98	0,09	0,72	1,00
FL2	39	1,63	0,28	1,16	0,11	0,59	1,16
MC	39	1,45	0,31	1,08	0,15	0,59	1,27
ML1	39	1,18	0,14	1,02	0,13	0,52	0,51
ML2	39	1,07	0,15	0,82	0,10	0,64	0,70
Total	234						
Média		1,33	0,14	1,0			

Porções: FC - fetal central, FL1 - fetal lateral 1; FL2 - fetal lateral 2; MC - materna central; ML1 -materna lateral 1; ML2 - materna lateral 2. EP da média - Erro padrão da média.

(1) VMP – Valor Mais Provável: média de retinol em todas as 6 porções das placentas; (2) r - coeficiente de correlação da regressão linear do valor individual de retinol de cada porção sobre o VMP de retinol de cada placenta; (3) b - coeficiente de regressão. Todas as correlações foram altamente significativas ($p < 0,001$)

DISCUSSÃO

A placenta anexo embrionário considerado um órgão feto-materno, tem um importante papel na transferência de nutrientes para o feto e no desenvolvimento da gestação, pois, além de realizar a troca de substâncias entre o sangue materno e o fetal, exerce as funções de proteção, respiração, excreção e produção de hormônios. Logo nas primeiras semanas de gestação ocorrem modificações no endométrio que vão originar a porção materna da placenta. E a partir do saco coriônico (estrutura do ovo) origina-se a porção fetal da placenta, além do cordão umbilical e as membranas (córion, âmnio, saco vitelino e alantóide) que têm a função de proteger e envolver o conceito [19]. O desenvolvimento fetal está intimamente relacionado com a placenta e muitas anormalidades fetais, incluindo o retardo de crescimento intrauterino estão relacionados com falência desse órgão [20,21].

A elucidação das questões envolvidas na regulação da transferência de vitamina A durante o período gravídico tem despertado o interesse dos pesquisadores para estudos relacionados ao estado nutricional de vitamina A.

Butte e Calloway [22] sugeriram que os níveis fetais de β -caroteno são muito menores que os maternos, o que poderia sugerir retenção e metabolismo de caroteno na placenta. Ismadi e Olson [23] sugerem que 90% da vitamina A no sangue fetal é associada com proteína carreadora de retinol (*retinol binding protein-RBP*) e pré-albumina e propõem mecanismos de transferência de vitamina A através da placenta.

Montreewasuwat e Olson [24] sugerem maior transferência placentária de vitamina A, associada com a RBP, no 3º trimestre gestacional. Nos estudos *in vitro* como os de perfusão com vesículas de sinciciotrofoblasto membrana incubadas e homogenato de placenta, foram identificados receptores de membrana para RBP em vários tecidos humanos, incluindo a placenta [9,11,12,25]. Em estudos mais recentes é defendida a hipótese que no caso de DVA materna, o β -caroteno pode ser precursor de retinol na placenta. Tal achado foi reforçado pela identificação da atividade da enzima de clivagem do β -caroteno em membrana placentária, confirmando a possível conversão da pró-vitamina A em vitamina A ativa na placenta [10,26].

Como pode ser visto, a placenta é um elemento importante na regulação do metabolismo de vitamina A durante a gestação. Assim, a interpretação dos parâmetros envolvidos na avaliação do estado nutricional de vitamina A do grupo materno-infantil

envolve a análise dos teores da vitamina A na placenta. Para tanto se faz necessário uma metodologia que permita a determinação desses níveis, sem excessiva padronização e treinamento especializado para coleta de amostras, o que poderia elevar os custos e inviabilizar a realização de estudos epidemiológicos.

Grandes variações intraindividuais nos teores de retinol são descritas em estudos em tecidos, como constatado por Underwood [27] em trabalhos com fígado de indivíduos falecidos. A problemática da obtenção de amostras biológicas de órgãos com composição heterogênea também é levantada por Flores *et al.* [15], em estudo em que avalia a distribuição de retinol em 10 regiões diferentes de fígados. Nierenberg & Nann [28] descrevem o teor de retinol e carotenóides em diferentes tecidos humanos (pulmão, colón, mama e pele) onde também são encontradas variações nos níveis de retinol nos tecidos estudados. As diferenças de valores de retinol descritas nos achados da literatura, são as diferenças esperadas em razão da distribuição intra-tecidual de nutrientes.

No presente estudo também foi observada diferença nos teores de retinol nas diferentes porções de placenta analisadas. Entretanto, a análise estatística dos dados mostra que a variação intra-tecidual encontrada não influencia as conversões dos dados em informação, podendo qualquer porção do órgão desse anexo embrionário ser usada na determinação dos níveis de retinol, pois, apresentam correlação com o valor mais provável do órgão. Tal achado representa a possibilidade diminuição dos custos requeridos nos estudos de campo, pois, dispensa a necessidade de profissional altamente qualificado, viabilizando os estudos de avaliação e vigilância epidemiológica do estado nutricional de vitamina A, com esse indicador.

Outro achado de relevância é a constatação da estabilidade da vitamina A da placenta ao congelamento, o que representa uma certa facilidade na implantação da padronização dos procedimentos de coleta e análise de amostras.

Com isso, os achados aqui descritos representam um avanço para as pesquisas que pretendam incorporar coleta e dosagem dos teores placentários de vitamina A em suas análises aumentando assim, o arsenal de marcadores de estados pré-patológicos ou subclínicos da carência de vitamina A o que pode permitir ações mais precoces de combate nutricional no grupo materno-infantil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. (2001) Visión integrada de la suplementación con vitamina A en las Americas. Informe de la Reunión Regional, pp.50. OPS, Washington.
2. West JR, K.P. (2002) Extent of vitamin A deficiency among preschool children and women of reproductive age. *J. Nutr.* 132, 2857S
3. Biswas, A .B., Mitra, N.K., Chakraborty, I., Basu, S. and Kumar, S. (2000) Evaluation of vitamina A status during pregnancy. *J. Indian Med. Assoc.* 98, 525
4. Christian, P., West, Jr. K.P., Khatry, S.K., Katz, J., Shrestha, S.R., Kimbrough-Pradhan, E., Leclerq, S.C. and Pokhrel, R.P.(1998) Night blindness of pregnancy in rural Nepal – nutritional and health risks. *Int. J. Epidemiol.* 27, 231.
5. Christian, P., West, Jr. K.P., Khatry, S.K., Kimbrough-Pradhan, E., Leclerq, S.C., Katz, J., Shrestha, S.R., Dali, S.M. and Sommer, A. (2000) Night blindness during pregnancy and subsequent mortality among women in Nepal: Effects of vitamin A and β -carotene supplementation. *Am. J. Epidemiol.* 152,542
6. Christian, P., West, Jr. K.P., Khatry, S.K., Leclerq, S.C., Kimbrough-Pradhan, E., Katz, J. and Shrestha, Sr. (2001) Maternal night blindness increases risk of mortality in the first 6 months of life among infants in Nepal. *J. Nutr.* 131, 1510
7. Radhika, M.S., Bhaskaram, P., Balakrishna, N., Ramalakshmi, B.A., Devi, S. and Kumar, B.S. (2002) Effects of vitamin A deficiency during pregnancy on maternal and child health. *BJOG.* 109, 689.
8. Barnes, A.C. (1951) The placental metabolism of vitamin A. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 61, 368.
9. Blomhoff, R., Green, M.H. and Norum, K.R. (1992) Vitamin A: Physiological and biochemical processing. *Annu. Rev. Nutr.* 12,37
10. Dimenstein, R., Trugo, N.M.F., Donangelo, C.M., Trugo, L.C. and Anástacio, A.S. (1996) Effect of subadequate maternal vitamin A status on placental transfer of retinol and beta-carotene to the human fetus. *Biol. Neonate.* 69, 230.
11. Sivaprasadarao, A. and Findlay, J.B.C. (1988) The mechanism of uptake of retinol by plasma-membrane vesicles. *Biochem. J.* 255, 571.
12. Sundaram, M., Sivaprasadarao, A., Desousa, M.M. and Findlay, J.B.C. (1998) The transfer of retinol from serum retinol-binding protein to cellular retinol-binding protein is mediated by a membrane receptor. *J. Biol. Chem.* 273, 3336.

13. Thomson, A.M., Billewicz, W.Z., and Hytten, F.E. (1969) The weight of the placenta in relation to birthweight. *J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw.* 76, 865.
14. Barreto-Lins, M.H.C., Campos, F.A.C.S., Azevedo, M.C.N.A. and Flores, H. (1988). A Re-examination of the stability of retinol in blood ad serum, and effects of a standardized meal. *Clin. Chem.* 34, 2308
15. Flores, H., Ramalho, R.A.G. and Ribeiro, A.R.L.P. (1988). Intrahepatic distribution of Vitamin A in humans and rats. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 58,276.
16. Bessey, O.A., Lowry, O.H., Brock, M.J. and López, J.A. (1946). The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *J. Biol. Chem.* 166, 177.
17. Araújo, C.R.C. and Flores, H. (1978). Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clin. Chem.* 24, 386.
18. Hair, J.F., Abderson, R.E., Tatham, R.L. and Black, W.C. (1995). Examining your data. In: *Multivariate data analysis with readings*, pp. 32, Prentice Hall, New Jersey.
19. Klopper A. (1991) Chapter 17. Placental Metabolism. In: Hytten, F & Chamberlain, G. *Clinical Physiology in Obstetrics*, pp. 393, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
20. Lao, T.T. and Wong, W.M. (1996) Placental ratio and intrauterine growth retardation. *Br. J. Obst. Gynaecol.* 103, 924.
21. Pardi, G., Marconi, A.M. and Cetin, I. (1997) Pathophysiology of intrauterine growth retardation: role of the placenta. *Acta Paediatr Suppl.* 423, 170
22. Butte, N.F. and Calloway, D.H. (1982) Proteins, vitamin A, carotene, folacin, ferritin and zinc in Navajo maternal and cord blood. *Biol. Neonate.* 41, 273.
23. Ismadi, S.D. and Olson, J.A. (1975) Vitamin A transport in human fetal blood. *Am. J. Clin. Nutr.* 28, 967.
24. Montreewasuwat, N. and Olson, J.A. (1979) Serum and liver concentrations of vitamin A in Thai fetuses as a function of gestational age. *Am. J. Clin. Nutr.* 32,601.
25. Dancis, J., Levitz, M., Katz, J., Wilson, D., Blaner, W.S., Piantedosi, R. and Goodman, D. (1992) Transfer and metabolism of retinol by the perfused human placenta. *Pediatr. Res.* 32, 195.
26. Dimenstein R. (1999) Estudo da transferência materno fetal de vitamina A e carotenóides sob condições adequadas e sub-adequadas do estado nutricional materno em vitamina A. [DrPH dissertation]. Rio de Janeiro, RJ, Brasil: Instituto de Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

27. Underwood, B.A. (1974) The determination of vitamin A and some aspects of its distribution, mobilization and transport in health and disease. *World Rev. Nutr. Diet.* 19,123.
28. Nierenberg, D.W. and Nann, S.L. (1992) A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am. J. Clin. Nutr.* 56,417.

Artigo 4:

SAUNDERS, C.; RAMALHO, R.A. & LEAL, M.C., 2001. Estado nutricional de
vitamina A no grupo materno-infantil.

Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil, 1(1): 21-30

Estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil

Nutritional status of vitamin A in the mother-child group

Cláudia Saunders ¹
Rejane Andréa Ramalho ²
Maria do Carmo Leal ³

¹ Instituto de Nutrição. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Av. Trompovsky, s/n. Edifício dos Institutos, Bloco J, 2º andar, Cidade Universitária, Rio de Janeiro, RJ, CEP 21941-590. cicoelho@osite.com.br

² Instituto de Nutrição. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro. aramalho@rionet.com.br

³ Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz.

Abstract *This paper revises the available knowledge in literature, on the nutritional vitamin A status in the mother-child group. Vitamin A is an essential nutrient for reproduction. During pregnancy, there is a reduction of the levels of retinol in serum, and maternal hypovitaminosis A may occur, with metabolic alterations in the immunological system and bioavailability to the embryo. The effect of gestation on the metabolism of vitamin A has not been wholly explained, and the proposed mechanisms are based on experimental findings. Mothers' vitamin A deficiency also alters the availability of this vitamin in human milk, which is an important source of nutrients in the first months of life. Considering that hypovitaminosis A and its consequences can occur without detectable signs in the mother, with repercussions on the foetus, early detection of women at risk of deficiency must be a concern of the health institutes, as it is a nutritional deficiency with great impact on mother-child health.*

Key words *Vitamin A, Vitamin A deficiency, Pregnancy, Maternal and Child Health*

Resumo *O presente trabalho revisa o conhecimento disponível na literatura sobre o estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil. A vitamina A é um nutriente essencial para a reprodução. Durante a gestação, há diminuição dos níveis séricos de retinol, podendo ocorrer hipovitaminose A materna, com alterações metabólicas, no sistema imunológico e na biodisponibilidade para o feto. Os efeitos da gestação sobre o metabolismo da vitamina A não estão totalmente esclarecidos, sendo os mecanismos propostos baseados em achados experimentais. A carência de vitamina A materna também altera a disponibilidade desta vitamina no leite humano, importante fonte do nutriente nos primeiros meses de vida para lactentes. Considerando que a hipovitaminose A e suas conseqüências são possíveis de ocorrer sem sinais detectáveis na mãe, com repercussão fetal, a detecção precoce de mulheres em risco de carência deve ser uma preocupação dos serviços de saúde, pois trata-se de carência nutricional com grande impacto sobre a saúde do binômio mãe-filho.*

Palavras-chave *Vitamina A, Deficiência de vitamina A, Gravidez, Saúde Materno-Infantil*

Introdução

A hipovitaminose A é um importante problema de saúde pública e a magnitude mundial dessa deficiência, ao lado das carências de ferro e de iodo, fazem parte da chamada "fome oculta", cujas manifestações podem ocorrer sem sinais clínicos detectáveis ou não estar necessariamente associadas a patologias multicarências claramente definidas. Atualmente, considerando-se a deficiência nutricional marginal ou subclínica "quando as concentrações de vitamina A nos tecidos são suficientemente baixas para produzir consequências adversas para a saúde ainda que não estejam presentes sinais de xerofalmia" (Underwood; 1993: 4),¹ estima-se que 2,8 a 3 milhões de pré-escolares apresentam sinais clínicos de carência de vitamina A e que 251 milhões apresentam a deficiência subclínica moderada ou severa. No mínimo 254 milhões de crianças pré-escolares estão em "risco" de desenvolvimento da carência, comprometendo sua saúde e sua sobrevivência.²

A hipovitaminose A é a principal causa de cegueira acompanhada de morte entre crianças de países em desenvolvimento e também contribui para o aumento significativo, ainda que em nível de carência marginal ou subclínica, dos índices de morbidade e mortalidade infantil associada aos processos infecciosos.^{2,3} Evidências recentes sugerem que um adequado estado nutricional de vitamina A, pode diminuir a severidade dos quadros infecciosos.^{2,4,5}

A carência de micronutrientes, em especial de vitamina A, pode repercutir negativamente na saúde reprodutiva e no desenvolvimento fetal normal, tendo impacto ainda na saúde dos recém-natos e lactentes, pois, a carência de vitamina A no início da vida, está associada com condições desfavoráveis para o desenvolvimento infantil, principalmente quando se trata de regiões como o Brasil, classificado entre os países com taxa global de fecundidade de grau moderado.⁶ Dentre os grupos populacionais mais atingidos pela carência de vitamina A destacam-se as gestantes, puérperas, recém-nascidos e lactentes.⁷

O presente artigo consiste de uma revisão do conhecimento disponível na literatura sobre o tema. Utilizando-se os termos *vitamin A deficiency*, *vitamin A and pregnancy*, *vitamin A and newborn* encontraram-se mais de 5.000 referências nas bases de dados *Medline* e *Lilacs* nos anos de 1966 a 2000, porém foram selecionados os artigos publicados nos últimos 20 anos, que abordassem o papel fisiológico da vitamina A na gestação, bem co-

mo seu impacto no resultado obstétrico e na saúde infantil, com ênfase em trabalhos com seres humanos. Analisaram-se ainda trabalhos publicados em revista científicas brasileiras não indexadas e manuais do Ministério da Saúde e Organização Mundial da Saúde. Com isso, pretende-se abordar aspectos relacionados ao estado nutricional de vitamina A no grupo materno-infantil, visando alertar o profissional de saúde para a necessidade de identificação da carência de vitamina A no grupo e contribuir para o diagnóstico, tratamento e prevenção da carência de vitamina A, que têm grande impacto sobre a saúde do binômio mãe-filho.

