

CARMEN SILVIA MARTIMBIANCO DE FIGUEIREDO

**SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO EM MÃES
DE BEBÊS PREMATUROS**

CAMPO GRANDE – MS

2006

CARMEN SILVIA MARTIMBIANCO DE FIGUEIREDO

**SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO EM MÃES DE
BEBÊS PREMATUROS**

**Dissertação apresentada ao
Programa Multiinstitucional de Pós-
Graduação em Ciências da saúde -
Convênio Rede Centro-Oeste:
UnB/UFG/UFMS, como parte dos
requisitos necessários para a obtenção
do título de Doutor em Ciências da
Saúde.**

**ORIENTADOR: PROF. DR. DURVAL BATISTA PALHARES
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. PETR MELNIKOV**

**CAMPO GRANDE – MS
2006**

Figueiredo, Carmen Silvia Martimbianco

Suplementação de zinco em mães de bebês prematuros, 2006.

113p.

Dissertação (Doutorado) - Programa Multiinstitucional de Pós-Graduação em Ciências da saúde - Convênio Rede Centro-Oeste: Universidade de Brasília, Universidade Federal de Goiás e Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Supplementation of zinc in mothers of preterm infants.

1. Recém-nascido prematuro
2. Medidas Antropométricas
3. Leite materno
4. Zinco
5. Cobre

CARMEN SILVIA MARTIMBIANCO DE FIGUEIREDO

**SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO EM MÃES DE
BEBÊS PREMATUROS**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Durval Batista Palhares - Presidente

Prof. Dr. Petr Melnikov

Prof. Dr. Salim Moysés Jorge

Prof^a. Dra Ângela Sara Jamusse de Brito

Prof^a. Dra. Maria Lucia Ivo

Campo Grande – MS

19 de dezembro de 2006

Dedicatória

A o meu querido esposo Jocildo, amigo de todas as horas. Vivenciou comigo todas as etapas, somando alegrias e amenizando as angústias. A ele dedico o sentido do meu viver.

A os meus pais, Carlos e Maria, exemplos de força, dedicação, integridade. A eles dedico não só este trabalho, mas todas as melhores ações que puder realizar, pois certamente sempre serão frutos do amor que deles recebo.

À minha querida mana Lúcia, exemplo de mulher e mãe, pelo carinho, incentivo e solidariedade.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, professor e incentivador, Prof. Dr. Durval Batista Palhares, que me abriu as portas à pesquisa, por sua confiança, respeito e paciência.

Ao Prof. Dr. Petr Melnikov, pessoa ímpar na maneira de ser, por sua gentileza, sabedoria, paciência e dedicação aos iniciantes nos caminhos da pesquisa.

Ao Prof. Albert Schiaveto de Souza, pelo cuidadoso trabalho na análise estatística.

À colega de curso Aby Jaine da Cruz Montes Moura, pela gentileza em me ceder a técnica de digestão do leite, abrindo caminho para que esse trabalho pudesse ser realizado.

À amiga Elizabete Kamyia, nutricionista responsável pelo Banco de Leite do HU, pelo incentivo e apoio na execução desse trabalho.

À Sra Ramona, funcionária do Banco de Leite do HU, por sua valiosa ajuda na coleta das amostras.

Às funcionárias do Banco de Leite do HU: Adelurdes, Ana Maria, Dircinei, Edna, Geza, Luzinete, Maria Raimunda, Nazira, Neide, Oracilvia, Pedrosa, Sirley, Sueli, e o bombeiro Rocha,

pela ajuda inestimável e fundamental para a realização desse projeto.

Às funcionárias da unidade de terapia intensiva e unidade de cuidados intermediários do HU, pela ajuda no seguimento dos bebês e suas mães.

À direção clínica da AAMI, e as médicas Maria Cláudia Rosseti Mourão (chefe da UTINEO) e Jussara Batista (responsável pelo Banco de Leite Humano), pelo acolhimento para a execução desse projeto.

Às enfermeiras da UTI NEO-AMMI, Tais e Rejane, pela ajuda com as coletas das amostras naquela instituição.

Aos amigos Rommel Brum Ravasco e Isabela Furtado, pela valiosa ajuda no processamento e análise das amostras.

Ao Marcos Antônio Contel Secco, pela formatação da tese.

Às secretárias do curso de Pós-Graduação, pelas informações, disponibilidade e apoio técnico.

À secretária do DPD, Antonina Miranda, por sua ajuda com os pedidos de materiais.

Aos professores e médicos do Departamento de Pediatria-UFMS, em especial professora Maria Cristina Sanches, Dra

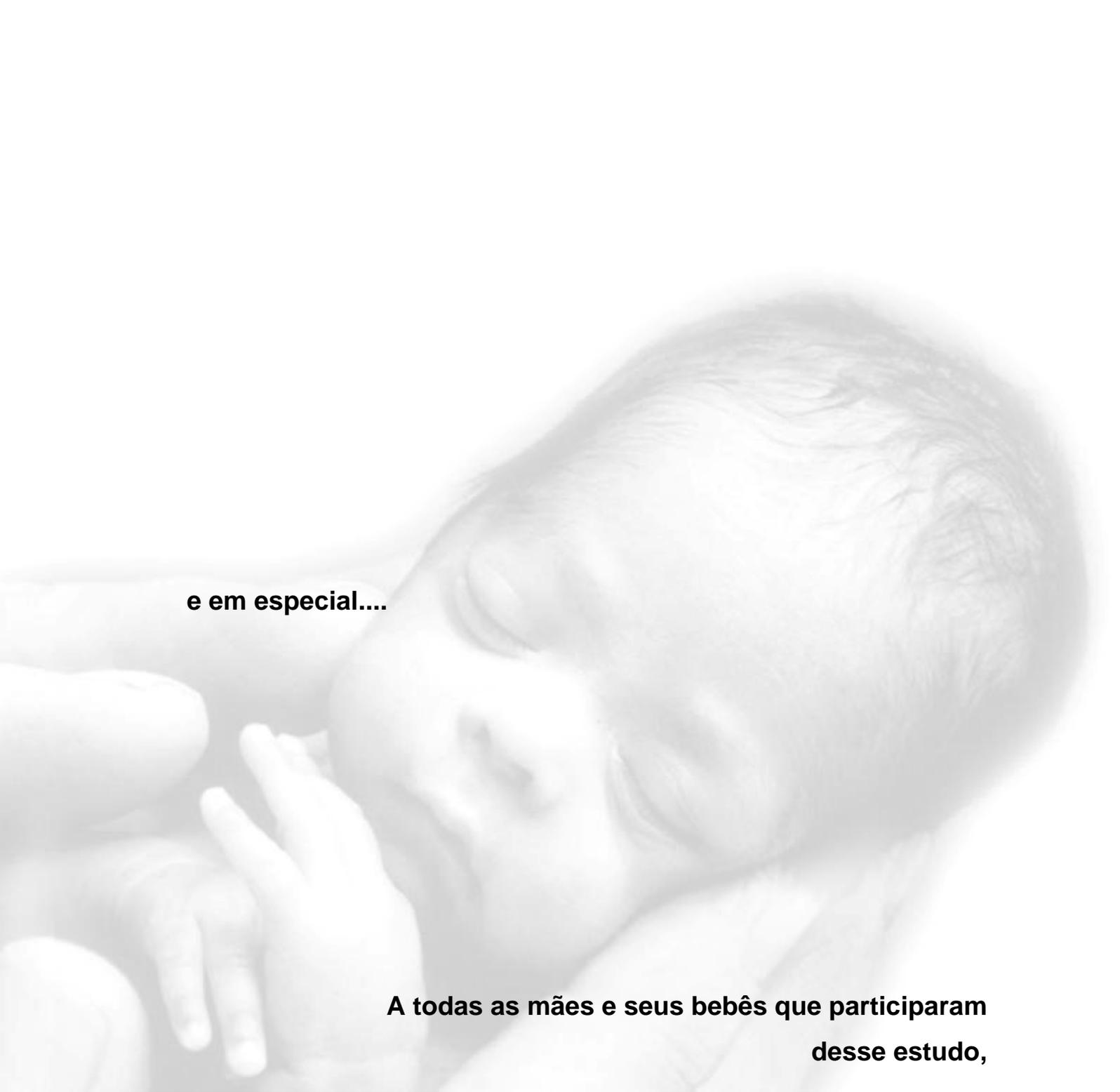
Yvone Maia Brustoloni e a médica Débora M. Thomáz, pelo incentivo e apoio, valiosos na horas difíceis.

Ao Prof. Dr. Tatsuya Sakuma, que gentilmente me cedeu de seu laboratório, o ácido nítrico necessário para a conclusão da digestão das amostras de leite.

À Dra. Tânia Maria Beltramini Trevilato (USP-Ribeirão Preto), que me recebeu com toda atenção e me deu as primeiras noções de como trabalhar com oligoelementos, por sua valiosa ajuda na técnica de lavagem e preparo dos materiais

Ao Prof. Dr. Ricardo Dutra Aydos, Coordenador Regional do Programa Multiintitucional de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, cujo espírito batalhador possibilitou a realização desse doutorado.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização desse trabalho.



e em especial....

**A todas as mães e seus bebês que participaram
desse estudo,**

Meus Sinceros Agradecimentos!

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
I. INTRODUÇÃO.....	15
II. JUSTIFICATIVA.....	39
III. OBJETIVOS.....	40
IV. POPULAÇÃO E MÉTODOS.....	41
IV. 1 – POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	41
IV. 1. 1 – CRITÉRIO DE SELEÇÃO DE MÃES.....	41
IV. 1. 2 – SELEÇÃO DE RECÉM-NASCIDOS.....	42
IV. 1. 3 – IDADE GESTACIONAL.....	42
IV. 1. 4 – INÍCIO DA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO.....	42
IV. 1. 5 – SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO.....	43
IV. 1. 6 – SEGUIMENTO.....	43
IV. 2 – MÉTODOS.....	44
IV. 2 . 1 - COLETA DAS AMOSTRAS DE LEITE.....	44
IV. 2 . 2 - PREPARO DOS FRASCOS PARA COLETA DE LEITE.....	45
IV. 2 . 3 – COLETA DE SANGUE.....	49
IV. 3 – AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA DOS BEBÊS.....	49
IV. 4 – DETERMINAÇÃO QUÍMICA.....	52
IV. 4. 1 – ANÁLISE DE ZINCO E COBRE.....	52
IV. 4. 2 – DIGESTÃO DO LEITE PARA ANÁLISE.....	54
IV. 5 - MÉTODO ESTATÍSTICO.....	56
V. RESULTADOS	58
VI. DISCUSSÃO.....	70
VI. CONCLUSÕES.....	86
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
IX . ANEXOS.....	102