Epidemiologia da hipovitaminose A

As principais regiões do mundo acometidas pela carência de vitamina A são Sul e Leste da Ásia, África, partes da América Latina e América Central.³ Porém, Stephens et al.,⁸ chamam a atenção para a subestimação dos casos de carência subclínica de vitamina A em países desenvolvidos como os Estados Unidos da América e outros, nos quais a ingestão inadequada de retinol e carotenóides é o principal fator etiológico.

A World Health Organization (WHO) em 1987,³ estimava que a hipovitaminose A era endêmica em 39 países, baseando-se na prevalência de sinais ou sintomas oculares ou níveis séricos de retinol muito baixos. Porém, atualmente, existem 60 países onde a hipovitaminose A é um importante problema de saúde pública, estando o Brasil incluído no referido grupo,³ considerando-se o estágio subclínico de carência, ou seja, quando os sinais clínicos ainda não estão presentes.

Estudos sobre a prevalência de hipovitaminose A no país, avaliada através de indicadores bioquímicos, confirmam que este é um problema de saúde pública em Pernambuco^{9,10} e em outros estados do Nordeste como, Ceará,¹¹ Paraíba¹² e Bahia.¹³

Em outras regiões do país também foram encontradas prevalências indicativas de um preocupante problema de saúde, como em São Paulo,¹⁴ Ribeirão Preto,¹⁵ Vale do Jequitinhonha,¹⁶ Marabá,¹⁷ outras localidades de São Paulo,¹⁸ Rio Grande do Sul;¹⁹ porém o Nordeste tem sido apontado como região preocupante, devido à elevada prevalência da carência clínica (presença de sinais e sintomas oculares) em lactentes, escolares e pré-escolares.³ O Ministério da Saúde²⁰ reconhece que a carência está associada com 23% das mor-

tes por diarreia em crianças brasileiras, e medidas de intervenção têm sido propostas, tais como a administração de megadoses de vitamina A para os menores de 5 anos e o enriquecimento/fortificação de alimentos com vitamina A em áreas consideradas de risco para a carência.

No Rio de Janeiro, o Grupo de Pesquisa em Vitamina A (GPVA) do Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro, tem-se dedicado ao diagnóstico da carência em grupos considerados de risco, sendo descritas prevalências importantes. Em gestantes consideradas de baixo risco atendidas em Maternidades Públicas do Município, Coelho et al.²¹ descrevem inadequação dietética em 12,4% das entrevistadas, segundo o método de inquérito dietético frequência de consumo semi-quantitativo. Accioly²² observou inadequação dos níveis séricos de retinol em 12,5% das gestantes no 3º trimestre de gestação e 14,8% de inadequação na ingestão dietética de vitamina A neste mesmo período gestacional, tendo sido observada associação significativa entre o indicador dietético e o bioquímico. É descrito por Dolinsky²³ um decréscimo significativo dos níveis de retinol materno ao longo da gestação. Ramalho et al.²⁴ encontraram inadequação dos níveis séricos de retinol em puérperas (23,6%) e em seus respectivos recém-nascidos (55,7%). A carência de vitamina A também tem sido estudada e descrita em pré-escolares²⁵ e em outros grupos com possibilidade de risco para o desenvolvimento da mesma, como por exemplo em crianças portadoras de diabetes mellitus,²⁶ escolares e adolescentes.²⁷

Estudando o conteúdo placentário de retinol e sua associação com os níveis séricos de retinol materno e dos recém-nascidos, em puérperas atendidas em Maternidade Pública do Município do Rio de Janeiro, Ramalho et al.²⁸ demonstraram um teor médio placentário de retinol inferior, em puérperas com hipovitaminose A, quando comparado a puérperas com adequação dos níveis séricos de retinol. Correlação linear positiva e estatisticamente significativa foi demonstrada entre os níveis séricos de retinol do sangue de cordão com os níveis placentários de vitamina A. Demonstraram ainda, que dentre as puérperas com cegueira noturna gestacional, os níveis placentários de retinol também foram inferiores em comparação com os níveis das puérperas sem este sinal clínico. Os achados ainda que preliminares, são animadores, sugerindo uma associação entre os níveis placentários de retinol e a hipovitaminose A materna e no concepto, o que poderá

contribuir para o diagnóstico, prevenção e tratamento da carência no grupo materno-infantil.

Diagnóstico e tratamento da Hipovitaminose A

A gravidade e extensão da carência nutricional de vitamina A tem sensibilizado as autoridades de todo o mundo, que objetivando melhorar os níveis de saúde e nutrição da população materno-infantil, têm elaborado medidas de intervenção visando a eliminação da carência em questão.^{3,20} A OMS e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) têm investido em programas de diagnóstico, intervenção e controle da carência mundial a partir da década de 60, objetivando o conhecimento da real magnitude da carência nutricional de micronutrientes (vitamina A, ferro e iodo). Desde 1992, têm ocorrido reuniões técnicas com objetivo de revisar os indicadores empregados, pontos de corte e critérios para avaliação da carência nutricional que considerem as formas marginal ou subclínica.^{1,2,7}

Os indicadores classicamente empregados para detecção da hipovitaminose A incluem: dietéticos, bioquímicos, fisiológicos, histológicos e clínicos.

Na avaliação dietética aferem-se os níveis de ingestão dietética de retinol e carotenóides. O indicador dietético pode ser considerado um indicador precoce, pois sabe-se que a ingestão dietética inadequada é o primeiro estágio da deficiência nutricional, precedendo as manifestações clínicas e permitindo a discriminação das populações dentro de categorias de risco para a deficiência.^{29,30}

Os indicadores bioquímicos são de grande importância e amplamente empregados em estudos epidemiológicos, pois permitem a detecção de casos precoces de carência. A medida retinol sérico ou plasmático é a mais empregada para avaliar o estado nutricional de vitamina A e identificar populações em risco de deficiência de vitamina A.³

Outras medidas e métodos empregados para avaliação bioquímica são: dosagem de retinol hepático (realizada através de biópsia hepática),⁹ concentração de retinol binding protein (RBP) no sangue,⁷ método da resposta relativa à administração a uma dose de vitamina A (relative dose response, RDR),⁷ método da RDR modificada (MRDR), método da resposta da RBP plasmática e método da diluição isotópica.⁷

Na avaliação fisiológica investiga-se a presença de cegueira noturna, que através de metodolo-

gia fácil e de baixo custo, tem se mostrado eficaz inclusive em vigilância da efetividade de programas de intervenção empregados no combate à carência.^{7,31,32}

Na avaliação histológica investigam-se alterações na conjuntiva ocular através da técnica da citologia de impressão da conjuntiva ocular (CICO), que consiste na retirada da camada de células da conjuntiva ocular, mediante o contato com um pedaço de papel de filtro de acetato. As alterações oculares ocorrem entre 4 a 6 semanas antes do aparecimento dos sinais clínicos.²

Na avaliação clínica detecta-se a prevalência de sinais oculares, denominados xeroftalmia, que evoluem desde a cegueira noturna até a cegueira nutricional irreversível. O indicador clínico é considerado tardio, pois, detecta as manifestações mais avançadas do estado carencial, e requer grande número de amostras para diminuir o efeito das baixas percentagens de prevalência, porém tem seu reconhecimento universal na avaliação do estado nutricional de vitamina A.^{2,9}

Recentemente outros indicadores para o diagnóstico têm sido apontados, como por exemplo o teor de vitamina A no leite humano como indicador do estado nutricional de vitamina A de nutrízes e de lactentes, por ser de fácil obtenção, culturalmente aceito e permitir o monitoramento da hipovitaminose A.⁴

Outro indicador que tem ganhado destaque na literatura é a investigação da cegueira noturna em gestantes e nutrízes, o qual tem fornecido resultados importantes permitindo a detecção de prevalências significativas na fase reprodutiva.^{31,32} A metodologia sugerida e validada pela WHO,⁷ (entrevista), tem as vantagens de ser de baixo custo, fácil aplicabilidade, permitir a avaliação de amostras grandes e não requerer profissional especializado para tal avaliação. Pode inclusive ser empregada na avaliação do grupo de pré-escolares, para os quais a avaliação da cegueira era considerada problemática.² O diagnóstico de gestantes ou nutrízes com cegueira noturna sugere a inadequação do estado nutricional de vitamina A e permite a intervenção nutricional imediata, visando melhorar a reserva hepática materna e do conceito. Além disso, o diagnóstico da cegueira noturna gestacional tem ganhado destaque, inclusive por permitir a identificação das mulheres com maior risco de mortalidade a curto e longo prazo pós-parto, associada a processos infecciosos.³¹

Os estudos sobre o teor placentário de retinol também mostram-se promissores, podendo vir a representar um avanço no campo de indicadores

para a carência de vitamina A no binômio mãe-filho, contribuindo para o diagnóstico da carência através de metodologia fácil, permitindo a avaliação de grandes amostras, através de método pouco invasivo, capaz de detectar nutrízes em risco de desenvolver a hipovitaminose A e, consequentemente os lactentes em risco de carência.

Para o tratamento da hipovitaminose A (sinais de xeroftalmia) é recomendada a administração imediata de megadose oral da vitamina (palmitato de retinil), sendo para menores de 1 ano de idade 100.000UI e para crianças com idade ≥ 1 ano 200.000UI, no dia seguinte e após 2 a 4 semanas esta dose é repetida.^{2,20} Como medidas complementares com efeito a médio e longo prazo são recomendadas: prevenção e controle de doenças infecciosas, fortificação e nutrição de alimentos com vitamina A, educação nutricional, políticas de saúde, intervenções hortícolas, políticas econômicas/alimentares.^{2,20}

Em comunidades nas quais a hipovitaminose A é reconhecida como problema de saúde pública, é recomendado que os menores de 6 anos e as nutrízes recebam a megadose da vitamina A, sendo indicada para as crianças de 1 a 6 anos a dose de 200.000 UI a cada 3 a 6 meses; para os lactentes de 6 a 11 meses a dose é de 100.000UI a cada 3 a 6 meses, podendo ser administrada nos dias de vacinação; para as nutrízes, deve ser administrada dose de 200.000UI nas primeiras 8 semanas após o parto, se estão amamentando ou durante as primeiras 6 semanas, caso não estejam amamentando, (para protegê-las contra carência e aumentar os níveis de vitamina A no leite e proteger o lactente).² No Brasil, a aplicação de megadose de retinol periódica e emergencial tem sido recomendada em áreas reconhecidas como de risco, bem como um estímulo à produção e ao consumo de fontes alimentares ricas em vitamina A e seus precursores, além da fortificação de alimentos tais como leite e massas.²⁰

Hipovitaminose A no Grupo Materno-Infantil

Em gestantes, a hipovitaminose A pode comprometer a gestação, pois, a vitamina A é importante para a reprodução normal, crescimento e desenvolvimento fetal, constituição da reserva hepática fetal e para o crescimento tecidual materno. Acredita-se também que esteja envolvida na síntese de hormônios esteróides, tendo sido demonstrado que a suplementação de vitamina A traz

benefícios para a função feto-placentária pelo aumento dos níveis de progesterona.³³

Outra evidência da importância da vitamina A na gestação é a associação entre os baixos níveis de β -caroteno em mulheres com pré-eclâmpsia e eclâmpsia, devido ao papel desta vitamina como antioxidante. Sugere-se que a vitamina A atue na prevenção da lesão endotelial, um dos fatores causais das Síndromes Hipertensivas da Gravidez.^{34,35}

Baseando-se em trabalhos experimentais, a literatura sugere que a ingestão tanto deficiente quanto excessiva de vitamina A está associada com defeitos congênitos (incluindo de cérebro, olho, ouvido, aparelho gênito-urinário, coração e sistema vascular, dependendo de qual sistema está em fase de diferenciação no momento da exposição), devido a alterações no metabolismo de DNA, podendo provocar reabsorção de embriões e morte fetal, além de contribuir para a baixa reserva hepática do recém-nascido, como já mencionado.³⁶

Sabe-se que vários fatores podem afetar o estado nutricional materno de vitamina A e conseqüentemente a biodisponibilidade para o feto. Dentre eles temos a baixa reserva hepática materna, o prejuízo no transporte decorrente da redução na síntese de proteína carreadora de retinol – RBP ou deficiência de zinco e o aumento da utilização de vitamina A corporal durante episódios infecciosos na gestação. Também é descrito que a inadequação nutricional materna afeta o acesso de vitamina A ao feto, pois, para a metabolização normal e transporte dessa vitamina, são envolvidos outros nutrientes como proteínas, lipídeos e zinco.³⁷

A placenta tem papel primordial para o desenvolvimento embrionário e fetal e a eficiente transferência de nutrientes é um determinante do bem-estar fetal.³⁸ A transferência de vitamina A para o feto ocorre por difusão simples, ligada a um complexo protéico envolvendo duas proteínas, a pré-albumina e a proteína carreadora de retinol, RBP. A primeira serve para solubilizar a molécula de retinol e prevenir a filtração glomerular de RBP evitando desta forma a perda de vitamina A pela urina. A transferência placentária relacionada às proteínas descritas e associada com a deglutição do líquido amniótico representam as primeiras fontes de vitamina A para o feto no período gestacional.^{37,39} Com isso, a reserva hepática fetal é constituída, sendo o processo mediado pela homeostasia materna.⁴⁰

A placenta assegura um adequado suprimento de vitamina A para o feto, devido à capacidade

adaptativa para variações na ingestão materna de vitamina A, exceto em situações extremas de ingestão excessiva ou em caso de deficiência em nível clínico. Nos casos de carência subclínica, acredita-se que não haja efeito na circulação fetal de retinol e carotenóides.^{4,41} Com isso, pequena quantidade desta vitamina é transferida para o feto, o que possibilitará a constituição de reserva hepática limitada nos recém-nascidos, mesmo nos provenientes de mulheres com reserva hepática de vitamina A adequada.⁴

O efeito da gestação sobre o metabolismo da vitamina A e a distribuição de retinol e carotenóides na placenta, não estão totalmente esclarecidos, sendo os mecanismos propostos para a elucidação da transferência do retinol para o feto baseados em achados experimentais.⁴¹ Estudos que aprofundem o conhecimento sobre a distribuição intraplacentária de retinol e carotenóides, bem como o estabelecimento da correlação com os níveis séricos maternos e dos recém-nascidos, podem contribuir para o avanço no campo do diagnóstico do estado nutricional de vitamina A no binômio mãe-filho. Vale destacar o estudo pioneiro realizado por Flores et al.,⁴² no qual investigando a distribuição intra-hepática de retinol, encontraram homogeneidade na distribuição de vitamina A no órgão, que muito contribuiu para a determinação da reserva hepática de retinol.