LISTA DE TABELAS

TABELA - 1: Estimativa do acúmulo diário de zinco no feto humano no período de vida intra-uterina.....	19
TABELA - 2: Valores de zinco no leite humano segundo a fase de lactação (dias após o parto)	31
TABELA – 3: Características da população de mães e bebês do grupo suplementado e não suplementado com zinco, e valor de p pelo teste t-student.	59
TABELA – 4: Valores da média e desvio padrão de zinco (mg%) no leite de mães suplementadas e não suplementadas com zinco, em avaliação quinzenal, até a idade pós-conceptual dos bebês corrigida para 40 semanas.	60
TABELA – 5: Valores de cobre no leite de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.	62
TABELA – 6: Peso dos bebês filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.	64
TABELA – 7: Ganho de peso dos bebês prematuros, filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.	65
TABELA – 8: Valores para as medidas de comprimento dos bebês prematuros, filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.	65
TABELA – 9: Medidas do perímetro cefálico dos bebês filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.....	66
TABELA – 10: Valores de zinco no sangue de bebês prematuros, filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.	68
TABELA – 11: Quantidade de zinco (mg/kg/dia) oferecida, calculada pelo volume médio de ingesta diária de leite materno (ml/kg/dia), para os bebês das mães do estudo, suplementadas ou não com zinco.	80

LISTA DE FIGURAS

FIGURA – 1: Acúmulo de zinco (mg) corporal e hepático, no feto em desenvolvimento, no decorrer das semanas de gestação.....	20
FIGURA – 2: Quantidade de zinco (μg) no fêmur direito de bebês, analisada após o óbito ocorrido em duas épocas diferentes: 8 a 14 dias de vida e igual ou superior a 28 dias de vida.....	20
FIGURA – 3: Níveis de zinco no leite humano em função do tempo de lactação. A linha em negrito corresponde ao valor da média, e as mais claras aos desvios padrão.	30
FIGURA – 4: Níveis de cobre no leite humano ao longo do tempo de lactação. A linha em negrito corresponde ao valor médio e as mais claras ao desvio padrão.	34
FIGURA – 5: Material para a coleta do leite materno sendo colocado na rinsagem em ácido nítrico 30%, com o cuidado de mantê-lo submerso na solução.	46
FIGURA – 6: emoção do material da rinsagem em ácido nítrico, após 24 horas de espera, com escoamento de toda a solução antes do enxágue.....	46
FIGURA – 7: Enxágue do material rinsado em ácido nítrico, em água ultrapura, para remoção de resíduos de ácido nítrico.	47
FIGURA – 8: Processo de secagem do material lavado, em estufa a 40°C.	47
FIGURA – 9: Armazenagem do material em tambor plástico com tampa, até o momento de sua utilização na coleta.	48
FIGURA – 10: Frascos para coleta de leite armazenados em tambor de plástico, tampado, após sua lavagem, rinsagem em ácido nítrico e secagem em estufa.	48
FIGURA – 11: Coleta de sangue do bebê prematuro	50
FIGURA – 12: Pesagem do bebê prematuro em balança digital.....	51
FIGURA – 13: Mensuração do comprimento do bebê prematuro em bandeja antropométrica.....	51
FIGURA – 14: Mensuração do perímetro cefálico do bebê prematuro.....	52
FIGURA – 15: Aparelho modelo Analyst 100, marca Perkin Elmer, utilizado para a análise da concentração de Zinco e Cobre.	53

FIGURA – 16: Tubos de ensaio contendo o leite materno digerido com ácido nítrico, apresentando a camada de gordura na superfície do líquido...	54
FIGURA – 17: Amostras de leite materno digerido, armazenado em frasco plástico, para dosagem de zinco e cobre, estocado em temperatura ambiente.	55
FIGURA – 18: Gráfico ilustrando a concentração de zinco no leite materno entre lactantes sem e com suplementação de zinco, em relação ao momento de mensuração. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média.....	61
FIGURA – 19: Gráfico ilustrando a concentração de cobre no leite materno entre lactantes suplementadas e não suplementadas com zinco, em relação ao momento de mensuração. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média. * Diferença significativa em relação ao grupo de mães suplementadas e não suplementadas com zinco (teste t-student, $p < 0,05$).	63
FIGURA – 20: Gráfico ilustrando os resultados referentes ao peso, comprimento e perímetro cefálico em prematuros filhos de lactantes sem e com suplementação de zinco. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média.	67
FIGURA – 21: Gráfico ilustrando a concentração de zinco no sangue em filhos de lactantes sem e com suplementação de zinco, em relação ao momento de mensuração. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média.....	69

RESUMO

RESUMO

Objetivos: Neste estudo avaliamos as concentrações de zinco e cobre no leite materno de mães de bebês prematuros, que foram suplementadas com uma dose diária de 50 mg de zinco, comparando-as com mães não suplementadas, e o efeito dessa suplementação nas medidas antropométricas e nos níveis de zinco no sangue dos bebês. **Métodos:** Trinta e oito mães e seus bebês prematuros participaram do estudo. Dezoito mães receberam a suplementação e vinte não receberam. As avaliações de zinco, cobre e medidas antropométricas foram realizadas a cada 15 dias, desde o momento que os bebês atingiram dieta plena com leite materno, até a idade pós-natal corrigida para 40 semanas. Determinações de cobre no leite materno e de zinco no leite materno e sangue dos bebês foram realizadas por espectrofotometria de absorção atômica. **Resultados:** Não houve diferença estatisticamente significativa para os valores de zinco no leite materno dos dois grupos. Durante o seguimento, as concentrações de zinco e cobre do leite reduziram para os dois grupos. Foi encontrada uma maior diminuição de cobre no leite de mães suplementadas com zinco, com nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As concentrações de zinco no sangue dos bebês reduziram durante o seguimento, para os dois grupos. Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada para as medidas antropométricas e níveis sanguíneos de zinco dos bebês. **Conclusões:** Concluímos que a suplementação materna de zinco não tem efeito positivo na secreção desse mineral no leite; entretanto, esta suplementação afetou os níveis de cobre.

Palavras-chave: Recém nascido prematuro; Medidas antropométricas; Leite materno; Zinco; Cobre.

ABSTRACT

ABSTRACT

Objectives: This study evaluated the concentrations of zinc and copper in preterm milk from mothers receiving zinc-supplemented diets and compared these concentrations with those of mothers not given zinc supplementation. The effects of maternal supplementation on the blood zinc levels and anthropometric measurements of their infants were also evaluated. **Methods:** Thirty-eight mothers and their premature infants participated in the study. Eighteen mothers received a daily supplementation of 50 mg of zinc, whereas the other 20 did not. Evaluations of zinc and copper in milk, and zinc in blood and anthropometric measurements of infants were performed every 15 days, from the age each infant was able to live on a full diet of maternal milk until reaching 40 weeks of corrected postnatal age. Zinc and copper were determined by atomic absorption spectrophotometry. **Results:** No statistically significant difference was found between the groups for zinc values in milk. In the follow-up period, concentrations of zinc and copper in milk decreased in both groups. A greater decrease in copper levels was found in mothers receiving zinc supplementation, at a level of significance of 5% ($p < 0.05$). Zinc in blood of infants decreased in both groups. No statistically significant differences were observed in the anthropometric measurements or blood zinc levels of infants. **Conclusions:** The findings showed that zinc supplementation to preterm mothers had no positive effect on zinc secretion in milk. On the other hand, the levels of copper in milk were affected by zinc supplementation.

Keywords: Preterm newborns; Anthropometric measurements; Preterm milk; Zinc; Copper.

I. INTRODUÇÃO

I. INTRODUÇÃO

A nutrição é fundamental para o desenvolvimento do bebê durante a gestação e no período neonatal. Bebês que nascem prematuros cada vez mais sobrevivem graças aos cuidados ministrados nas unidades de terapia intensiva neonatais e unidades de cuidados intermediários, e com o desenvolvimento dos conhecimentos e da tecnologia. Esses bebês têm seu desenvolvimento natural interrompido. A nutrição antes garantida pela placenta, torna-se diretamente dependente do aporte nutricional oferecido, seja por nutrição parenteral ou pela dieta.

Após uma fase inicial de estabilização, bebês prematuros enfrentam o desafio de adquirir os nutrientes dos quais necessitam para crescer e desenvolver adequadamente por sua via digestiva, ainda imatura e pouco preparada para exercer essa função.

Bebês prematuros têm particularidades metabólicas e uma alta demanda nutricional. Estão em fase acelerada de crescimento e desenvolvimento. Apresentam também várias doenças e complicações no curso de seu período pós-natal o que, associado ao fato de ser prematuro, torna a sua nutrição um desafio e uma grande responsabilidade.

A nutrição neonatal é um determinante importante de qualidade de vida futura desses bebês. Estudos epidemiológicos mostram que a desnutrição, ocorrida no período fetal ou na vida pós-natal é importante determinante de doenças no adulto, tais como cardiopatias, diabetes e hipertensão, portanto aumentando a preocupação em garantir nutrição que promova adequado crescimento físico e desenvolvimento neuropsicomotor.

Neste foco adquirem importância determinados minerais, particularmente para prematuros e prematuros extremos, pois apresentam funções diferenciadas no organismo, em particular do ponto de vista nutricional.

O zinco, o ferro, o cobre, o cálcio, o manganês, o magnésio e o selênio são importantes constituintes da nutrição de prematuros. A deficiência desses, na maioria das vezes, não apresenta manifestação clínica evidente.

O cálcio e o fósforo são os minerais dos que mais se tem conhecimento por apresentarem distúrbios metabólicos agudos no período neonatal imediato e tardio: Hipocalcemia Neonatal Precoce e Doença Óssea Metabólica do Prematuro.

O nascimento prematuro coloca o bebê em risco de apresentar deficiência de várias substâncias que são incorporadas e acumuladas no organismo no último trimestre de gestação, interferindo de forma consistente no crescimento e desenvolvimento do bebê. A absorção desses nutrientes a partir da dieta torna-se a principal fonte de aquisição, sendo muito importante a biodisponibilidade dos mesmos.

O leite humano é o melhor alimento para o bebê prematuro por suas características únicas no que se refere ao seu perfil imunológico, à especificidade de proteínas, ser de fácil digestão e por conter aminoácidos e ácidos graxos essenciais (SCHANLER, 1995).

A concentração de nutrientes e minerais do leite humano, em alguns casos, pode não ser a exigida para manter a oferta que ocorreria intra-útero, mas a biodisponibilidade em parte compensa a menor concentração (OMS, 1998).

Dietas derivadas de leite de vaca, aditivos de leite humano, fórmulas próprias para prematuros e mesmo outras fontes alimentares podem conter uma oferta maior de determinados nutrientes em prejuízo de outros (OMS, 1998).

É importante lembrar que na dieta artificial a biodisponibilidade de nutrientes poderá ser menor, dificultando assim sua absorção e aumentando a perda fecal (LÖNNERDAL, 1991; SANDSTROM et al., 1983). Acrescenta-se a

esse conhecimento o fato de que o intestino ainda imaturo em suas funções absorptivas, resulta em balanço negativo de vários nutrientes, como o zinco, com perda dos mesmos pelo trato gastrintestinal.

É interessante então, que possamos garantir a oferta de nutrientes importantes para o crescimento do bebê prematuro de forma a oferecer quantidades comparáveis àquelas que receberia intra-útero, e na forma melhor absorvível. O alimento oferecido não deve ser motivo de dificuldades metabólicas e digestivas a um organismo ainda imaturo e em velocidade acelerada de crescimento e desenvolvimento. Torna-se atraente a idéia de utilizarmos o leite materno como a melhor fonte desses nutrientes.

Os elementos traço são nutritivamente essenciais ao ser humano. Estão presentes nos vários tecidos corporais e representam pequena percentagem do peso corpóreo, aproximadamente 0,01% do peso corporal total (NIELSEN, 1991).

Apesar da pequena quantidade, representam importante papel em numerosas vias metabólicas. Tem importante função no crescimento e desenvolvimento de síntese celular, hormonal e protéica, além de também atuar em todos os sistemas metabólicos. Dessa forma, tanto a falta como seu excesso levam a repercussões no organismo.

São também interdependentes em seu metabolismo e equilíbrio: a gravidade da falta de um elemento pode ser agravada pelo excesso de outro, sendo importante a manutenção do equilíbrio entre os mesmos (LOMBECK, 1980).

Elementos traço como o zinco, o cobre, o selênio e o manganês fazem parte do grupo de nutrientes importantes para os bebês prematuros. Na vida intra-uterina são disponibilizados para o feto em ofertas correspondentes à sua grande necessidade, em função do rápido crescimento que acontece no último trimestre de gestação (SLOTKIN et al., 1995).

O zinco é um nutriente essencial para o desenvolvimento do bebê, em especial o prematuro. É importante no crescimento, na diferenciação celular, e no metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídeos. Tem papel também na estrutura hormonal e na transcrição genética. É constituinte de múltiplas enzimas, cerca de duzentas, entre as quais a fosfatase alcalina. Está presente no feto desde os estágios precoces da vida intra-uterina, sendo que a sua concentração relativa se mantém constante durante toda a vida fetal.

Esse elemento traço participa da síntese e degradação dos hidratos de carbono, lipídeos, proteínas e ácidos nucléicos, e muitas outras reações vitais (MILNER, 1990; OMS, 1998).

O mecanismo de transporte de zinco através da placenta é desconhecido, sendo sua concentração 50% mais elevada no sangue do cordão que no soro materno. A concentração sérica materna diminui progressivamente durante a gestação, em cerca de 40%. A maior parte do zinco disponível para o feto circula no soro materno combinado a proteína, formando um complexo que não atravessa a barreira placentária, necessitando que haja uma quebra dessa ligação e que o mineral se combine a aminoácidos numa forma mais solúvel para então atravessar a barreira e ser novamente recomplexado a ligantes séricos do feto. (WIDDOWSON et al., 1974; SHAW, 1979; NICHOLS & NICHOLS, 1983; WHO, 1989; FUNG et al., 1997).

As concentrações de zinco nos tecidos do recém nascido são muito próximas às do adulto. A maior parte desse zinco é acumulado no último trimestre de gestação.

O acúmulo intra-uterino de zinco nesse trimestre varia de aproximadamente 0,25 mg a 0,67 mg ou 0,85 mg/dia, como mostrado em estudos e artigos de revisão (WIDDOWSON et al., 1988; SHAW, 1979). A TABELA 1 mostra a estimativa de acúmulo diário de zinco no feto, durante diferentes períodos da gestação, considerando os percentis 10, 50 e 90 (SHAW, 1979).

TABELA - 1: Estimativa do acúmulo diário de zinco no feto humano no período de vida intra-uterina.

SEMANAS DE GESTAÇÃO	ACÚMULO DIÁRIO DE ZINCO (mg/dia)		
	P10	P50	P90
24	0,143	0,209	0,266
26	0,185	0,238	0,287
28	0,232	0,287	0,327
30	0,266	0,348	0,388
32	0,348	0,427	0,481
34	0,432	0,548	0,611
36	0,553	0,675

*FONTE: Adaptado de: SHAW, 1979.

A reserva fetal ocorre no fígado, onde cerca de um quarto do zinco corporal se encontra ligado à metalotioneína, proteína captadora desse elemento traço e de outros elementos bivalentes. Widdowson & Spray (1951), demonstraram o total de zinco no feto em desenvolvimento, e o acúmulo progressivo desse mineral no fígado no decorrer da gestação, como demonstra a FIGURA 1.

Outro local de importante depósito é o tecido ósseo, que acumula cerca de 40% de todo o zinco corporal. Essa reserva pode proteger o recém-nascido contra a deficiência deste mineral nas primeiras semanas de vida, quando a ingestão é limitada (AGGET, 1994), e o metabolismo ósseo é intenso, proporcionando zinco aos demais tecidos em crescimento (SHAW, 1979). A FIGURA 2 mostra a concentração de zinco no tecido ósseo de bebês prematuros, analisada após o óbito em dois diferentes períodos: muito jovens, com 8 a 14 dias de vida, e com mais de 28 dias de vida. Pode ser observado que a quantidade de zinco é maior no tecido ósseo de bebês prematuros na fase inicial da vida, e que essa diminui com o decorrer das semanas após o parto.

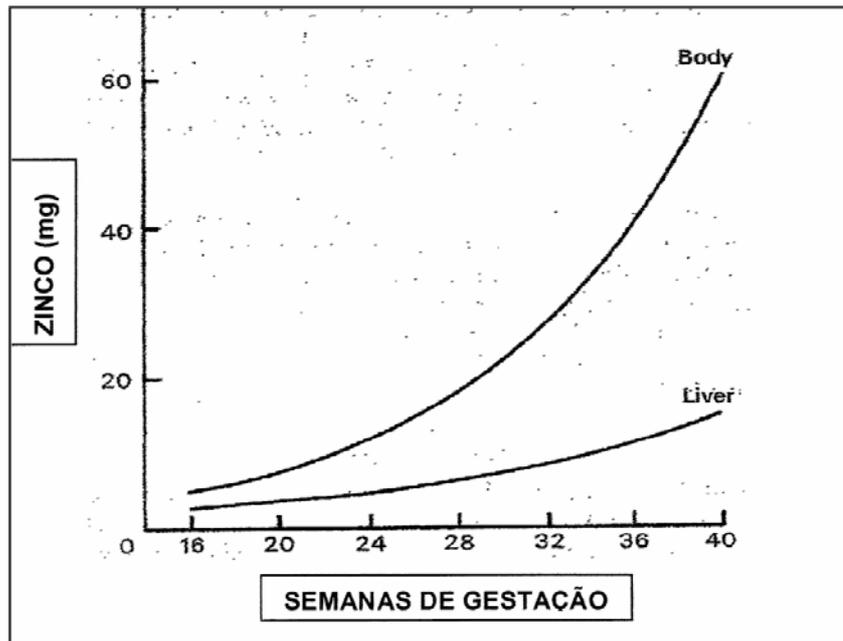


FIGURA – 1: Acúmulo de zinco (mg) corporal e hepático, no feto em desenvolvimento, no decorrer das semanas de gestação.

FONTE: Modificado de: *WIDDOWSON & DAUNCEY, 1974.*

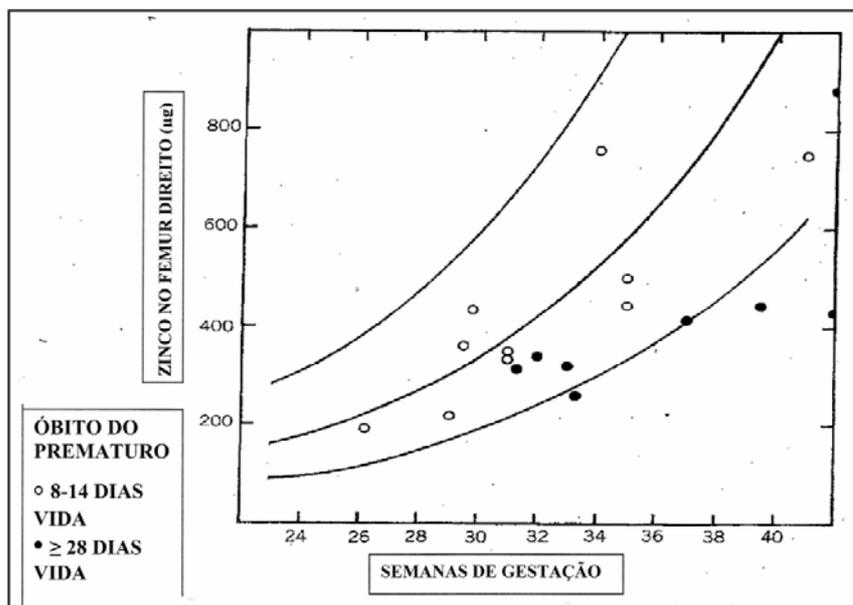


FIGURA – 2: Quantidade de zinco (μg) no fêmur direito de bebês, analisada após o óbito ocorrido em duas épocas diferentes: 8 a 14 dias de vida e igual ou superior a 28 dias de vida.

FONTE: Modificado de: *SHAW, 1979.*

Bebês prematuros nascem antes de adquirir suas reservas, estando mais suscetíveis a desenvolver deficiência clínica ou marginal de zinco.

Nos animais a importância do zinco no crescimento foi relatada por Todd et al. em 1934. A deficiência nos animais causa falha no crescimento, perda de pêlos, hiperqueratinização da epiderme e atrofia testicular. Em populações de humanos que utilizam cereais integrais como principal fonte alimentar é maior a chance de deficiência, sendo as primeiras descrições relatadas no Egito e países do oriente médio (PRASAD et al., 1963).

A deficiência de zinco pode acontecer secundária a distúrbios como a cirrose alcoólica, a desnutrição protéico-calórica, na insuficiência pancreática, na diarreia crônica, em queimaduras extensas e na administração excessiva de ferro (PRASAD et al., 1963; OBLADEN et al., 1998). Bebês prematuros nascem antes de adquirir suas reservas, estando mais suscetíveis a desenvolver deficiência clínica ou marginal de zinco.

Observa-se na manifestação dessa deficiência: retardo de crescimento, atraso na maturação sexual e esquelética, dermatite orificial (oral, anal, perineal), diarreia, alopecia, diminuição do apetite, mudanças comportamentais, falha no crescimento longitudinal máximo, pele seca e áspera, e defeitos no sistema imunológico levando a uma maior suscetibilidade a infecções.

Os efeitos da deficiência marginal de zinco são menos evidentes. Uma reduzida taxa de crescimento e uma maior suscetibilidade às infecções são com frequência as manifestações mais comumente observadas. São também relatados: alteração no paladar e cicatrização lenta de feridas (ZLOTKIN et al., 1995; AGGET, 1998), mudanças neurossensoriais, diminuição da circunferência muscular do braço e transpiração excessiva. Há evidências de alterações na gestação, complicações de parto, parto prematuro, aborto e retardo do crescimento intra-uterino (FUNG et al., 1997; MARET & SANDSTEAD, 2006).

O metabolismo do hormônio de crescimento é afetado pela deficiência de zinco. As mudanças nas concentrações de zinco no sangue, urina e outros tecidos, influenciam as concentrações do hormônio de crescimento. O zinco pode ser um fator modulador na liberação e ação do hormônio de crescimento, atuando como um fator limitante nesse mecanismo de regulação. Deficiência leve de zinco está associada a deficiência do hormônio de crescimento, que se corrige quando se faz a suplementação desse elemento traço. (NISHI et al., 1996).