As mulheres que apresentam baixas reservas hepáticas de vitamina A são mais suscetíveis ao desenvolvimento de sinais clínicos de carência durante o período gestacional, como por exemplo, a cegueira nutricional, pois há transferência de vitamina A ininterruptamente, através da placenta para o feto, ajustada por processos homeostáticos, visando garantir as necessidades do conceito.³² De um modo geral os níveis séricos de vitamina A tendem a aumentar rapidamente no período pós-parto, com melhora dos sinais oculares, sugerindo um ajuste fisiológico, considerando que ocorre maior liberação de RBP na circulação.⁴³

Recentemente o UNICEF e a WHO⁴⁴ concluíram, a partir de estudos realizados no Nepal com gestantes e nutrízes, que a suplementação de vitamina A ou β -caroteno em gestantes, administrada semanalmente, pode reduzir as taxas de mortalidade materna relacionadas à gravidez; que mulheres que sofrem de cegueira noturna têm risco aumentado de morbi-mortalidade reprodutiva em relação às mulheres sem este sintoma ocular e que a suplementação de vitamina A em doses baixas (7000mg de retinol equivalente) não aumenta o risco de defeitos congênitos no conceito.

Sivakumar et al.⁴⁵ chamam atenção para a necessidade de suplementação em gestantes de baixa renda, com pequenas doses de vitamina A, pois estas apresentam grande risco de seus recém-nascidos apresentarem baixos estoques hepáticos desta vitamina ao nascimento. Postulam também que a ingestão adequada de vitamina A pode reduzir drasticamente a anemia em gestantes, se for associada com tratamento contra verminoses.

Suharno et al.⁴⁶ observaram aumento nas taxas de hemoglobina com a suplementação de vitamina A associada ao ferro e eliminação da anemia em 97% das mulheres gestantes anêmicas da Indonésia, concluindo que a melhoria do estado nutricional de vitamina A pode contribuir para o controle da anemia durante a gestação.

A relação entre os níveis séricos de retinol materno e os dos recém-natos tem sido objeto de estudo de vários pesquisadores e achados, mesmo que contraditórios, são descritos.

A proporção da concentração plasmática de vitamina A do sangue materno em relação ao sangue fetal é de aproximadamente 2:1. Em condições de carência marginal ou deficiência materna, a concentração fetal ou do cordão pode ser mantida dentro dos limites normais e até mesmo exceder os valores maternos.^{36,43} Fatores apontados como de efeito nos níveis de vitamina A no sangue materno são a hemodiluição (que possivelmente explica as alterações nos níveis vitamínicos no sangue materno), a maior mobilização de vitamina A e a transferência através da placenta, decorrente da ação hormonal e ajustes metabólicos da gestação, a reserva hepática da mulher, sendo que a inadequação do estado nutricional de vitamina A materno pode ser exacerbado pela má nutrição materna,^{32,43} principalmente na fase final da gestação, onde ocorre intensa transferência de vitamina A para o feto e o preparo para o parto e lactação.⁴⁷

O estoque fetal de vitamina A é constituído ao longo da gestação, principalmente no 3º trimestre, logo, supõe-se que a deficiência severa nessa etapa de desenvolvimento intra-uterino pode repercutir no estado nutricional de vitamina A do concepto. Principalmente no caso de nascimento prematuro tem sido descrito o aumento da suscetibilidade para processos infecciosos, complicações freqüentemente observadas no período neonatal.^{36,47}

Estudando o estado nutricional de vitamina A em recém-nascidos de muito baixo peso ao nascer, Shenai et al.,⁴⁸ apontam a carência de vitamina A como fator associado com mudanças histo-

patológicas no pulmão, caracterizadas por traqueobronquite necrozante inicialmente e desenvolvimento de metaplasia escamosa. Observaram que a suplementação de vitamina A nesses recém-nascidos foi acompanhada de melhora na regeneração das alterações pulmonares.

As reservas dos recém-nascidos podem ser aumentadas com o aleitamento materno, pois o leite humano é adequado para proteger o recém-nascido contra a carência de vitamina A. O colostro é particularmente rico e teores também adequados são encontrados nos leites de transição e maduro. Porém, caso o leite seja proveniente de nutriz com dieta pobre em vitamina A (já que o teor de vitamina A do leite humano apresenta correlação com a ingestão dietética materna) ou se proceda ao desmame precoce, as reservas continuarão baixas e aumentarão as chances de desenvolvimento de carência subclínica ou marginal e de xeroftalmia em torno dos 6 meses de vida.^{4,47} Tendo em vista que as necessidades de vitamina A durante a lactação excedem as necessidades da gestação, para reposição das perdas diárias ocorridas na transferência para o leite humano,^{1,47} a suplementação de vitamina A em nutrízes tem sido descrita como medida de impacto no estado nutricional de vitamina A das lactantes e dos lactentes com idade inferior a 6 meses,³² pois, nesse caso há aumento do teor de vitamina A no leite humano.

Estudando-se ainda a associação entre o estado nutricional de vitamina A e o resultado obstétrico, avaliado segundo o peso ao nascer, alguns autores levantam questões sobre a possível associação entre baixas concentrações de vitamina A no cordão umbilical e crescimento anormal no feto.^{24,43} Semba et al.⁴⁹ confirmam esses achados, observando que as crianças nascidas de mães com carência de vitamina A e infectadas por HIV, apresentaram, consistentemente, menor peso-para-idade e comprimento-para-idade quando comparadas com crianças nascidas de mães infectadas e sem carência de vitamina A. Recentemente tem sido descrita a associação entre a inadequação do estado nutricional de vitamina A materno com maior transmissão mãe-filho de HIV.³⁶

Dentre as possíveis explicações para os níveis baixos de vitamina A no cordão de recém-nascidos com retardo de crescimento intra-uterino, quando comparados com recém-nascidos considerados como de peso adequado para idade gestacional, os seguintes fatores merecem destaque: a) a oferta inadequada de vitamina A pela mãe, secundária a um comprometimento da circulação

útero-placentária (lesão placentária), ocasionando um prejuízo no transporte de nutrientes através da placenta; b) o baixo poder de ligação de vitamina A pelo feto, devido às baixas concentrações das proteínas responsáveis pelo transporte da vitamina A pela placenta-pré-albumina e RBP (com isso a vitamina não será captada pelo fígado fetal, resultando em baixos níveis de vitamina A plasmática); c) maior utilização de vitamina A pelo feto, relacionada com a presença de infecções intra-uterinas, pois as infecções agudas e crônicas aumentam a taxa catabólica e a excreção de vitamina A; d) armazenamento de vitamina A pelo fígado fetal, relacionado com a presença de anormalidades estruturais e funcionais no fígado de recém-nascidos com retardo do crescimento intra-uterino, sendo estas alterações possivelmente associadas com a depleção das células hepáticas armazenadoras de vitamina A (stellate cells).³⁹

O estado nutricional materno medido pelas variáveis antropométricas, também tem impacto no estado nutricional de vitamina A de mães e de seus conceitos. Gebre-Medhin e Vahlquist⁵⁰ descreveram uma menor concentração de retinol hepático em fetos de mulheres mal nutridas, quando comparadas com mulheres bem nutridas, embora níveis circulantes de vitamina A semelhantes tenham sido encontrados para ambos os casos, avaliados em relação à RBP.

No estudo de Katz et al.,³² é descrito menor circunferência braquial para mulheres apresentando cegueira noturna comparando-se com mulheres sem este sinal clínico, o que levou os autores a sugerirem que as mulheres mal nutridas são mais suscetíveis à deficiência de vitamina A.

Face ao exposto, a gestação é um momento biológico que merece atenção dos profissionais de saúde em termos de detecção precoce, tratamento e prevenção da carência de vitamina A. De fato, o atendimento às exigências nutricionais da

vitamina em questão, pode garantir crescimento e desenvolvimento fetais normais e promover maior proteção contra as infecções, que são importantes causas de morte em menores de 1 ano, tendo assim grande impacto sobre a saúde e sobrevivência infantil.

Conclusões

A carência de vitamina A traz profundas repercussões no processo reprodutivo, podendo acarretar consequências passíveis de ocorrer sem sinais clínicos detectáveis na mãe, mas com consequências múltiplas sobre o binômio mãe-filho.

Na evolução da gestação, os níveis de retinol sérico tendem a diminuir, sendo particularmente mais baixos no último trimestre, quando, então, uma ingestão dietética adequada é de extrema importância para aumentar os níveis de transferência para o feto e na constituição da reserva hepática materna para o período de lactação.

São escassas as informações acerca da regulação da transferência placentária de vitamina A para o feto, sobre a distribuição intraplacentária, bem como a associação desta com os níveis séricos maternos e do recém-nascido. Com isso, os dados aqui relatados constituem justificativa suficiente para que se implementem estudos visando a elucidação de tais questões, o que poderá contribuir para pesquisas futuras sobre novas formas de diagnóstico da carência.

O diagnóstico precoce do estado nutricional de vitamina A e tratamento adequado de sua carência tem elevado impacto sobre a saúde do recém-nato em termos de diminuição das cifras de morbi-mortalidade infantil, com conseqüente queda na demanda de serviços de saúde e internação, o que parece ser de grande importância em termos de saúde preventiva.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ (apoio financeiro, concessão de bolsas de iniciação científica e de apoio técnico).

Referências

- Underwood B. Avances recientes en micronutrientes. Indicadores de deficiencia de vitamina A. Anais do Terceiro Taller Regional sobre deficiencias de vitamina A y otros micronutrientes en America Latina y el Caribe; 1993 Ago 23-27; Recife, PE, Brasil. Washington: Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID); 1993. p. 4-8
- McLaren DS, Frigg M. Manual de ver y vivir sobre los trastornos por deficiencia de vitamina A (VADD). Washington: Organizacion Panamericana de la Salud; 1999
- WHO. World Health Organization. Global prevalence of vitamin A deficiency. Geneva: WHO; 1995. (WHO/NUT 95.3)
- Stoltzfus RJ, Underwood BA. Breast-milk vitamin A as an indicator of the vitamin A status of women and infants. *Bull World Health Organ* 1995; 73:703-11
- Barreto ML, Santos LP, Assis AO, Araújo MPN, Farenzena GC, Santos PAB, Fiaccone RL. Effect of vitamin A supplementation on diarrhoea and acute lower-respiratory-tract infections in young children in Brazil. *Lancet* 1994; 344:228-31
- Taucher E. Tendências demográficas en America Latina. In: López G, Yunes J, Solís JA, Omran AR. Salud reproductiva en las Americas. Washington: Organización Panamericana de la Salud (OPAS); 1992.
- WHO. World Health Organization. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes. Geneva: WHO; 1996.
- Stephens D, Jackson PL, Gutierrez Y. Subclinical vitamin A deficiency. A potentially unrecognized problem in the United States. *Pediatr Nur* 1996; 22:377-456.
- Flores H, Araújo CRC, Campos FACS, Underwood B. Importance of the early diagnosis of vitamin A deficiency at the epidemiological level. *Int J Vitam Nutr Res* 1983; 24:23-4.
- Flores H, Azevedo MNA, Campos FACS, Barreto-Lins MHC, Cavalcanti AA, Salzano A, Varela RM, Underwood B. Serum vitamin A distribution curve for children aged 2-6 know to have adequate vitamin A status: a reference population. *Am J Clin Nutr* 1991; 40: 1281-9
- McAuliffe J, Santos LM, Diniz AS, Batista-Filho M, Barbosa RCC. A deficiência de vitamina A, estratégias para seu controle – um guia para as Secretarias Municipais de Saúde. Fortaleza: Project Hope; 1991.
- Santos LM, Dricot JM, Ascietti LS, Dricot-d'Ans C. Xerophthalmia in the state of Paraíba, Northeast of Brazil clinical findings. *Am J Clin Nutr* 1983; 38:139-44
- Assis AMO, Prado MS, Freitas MCS, Cruz MM. Deficiência de vitamina A e desnutrição energético proteica em crianças da localidade do Semi-Árido baiano. *Rev Nutr* 1997; 10:70-8.
- Carvalho CMG, Farfan JA, Wilke BC, Vencovsky R. Prevalência de hipovitaminose A em crianças da periferia do município de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública* 1995; 11:85-96
- Carvalho PBM, Dutra de Oliveira JE. Disponibilidade de vitamina A na alimentação de um grupo de pré-escolares na cidade de Ribeirão Preto. *Rev Assoc Bras Ind Alim* 1979;44:18-28.
- Araújo RL, Araújo MBDG, Sieiro RO, Machado RDP, Leite BV. Diagnóstico da situação de hipovitaminose A e da anemia nutricional na população do Vale do Jequetinhonha, Minas Gerais, Brasil. *Arch Latinoam Nutr* 1986; 36:642-52.
- Trigo M. Análise de situação alimentar de dois núcleos populacionais de Marabá, Pará. *Alimentação* 1985; 80:17-27.
- Roncada MJ, Mazzilli RN. Fontes de vitaminas nas dietas de populações de São Paulo, Brasil. *Alim Nutr* 1989; 1:71-86.
- Wilson D, Nery MES. Hipovitaminose A in Rio Grande do Sul, Brazil. Preliminary study. *Int J Vitam Nutr Res* 1983; (Suppl.24):35-44.
- Ministério da Saúde. Política nacional de alimentação e nutrição. Brasília: O Ministério; 2000.
- Coelho CSP, Ramalho RA, Accioly E. Vitamina A: inquérito dietético na avaliação do estado nutricional em gestantes. *Ars Cur* 1995; 28:44-60.
- Accioly E. Avaliação do estado nutricional de vitamina A em gestantes assistidas em maternidade da rede pública no município do Rio de Janeiro [tese doutorado]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina; 1999.
- Dolinsky M. Avaliação do estado nutricional de vitamina A de gestantes atendidas em uma maternidade pública do município do Rio de Janeiro [dissertação mestrado]. Rio de Janeiro: Instituto de Nutrição da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1999.
- Ramalho RA, Anjos LA, Flores H. Estado nutricional de vitamina A no binômio mãe/recém-nascido em duas maternidades no Rio de Janeiro, Brasil. *Arch Latinoam Nutr* 1999; 49:318-21
- Cardoso LO, Silva RARN, Accioly E, Coelho CSP. Prevalência de hipovitaminose A e determinantes sócio-econômicos em pré-escolares. Anais da XIX Jornada de Iniciação Científica da Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1997 Nov; Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 1997. p. 182
- Queiróz E, Ramalho A, Saunders C, Paiva F, Flores H. Vitamin A status in diabetic children. *Diabetes Nutr Metab* 2000; 13:298-9.
- Ramalho RA, Accioly E, Saunders C, Baião MR, Santos MMAS, Cardoso LO, Natalizi DA, Soares AG, Silva CB, Paes CA, Campos LF, Lima APPT, Gomes MM, Gouveia V, Araújo PA, Souza ACL. Prevalência de hipovitaminose A em escolares e adolescentes residentes no Complexo da Maré, no Município do Rio de Janeiro, Brasil. Anais do Congresso de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN); 2000 Nov 12-16; Buenos Aires, Argentina. Buenos Aires: Sociedad Latinoamericana de Nutrición; 2000. p. 142
- Ramalho RA, Saunders C, Leal MC, Accioly E, Paiva F, Silva CB, Gomes MM, Fernandes AS, Gouveia VE, Silva BAS, Lima APPT, Campos LF, Souza ACL, Cardoso LO, Natalizi DA, Soares AG. Níveis placentários de vitamina A e sua associação com os níveis séricos de retinol e a presença de cegueira noturna. Anais do Congresso de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición (SLAN); 2000 Nov 12-16; Buenos Aires, Argentina. Buenos Aires: Sociedad Latinoamericana de Nutrición; 2000. p. 214.

29. IVACG. International Vitamin A Consultative Group. Guidelines for the development of a simplified assessment to identify groups at risk for inadequate intake of vitamin A. New York: The Nutrition Foundation; 1989.
30. Ramalho RA, Saunders C. Vitamina A: aspectos fisiopatológicos, diagnóstico e medidas de intervenção. *Rev Nutr Metab*. In press, 2001.
31. Christian P, West KP, Khattry SK, Kimbrough-Pradhan E, LeClerq SC, Katz J, Shrestha SR, Dali SM, Sommer A. Night blindness during pregnancy and subsequent mortality among women in Nepal: effects of vitamin A and β -carotene supplementation. *Am J Epidemiol* 2000; 152:542-7.
32. Katz J, Khattry SK, West KP, Humphrey JH, LeClerq SC, Pradhan EK, Pokhrel RP, Sommer A. Night blindness is prevalent during pregnancy and lactation in rural Nepal. *J Nutr* 1995; 125:2122-7.
33. Krause MV, Mahan LK. Alimentos, nutrição e dietoterapia. São Paulo: Roca; 1991.
34. Kahhale S. Síndromes hipertensivas. In: Zugaib M, Tedesco JJA, Quayle J. *Obstetrícia psicossomática*. São Paulo: Atheneu; 1998. p.191-6.
35. Ramakrishnan V, Manjrekar R, Rivera J, Gonzáles-Cosío T, Martorell R. Micronutrients and pregnancy outcome: a review of the literature. *Nutr Res* 1999; 19: 103-59.
36. Azais-Braesco V, Pascal G. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(Suppl): 1325S-33S.
37. Arroyave G. Interrelations between protein and vitamin A and metabolism. *Am J Clin Nutr* 1969; 22:1119-28.
38. Hytten F, Chamberlain G. *Clinical physiology in obstetrics*. Great Britain: Blackwell Scientific; 1991.
39. Rondó PHC, Abbott R, Tomkins AM. Vitamina A e retardo de crescimento intra-uterino. *J Pediatr* 1997;73: 335-9.
40. Underwood B. Hypovitaminosis A and its control. *Bull World Health Organ* 1987; 56:526-41.
41. Dimenstei R, Trugo NMF, Donangelo CM, Trugo LC, Anástacio AS. Effect of subadequate maternal vitamin A status on placental transfer of retinol and beta-carotene to the human fetus. *Biol Neonate* 1996; 69: 230-4.
42. Flores H, Ramalho RAG, Ribeiro ARLP. Intrahepatic distribution of vitamin A in humans and rats. *Int J Vitam Nutr Res* 1988; 58:276-80.
43. Rondó PHC, Abbott R, Rodrigues LC, Tomkins AM. Vitamin A, folate, and iron concentrations in cord and maternal blood of intra-uterine growth retarded and appropriate birth weight babies. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49:391-9.
44. UNICEF. United Nations Children's Fund, WHO. World Health Organization. Statement by UNICEF and WHO on interpretation of policy implications of some presentation made. *News Lett* 1997; 4:30.
45. Sivakumar B, Panth M, Shathrugna V. Vitamin A requirements assessed by plasma response to supplementation during pregnancy. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67:232-6.
46. Suharno D, West CE, Muhilal C. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet* 1993; 342:1325-8.
47. Underwood B. Maternal vitamin A status and its importance in infancy and early childhood. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(Suppl):517S-24S.
48. Shenai J, Rush MG, Parker RA, Chytil F. Sequential evaluation of plasma retinol-binding protein response to vitamin A administration in very-low-birth-weight neonates. *Biochem Mol Med* 1995; 54:67-74.
49. Semba RD, Bulterys M, Munyeshuli V. Vitamin A deficiency and T-cell sub-populations in children with meningococcal disease. *J Trop Pediatr* 1996; 42:287-90.
50. Gebre-Medhin M, Valquist A. Vitamin A nutrition in human fetus: comparison in Sweden and Ethiopia. *Acta Pediatr Scand* 1984; 73:333-40.

Os achados do presente estudo confirmam que, tanto quanto em outras partes do mundo, a DVA caracteriza-se como um importante problema de saúde e nutrição entre mulheres e crianças atendidas em uma maternidade do município do Rio de Janeiro.

A prevalência de XN gestacional foi de 17,9%. A inadequação materna de retinol sérico foi observada em 24,4% das mulheres e em 45,5% dos recém-nascidos. Convém salientar que nesse estudo a DVA subclínica (retinol sérico $< 1,05\mu\text{mol/l}$) foi a mais prevalente e quando a puérpera apresentava a deficiência, a maior parte dos seus filhos também apresentavam níveis séricos de retinol inadequados. O que nos leva a pensar que mesmo nos casos de deficiência materna subclínica, o conceito tem risco aumentado de apresentar a DVA.

Tais achados sugerem que a DVA é um problema que merece atenção, e que medidas de intervenção devam ser implementadas, sem negligência, pelas autoridades de saúde.

Os dados deste estudo mostram que o número de indivíduos acometidos pela DVA no município do Rio de Janeiro é possivelmente elevado, o que sugere a revisão dos critérios de seleção das áreas alvo a serem incluídas nos programas de intervenção elaborados para o país.

A validação do indicador XN gestacional pelo indicador bioquímico sugere que a sua aplicação pode ser útil para o diagnóstico da DVA na assistência pré-natal. Contudo, a entrevista padronizada que identifica a XN deve ser associada a outros indicadores da carência devido à sua baixa sensibilidade.

O estudo da distribuição intraplacentária de retinol mostrou que qualquer porção da placenta pode representar o seu teor de retinol e o estabelecimento de metodologia padronizada para a obtenção e análise bioquímica das amostras, pode representar um avanço metodológico para as pesquisas que pretendam incorporar a dosagem dos teores placentários de vitamina A em suas investigações.

Representa também a possibilidade de impulsionar a construção do indicador “inadequação de vitamina A na placenta” como “preditivo” do estado nutricional de vitamina A em puérperas e recém-nascidos. Entre as principais vantagens desse indicador, destaca-se não invasivo, requerer uma pequena amostra da placenta que pode ser coletada sem rigorosa padronização anatômica e ter estabilidade ao congelamento.

Tais achados relacionados à placenta podem contribuir na diminuição dos custos requeridos nos estudos de campo, dispensando inclusive, a necessidade de profissional altamente qualificado, para a coleta das amostras.

A constatação que a DVA no grupo estudado foi fortemente associada à baixa cobertura da assistência durante a gestação, reafirma a importância da assistência pré-natal e da ação dos profissionais de saúde como elementos chave na redução do agravo em questão.

Merece destaque ainda, a tendência de associação entre a história de aborto e a deficiência de vitamina A. O curto intervalo entre as gestações associado com a história de aborto, parece influenciar o estado nutricional de vitamina A materno, como mostrado nesse estudo. Assim, a história de abortos, bem como o tipo de aborto (espontâneo ou induzido) deve ser incluída na avaliação nutricional pré-natal, pelo seu potencial em prever a DVA e, em especial, a XN gestacional.

Espera-se que os resultados aqui descritos sirvam de subsídios para modificações na assistência pré-natal e capacitação dos profissionais de saúde para a investigação da DVA, a ser incorporada como procedimento de rotina para a clientela dos serviços públicos de saúde.

Reconhecendo que a maior vulnerabilidade para a DVA é observada em indivíduos de países em desenvolvimento, cujas condições socioeconômicas desfavoráveis maximizam e prolongam a DVA, recomenda-se medidas intersetoriais, que visem a melhoria das condições socioeconômicas, garantam o acesso adequado aos serviços de saúde de qualidade, associadas às estratégias de suplementação, fortificação e diversificação alimentar.

Por fim, cabe destacar alguns desdobramentos deste estudo nos campos da assistência e da investigação:

- os resultados subsidiaram modificações na rotina da assistência nutricional no pré-natal da unidade estudada e uma proposta foi encaminhada ao Ministério da Saúde para inclusão do diagnóstico da XN na capacitação das equipes de saúde da família e demais profissionais da atenção básica.
- no campo da investigação, encontra-se em fase de desenvolvimento:
 - ✓ análise da correlação entre os níveis de retinol maternos e dos recém-nascidos com os teores de retinol da placenta;
 - ✓ investigação da associação entre a presença da XN e os teores de retinol nas placentas;

- ✓ análise da associação entre os níveis séricos de vitamina A (retinol e carotenóides) maternos e dos recém-nascidos com a história de aborto e com as intercorrências gestacionais e clínicas dos recém-nascidos;
- no campo da investigação, encontra-se em fase de previsão de desenvolvimento:
 - ✓ pretende-se realizar uma análise exploratória dos teores de vitamina A das placentas segundo características maternas (sociodemográficas, obstétricas, da assistência pré-natal);
 - ✓ pretende-se investigar a associação entre a DVA avaliada segundo o indicador funcional (XN gestacional) e outros indicadores como o dietético, que também apresentem vantagens metodológicas, e facilidade de aplicação na prática clínica;
 - ✓ pretende-se avaliar a estabilidade do retinol das amostra de placentas em diferentes tempos de congelamento;
 - ✓ pretende-se também avaliar o impacto da mudança da rotina da assistência nutricional pré-natal na unidade estudada, na qual foi incorporada além da entrevista para o diagnóstico da XN, o aconselhamento nutricional com ênfase nas fontes alimentares de vitamina A, como medida preventiva e terapêutica para a XN gestacional;
- no campo da investigação, recomenda-se que seja investigado:
 - ✓ avaliação da distribuição intraplacentária de carotenóides;
 - ✓ análise da correlação entre os níveis de vitamina A maternos e dos recém-nascidos com os teores de carotenóides da placenta;
 - ✓ avaliação da distribuição intraplacentária de retinol e carotenóides em puérperas com DVA;
 - ✓ avaliação da distribuição intraplacentária de retinol e carotenóides em puérperas que apresentaram com resultado da gestação, recém-nascidos com DVA;
 - ✓ calcular o custo da dosagem de retinol e carotenóides nas placentas;
 - ✓ investigação da XN ao longo da gestação, no puerpério e na lactação, bem como a determinação do tempo de ocorrência do sintoma ocular;
 - ✓ investigar a presença de XN gestacional em diferentes classes intervalares de retinol sérico superiores a $1,05\mu\text{mol/l}$.

- Como limitação desse resultado, destaca-se o confinamento do estudo a uma única maternidade, sugerindo que a extrapolação desses dados para toda a população de puérperas e recém-nascidos do município do Rio de Janeiro deva ser feita de forma cuidadosa.