Sinais clínicos de deficiência de zinco em bebês alimentados ao seio materno são relatados com mais freqüência que para outros elementos traço, apesar dos índices bioquímicos que refletem o estado de zinco de bebês amamentados ao seio serem melhores que o daqueles alimentados com fórmulas. As maiorias dos relatos de deficiência de zinco se referem aos recém-nascidos prematuros. Os principais sintomas referidos são rash cutâneo e dermatites, sendo também freqüentes a falha no crescimento e irritabilidade (STEVENS et al., 1998). Em um caso de deficiência em recém-nascido prematuro de baixo peso foram observados também edema e hipoproteinemia (KUMAR et al., 1984).

Recém-nascidos de termo podem apresentar deficiência deste elemento traço. Em uma série de bebês à termo e normais, com dermatite de fraldas e queda de cabelos, observou-se baixa concentração de zinco nos cabelos. Desse grupo, 10% dos bebês tinham como regime alimentar o aleitamento materno exclusivo e, em todos, os sintomas relatados desapareceram com a suplementação de zinco (COLLIP et al., 1985). As concentrações de zinco no leite de suas mães eram baixas e apontadas como sendo a causa dos achados nos bebês (COLLIP et al., 1985).

Os estudos sobre a concentração de zinco no leite de mães de bebês com deficiência desse mineral mostram valores reduzidos. Na comparação do conteúdo de zinco no leite de mães de bebês prematuros sintomáticos, com o leite de mães de bebês saudáveis, observamos uma

concentração reduzida no primeiro grupo, sendo alguns abaixo do limite inferior para a respectiva idade de lactação.

Concentrações baixas de zinco no leite materno, considerando o tempo de lactação, foram observadas em uma mesma mulher durante duas gestações e períodos de lactação consecutivos em quatro estudos (ZIMMERMAN et al., 1982; KURAMOTO et al., 1986; MURPHY et al., 1985; GLOVER et al., 1988). Todos os bebês desses estudos apresentaram quadro clínico variável de deficiência de zinco, na sua maioria com manifestações predominantemente cutâneas.

A suplementação materna com zinco em dois dos quatro estudos evitou o aparecimento da deficiência nos bebês concebidos na gestação seguinte, muito embora não tenha afetado a concentração no leite das mães suplementadas.

Zimmerman et al. (1982) observaram aumento na excreção urinária materna de zinco, enquanto Kuramoto et al. (1986) relataram aumento nas concentrações plasmáticas maternas nas mães tratadas com reposição diária de zinco.

No estudo conduzido por Murphy et al. (1985) foi observado aumento de zinco no leite das mães na segunda lactação, mesmo sem a terapêutica. Glover et al. (1988), observaram que os bebês alimentados com leite materno com baixas concentrações de zinco desenvolveram quadro de deficiência desse elemento traço.

Deficiência de zinco também é relatada em bebês alimentados com leite de suas mães com valores normais para o estágio de lactação no estudo de Walravens et al. (1980), sendo que em dois bebês a falha de crescimento ocorreu coincidentemente com uma nova gestação materna.

A concentração de zinco no leite de mães de bebês que desenvolvem deficiência merece especial consideração, pois os relatos de

literatura mostram a relação entre as baixas concentrações para o período de lactação e o aparecimento de sintomas no bebê. Entretanto, também são relatados casos de bebês com deficiência sintomática em que níveis de zinco no leite materno estão acima dos valores médios de referência, sugerindo a possibilidade de causas decorrentes dos bebês.

O papel do zinco endógeno, ou seja, das reservas de zinco do bebê, é mais complexo de ser analisado. Estudo experimental conduzido em ratos alimentados sem zinco revela que a depleção do zinco endógeno ocorre rapidamente, levando a alteração do apetite em cinco dias (DOREA E OLSON, 1986).

A principal reserva de zinco encontra-se no fígado. A metalotioneína-zinco hepática pode ser a principal reserva de zinco no feto. Em modelo animal, a privação de zinco na gestação reduz a concentração desse composto e acelera sua degradação.

Estudo de autópsia conduzido por Dorea e Araújo (1987) mostrou que, ao nascimento, cerca de um quarto do total de zinco do organismo se encontra no fígado. Esses pesquisadores observaram uma diferença de cerca de 30% da concentração de zinco no fígado, quando analisado desde o nascimento até 16 semanas de vida. Esses achados enfatizam a importância do papel das reservas corporais durante o desenvolvimento precoce após o nascimento.

Em bebês, as concentrações de metalotioneína-zinco hepática e de zinco diminuem progressivamente, atingindo valores estáveis por volta dos quatro meses de vida (AGGETT, 1980).

A grande variação nas reservas de zinco observadas no fígado, bem como a variação na idade de aparecimento dos sintomas de deficiência, são fortes indicativos da participação das fontes endógenas como moduladores do metabolismo do zinco.

Além do consumo com o crescimento, a quantidade de zinco no organismo diminui através das vias de perda, as quais determinam a regulação desse elemento traço.

A eliminação do zinco do organismo ocorre nas fezes, com enterócitos descamados da mucosa intestinal na renovação celular, sendo esse o principal determinante da regulação do zinco no organismo (OMS, 1998; ABRANS et al., 1996). Os rins também excretam zinco: aproximadamente 0,7 mg/dia são eliminados por indivíduos adultos normais. Essa perda é bem menor em bebês prematuros, diminuindo com a progressão da idade pós-natal (WASTNEY et al., 1999). Outra via de perda se faz pela transpiração (OMS, 1998).

Os eventos metabólicos pós-natais, relacionados à idade pós-conceitual, modulam as perdas do zinco endógeno. O momento em que ocorre a mudança de estado negativo para positivo no balanço do zinco parece suceder em 36 semanas de idade pós-conceitual (HIGASHI et al., 1988; DOREA, 2000; SHAW, 1979).

No leite humano o zinco é universalmente distribuído, ligado às proteínas em sua maior porção. Cerca de 70% do total de zinco encontra-se na fração do soro, mas também está associado aos glóbulos de gordura na sua porção externa, ligado às proteínas de superfície, num percentual que varia de 10% a 40% do total (FRANSSON et al., 1982; FRANSSON 1983; FRANSSON 1984).

Na fração protéica, o zinco é encontrado ligado a complexos de proteínas de alto peso molecular, proteínas de baixo peso molecular, e substâncias ultrafiltráveis como o citrato, o picolinato e aminoácidos (LONNERDAL et al, 1980; EVANS et al, 1980; MARTIN et al.,1984).

A principal proteína ligante do zinco no leite humano é a albumina, estando apenas em pequena proporção ligado à caseína, em aproximadamente 3,3% a 14% do seu conteúdo total (LONNERDAL et al.,

1982), muito embora tenha sido encontrados valores de até 30% do conteúdo total (DONANGELO et al.,1989).

Estudo dos carreadores de zinco mostra que a ligação desse elemento com seus ligantes ocorre na seguinte ordem decrescente em importância: metalotioneína, albumina, citrato, caseína, lactoferrina e lisozima (MICHALKE et al., 1991).

No leite de vaca e fórmulas derivadas do mesmo, o zinco está ligado à caseína em sua maior porção. Essa diferença faz com que o zinco do leite humano seja melhor e mais facilmente absorvido, por ser maior a biodisponibilidade.

As substâncias de baixo peso molecular às quais o zinco está ligado no leite humano, o citrato e o picolinato, também melhoram a absorção desse elemento traço, favorecendo assim sua biodisponibilidade (BAKER & AMMERMAN, 1995).

O coeficiente de absorção de zinco do leite humano pré-termo é de 60%, enquanto que o do leite humano pré-termo aditivado é de 36%, o de fórmula para pré-termo de 14% , e fórmula para termo de 24% (OMS, 1998).

A absorção do zinco da dieta pode ser dificultada por grandes quantidades de cálcio dietético, normalmente suplementado ao bebê pré-termo. Fitato, fibras e outros elementos minerais podem inibir a absorção do zinco. Grandes ofertas de ferro, em especial quando o prematuro está em terapia de reposição de eritropoetina, podem dificultar a absorção do zinco alimentar (OMS, 1998).

O desenvolvimento da glândula mamária tem início na fase pré-puberal, seguindo-se na fase puberal e se completando na gestação e lactação quando atinge sua plenitude. Completada a mamogênese, fase em que há o crescimento mamário com proliferação epitelial e formação de sistema de condutos e ácinos, a glândula volta a apresentar evolução na puberdade.

Nessa fase, por ação hormonal, ocorre alongamento dos canais mamários e desenvolvimento do estroma.

Com os ciclos menstruais e produção regular de progesterona pelo corpo lúteo, ocorre a segunda fase do desenvolvimento mamário com a diferenciação glandular. Cerca de um a dois anos após a menarca a mama atinge sua estrutura madura, porém ainda não está pronta para a atividade secretora.

É durante a gestação que ocorrem as maiores modificações da glândula mamária. No primeiro trimestre multiplicam-se os túbulos terminais que irão dar origem à formação acinar. No segundo trimestre os túbulos formados agrupam-se para dar origem a grandes lóbulos. A luz dos túbulos terminais se amplia formando então estruturas acinares, que são revestidas por epitélio cubóide. No último trimestre ocorre a dilatação acinar progressiva, e grande proliferação epitelial. Assim desenvolvido já no último trimestre, ocorre sensibilização do tecido glandular pela prolactina, levando a expansão das células produtoras de leite e distensão alveolar por deposição de colostro.

Após o parto segue-se estímulo mais intenso da prolactina sobre o tecido glandular, levando a estimulação da produção de maior volume de colostro, que progressivamente muda a composição, evoluindo para o leite maduro.

Durante o período de lactação, a nutriz tem uma perda aumentada de zinco em comparação aos demais períodos de sua vida, decorrente da secreção desse elemento traço no leite por ela produzido. O catabolismo do tecido uterino, em involução após o parto, é uma fonte inicial de zinco eliminado no leite. A nutriz apresenta também uma absorção aumentada de zinco e redução da excreção por urina e fezes. Há também uma maior oferta de zinco em decorrência do aumento da reabsorção do zinco ósseo. Todos esses mecanismos contribuem para a disponibilização de zinco, e sua incorporação ao leite materno pela glândula mamária (MOSER-VEILLON, 1995).

À luz dos poucos conhecimentos sobre a homeostase do zinco na nutriz, e a sua real necessidade aumentada no período de lactação, alguns autores questionam se a terapia com zinco suplementar poderia aumentar o zinco ofertado à glândula mamária, melhorando assim os níveis de zinco no leite (KREBS et al., 1985; KARRA E KIRKSEY,1988; KARRA et al., 1989; SALMENPERA, 1994).

Guimarães (2004) estudou a oferta suplementar de zinco para mães de bebês de termo na dose diária de 50 mg. Concluiu que não houve aumento significativo desse mineral no leite, ao comparar com o grupo não suplementado. Observou diminuição gradual do zinco no leite, independente da suplementação, porém menos acentuada no grupo suplementado.