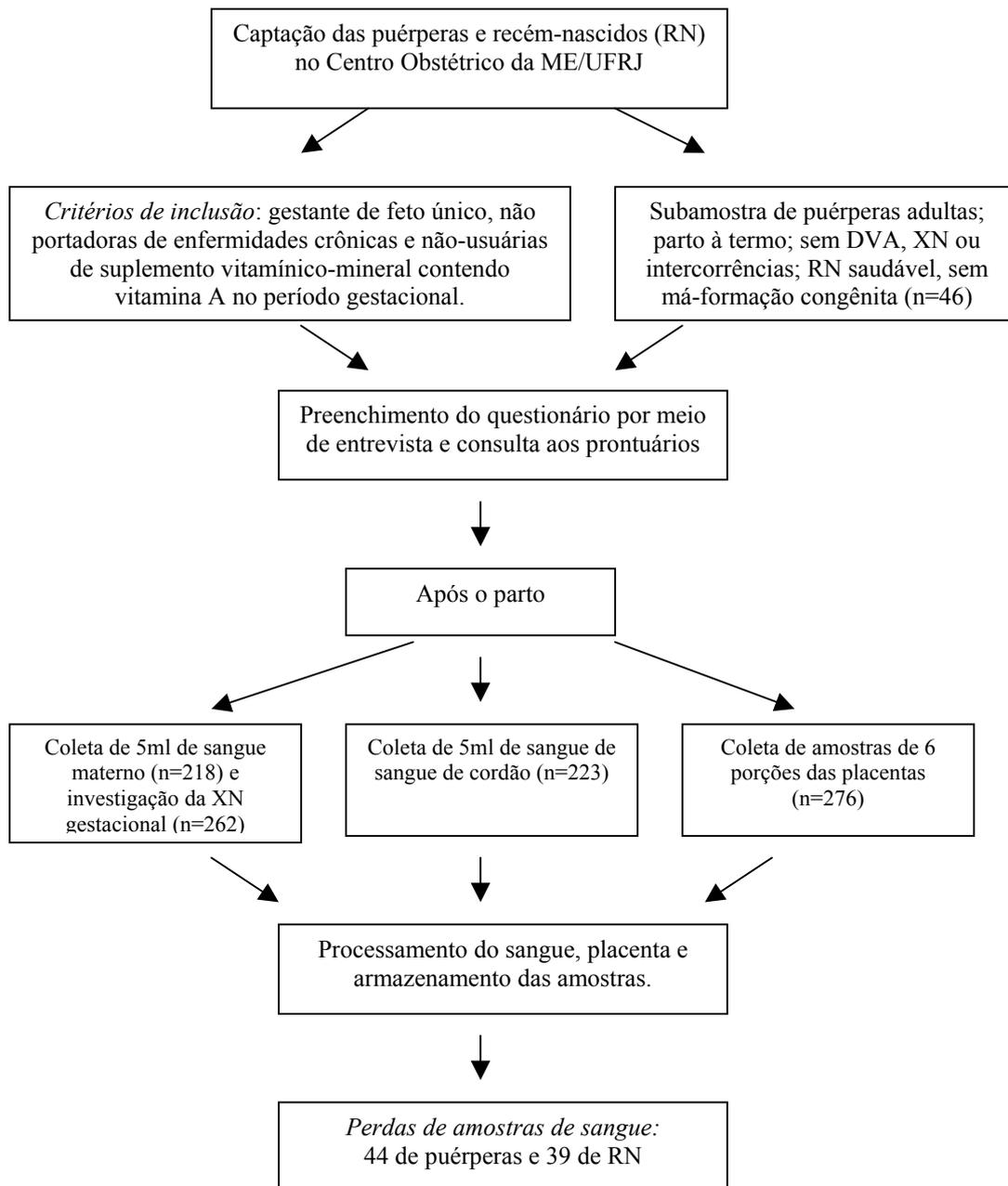
ANEXO 1:

NOTAS METODOLÓGICAS

1. Informações complementares sobre a amostra estudada.

A amostra estudada foi constituída de 262 mulheres e seus respectivos recém-nascidos atendidos na ME/UFRJ. Informações sobre a captação da amostra e a coleta de dados estão resumidas na figura 1.

Figura 1: Detalhamento sobre a captação da amostra e coleta de dados.



Como pode ser visto na figura 1, houve perda de amostras de sangue em 16,8% (n = 44) das puérperas e em 14,9% (n = 39) dos recém-nascidos. A perda foi decorrente de problema com o fornecimento de energia elétrica ocorrido na ME/UFRJ, e como consequência houve o descongelamento total das amostras, que foram inutilizadas.

Objetivando avaliar se havia diferença entre as características das puérperas cujas amostras de sangue foram extraviadas, e as características das puérperas que permaneceram no estudo, realizou-se uma análise exploratória em uma subamostra de 208 puérperas, investigando a associação entre a variável considerada como desfecho de interesse - *amostra de sangue (sim/não)* e considerando como variáveis independentes - *XN gestacional, paridade, escolaridade materna, intercorrências maternas, número de consultas da assistência pré-natal, número de abortos, intervalo gestacional*. Na análise estatística, foi empregado o teste qui-quadrado e adotado o nível de significância de 5%. Utilizou-se o pacote estatístico SPSS for windows versão 10.0.

Tabela 1a: Comparação de algumas características das puérperas entre os grupos com e sem sangue. Maternidade Escola/UFRJ, MRJ (1999-2001).

Características	<i>Amostra de sangue</i>				Total	p
	Sim		Não			
	n	%	n	%		
Total	164	78,8	44	21,2	208	
<i>Cegueira noturna</i>						
Não	134	81,7	36	81,8	170	0,987
Sim	30	18,3	8	18,2	38	
<i>Paridade</i>						
Primípara	74	75,5	24	24,5	98	0,300
1 a 2 partos	77	80,2	19	19,8	96	
3 ou mais partos	13	92,9	1	7,1	14	
<i>Escolaridade materna</i>						
Analfabeta e 1º grau incompleto	70	81,4	16	18,6	86	0,449
1º grau completo e 2º grau incompleto	54	74,0	19	26,0	73	
2º grau completo e superior	40	81,6	9	18,4	49	

Tabela 1b: Comparação de algumas características das puérperas entre os grupos com e sem sangue. Maternidade Escola/UFRJ, MRJ (1999-2001).

Características	<i>Amostra de sangue</i>				Total	p
	Sim n	%	Não n	%		
<i>Intercorrências gestacionais</i>						
Total	157	78,5	43	21,5	200	
Nenhuma	100	81,3	23	18,7	123	0,294
Anemia	50	72,5	19	27,5	69	
Outras	7	87,5	1	12,5	8	
<i>Número de consultas da assistência pré-natal</i>						
Total	164	78,8	44	21,2	208	
0 a 3 consultas	17	89,5	2	10,5	19	0,147
4 a 6 consultas	44	78,6	12	21,4	56	
7 a 8 consultas	38	69,1	17	30,9	55	
9 ou mais consultas	65	83,3	13	16,7	78	
<i>Número de abortos</i>						
Total	154	82,4	33	17,6	187	
Nenhum	97	78,2	27	21,8	124	0,111
1 aborto	42	91,3	4	8,7	46	
2 ou mais abortos	15	88,2	2	11,8	17	
<i>Intervalo interpartal</i>						
Total	154	82,4	33	17,6	187	
Inadequado (<24 meses)	13	81,3	3	18,8	16	0,904
Adequado (\geq 24 meses)	141	82,5	30	17,5	171	

Como pode ser constatado nas tabelas 1a e 1b, as características das puérperas sem amostras de sangue, não diferiram daquelas cujas amostras de sangue foram submetidas à avaliação dos níveis séricos de retinol.

2. Informações complementares sobre a qualidade dos dados.

No estudo da reprodutibilidade das informações coletadas, foram verificados bons índices de concordância entre os entrevistadores para as variáveis avaliadas no reteste (ICC > 0,92 e $k > 0,65$, tabela 2).

Vale destacar que diante dos achados, pode-se sugerir que os entrevistadores coletaram de forma padronizada as informações para o diagnóstico da XN, variável desfecho de interesse nesse estudo, pois, verificou-se alta concordância ($k = 1,0$) obtida com a reaplicação do instrumento. Com isso, validou-se o treinamento e a reciclagem periódica dos pesquisadores envolvidos, além da supervisão permanente do preenchimento dos questionários.

Os dados sugeriram que a entrevista, nos primeiros dias pós-parto, foi capaz de captar as alterações oculares ocorridas durante a gestação atual e refletem, ainda, a facilidade da entrevistada em recordar informações a respeito da sua história gestacional atual.

Tabela 2: Índices de concordância entre os entrevistadores para as variáveis avaliadas no reteste em puérperas atendidas na Maternidade Escola/UFRJ, MRJ (1999-2001).

Variáveis	Índices de concordância	
	ICC	IC 95%
<i>Variáveis contínuas ou ordinais</i>		
Idade materna	0,999	0,998-0,999
Número de gestações (gesta)	1,000	-
Paridade (para)	1,000	-
Número de abortos (abortos)	1,000	-
Idade gestacional no parto	0,958	0,917-0,979
Número de consultas da assistência pré-natal	0,923	0,851-0,961
Número de consultas da assistência nutricional pré-natal	0,980	0,960-0,990
Peso pré-gestacional	0,989	0,977-0,994
Estatutura	0,975	0,949-0,987
Peso pré-parto	0,963	0,925-0,982
Peso ao nascer	0,973	0,944-0,986
Comprimento ao nascer	0,996	0,991-0,998
<i>Variáveis categóricas</i>		
Estado civil	1,000	-
Escolaridade	0,882	0,755-1,000
Cor	0,852	0,700-1,000
Condições de saneamento da moradia	1,000	-
Intercorrências gestacionais	0,650	0,390-0,910
Cegueira noturna gestacional	1,000	-

ICC – coeficiente de correlação intraclassa; *k*- estatística *kappa*; IC – intervalo de confiança

3. Informações complementares sobre o estudo da validade do indicador cegueira noturna gestacional.

A validade do indicador funcional (XN gestacional) foi analisada por meio do cálculo da sensibilidade e especificidade em relação ao teste padrão (indicador bioquímico – retinol sérico; Pereira, 1999; Szklo & Nieto, 2000). Os cálculos foram realizados com base na matriz para os cálculos apresentada abaixo (tabela 3).

Tabela 3: Matriz para os cálculos

Teste	DVA +	DVA -	Total
	n	n	
XN +	18 (a)	21 (b)	39 (a+b)
XN -	35 (c)	143 (d)	178 (c+d)
Total	53 (a+c)	164 (b+d)	217 (a+b+c+d)

Legenda: DVA +: deficiência de vitamina A diagnosticada segundo os níveis de retinol sérico $<1,05\mu\text{mol/l}$; DVA -: estado nutricional de vitamina A adequado; XN +: cegueira noturna gestacional diagnosticada através da entrevista padronizada; XN -: ausência de cegueira noturna gestacional.

Indicadores

Sensibilidade (%) = $a / (a+c) \times 100 = 18 / 53 = 34\%$

Especificidade (%) = $d / (b+d) \times 100 = 143 / 164 = 87,2\%$

**TERMO DE CONVÊNIO ENTRE A MATERNIDADE ESCOLA E O
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO/UFRJ**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MATERNIDADE-ESCOLA

CONVÊNIO

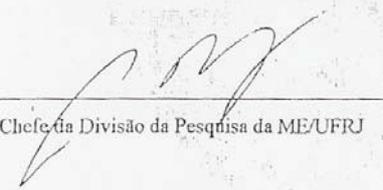
Convênio informal para desenvolvimento conjunto de investigação científica que firmam entre si a **Maternidade-Escola** da **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, aqui representada pelo **Chefe da Divisão de Pesquisa** e pelo **Diretor da Unidade**, e o **Instituto de Nutrição** da **Universidade Federal do Rio de Janeiro**, aqui representado pelo **Pesquisador Responsável** e pelo **Professor Coordenador** da pesquisa de que trata o presente convênio.

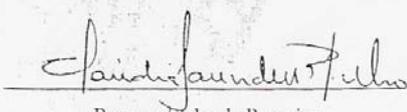
O objeto deste convênio é o desenvolvimento de investigação que tem por proposta estudar Níveis Séricos de Vitamina A Maternos e dos Recém-Nascidos e sua Associação com os Níveis Placentários.

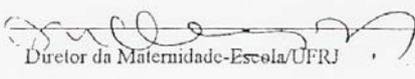
Tem data de início prevista para o mes de janeiro de 1999 e encerramento estimado para o mes de julho de 1999.

O presente convênio não envolve pecúnia de ambas as partes conveniadas e os pormenores para o seu desenvolvimento deverão ser decididos conjuntamente pelo **Chefe da Divisão de Pesquisa** da **Maternidade-Escola** e pelo **Professor Coordenador** da pesquisa.

Rio de Janeiro, 28 / dezembro / 1998


Chefe da Divisão da Pesquisa da ME/UFRJ


Responsável pela Pesquisa


Diretor da Maternidade-Escola/UFRJ


Professor Coordenador da Pesquisa

PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA DA MATERNIDADE ESCOLA/UFRJ



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
MATERNIDADE-ESCOLA

Professor Pedro Rogério Furley dos Santos
 Chefe de Ensino e Pesquisa da M.E./UFRJ

Parecer da comissão de Ética Médica da Maternidade-Escola da UFRJ sobre o Projeto de Tese de Doutorado de **Cláudia Saunders de Paiva Coelho** sobre **“Níveis Séricos da Vitamina A Materna e dos Recém Nascidos e sua Associação com os Níveis Placentários”**.

Prezado Professor,

O Projeto de Pesquisa analisado mostra o papel da Vitamina A no organismo e os efeitos da sua carência em diversas situações patológicas.

O estudo da Vitamina A na gestante, no feto e recém nascido é de inegável interesse visto a importância deste fator.

O Projeto de Pesquisa nos parece estar de acordo com os preceitos da Ética Médica, necessitando, entretanto, ser encaminhado á apreciação da Comissão de Ética Médica em Pesquisa de Unidade da UFRJ.

Rio de Janeiro, 25 de abril de 2002

Comissão de Ética Médica da Maternidade-Escola da UFRJ

Prof. Alvio Palmiro

Alvio Palmiro
 MÉDICO

CRMJ- 5209077-6

Rua das Laranjeiras, 180 – Laranjeiras
 7935 Fax (021)285-7994

Prof. Nancy R. da Silva

Prof. Nancy R. da Silva
 Clínic do Amb. Pré-Natal
 da Maternidade - Escola
 - CRM - 52.12805-9 -

CEP: 22240-001

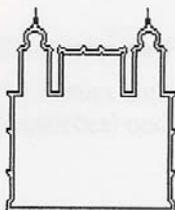
Prof. Osvaldo Coura Filho

Dr. Osvaldo Coura Filho
 Ginecologia Obstetrícia

CRM 52.20.482.0

Rio de Janeiro – RJ Fone (021) 285-

**PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA DA
ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA/FIOCRUZ**



Ministério da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa
Fundação Oswaldo Cruz



Parecer Nº: 75/02

Rio de Janeiro, 04 de setembro de 2002

Título do Projeto: Carência de vitamina A no binômio mãe-filho e distribuição interplacentária de retinol.

Pesquisador Responsável: Cláudia Saunders de Paiva Coelho.

Instituição onde se realizará: Instituto de Nutrição da UFRJ, Maternidade Escola da UFRJ e Departamento de Epidemiologia da Escola Nacional de Saúde Pública.

Data de recebimento no CEP-ENSP: 06 de agosto de 2002.