Estudos relatando a suplementação de zinco para a nutriz com o objetivo de aumentar a concentração no leite são contraditórios. Dorea (2000) em sua revisão sobre o tema, mostra uma série de trabalhos em que a suplementação materna não aumentou o teor de zinco no leite em grupos de mães cujos bebês, em aleitamento materno exclusivo, apresentavam deficiência desse elemento traço.

Em contrapartida, Heinen et al. (1995), Parker et al. (1982) e Naqvi et al. (1987), observaram aumento importante na concentração de zinco no leite de mães suplementadas por tempo e com doses variadas.

É grande a variação na composição do leite humano, sendo então difícil definir um padrão. A variabilidade dos constituintes ocorre de um período a outro de lactação, de um dia a outro, em diferentes horários do mesmo dia e até no decurso de uma única mamada.

O zinco apresenta variabilidade em seu conteúdo no leite humano. A ingestão materna de zinco, a interação de nutrientes, o tabagismo, o etilismo, o uso de contraceptivos orais, a paridade, o parto prematuro, a gestação em adolescente, a subnutrição, a infecção e o diabetes são descritos como condições que possam afetar o conteúdo de zinco no leite humano por alguns

pesquisadores (CUMMING et al., 1983; KIRSTEN et al., 1985; SILVESTRE et al., 2000; RODRIGUEZ RODRIGUEZ et al., 2000), mas não consistentemente confirmado por outros (FEELEY et al., 1983; LONNERDAL et al., 1996).

Em seu estudo sobre a quantidade de zinco, ferro e cobre no colostro de mães adolescentes eutróficas e desnutridas, Gouvêa (1998) observou que nenhuma das variáveis consideradas (idade materna, condição social e estado nutricional) interferiu de forma negativa nos resultados obtidos, e que as mães adolescentes em condições desfavoráveis tinham uma tendência a maiores valores destes minerais no colostro.

Dorea (2000), em seu artigo de revisão sobre o zinco no leite humano, aponta o estágio da lactação como a única variável associada a importantes alterações na concentração desse elemento traço. Nos primeiros sete dias de lactação ocorre redução de cerca de 50% dos valores iniciais (LONNERDAL et al., 1996), redução essa que continua no decorrer do tempo de lactação, atingindo aproximadamente 25% dos valores iniciais por volta dos 45 dias pós-parto. No sexto mês de lactação a quantidade de zinco cai a cerca de 60% do valor médio observado com 15 dias de lactação (DOREA, 2000).

Casey et al. (1989), em estudo que analisa a secreção de elementos traço, também observaram o mesmo padrão de diminuição progressiva do conteúdo de zinco no leite humano ao longo da lactação, partindo de um valor médio no colostro de $71,9 \pm 18,3 \mu\text{mol/L}$, para um valor médio de $44,3 \pm 10,7 \mu\text{mol/L}$ com um mês de lactação, e $7,64 \pm 4,59 \mu\text{mol/L}$ ao final de um ano de lactação.

A variação da concentração de zinco no decorrer do tempo de lactação, à partir do nascimento, até mais de um ano, avaliado por Casey e colaboradores, é melhor visualizada no gráfico da FIGURA 3. Podemos observar uma diminuição progressiva, mais intensa nos primeiros sete dias de lactação, com redução também notável no período de 10 a 50 dias após o parto.

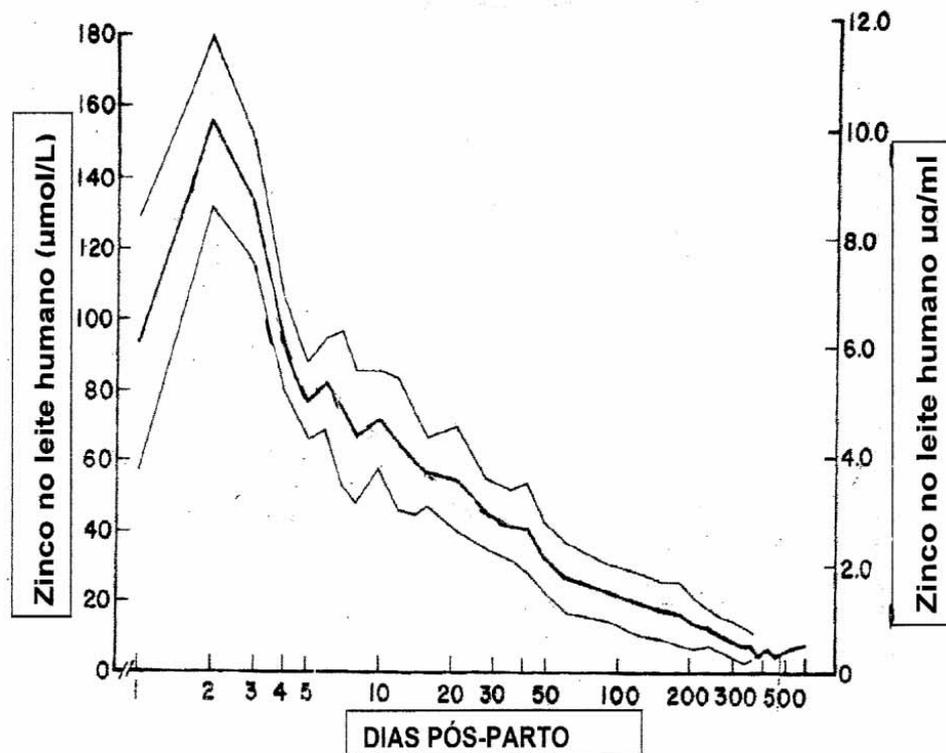


FIGURA – 3: Níveis de zinco no leite humano em função do tempo de lactação. A linha em negro corresponde ao valor da média, e as mais claras aos desvios padrão.

*FONTE: Modificado de: CASEY *et al.*, 1989.

O padrão de diminuição da concentração de zinco é semelhante ao de redução do teor calórico e protéico do leite, e inverso ao aumento gradativo do volume de produção. O mesmo não é observado para os demais minerais de interesse (cálcio, fósforo, magnésio, ferro), cuja secreção se mantém relativamente constante e não parece ser influenciada pelo aumento do volume de produção pela glândula mamária, observando-se uma ligeira redução apenas por volta do terceiro mês. Em amostras de leite obtidas do quinto ao sexto mês de lactação, observa-se uma maior diminuição na concentração de zinco, quando comparado com todo o período da lactação. É nesse período em que se inicia a introdução da alimentação complementar para o bebê, sendo então importante fonte de zinco dietético (GARZA *et al.*, 1983).

As proteínas ligantes do zinco, entretanto, não mostram o mesmo padrão de diminuição, como ocorre com o conteúdo total de zinco. As informações sobre as mudanças nos ligantes de zinco são muito limitadas e contraditórias. Não temos até o momento uma explicação clara para os mecanismos envolvidos no padrão de diminuição do conteúdo de zinco no leite humano (DOREA, 2000).

Na TABELA 2 podemos observar os valores mediano, mínimo e máximo de zinco no leite humano referidos nos trabalhos de literatura, de acordo com a fase de lactação (DOREA, 2000).

TABELA - 2: Valores de zinco no leite humano segundo a fase de lactação (dias após o parto)

TEMPO PÓS-PARTO (dias)	VALORES DE ZINCO ($\mu\text{g/ml}$)		
	MÍNIMO	MEDIANA	MÁXIMO
01	1,32	8,12	12,68
07	1,13	4,56	9,6
15	0,6	3,36	5,7
30	0,32	2,65	5,61
60	0,16	1,66	5,36
75	0,32	1,66	2,24
90	0,7	1,35	2,7
180	0,02	0,93	0,93

*FONTE: Modificado de: DOREA, 2000.

Em conclusão aos dados de literatura podemos afirmar que o zinco apresenta queda gradual e progressiva ao longo do tempo de lactação, sendo mais intensa nos primeiros sete a quinze dias pós-parto. Decorridas as primeiras semanas, a redução na concentração de zinco prossegue nas próximas seis semanas de forma mais suave, atingindo valores relativamente

estáveis por volta de três meses, ocorrendo ligeira diminuição novamente do quinto ao sexto mês pós-natal (DOREA, 2000).

O aumento de volume de produção de leite materno, e a maior ingesta pelo bebê, não compensam a diminuição do aporte de zinco decorrente da diminuição da secreção desse mineral no leite.

Em crianças a deficiência de zinco só perde em importância para a deficiência do ferro. Há evidências de que bebês prematuros podem desenvolver deficiência marginal de zinco. Aos seis meses de idade o conteúdo de zinco nos cabelos de bebês prematuros era menor que naqueles de termo, sendo que apenas 7% desses apresentaram níveis abaixo do marginal para a idade, enquanto que o mesmo foi observado em 37% para os prematuros. Aos três meses de vida, o comprimento pode ser mais bem previsto pelo comprimento ao nascer e pela ingesta dietética de zinco, o que mostra o importante papel desse oligoelemento na mineralização óssea e no crescimento do prematuro (FRIEL et al., 1984).

Durante as primeiras semanas de vida não é descrita deficiência de zinco em bebês prematuros. Nesse período o leite de suas mães apresenta uma maior concentração deste elemento que o leite maduro, aproximadamente 11,9 mg/L (NÓBREGA et al., 1986). Porém, ao longo do seguimento, a mesma pode se manifestar em bebês alimentados exclusivamente ao seio. Isto ocorre porque a concentração de zinco no leite humano sofre declínio com o decorrer da lactação, ainda numa fase que o bebê prematuro tem necessidades aumentadas (LÖNNERDAL et al., 1981).

Bebês que estão em fase de crescimento acelerado apresentam diminuição dos níveis plasmáticos de zinco nessa fase (ALTIGANI et al., 1989) e nos bebês que nasceram prematuros pode ser recomendada a suplementação de zinco (FRIEL et al., 1998).

A baixa ingestão materna de zinco na gestação pode levar a menor estoque de zinco no bebê que nasce prematuro, e a uma maior predisposição a infecções (OBLADEN et al., 1998). A deficiência de zinco na gestação está associada a uma maior morbidade, sangramento e risco de vida para o feto (PRASAD, 1996; SESHADRI, 2001).

A concentração de zinco no leite humano apresenta variação no decorrer da lactação, como já referido anteriormente. No início a concentração varia em torno de 4 – 5 mg/L, reduzindo os níveis de 1 a 2 mg/L no transcorrer dos meses, atingindo níveis de 0,5 mg/L por volta dos seis meses de lactação (CASEY et al., 1989; VUORI & KUITUNEN, 1979; LONNERDAL et al., 1981).

O mecanismo regulador da absorção e excreção de zinco pela glândula mamária não é conhecido. Estudos recentes documentam a presença de receptores para α -2 macroglobulina nas células do epitélio mamário, proteína essa que é uma das principais ligantes do zinco no soro, sugerindo que esse possa ser o principal mecanismo regulador (TRINDADE, 2005).

Deficiência sintomática de zinco em bebês prematuros tem sido relatada por alguns pesquisadores. Obladen et al. (1998) observaram deficiência clínica de zinco em um bebê prematuro de 24 semanas de gestação, com peso de nascimento de 640g, e sendo alimentado exclusivamente com leite de sua própria mãe. Estes pesquisadores analisaram os valores de zinco no soro de 26 prematuros antes da alta hospitalar, por volta de 72 dias de vida, e encontraram níveis abaixo do valor normal (7,6 a 15 μ mol/L) em 14 desses bebês, que foram submetidos a diferentes dietas (leite materno, leite materno com fortificante ou fórmula especial para prematuro).

Heinen et al. (1995) apresentam o caso de um bebê prematuro, de 27 semanas de idade gestacional e peso de 1320 g ao nascimento, com alopecia e lesões erosivas de pele, irritabilidade e déficit de crescimento. A avaliação de seu nível sérico de zinco com 20 semanas de vida era de 2,3 μ mol/L, muito abaixo do esperado. A alimentação do bebê consistia

exclusivamente de leite de sua própria mãe. Após suplementação oral de zinco o bebê apresentou regressão dos sintomas e crescimento adequado.

Outros autores têm relatado essa deficiência em bebês prematuros (AGGET et al. 1980; BILINSKI et al, 1987; BUEHINING & GOLTZ, 1993; CONNORS et al., 1983; KOOSHO et al., 1992, KURAMOTO et al., 1991; MURPHY et al., 1985; NIEMI et al., 1989; PARKER et al., 1982; WEYMOUTH et al., 1982; ZIMMERMANN et al., 1982; NAQVI et al., 1987; HEINEN et al., 1995; KUMAR et al., 1984; OBLANDEN et al., 1998; STEVENS & LUBITZ, 1998).

Em estudo mais recente feito por Wauben et al. (1999), foi avaliado o estado do zinco nos bebês prematuros até 12 meses de idade pós-natal corrigida, recebendo leite humano e leite humano com aditivo. Os autores concluíram que não há necessidade de suplementação deste elemento traço para os prematuros, pois o crescimento dos que receberam leite suplementado não diferiu daqueles que receberam apenas o leite materno, sugerindo assim que o leite materno fornece zinco suficiente para o crescimento do prematuro.

Estudos com radioisótopos sugerem que o prematuro tem capacidade de captar zinco exógeno, aumentando sua absorção e diminuindo a sua excreção, porém não se conhece o comportamento dos prematuros extremos (TRINDADE, 2005).

A retenção intra-uterina diária de zinco para o bebê prematuro é de 250 µg/kg/dia segundo a ACADEMIA AMERICANA DE PEDIATRIA (1985). Segundo a ESPGAN (1987) não existe recomendação para a suplementação de zinco para prematuros alimentados ao seio, porém a necessidade em aleitamento artificial é de 0,55 mg de zinco para cada 100 Kcal (0,72 mg/kg dia para 130 Kcal/ kg dia). O Comitê de Nutrição da ACADEMIA CANADENSE DE PEDIATRIA (1995) recomenda a suplementação com 7,5 µmol/kg/dia (0,48 mg/kg/dia) de zinco para bebês prematuros em aleitamento materno exclusivo.

O cobre, assim como o zinco, é um componente de muitas enzimas, como as superóxido-dismutases envolvidas na proteção de membranas contra os danos oxidativos, e a citocromo-oxidase que é a oxidase terminal da cadeia eletrônica de transporte. A ceruloplasmina, uma oxidase fraca, tem como função o transporte do cobre e do ferro, constituindo cerca de 60% do cobre do plasma e dos líquidos intersticiais (ZLOTKIN et al., 1995).

Além de atuar como componente essencial de várias enzimas o cobre é necessário para promover o crescimento ósseo e a maturação de células vermelhas e brancas do sangue; participa do transporte de ferro, do metabolismo do colesterol, da contratilidade miocárdica e do desenvolvimento cerebral. É componente essencial de várias metaloenzimas como co-fator ou como elemento parte de múltiplos sistemas enzimáticos.

A deficiência de cobre é rara e mais freqüente em crianças, sendo que pode se manifestar em torno de três meses (2,2 a 15 meses) para bebês de baixo peso ao nascimento. As manifestações mais freqüentes são: anemia hipocrômica, neutropenia e alterações ósseas do tipo osteoporose e retardo de crescimento.

No leite humano o cobre está distribuído no soro, sendo 77% do seu conteúdo total, e somente uma pequena fração, em torno de 5 a 15%, está associada à caseína. Na fração lipídica do leite o cobre está presente, mas seu ligante não foi identificado.

É alta a biodisponibilidade do cobre do leite humano: bebês prematuros absorvem 50% de cobre do leite materno e virtualmente nada de fórmulas à base de soja (MENDELSON et al., 1983).

O cobre no leite humano apresenta comportamento semelhante ao do zinco no decorrer do tempo de lactação, com ligeiro aumento da quantidade por volta do terceiro ao sétimo dia após o parto, e diminuição progressiva à seguir, como demonstrado na FIGURA 4.

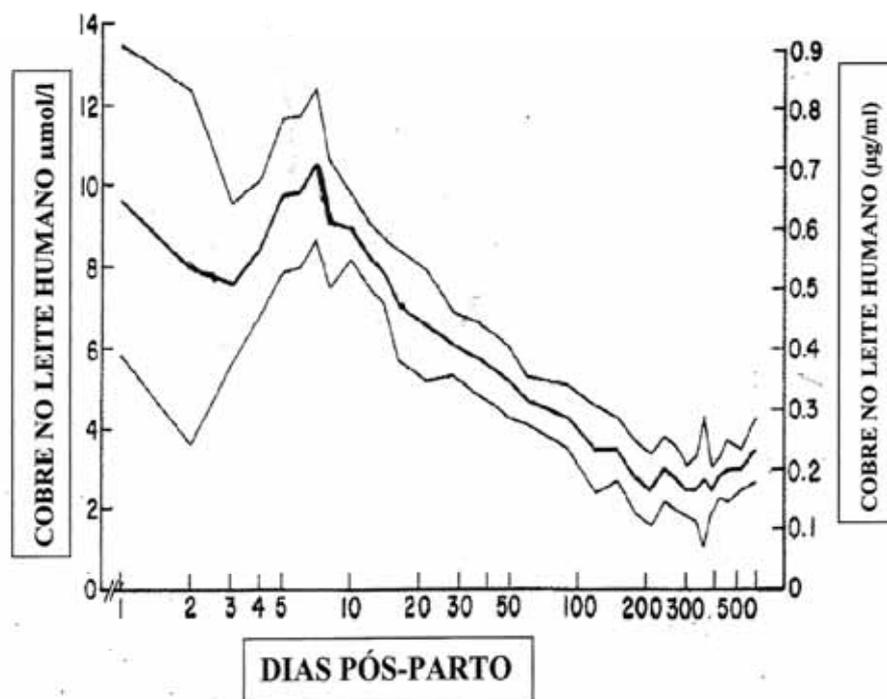


FIGURA – 4: Níveis de cobre no leite humano ao longo do tempo de lactação. A linha em negrito corresponde ao valor médio e as mais claras ao desvio padrão.

*FONTE: Modificado de: CASEY *et al.*, 1989.

Da mesma forma que para o zinco, as concentrações de cobre no leite humano, principalmente no leite da mãe do pré-termo, inicialmente são altas, em torno de 0,8 mg/L, mas decrescem com a progressão da lactação. Por volta de quatro semanas pós-parto a concentração de cobre no leite está em torno de 0,6 mg/L e chega a 0,2 – 0,3 mg/L no leite maduro (FRANSSON & LÖNNERDAL, 1982). Essa mesma observação é válida para o leite de mães de bebês de termo.

Em bebês alimentados com leite materno a deficiência de cobre é pouco comum, mas há relatos de casos em bebês prematuros amamentados exclusivamente ao seio (WALRAVENS, 1980).

Dorner et al. (1989), em estudo sobre o balanço de cobre e manganês em bebês prematuros, observaram que o balanço de manganês sempre fora negativo em função de uma alta excreção fecal. Bebês que receberam fórmula não suplementada tiveram um balanço negativo desses minerais. Ainda puderam observar que o cobre do leite humano teve melhor biodisponibilidade que aquele das fórmulas derivadas do leite de vaca. Estes mesmos autores observaram que a retenção de manganês não teve correlação com as diferentes concentrações nas fórmulas, e que bebês alimentados com fórmula receberam mais manganês que os alimentados com leite humano.

Dados sobre a necessidade de cobre no bebê prematuro são limitados. As recomendação da ACADEMIA AMERICANA DE PEDIATRIA para prematuros é de 108 µg/kg/dia, e da ESPGAN é de 117 a 156 µg/kg/dia .

O nascimento antes do termo coloca o bebê prematuro em situação de risco para desenvolver deficiências desses minerais. O prematuro apresenta baixas reservas ao nascer, está em fase de crescimento muito rápido e exposto a ingesta desconhecida e variável (ZLOTKIN & CHERIAN, 1988).

A deficiência de elementos traço no prematuro não ocorrerá na primeira semana de vida ou no período de instabilidade clínica; ela poderá se manifestar na fase de estabilidade em que o bebê retoma seu crescimento rápido, quando aumentam assim suas necessidades nutricionais. Nessa fase os elementos traço devem ser incluídos na dieta em quantidades que satisfaçam as necessidades de crescimento e repleção das reservas corporais.

A análise sobre o conteúdo de citocinas, zinco e cobre no leite humano, mostra quantidades reduzidas desses componentes no leite de mães de bebês prematuros em relação ao de mães de bebês de termo. Os autores alertam para a necessidade de suplementação em prematuros alimentados

exclusivamente com leite de sua mãe, bem como para o risco que se apresenta a esses bebês em decorrência do sistema imunológico imaturo (UNSTUNDAG et al, 2005).

Parece muito claro, diante dos dados da literatura, que suplementar a mãe nutriz de bebê prematuro na intenção de aumentar a oferta de nutrientes na fase do crescimento acelerado do bebê, poderá ser uma maneira mais eficaz de garantir a esses bebês um crescimento adequado, assegurando a oferta do melhor alimento no início de vida, o leite de sua própria mãe.

Estimular o aleitamento materno numa situação de risco para o insucesso que é o nascimento prematuro, proporciona benefícios não só à saúde do bebê, mas seu pleno desenvolvimento e proteção a uma série de doenças as quais estará exposto em regime de dieta artificial.

O aleitamento materno também promove uma maior interação da mãe com seu bebê prematuro, tornando-a mais confiante na sua competência em cuidá-lo e alimentá-lo. Além disso, recebendo o zinco na composição do leite de sua mãe, o bebê tem garantida a forma de maior biodisponibilidade, diminuindo o risco de menor absorção e deficiência desse mineral.

II. JUSTIFICATIVA

II. JUSTIFICATIVA

O bebê prematuro deixa o meio uterino numa fase de crescimento acelerado, na qual a acreção corporal de nutrientes se faz de forma intensa

para garantir o seu crescimento e desenvolvimento adequado. A acreção de elementos traço nessa fase também é intensa. A dieta a qual o bebê pré-termo é submetido após seu nascimento torna-se a única fonte desses nutrientes, que estão envolvidos num grande número de funções essenciais, bem como na promoção do crescimento. A literatura (PARKER et al., 1982; WEYMOUTH et al., 1982; ZIMMERMANN et al., 1982; CONNORS et al., 1983; FRIEL et al., 1984; MURPHY et al., 1985; BILINSKI et al., 1987; AGGET et al., 1980; KOOSHO et al., 1992; OBLADEN et al., 1998) têm relatado casos de deficiência clínica dos elementos traço nos bebês prematuros que recebem como dieta as fórmulas artificiais, leite humano suplementado com fortificadores ou o leite materno exclusivo.