Objetivos do projeto

Avaliar o estado nutricional de vitamina A de puérperas e recém-nascidos por meio de diferentes indicadores e determinar a distribuição intraplacentária de vitamina A, a fim de fornecer subsídios para programas de diagnóstico e combate a esta carência.

Sumário do projeto

Descrição geral: projeto de doutorado já qualificado consistindo de pesquisa com puérperas por entrevista direta e consulta aos prontuários, além de exames de sangue e da placenta, bem como o levantamento de medidas antropométricas (peso, comprimento, perímetro cefálico e idade gestacional) dos recém-nascidos. Os dados serão levantados na Maternidade Escola da UFRJ e os exames serão feitos no Instituto de Nutrição da UFRJ.

Descrição e caracterização da amostra: cerca de 197 puérperas selecionadas com equiprobabilidade (amostra aleatória simples) dentre as atendidas pela referida Maternidade Escola.

CrITÉRIOS de inclusão e exclusão: terão probabilidade de seleção as puérperas atendidas na referida maternidade, sendo excluídas as que tiverem partos gemelares ou patologias clinicamente comprovadas no período gestacional, além das que usaram complementos vitamínicos durante a gestação e daquelas com menos de 20 anos.

Adequação da metodologia: até onde foi explicitada, e considerando as restrições de tempo de um projeto de doutorado, não se verificou inadequação da metodologia aos objetivos.

Adequação das condições de realização: aparentemente adequadas.

Elementos da Folha de Rosto da CONEP

Assinatura do(s) responsável(is) da(s) Instituição(ões) onde se realizará a pesquisa: constam assinaturas dos responsáveis pela Maternidade Escola da UFRJ e pelo Instituto de Nutrição da UFRJ.

Observações sobre o preenchimento dos demais campos: nada a acrescentar.

Comentários do relator, frente à Resolução nº 196/96 e complementares em particular sobre:

Estrutura do protocolo: protocolo com estrutura adequada.

Justificativa de uso do placebo: não se aplica.

Justificativa da suspensão terapêutica ("Wash-out"): não se aplica.

Análise dos riscos: não há riscos para os participantes, tendo em vista que a coleta de sangue será feita por profissional capacitado usando material descartável, o exame da placenta não oferece riscos e as medições antropométricas são rotineiras.

Retorno de benefícios para o sujeito e/ou para a comunidade: o retorno direto para os sujeitos da pesquisa é o diagnóstico e tratamento da carência de vitamina A e os indiretos decorrem do conhecimento obtido (novos métodos diagnósticos da carência derivados de indicadores mais baratos e de obtenção menos invasiva).

Adequação do termo de consentimento: termo de consentimento adequado.

Forma de obtenção do consentimento: adequada.

Informação adequada quanto ao financiamento: o financiamento do projeto será feito pelas entidades envolvidas.

Outros centros, no caso de estudos multicêntricos: não se aplica.

Outros comentários: não há qualquer menção aos mecanismos a serem usados para proteção da identidade dos informantes, apesar de esta proteção ser compromisso assumido no Termo de Consentimento.

Deverá ser encaminhado à CONEP (áreas temáticas especiais) e, portanto, deverá aguardar a apreciação final desta para início da execução? Sim Não

Parecer do CEP: Aprovado.

Atenciosamente,

Autor
 PROF. FERMIN ROLAND SCHRAMM
 Coordenador do Comitê de
 Ética em Pesquisa
 ENSP/FIOCRUZ

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

GRUPO DE PESQUISA EM VITAMINA A

**PESQUISA: “CARÊNCIA DE VITAMINA A NO BINÔMIO MÃE-FILHO E DISTRIBUIÇÃO
INTRAPLACENTÁRIA DE RETINOL”**

Entrevistador: _____
 Registro no GPVA: _____ Matrícula: _____
 Data: ____ / ____ / ____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Este documento lhe dará informações e pedirá o seu consentimento para participar de uma pesquisa que está sendo desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa em Vitamina A e pela Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

O estudo pretende identificar a carência de vitamina A em mães e recém-nascidos, através da análise da quantidade da vitamina no sangue da mãe e no sangue do cordão umbilical, além de verificar a quantidade dessa vitamina em pequenas porções da placenta. O objetivo final do estudo é contribuir para o diagnóstico da carência de vitamina A, que traz profundas repercussões à saúde dos indivíduos, tais como, problemas oculares, de pele e maior possibilidade de desenvolvimento de infecções.

A pesquisa será conduzida por meio de questionários abordando questões sobre idade, nível de instrução, renda familiar, ocupação, condições de moradia, história reprodutiva e assistência pré-natal. Será também realizada uma avaliação da sua visão noturna, por meio de entrevista e serão consultadas nos prontuários as condições ao nascer do seu filho. Além disso, faremos a retirada de pequena quantidade de seu sangue, do sangue do cordão umbilical e de pequenas amostras da placenta. Esclarecemos que o risco decorrente de sua participação no estudo é o mesmo de procedimentos rotineiros de coleta de sangue e para evitá-lo, seu sangue e o do cordão umbilical serão coletados por técnico especializado com material descartável. E informamos ainda que não há remuneração ou recompensa de qualquer espécie decorrente da participação do estudo.

Os benefícios pela sua participação são o diagnóstico da carência de vitamina A, cujas informações você receberá através de carta na sua residência e caso seja diagnosticada a carência no seu sangue, será oferecido tratamento sem nenhum custo.

As informações que serão coletadas serão mantidas em sigilo, não sendo divulgadas em qualquer hipótese. Os resultados do estudo serão apresentados em conjunto, impossibilitando a identificação dos indivíduos que participaram do mesmo.

Você tem o direito de pedir outros esclarecimentos sobre a pesquisa e de se recusar a participar ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem que isso lhe traga qualquer prejuízo.

Declaro estar ciente das informações deste Termo de Consentimento e concordo em participar desta pesquisa.

Rio de Janeiro, ____ de ____ de ____.

Participante ou responsável _____
 Coordenador da Pesquisa: _____

**CARTAS DE ENCAMINHAMENTO DO DIAGNÓSTICO
DO ESTADO NUTRICIONAL DE VITAMINA A
AOS SUJEITOS DA PESQUISA**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
GRUPO DE PESQUISA EM VITAMINA A - GPVA**

Rio de Janeiro / / .

Cara

Venho por meio desta informar o seu resultado de exame realizado pelo GPVA do Instituto de Nutrição da UFRJ, por ocasião do seu parto, no dia / / , na Maternidade Escola da UFRJ, visando avaliar a quantidade de vitamina A no seu sangue, que teve como resultado NORMAL, ou seja, a senhora não está com carência da vitamina.

Coloco-me à disposição para maiores esclarecimentos e para orientação alimentar.

Atenciosamente,

Prof. Cláudia Saunders de Paiva Coelho

Responsável pelo projeto

Para contato:

Tel. 2562.6601 ou 2562.8293 (2^{as} feiras no horário de 10 às 17h) ou 9612.2370

Av. Brigadeiro Trompovsky, s/n. Centro de Ciências da Saúde, bl.J, 2º andar, sala 24

Ilha do Fundão. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro - RJ



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
GRUPO DE PESQUISA EM VITAMINA A - GPVA**

Rio de Janeiro / / .

Cara

Venho por meio desta informar o seu resultado de exame realizado pelo GPVA do Instituto de Nutrição da UFRJ, por ocasião do seu parto, no dia / / , na Maternidade Escola da UFRJ, visando avaliar a quantidade de vitamina A no seu sangue, que teve como resultado ALTERADO, ou seja, a senhora está com carência da vitamina. Diante disso, coloco-me à disposição para lhe fornecer suplementação vitamínica e orientação alimentar. Favor entrar em contato para maiores esclarecimentos.

Atenciosamente,

Prof. Cláudia Saunders de Paiva Coelho
Responsável pelo projeto

Para contato:

Tel. 2562.6601 ou 2562.8293 (2^{as} feiras no horário de 10 às 17h) ou 9612.2370
Av. Brigadeiro Trompovsky, s/n. Centro de Ciências da Saúde, bl.J, 2º andar, sala 24
Ilha do Fundão. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro - RJ

INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

GRUPO DE PESQUISA EM VITAMINA A

PESQUISA: “CARÊNCIA DE VITAMINA A NO BINÔMIO MÃE-FILHO E DISTRIBUIÇÃO INTRAPLACENTÁRIA DE RETINOL”

Entrevistador: _____
 Registro no GPVA: _____ Matrícula: _____
 Data: ____/____/____

I. Dados de identificação e socioeconômicos:

Nome: _____
 Endereço: _____
 Bairro: _____ Cidade/Estado: _____
 Telefone: _____ Data de Nascimento: ____/____/____
 Idade: ____ anos Estado Civil: (1) casada (2) solteira (3) separada/divorciada (4) viúva (5) outros ____
 Nível de Instrução: (1) Analfabeta (2) 1º grau incompleto
 (3) 1º grau completo (4) 2º grau incompleto
 (5) 2º grau completo (6) superior
 Cor: (1) Branca (2) Negra (3) Mulata ou parda (4) Outras _____
 Renda Familiar total: _____
 Nº de pessoas da família: _____ Renda familiar *Per capita*: _____
 Ocupação: _____
 Condições de saneamento da moradia:
 (1) Adequada (2) Inadequada _____

2. História Obstétrica

Gesta: _____ Para: _____ Abortos: _____
 Data do último parto: _____
 Data do término da última gestação (informar se foi ABORTO): _____
 Idade gestacional no parto (segundo DUM): _____
 Assistência pré-natal: (1) Sim. Nº de consultas: _____ (2) Não
 Assistência Nutricional: (1) Sim. Nº de consultas: _____ (2) Não
 Peso placentário: _____ g Tipo de parto: (1) normal (2) cesárea (3) outros _____
 Uso de cigarro: (1) Sim. Quantidade/freqüência _____ (2) Não
 Uso de bebidas alcoólicas: (1) Sim. Tipo/Quantidade/Freqüência _____ (2) Não
 Uso de drogas: (1) Sim. Tipo / Quantidade / Freqüência _____ (2) Não

Intercorrências na gestação, registrar: hipertensão – PA \geq 140 x 90mmHg /IG, anemia (hemoglobina < 11g/dl / IG), alteração na curva glicêmica (valores plasmáticos 105,190,165,145 mg / dl sendo 2 valores superiores: _____)

3. Avaliação funcional: ENTREVISTAR A PUÉRPERA CN(1)Sim (0)Não

Dificuldade para enxergar durante o dia? (1) Sim. Quando começou/terminou? _____ (2) Não

Dificuldade para enxergar com pouca luz ou à noite?

(1) Sim. Quando começou/terminou? _____ (2) Não

Tem cegueira noturna? (1) Sim. Quando começou/terminou? _____ (2) Não

Alteração alimentar na gestação? (1) Sim. Qual?(exclusão/inclusão de alimentos) _____
_____ (2) Não

Uso de suplementos vitamínico-minerais (atenção para Materna, Arovit, Rarical, Esclerovitan, Supradyn, Naetene, Natalins, Unicap, Nativit) ou complemento alimentar (Sustagem, Sustain, Sustacal, Mom) durante a gestação?

(1) Sim. Qual/dose/quantidade _____ (2) Não

4. Avaliação antropométrica materna

Peso pré-gestacional: _____ kg IMC: _____ Classificação: (1) Bp (2) N (3) Sp (4) Ob

Estatura: _____ m Peso pré-parto: _____ kg Ganho ponderal total: _____ kg

Peso na 1º consulta do Pré-natal (até a 14ª s): _____ kg MS: (0) adequado (1) inadequado

Peso na última consulta do Pré-natal: _____ kg IOM: (1) abaixo (2) adequado (3) acima

5. Condições dos recém-nascidos

Peso: _____ g Comprimento: _____ cm PC: _____ cm Sexo: (1) F (2) M

Capurro: _____ semanas Apgar 1'e 5': ____/____ Correlação P/IG: (1) PIG (2) AIG (3) GIG

Intercorrências clínicas: _____

6. Avaliação bioquímica

Medidas	Retinol(μ mol/l)	Carotenóides(μ g/%)
Sangue materno		
Sangue do cordão umbilical		
Placenta ML1		
Placenta ML2		
Placenta MC		
Placenta FL1		
Placenta FL2		
Placenta FC		

**MANUAL DE INSTRUÇÕES PARA O PREENCHIMENTO
DO INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
CCS – INSTITUTO DE NUTRIÇÃO JOSUÉ DE CASTRO
GRUPO DE PESQUISA EM VITAMINA A – GPVA**

Manual de Instruções

Projeto:

**NÍVEIS SÉRICOS DE VITAMINA A MATERNOS E DOS RECÉM-NASCIDOS E
SUA ASSOCIAÇÃO COM OS NÍVEIS PLACENTÁRIOS**

**Rio de Janeiro
Abril/1999**

JUSTIFICATIVA

A carência de vitamina A, expressa por cifras preocupantes no município do Rio de Janeiro, traz profundas repercussões ao processo reprodutivo normal. E a deficiência pode acarretar conseqüências passíveis de ocorrer sem sinais clínicos detectáveis na mãe, tornando o feto mais vulnerável à deficiência.

São escassas as informações acerca da regulação da transferência placentária de vitamina A (retinol e carotenóides) para o feto e existem poucas evidências conclusivas sobre a transferência materno-fetal de retinol e carotenóides, sobre a distribuição intraplacentária, bem como a associação desta aos níveis séricos maternos e dos recém-nascidos. Uma vez estabelecida essa associação, pode-se contribuir para o diagnóstico da carência, identificando as mulheres em risco de iniciarem a lactação (fase de maior demanda de vitamina A, para atendimento da rápida transferência para o leite humano) com carência, e conseqüentemente, comprometendo o estado nutricional de vitamina A do lactente.

Com isso, esses dados constituem-se em justificativa suficiente para que se implementem estudos visando a elucidação de tais questões que poderão contribuir para a prevenção da carência no grupo materno-infantil, com conseqüente diminuição da demanda aos serviços de saúde e internações hospitalares.

OBJETIVOS

Geral

- ◆ Avaliar o estado nutricional de vitamina A de puérperas e recém-nascidos, usando diversos indicadores e determinar a distribuição intraplacentária de vitamina A, visando fornecer subsídios para programas de diagnóstico e combate à carência de vitamina A.

Específicos

- ◆ Revisar o conhecimento disponível na literatura, sobre o estado nutricional de vitamina A, com ênfase no grupo materno-infantil;
- ◆ Descrever a prevalência de cegueira noturna gestacional em puérperas e avaliar a sua associação com os níveis séricos de retinol materno e dos recém-nascidos e com variáveis maternas;
- ◆ Descrever a distribuição intraplacentária de retinol, para definir uma metodologia, que permita a utilização de níveis de vitamina A na placenta como marcador de carência;
- ◆ Medir os níveis séricos de retinol de puérperas e recém-nascidos (sangue de cordão), e investigar sua possível associação.