É escasso o conhecimento sobre a oferta de elementos traço para a nutriz, no intuito de aumentar a oferta desses ao bebê pré-termo numa apresentação com alta biodisponibilidade, garantindo sua melhor absorção, sem lhe causar sobrecarga metabólica.

Este estudo poderá vir a contribuir para elucidar se suplementando as mães dos bebês prematuros com o elemento traço zinco, estaremos aumentando a excreção desse no leite materno e atingindo o objetivo de adequar de forma natural a oferta desse nutriente tão importante para o prematuro, garantindo assim seu crescimento adequado, ou seja, o mais próximo possível daquele que ocorreria dentro do útero materno caso o nascimento não fosse antecipado.

III. OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

III. 1 – OBJETIVO GERAL:

Analisar as concentrações de zinco no leite de mães de bebês prematuros, com suplementação e sem suplementação de zinco.

III. 2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Avaliar e comparar o peso dos bebês prematuros alimentados, com leite materno de mães com e sem suplementação de zinco.

Avaliar e comparar o comprimento dos bebês prematuros alimentados com leite materno, de mães e com e sem suplementação de zinco.

Avaliar e comparar o perímetro cefálico dos bebês prematuros alimentados com leite materno, de mães com e sem suplementação de zinco.

Avaliar as concentrações de cobre no leite de mães com e sem suplementação de zinco

IV. POPULAÇÃO E MÉTODOS

IV. POPULAÇÃO E MÉTODOS

IV. 1 – POPULAÇÃO DE ESTUDO:

Foram selecionadas 38 mães e seus bebês prematuros, com idade gestacional menor ou igual a 34 semanas, acompanhados quinzenalmente desde o momento de inclusão no estudo, até a idade pós-conceptual corrigida de 40 semanas do recém-nascido, provenientes do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e da Associação de Amparo à Maternidade e Infância, ambos situados na cidade de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul.

Os binômios foram distribuídos em dois grupos, sendo que o primeiro grupo foi submetido ao seguimento sem oferta adicional de zinco às mães, e o segundo grupo de mães recebeu suplemento desse durante todo o período do seguimento.

A coleta dos dados ocorreu no período de novembro de 2004 a setembro de 2006. Os binômios mãe/bebê foram distribuídos de forma seqüencial, sendo coletado no primeiro período (novembro/2004 a outubro/2005) os dados do grupo de mães não suplementadas, e no segundo período (outubro/2005 a setembro/2006) os dados do grupo de mães suplementadas.

IV. 1.1 – CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DE MÃES:

_ Gestação de feto único;

_ Sem doença prévia à gestação como diabetes, cardiopatia, insuficiência renal, doenças do colágeno, e outras;

_Lactação bem estabelecida, com produção adequada de leite, suficiente para atender a demanda de seu bebê.

IV. 1.2 – SELEÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS:

_Prematuro com idade gestacional menor ou igual a 34 semanas;

_Livre de anomalias congênitas;

_Sem patologias cirúrgicas que impliquem em jejum ou dependência de nutrição parenteral;

_Dieta plena com leite de sua mãe, sendo um mínimo de 100 ml/kg/dia de oferta;

_Clinicamente estável, quadro infeccioso controlado.

IV. 1.3 – IDADE GESTACIONAL:

_Avaliada pela data da última menstruação, referida pela mãe;

_Em todos os recém-nascidos a idade gestacional foi confirmada pelo exame clínico, realizando a avaliação somática e neurológica pelo método de Ballard (BALLARD et al., 1991).

IV.1.4 - INÍCIO DA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO :

O início da participação no estudo ocorreu quando o RN estava recebendo dieta plena de leite de sua própria mãe, sem nutrição parenteral há pelo menos uma semana e com um volume de dieta de 100 ml/kg/dia. Nesse momento foi coletada uma amostra de sangue do bebê, e uma amostra de leite

de sua mãe. Neste mesmo momento foi também iniciada a coleta de dados de antropometria do bebê, sendo mensurados: peso, comprimento e perímetro cefálico.

Todos estes dados foram acompanhados quinzenalmente, com margem de tolerância de ± 3 dias, até o bebê prematuro atingir a idade pós-conceptual corrigida de 40 semanas.

IV. 1.5 – SUPLEMENTAÇÃO DE ZINCO:

As mães do grupo suplementado receberam o zinco na forma de cápsula manipulada na farmácia escola da Universidade para o Desenvolvimento da Região do Pantanal (UNIDERP), em uma tomada diária, na forma de cápsulas contendo 50mg de zinco. Foi utilizado o quelato de zinco, sendo a glicina o aminoácido quelante desse mineral.

A ingesta média necessária para atingir as necessidades de zinco na lactação no período de 0-3 meses varia de 7,6 para dieta de alta disponibilidade desse elemento, a 25,3 para dieta de disponibilidade baixa. (OMS, 1998). A ingesta de 48 mg de zinco/dia é considerada segura para indivíduos adultos (OMS, 1998). Por todas as considerações citadas, e pelo relato de doses até de 200 mg/dia e sem efeitos tóxicos em estudos semelhantes, é que optamos pela dose de 50 mg/dia.

O início da suplementação para a mãe ocorreu entre três e sete dias após o parto. As cápsulas de zinco foram fornecidas para as mães em quantidade suficiente para sua utilização por todo o período de seguimento.

IV. 1.6 – SEGUIMENTO:

As mães e seus bebês dos dois grupos foram acompanhados até a idade pós-natal corrigida dos recém nascidos de 40 semanas, com dosagens

quinzenais dos elementos traço zinco e cobre no leite materno e de zinco no sangue dos bebês, bem como a realização das medidas antropométricas. A opção por esse momento de interrupção se deve ao fato de ser nesse período, no último trimestre de gestação, que ocorre o maior aporte de zinco fetal, que irá garantir reservas endógenas para o crescimento pós-natal. Esse deverá ser garantido pelo aporte alimentar uma vez acontecido o parto prematuro.

Os bebês e suas mães participantes foram acompanhados ambulatorialmente, no Hospital Universitário - UFMS, durante todo o período programado para o seguimento, com consultas agendadas para os dias específicos dos controles.

IV. 2 – MÉTODOS:

Após o esclarecimento das mães sobre o estudo foi obtido o consentimento esclarecido verbal e escrito em formulário próprio e aprovado pelo Comitê de Ética, para a coleta das amostras de leite materno, e coleta de sangue e dados de antropometria dos bebês. Foi preenchida a ficha de dados e, a seguir, com material descartável e estéril, adequadamente preparado para a coleta de elemento traço, foi realizado o procedimento de coleta das amostras de leite materno e sangue do bebê.

O projeto teve parecer favorável do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA da UFMS, e do Hospital Universitário.

IV. 2.1 – COLETA DAS AMOSTRAS DE LEITE:

A coleta das amostras de leite foi realizada pela autora ou por funcionária do BANCO DE LEITE treinada para a coleta, com técnica uniforme e padronizada, por ordenha manual. A mama foi previamente lavada conforme norma de procedimento padrão do banco de leite. Em seguida, foi feito enxágue final com água ultrapura, e a mama foi secada com gaze estéril.

As amostras foram coletadas por expressão manual (MARMET, 1981) de uma mama, até obter-se o volume de 10 ml de amostra, estando as mãos do profissional protegidas com luva plástica estéril. As primeiras gotas de leite foram utilizadas para lubrificar o mamilo e a aréola. O leite foi coletado diretamente em recipiente de polipropileno adequadamente preparado para essa finalidade. Após a obtenção do volume desejado o frasco foi fechado, identificado e acondicionado em recipiente térmico com gelo permanente, sendo então transferido ao laboratório onde permaneceu armazenado em congelador, na temperatura de -18 a -20°C até o momento da digestão.

As coletas foram realizadas no Banco de Leite Humano do Hospital Universitário e da Associação de Amparo à Maternidade e Infância de Campo Grande.

IV. 2.2 – PREPARO DOS FRASCOS PARA COLETA DE LEITE

Os frascos de polietileno utilizados para a coleta de amostras de leite foram lavados e deixados em imersão em detergente neutro (Extran[®] neutro) por 24 horas. A seguir foram abundantemente enxaguados em água ultrapura e colocados em solução de ácido nítrico a 30% por 24 horas. Depois, foram enxaguados novamente em água ultrapura (mili-Q purificador) várias vezes, e secados em estufa a 40°C. Retirados da estufa foram tampados um a um, e armazenados em recipiente plástico com tampa, próprio para armazenagem também lavado conforme técnica descrita, até sua utilização. Essa técnica é demonstrada nas FIGURAS de número 5 – 10.

Todo material foi manipulado com luva plástica estéril para evitar contaminações. Não foram utilizadas luvas de borracha por serem talcadas.



FIGURA – 5: Material para a coleta do leite materno sendo colocado na rinsagem em ácido nítrico 30%, com o cuidado de mantê-lo submerso na solução.



FIGURA – 6: Remoção do material da rinsagem em ácido nítrico, após 24 horas de espera, com escoamento de toda a solução antes do enxágue.



FIGURA – 7: Enxágue do material rinsado em ácido nítrico, em água ultrapura, para remoção de resíduos de ácido nítrico.



FIGURA – 8: Processo de secagem do material lavado, em estufa.



FIGURA – 9: Armazenagem do material em tambor plástico com tampa, até o momento de sua utilização na coleta.



FIGURA – 10: Frascos para coleta de leite armazenados em tambor de plástico, tampado, após sua lavagem, rinsagem em ácido nítrico e secagem em estufa.

IV.2.3 – COLETA DE SANGUE :

O sangue dos bebês foi coletado por punção de veia do dorso da mão, por gotejamento, em um tubo próprio para coleta de sangue para análise de metais traço (tubo marca BD, REF 367737). A seguir foi feita a retração do coágulo e separação do soro armazenado em tubo Ependorf de 2 ml, previamente lavado como descrito para os frascos para coleta do leite. O tubo foi fechado, identificado e armazenado em congelador na temperatura de -18 a -20°C até o momento da dosagem.

As amostras sanguíneas foram coletadas quinzenalmente no seguimento dos bebês, até a idade pós-conceptual corrigida para 40 semanas. O material hemolizado foi desprezado.

Antes da coleta os bebês receberam gaze embebida com gotas de glicose a 25% para sugar, cerca de 2 a 3 minutos antes da punção, com o intuito de reduzir o desconforto e a sensação dolorosa do procedimento. O bebê foi contido em lençol, ficando exposta a mão escolhida para a coleta. A seguir foi feita a assepsia do dorso da mão com gaze estéril embebida em álcool a 70%. O pesquisador, com as mãos vestidas com luva plástica estéril, procedeu então à punção da veia do dorso da mão, coletando o volume de 3 ml de sangue no tubo apropriado, como mostra a FIGURA 11. Terminada a coleta, foi feita a hemostasia com gaze estéril no local da punção, e o bebê foi retirado da contenção. Sempre que possível a coleta foi realizada na presença da mãe.