METODOLOGIA

Desenho do estudo

Trata-se de um estudo descritivo do tipo transversal, com objetivo de avaliar o estado nutricional de vitamina A de puérperas e recém-nascidos, por meio dos indicadores funcional (XN) e bioquímico (níveis séricos de retinol), bem como a associação entre estes. Será utilizado como marcador de carência, os níveis séricos de retinol. E para estudar a distribuição intraplacentária de vitamina A, será empregada a avaliação dos teores de retinol em diferentes porções da placenta.

Sujeitos da pesquisa

População: Puérperas de baixo risco acompanhadas pelo Serviço de Assistência Pré-natal da Maternidade Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro (ME/UFRJ).

Amostra: Serão selecionadas mulheres (parturientes / puérperas) internadas no Centro Obstétrico da ME/UFRJ que não apresentem nenhuma das características consideradas nos *Critérios de exclusão* – gestação gemelar, portadoras de enfermidades clinicamente comprovadas com início no período pré-gestacional (diabetes mellitus, hepatopatias, cardiopatias e outras doenças crônicas), em uso de suplementos vitamínico-mineral contendo vitamina A (Materna, Arovit, Rarical, Esclerovitan, Supradyn, Naetene, Natalins, Unicap, Nativit) no período gestacional.

Coleta de dados e esclarecimentos aos sujeitos da pesquisa

Captação da amostra: Na ocasião do parto, serão obtidos dados das mães e dos seus recém-nascidos concebidos na instituição. A abordagem deve ser realizada com todas as parturientes / puérperas internadas (que não apresentem alguma característica descrita no critério de exclusão) no Centro Obstétrico, no período do plantão da equipe. Após a apresentação do entrevistador, devem ser esclarecidos o *objetivo do estudo*, os *procedimentos* (entrevista, consulta aos prontuários, retirada de sangue da mãe e do cordão umbilical, retirada de amostras da placenta após o parto), os *riscos associados* (os procedimentos de coleta de sangue serão cuidadosamente realizados por técnico de laboratório de análises clínicas capacitado, com material descartável, visando minimizar os riscos associados com a coleta de sangue rotineira) e os *benefícios* (em nível individual fornecer o diagnóstico e tratamento da carência da vitamina A, além de contribuir para o desenvolvimento de novos métodos diagnósticos da carência no grupo materno-infantil, por meio de indicadores menos invasivos e mais baratos, visando diminuir os índices de morbi-mortalidade do grupo associados com a essa

carência nutricional). Caso a mãe concorde em participar do estudo, será lido para a entrevistada o termo de consentimento e solicitada sua assinatura, fornecendo uma cópia do termo de consentimento e endereço/telefone do pesquisador responsável para contato. Após esse procedimento, iniciar o preenchimento do instrumento por meio através de entrevista e consulta aos prontuários.

No contato com a entrevistada e durante a coleta dos dados o entrevistador deve observar os seguintes cuidados:

- o contato inicial e a apresentação do entrevistador são de extrema importância para o sucesso da entrevista e para a colaboração do entrevistado em responder adequadamente as perguntas. Manter estilo simples e informal, conduzindo a entrevista com cordialidade;
- explicar claramente à entrevistada sobre os objetivos do estudo, a não-obrigatoriedade da participação, a não-existência de recompensa e a possibilidade de desistência em qualquer etapa do procedimento, sem qualquer prejuízo na sua assistência na ME/UFRJ;
- esclarecer todas as dúvidas da entrevistada em qualquer momento do estudo;
- esclarecer que diante do laudo da análise de vitamina A no sangue materno, será enviada carta com o resultado do exame para o endereço informado no prontuário e no caso de hipovitaminose A, será fornecida gratuitamente a dose terapêutica de vitamina A e orientação dietética;
- todas as entrevistadas devem receber, ao final da entrevista, orientação nutricional padronizada;
- Evitar qualquer expressão de reprovação ou aprovação quando a entrevistada estiver respondendo ao questionário;
- evitar qualquer comentário que possa induzir/confundir a entrevistada ao responder ao questionário;
- dar tempo suficiente para a entrevistada pensar antes de responder;
- respeitar os momentos de dor intensa da entrevistada, decorrente do trabalho de parto;
- observar, no instrumento, as perguntas que devem ser respondidas na entrevista e cujas informações não podem ser obtidas nos prontuários;
- sempre que possível, confirmar as respostas fornecidas pela entrevistada com as informações descritas nos prontuários;
- o registro das informações deve ser feito cuidadosamente e de forma suficiente;
- não deixar respostas em branco. Antes de terminar a entrevista, verificar se todas as perguntas estão preenchidas; e ao final agradecer a colaboração da entrevistada.

Materno: indicadores bioquímico (níveis séricos de retinol) e funcional (XN gestacional)

Recém-nascidos: indicador bioquímico (níveis de retinol do cordão umbilical)

- **Avaliação bioquímica**

Materna e dos recém-nascidos: Para determinação dos níveis séricos de retinol maternos, será obtida amostra de 5ml de sangue obtida por punção venosa das puérperas, imediatamente após o parto, sendo necessário ainda o jejum. E o sangue do cordão deverá ser coletado imediatamente após a expulsão da placenta, através de ordenha.

Placentas: Inicialmente as placentas devem ser obtidas imediatamente após o parto e deve-se proceder a pesagem das mesmas com o cordão umbilical e membrana amniocoriônica. Antes da retirada das amostras da placenta, separar a membrana e o cordão umbilical. Deverão ser obtidas, seis amostras de aproximadamente 5g cada, sendo duas amostras da porção materna lateral, uma da porção materna central além de, duas da porção fetal lateral e uma da porção fetal central. As amostras laterais de ambas as porções, materna e fetal, devem ser obtidas em locais aleatórios e em lados opostos.

As amostras placentárias deverão ser exaustivamente lavadas com NaCl 0,15M gelado, até a retirada total de sangue e identificadas conforme a porção e o número do protocolo da puérpera. A seguir devem ser armazenadas em potes individuais esterilizados e cobertos com papel alumínio, e estocadas em freezer da Maternidade até o transporte para o laboratório de Bioquímica do INJC/UFRJ, para análise dos níveis de vitamina A no Laboratório de Bioquímica desta instituição.

Para a dosagem de retinol e carotenóides será obtido um homogeneizado da placenta com mistura de 1:1 glicerol e água destilada e a seguir amostra será tratada conforme recomendações de Flores, Ramalho & Ribeiro (1988).

As amostras de sangue obtidas, serão centrifugadas (3000 rpm) para separação e extração do soro e imediatamente congeladas à uma temperatura igual ou menor a -20°C, no laboratório da maternidade.

As amostras de sangue e de placenta devem ser manipuladas com o mínimo de luz possível.

A determinação dos níveis séricos de retinol e placentários será realizada através de dosagem espectrofotométrica com base no método Bessey *et al.* (1946) modificado (Araújo & Flores, 1978), segundo procedimento padronizado. Os valores séricos de retinol obtidos serão

comparados com os pontos de corte propostos pela OMS e no presente estudo, valores de retinol sérico $<1,05\mu\text{mol/l}$ serão considerados casos de deficiência de vitamina A.

- **Avaliação funcional**

XN gestacional: através de entrevista padronizada, segundo as recomendações da OMS (WHO, 1996).

1. Dificuldade para enxergar durante o dia?
2. Dificuldade para enxergar com pouca luz ou à noite?
3. Tem cegueira noturna?

Serão considerados *casos* de XN quando a entrevistada relatar dificuldade para enxergar ao anoitecer ou à noite, mas quando não for relatada dificuldade para enxergar durante o dia.

Avaliação do estado nutricional antropométrico materno e dos recém-nascidos

Para avaliação do estado antropométrico materno, serão coletadas dos prontuários as medidas: peso pré-gestacional referido ou o peso materno medido na primeira consulta da assistência pré-natal (para os casos nos quais o peso pré-gravídico não for conhecido pela gestante e a primeira consulta tenha sido antes da 14ª semana gestacional), peso pré-parto (caso seja possível *pesar* a parturiente) ou o peso registrado na última consulta da assistência pré-natal e estatura.

Para avaliação do estado nutricional antropométrico pré-gestacional será empregado o Índice de massa corporal (IMC) e os pontos de corte adotados serão os recomendados pelo Institute of Medicine (IOM, 1990; 1992), classificando as integrantes do estudo classificadas em: Baixo peso (IMC $<19,8$); Normal (IMC $\geq 19,8$ e $\leq 26,0$); Sobrepeso (IMC $> 26,0$ e $\leq 29,0$) e Obesidade (IMC $>29,0$).

O ganho de peso gestacional total será calculado pela subtração do peso pré-parto/peso da última consulta do pré-natal do peso pré-gestacional. A adequação do ganho de peso será avaliada segundo as recomendações do IOM (1990; 1992), conforme as faixas de ganho de peso recomendado segundo as categorias de IMC pré-gestacional. E para os casos nos quais o peso pré-gestacional for desconhecido, a adequação do ganho de peso gestacional, será avaliada segundo a recomendação do Ministério da Saúde (MS, 2000).

Para avaliação do estado nutricional antropométrico dos recém-nascidos serão coletadas as informações dos prontuários: peso, comprimento, idade gestacional ao nascimento, corrigida segundo o método proposto por Capurro (1978), para avaliação da correlação peso/idade gestacional ao nascer segundo o gráfico de Lubchenco, Hansman & Dressler (1963),

classificando os recém-nascidos em pequeno para idade gestacional (PIG), adequado para idade gestacional (GIG). Deverão ser registradas também as intercorrências clínicas ao nascer, descritas no parecer médico.

Informações complementares

Deverão ser colhidas informações como dados pessoais, história obstétrica, informações obstétricas da gestação atual (idade gestacional ao parto, segundo a data da última menstruação – DUM - ou ultra-sonografia obstétrica) e dados sócio-demográficos, através de consulta aos prontuários e entrevista com as puérperas.

As informações acerca das intercorrências maternas desenvolvidas durante o período gestacional serão coletadas através de consultas aos pareceres médicos dos prontuários ou cartão da gestante ou através de interpretação dos exames laboratoriais realizados durante a gestação, seguindo as recomendações do MS (1995; 2000).

Reteste do instrumento

Reteste: será empregado em no mínimo 20 puérperas, visando avaliar a reprodutibilidade/confiabilidade das informações obtidas. Um entrevistador deverá entrevistar uma puérpera, que tenha sido entrevistada por outro entrevistador previamente e, consultar seu prontuário, ainda no período de internação pós-parto, na instituição. O registro das informações deve ser feito em outro instrumento destinado ao reteste e o entrevistador não deve consultar o instrumento já preenchido anteriormente com as informações referentes à puérpera que está sendo retestada. Não é necessária a coleta de sangue nessa etapa.

INFORMAÇÕES ESPECÍFICAS PARA O PREENCHIMENTO DO INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

GRUPO DE PESQUISA EM VITAMINA A

PESQUISA: “CARÊNCIA DE VITAMINA A NO BINÔMIO MÃE-FILHO E DISTRIBUIÇÃO INTRAPLACENTÁRIA DE RETINOL”	
Entrevistador: _____	
Registro no GPVA: _____	Matrícula: _____
Data: ____ / ____ / ____	

Matrícula: corresponde ao número do prontuário da ME/UFRJ

1. Dados de identificação e socioeconômicos:

Nome: _____	
Endereço: _____	
Bairro: _____	Cidade/Estado: _____
Telefone: _____	Data de Nascimento: ____ / ____ / ____
Idade: ____ anos Estado Civil: (1) casada (2) solteira (3) separada/divorciada (4) viúva (5) outros ____	
Nível de Instrução: (1) Analfabeta (2) 1º grau incompleto	
(3) 1º grau completo (4) 2º grau incompleto	
(5) 2º grau completo (6) superior	
Cor: (1) Branca (2) Negra (3) Mulata ou parda (4) Outras _____	
Renda Familiar total: _____	
Nº de pessoas da família: _____	Renda familiar <i>Per capita</i> : _____
Ocupação: _____	
Condições de saneamento da moradia:	
(1) Adequada (2) Inadequada _____	

Endereço: Registrar o endereço completo cuidadosamente, inclusive o CEP. Confirmar o endereço com a entrevistada e explicar que este é necessário, para o envio do resultado do exame laboratorial.

Idade: considerar a idade da mãe segundo a data de nascimento e a data da entrevista.

Nível de instrução: considerar até a última série que a entrevistada frequentou da educação formal.

Cor: classificar conforme observação.

Renda familiar total: registrar (em salários mínimos ou reais), o rendimento de todos os mesmos da família, incluindo as aposentadorias. Registrar os valores de cada membro da família, para posterior totalização. *Não fazer contas na hora da entrevista.* Caso a entrevistada não saiba informar, consultar o parecer da assistente social ou psicóloga no prontuário.

Renda familiar *per capita*: deve ser calculada posteriormente. Dividir a renda familiar total pelo número de pessoas da família.

Ocupação: Refere-se a ocupação da entrevistada, remunerada ou não.

Nº de pessoas da família: Considerar o número de pessoas que moram na mesma casa ou que fazem as refeições juntas. Não considerar o recém-nascido, pois, essa informação refere-se ao período gestacional.

Condições de saneamento: considerar condições de saneamento da moradia *adequadas*, quando na moradia houver disponibilidade dos serviços – água tratada e encanada, rede de esgoto e coleta de lixo regular. As condições serão *inadequadas* quando um dos serviços estiver ausente na moradia, nesse caso registrar qual o serviço ausente. Essa informação pode ser obtida através da consulta ao parecer da assistente social ou caso não esteja disponível, perguntar à entrevistada.

2. História obstétrica

Gesta: _____	Para: _____	Abortos: _____
Data do último parto: _____		
Data do término da última gestação (informar se foi ABORTO): _____		
Idade gestacional no parto (segundo DUM): _____		
Assistência pré-natal:	(1) Sim. Nº de consultas: _____	(2) Não
Assistência Nutricional:	(1) Sim. Nº de consultas: _____	(2) Não
Peso placentário: _____ g	Tipo de parto: (1) normal (2) cesárea (3) outros _____	
Uso de cigarro:	(1) Sim. Quantidade / Freqüência _____	(2) Não
Uso de bebidas alcoólicas:	(1) Sim. Tipo / Quantidade / Freqüência _____	(2) Não
Uso de drogas:	(1) Sim. Tipo / Quantidade / Freqüência _____	(2) Não
Intercorrências na gestação, registrar: hipertensão – $PA \geq 140 \times 90$ mmHg /IG, anemia (hemoglobina < 11 g / dl / IG), alteração na curva glicêmica (valores plasmáticos 105, 190, 165, 145mg / dl sendo 2 valores superiores): _____		

Gesta: Número de gestações, independente do resultado (parto / aborto).

Para: Número de partos, não considerando o parto atual.

Abortos: Número de abortos.

Data do término da última gestação: deve ser preenchido em caso de aborto na gestação imediatamente anterior ao parto atual. Informar a idade gestacional na data do aborto.

Idade gestacional no parto: considerar a idade gestacional segundo a data da última menstruação (DUM), calcular cuidadosamente somando-se os dias entre a idade gestacional da última consulta do pré-natal e a data do parto atual.

Intercorrências na gestação: Consultar o parecer médico e registrar as intercorrências (anemia, hipertensão gestacional, pré-eclâmpsia, eclâmpsia, proteinúria, diabetes gestacional, infecção urinária, ruptura prematura de membrana, doenças sexualmente adquiridas durante a gestação, etc) e a idade gestacional correspondente. Registrar também os valores alterados, ex. hemoglobina – 10,2 g/dl / 21 semanas. Atenção: Não deverão ser incluídas no estudo mulheres com patologias com início prévio à gestação (diabetes tipo 1, 2), hepatopatia, cardiopatia, nefropatia, dentre outras.

3. Avaliação funcional : ENTREVISTAR A PUÉRPERA CN (1)Sim (0) Não

Dificuldade para enxergar durante o dia?	
(1) Sim. Quando começou/terminou? _____	(2) Não
Dificuldade para enxergar com pouca luz ou à noite?	
(1) Sim. Quando começou/terminou? _____	(2) Não
Tem cegueira noturna? (1) Sim. Quando começou/terminou? _____	(2) Não
Alteração alimentar na gestação?	
(1) Sim. Qual?(exclusão ou inclusão de alimentos) _____	
(2) Não	
Uso de suplementos vitamínico-minerais (atenção para Materna, Arovit, Rarical, Esclerovitan, Supradyn, Naetene, Natalins, Unicap, Nativit) ou complemento alimentar (Sustagem, Sustain, Sustacal, Mom) durante a gestação?	
(1) Sim. Qual / Dose, Quantidade? _____	(2) Não

Dificuldade para enxergar durante o dia? investigar os casos diagnosticados de miopia, hipermetropia ou outros. Atenção para os casos de uso de óculos ou lentes de contato, questionar a capacidade de visão com o problema ocular corrigido. Tentar diagnosticar o período de ocorrência desse sintoma ocular (início e término), em semanas ou meses.

Dificuldade para enxergar com pouca luz à noite? explicar à entrevistada que trata-se de dificuldade de visão com pouca luminosidade, como exemplo dificuldade para caminhar no escuro e reconhecer objetos e pessoas. Outro recurso que pode ser adotado, é utilizar como referência à capacidade de visão noturna antes e durante o período gestacional, indagando se houve alteração nesse padrão individual. Investigar quando começou a apresentar os sintomas e, investigar também se ocorreu na última gestação.

Tem cegueira noturna? Investigar se a entrevistada acha que tem a XN, definida como dificuldade de visão à noite ou com pouca luminosidade. Atenção para a estimativa de tempo de ocorrência. O termo cegueira noturna, deve ser explicado para a entrevistada que trata-se de uma alteração do padrão habitual de visão com pouca luz ou à noite na gestação atual, e da dificuldade de adaptação da visão na mudança de um ambiente claro para um ambiente escuro,

adotando-se como referência o padrão de visão noturna do período pré-gestacional. Podem ser dados exemplos como entrada num cinema, túnel, quarto escuro, etc. Registrar qualquer termo que a entrevistada cite para designar a XN. A entrevista deve ser realizada usando-se linguagem simples e de fácil compreensão.

Serão considerados casos de XN quando a entrevistada relatar dificuldade para enxergar ao anoitecer ou à noite, mas quando não for relatada dificuldade para enxergar durante o dia, ou seja, quando a resposta da pergunta 1 foi Não e ao menos uma das respostas das perguntas 2 ou 3 for Sim.

Alteração alimentar na gestação: investigar a inclusão de alimentos não habituais ou exclusão de algum alimento ou o aumento ou diminuição da quantidade total de alimentos habituais.

Uso de suplementos vitamínico-minerais ou complemento alimentar: as entrevistadas que referirem o uso dos suplementos durante a gestação: *Materna, Arovit, Rarical, Esclerovitan, Supradyn, Naetene, Natalins, Unicap, Nativit*, não deverão ser incluídas no estudo. No parecer médico estão registrados os medicamentos prescritos. Quando for informado o uso de algum suplemento vitamínico-mineral, confirmar junto à entrevistada a dose, frequência e o período de tempo de uso. Em caso de dúvidas, registrar o nome do medicamento, se possível perguntar à algum médico da equipe presente na Unidade, ou registrar no questionário. Investigar o uso de complemento alimentar durante a gestação e registrar tipo, quantidade e período de tempo de uso.

4. Avaliação antropométrica materna

Peso pré-gestacional: _____ kg	IMC: _____	Classificação: (1)Bp (2) N (3) Sp (4) Ob
Estatura: _____ m	Peso pré-parto: _____ kg	Ganho ponderal total: _____ kg
Peso na 1ª consulta do Pré-natal (até 14ª s): _____ kg MS: (0) adequado (1) inadequado		
Peso na última consulta do Pré-natal: _____ kg IOM: (1) abaixo (2) adequado (3) acima		

Peso pré-gestacional: ou peso habitual. Caso não esteja registrado no prontuário ou cartão da gestante, consultar o peso na primeira consulta do pré-natal. Se esse foi avaliado até a 14ª semana de gestação, registrá-lo juntamente com a IG correspondente.

IMC: o cálculo deverá ser realizado posteriormente.

Classificação: deverá ser realizada posteriormente

Peso pré-parto: caso seja possível, pesar a gestante antes do parto (antes da instalação da hidratação) ou registrar o peso da última consulta do pré-natal e informar a data da consulta.

Ganho ponderal total: cálculo posterior a partir do peso pré-gestacional e peso pré-parto/peso na última consulta.

Peso na 1ª consulta do pré-natal e Peso na última consulta do pré-natal: consultar na folha de evolução do pré-natal registrado pela enfermagem.

IOM e MS: a avaliação da adequação do ganho de peso gestacional segundo os comitês Institute of Medicine e Ministério da Saúde será realizada posteriormente.

5. Condições dos recém-nascidos

Peso: _____ g	Comprimento: _____ cm	PC: _____ cm	Sexo: (1) F (2) M
Capuro: _____ semanas	Apgar 1'e 5': ____/____	Correlação P/IG: (1) PIG (2) AIG (3) GIG	
Intercorrências clínicas: _____			

PC: perímetro cefálico

Intercorrências clínicas: registrar qualquer intercorrência observada no período neonatal.

As informações dos recém-nascidos devem ser obtidas através da consulta aos prontuários no berçário ou nas enfermarias em alojamento conjunto.

6. Avaliação Bioquímica

Medidas	Retinol($\mu\text{mol/l}$)	Carotenóides($\mu\text{g}/\%$)
Sangue materno		
Sangue do cordão umbilical		
Placenta ML1		
Placenta ML2		
Placenta MC		
Placenta FL1		
Placenta FL2		
Placenta FC		

Esse item será preenchido após análise no Laboratório de Bioquímica do INJC/UFRJ

Procedimentos para dosagem de vitamina A em amostras sanguíneas e placentárias

Procedimentos Iniciais

- ◆ Numerar as amostras com os números 1, 2, 3,... e guardar a relação com os números protocolares.
- ◆ Pesar as placentas após o descongelamento (após aproximadamente 30 minutos).
- ◆ Todo material a ser utilizado deve estar seco, após a lavagem com água, detergente e água destilada.
- ◆ Todo procedimento deverá ocorrer em ambiente com pouca luminosidade. Usar a lâmpada de cor amarela.

Pesagem das placentas

- ◆ Tarar a balança com o vidro de relógio.
- ◆ Anotar o peso das amostras com os respectivos números novos.

Após a pesagem

- ◆ Picotar a amostra placentária com a tesoura cirúrgica.
- ◆ Colocar 5x o peso da placenta da mistura de glicerol + água destilada (20 - 25 ml) na proveta.

Homogeneização

- ◆ Tubo do homogenato + metade do volume da mistura de glicerol, homogeneizar 10x, retirar o sobrenadante e completar com o restante.
- ◆ Homogeneizar até a completa dissolução da amostra.
- ◆ Os tubos de homogeneização devem ser lavados com água e água destilada, entre o processamento de cada amostra.

Centrifugação

- ◆ Transferir 10ml para o tubo de centrífuga e centrifugar por 3 a 5 minutos, a 3000 rpm
- ◆ Transferir 1ml do sobrenadante com a pipeta para o tubo com KOH alcoólico (1ml). Agitar todos os tubos, inclusive o branco (branco = 1 ml de etanol + KOH aquoso) por 30 segundos em Vortex (Nessa etapa inicia-se o processamento do branco)

Banho-maria: 55 à 60° por 20 minutos. Esfriar em temperatura ambiente e adicionar 2ml de QX para cada tubo.

Agitação de todos os tubos em vortex, por 1 minuto.

Centrifugação

- ◆ Por 10 minutos na centrífuga a 3000 rpm. Transferir o líquido sobrenadante para o tubo menor com tampa de rosca numerada com pipeta (trocar a ponta entre a manipulação do branco e das amostras), fazer 2 tubos X e X' para todas as amostras inclusive branco. Em caso de contaminação da amostra, centrifugá-la novamente por 3 minutos e recomeçar a separação das frações.

Espectrofotômetro

- ◆ Formatar: Comprimento de onda fixo, *method* (Completo), quit. Ligar as lâmpadas.

Dosagem

- ◆ Transferir inicialmente o branco para a cubeta (clicar Blank).
- ◆ Selecionar o branco de menor absorbância (atenção para os valores negativos).
- ◆ Ler as amostras e proceder a alteração da numeração de cada amostra, conforme for realizada cada leitura. As amostras X' não precisam ser numeradas.
- ◆ Levar para a caixa de irradiação para destruição do retinol por 1 hora e fazer novamente a leitura.
- ◆ Após a irradiação, manter as amostras no banho-maria até a leitura.

Reagentes

- ◆ KOH alcoólico: 1ml para cada tubo.
Adicionar: 1ml de KOH 1N + 10ml de álcool anidro
- ◆ KOH aquoso: 1ml para cada tubo.
Adicionar: 1ml de KOH 11N + 10ml de água destilada
- ◆ QX: 2ml para cada tubo e branco.
Adicionar: 1ml de querosene e 1ml de xilol
- ◆ Branco: 1 ml de álcool anidro + 1ml de KOH aquoso para cada tubo .
- ◆ Glicerol: 1 ml de glicerol e 1 ml de água destilada.
5 ml para cada g de placenta (\pm 25 ml por placenta de 5g)

Resumo das etapas de dosagem de retinol das amostras placentárias

<i>ETAPAS</i>	<i>OBSERVAÇÕES</i>
Descongelamento das amostras	Por aproximadamente 30 minutos em temperatura ambiente
Pesagem das amostras – obter em torno de 5g	-
Corte das amostras em porções menores	-
Homogeneização	Adicionar 20 - 25 ml de glicerol dividido em 2 etapas (10 - 15ml). Agitar 10x cada tubo. Retirar a fração mais líquida, superior.
Centrifugação	10 ml – por 10' a 3000 rpm. Tubo fechado
Transferir 1 ml e adicionar 1 ml de KOH alcoólico. Preparo do branco.	-
Agitação em vortex	30'' (amostras e Branco)
Banho-maria	60° por 20'
Esfriar em temperatura ambiente e adicionar 2 ml de QX	
Agitação vortex	1' – todos os tubos
Centrifugação e transferência da fração superior com conta-gotas pequeno, fazer X e X'	10' a 3000 rpm. Em caso de mistura das frações, centrifugar novamente por 3'. Tubo aberto.
1ª Leitura	Branco inicialmente e amostras
Irradiar	1 hora
2ª Leitura	Os tubos em espera manter no banho-maria. Usar como padrão o branco de menor absorbância.

Resumo das etapas de dosagem de retinol das amostras sangüneas

<i>ETAPAS</i>	<i>AMOSTRA (1ML)</i>	<i>BRANCO</i>
Adicionar etanol	-	1 ml
Adicionar KOH aquoso	-	1 ml
Adicionar KOH alcoólico	1 ml	-
Agitar em vortex / 30''	Sim	Sim
Banho-maria 60° /20'	Sim	Sim
Adicionar QX	2ml	2ml
Agitar em vortex / 1'	Sim	Sim
Centrifugar / 10'a 3000 rpm	Sim	Sim
Extrair fase superior	Sim	Sim
Ler em espectrofotômetro (To)	Sim	Sim
Irradiar / 1 hora e leitura em T1	Sim	Sim

Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, C.R.C. & FLORES, H., 1978. Improved spectrophotometric vitamin A assay. *Clinical Chemistry*, 24(2): 386
- BESSEY, O.A. ; LOWRY, O.H., BROCK, M.J.; LÓPEZ, J.A., 1946. The determination of vitamin A and carotene in small quantities of blood serum. *Journal of Biological Chemistry*, 166(1): 177-188.
- CAPURRO, H.; HONICHEZKY, S.; FONSECA, D. & CALDEYRO-BARCIA, 1978. A simplified Method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *Journal of Pediatrics*, 93: 120-122.
- FLORES, H.; RAMALHO, R.A.G. & RIBEIRO, A.R.L.P., 1988. Intrahepatic distribution of Vitamin A in humans and rats. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 58: 276-280.
- INSTITUTE OF MEDICINE (IOM), 1990. *Nutrition during Pregnancy*. Washington: National Academy Press.
- INSTITUTE OF MEDICINE (IOM), 1992. *Nutrition during Pregnancy and Lactation. An implementation Guide*. Washington: National Academy Press.
- LUBCHENCO, L. O.; HANSMAN, C. & DRESSLER, M., 1963. Intrauterine growth as estimated from liveborn birth-weight data at 24 to 42 weeks of gestation. *Pediatrics*, 45: 793-800.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS), 2000. *Assistência Pré-natal. Manual Técnico*. Brasília: MS.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS), 1995. *Gestação de Alto Risco*. Brasília: MS.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 1996. *Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes* . Geneva: WHO.