IV.3 – AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA DOS BEBÊS :

Foi feita a avaliação do crescimento de todos os bebês no estudo, a intervalos regulares de quinze dias, até a idade pós-natal corrigida de 40 semanas.



FIGURA – 11: Coleta de sangue do bebê prematuro

Os bebês foram pesados sem roupa, contidos em manta para se evitar a sua desorganização, em balança eletrônica digital, com precisão de 5g (FANEM BABY, ESCALA DE PRECISÃO DE 5 g, peso máximo de 16 kg) como mostra a FIGURA 12. O peso da manta foi descontado do peso do bebê para se obter seu peso real. Sempre foi utilizada a mesma balança até o final do seguimento.

O comprimento foi mensurado em bandeja antropométrica com fita inelástica, graduada com precisão de 2mm, estando o bebê deitado sobre uma superfície macia que revestia a bandeja, como mostra a FIGURA 13.

A circunferência craniana foi mensurada com fita metálica fina, graduada com precisão de 2 mm, como mostra a FIGURA 14.

Todas as medidas foram realizadas pela autora, na consulta de seguimento. Os valores de cada medida foram anotados no prontuário do bebê, na sua ficha de dados do projeto, e na ficha de seguimento da mãe a cada consulta de seguimento.



FIGURA – 12: Pesagem do bebê prematuro em balança digital.



FIGURA – 13: Mensuração do comprimento do bebê prematuro em bandeja antropométrica.



FIGURA – 14: Mensuração do perímetro cefálico do bebê prematuro.

IV.4 – DETERMINAÇÃO QUÍMICA:

IV.4.1 - ANÁLISE DO ZINCO E COBRE:

A análise da concentração do zinco foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica, após tratamento adequado de cada amostra. As amostras foram analisadas no laboratório de materiais do Departamento de Física da UFMS, no aparelho de marca Perkin Elmer, modelo Analyst 100, como mostra a FIGURA 15.



FIGURA – 15: Aparelho modelo Analyst 100, marca Perkin Elmer, utilizado para a análise da concentração de zinco e cobre.

Para a leitura do zinco no sangue dos bebês, foi feita a diluição do soro obtido após a retração do coágulo sanguíneo, na proporção de 0,5 ml de soro para 2 ml de água ultrapura, armazenando o material em tubo de Falcon de 7 ml, previamente lavado como já descrito anteriormente até o momento da dosagem.

As amostras de leite passaram por processo de digestão de proteínas e gordura com ácido nítrico puro, processo que torna possível realizar a análise do material pelo fotômetro de absorção atômica, sem risco de obstrução do capilar que aspira a amostra para ser pulverizada na chama. Esta técnica foi desenvolvida no laboratório de Física da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pelo Professor Doutor Petr Melnikov e pela Doutora Aby Jaine da Cruz Montes Moura, como parte de sua tese de doutorado (MOURA, 2006).

IV.4.2. DIGESTÃO DO LEITE PARA ANÁLISE

Uma quantidade de quatro gramas de leite, pesada em balança eletrônica de alta precisão, foi colocada em tubo de ensaio de vidro, submetido a mesma lavagem descrita para o preparo do recipiente de plástico para coleta do leite. Em seguida foi adicionado 12 ml de ácido nítrico ultrapuro (Merck®). O tubo contendo leite e ácido foi então submetido a aquecimento a 100°C, acondicionado em Becker com água até o nível da amostra do tubo, e colocado em placa de aquecimento para distribuição homogênea do calor. Permaneceu a amostra borbulhando à temperatura de 100°C por uma hora, tempo necessário para se fazer a digestão do leite. A seguir o tubo foi retirado do aquecimento, deixado resfriar em temperatura ambiente por 12 a 24 horas. O glóbulo de gordura formado a partir da camada de gordura resultante na superfície do tubo após o resfriamento, como mostra a FIGURA 16, foi removido com alça de platina.

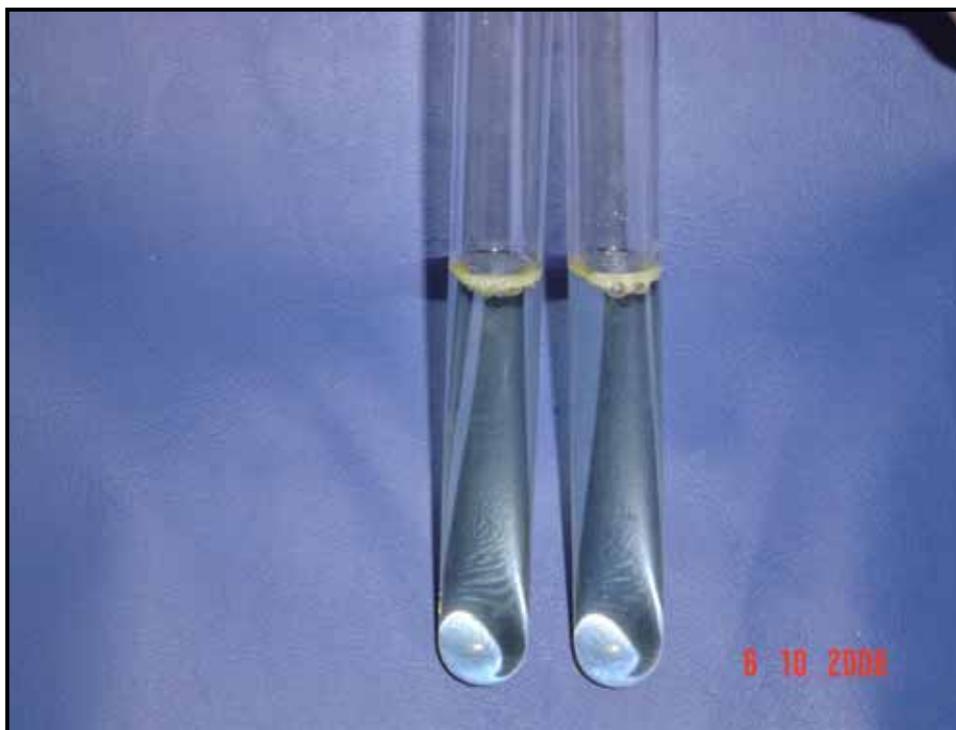


FIGURA – 16: Tubos de ensaio contendo o leite materno digerido com ácido nítrico, apresentando a camada de gordura na superfície do líquido.

O conteúdo restante foi transferido para um balão volumétrico de 25 ml, sendo o volume total completado para um volume final de 25 ml com a adição de água ultrapura (mili-Q). Obteve-se então uma solução líquida e homogênea, com fluidez adequada para ser aspirada pelo capilar do aparelho de absorção atômica.

Terminado o processo de digestão, a amostra foi armazenada em frasco de plástico lavado como descrito para a dosagem de zinco e cobre. A estocagem em temperatura ambiente permite guardar o material para futuras análises ou releitura, como mostra a FIGURA 17.



FIGURA – 17: Amostras de leite materno digerido, armazenadas em frascos plásticos, para dosagem de zinco e cobre, estocados em temperatura ambiente.

IV.4.5.MÉTODO ESTATÍSTICO:

Os dados analisados foram agrupados conforme a idade gestacional dos bebês, considerando que as medidas foram realizadas a intervalos de quinze dias, e que o ponto de interrupção do estudo ocorreu no momento em que os bebês apresentaram idade pós-natal corrigida de 40 semanas.

A opção por agrupar as medidas pela idade pós-natal dos bebês foi escolhida por estarmos trabalhando com prematuros de diferentes idades gestacionais; bem como com mães em diferentes tempos de lactação no momento em que seus bebês estiveram em condições de estabilidade clínica e de oferta alimentar que preenchessem os critérios de inclusão no estudo; e por termos escolhido para o momento de interrupção do seguimento a idade corrigida de 40 semanas. A flexibilidade de ± 3 dias para as coletas nos permitiu ajustar a idade gestacional ao longo do seguimento, de forma que M1 corresponde a bebês com 32 semanas, M2 corresponde a bebês com 34 semanas, M3 corresponde a bebês com 36 semanas, M4 corresponde a bebês com 38 semanas e M5 a bebês com 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

A comparação entre o grupo de mães que receberam suplementação de zinco, com aquelas que não receberam a suplementação, para as variáveis: idade das lactantes, concentração de zinco e concentração de cobre no leite materno, foi avaliada por meio do teste t-student.

O mesmo teste foi utilizado para a comparação entre os prematuros filhos de mães que receberam suplementação de zinco, com aqueles filhos de mães que não receberam a suplementação, em relação às variáveis: idade gestacional ao nascimento, tempo até receberem somente o leite materno como volume de dieta plena, peso ao nascimento, ganho de peso, comprimento, perímetro cefálico e concentração de zinco no sangue ao longo do período de seguimento até a idade pós-natal corrigida após o nascimento para 40 semanas.

A comparação entre os períodos relacionados ao nascimento e idade pós-natal corrigida dos bebês, para as variáveis estudadas referentes às lactantes e aos prematuros, foi avaliada por meio do teste ANOVA de uma via de medidas repetitivas, seguida pelo pós-teste de Tukey. Os demais resultados das variáveis avaliadas neste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de tabelas ou gráficos.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o “Software” SigmaStat, versão 2.0. O nível aceito para a rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5% ($p =$ ou $< 0,05$). Os valores significativos estão assinalados com asterisco.

V. RESULTADOS

V. RESULTADOS

Neste estudo foi avaliada a idade e a concentração de zinco e cobre no leite de 38 mães de bebês prematuros, sendo que, 18 mães receberam suplementação de zinco e 20 mães não receberam essa suplementação.

Foram avaliados também a idade gestacional, peso, comprimento, perímetro cefálico e concentração de zinco no sangue dos bebês das respectivas lactantes, em intervalo de quinze dias, até a idade pós-conceptual corrigida dos bebês para 40 semanas.

As medidas quinzenais estão identificadas como M1, M2, M3, M4 e M5, para cada variável mensurada no seguimento (zinco, cobre, peso, comprimento, perímetro cefálico). As medidas denominadas M5 correspondem àquelas obtidas na idade pós-natal corrigida para 40 semanas, quando houve a interrupção do estudo.

Sendo assim, M5 corresponde a todas as medidas realizadas com idade dos bebês de 40 semanas, M4 de 38 semanas, M3 de 36 semanas, M2 de 34 semanas e M1 de 32 semanas, com a variação de ± 3 dias. Nas idades ímpares a variação de ± 3 dias foi usada ao longo do seguimento para ajuste das idades finais em 40 semanas.

Com relação ao sexo dos bebês prematuros que participaram do estudo, a distribuição foi semelhante para os dois grupos, o de mães suplementadas e não suplementadas com zinco, estando distribuídos na seguinte proporcionalidade: 7 bebês do sexo feminino e 11 do sexo masculino no primeiro; e 8 bebês do sexo feminino e 12 do sexo masculino no segundo, respectivamente.

Na TABELA 3 estão expressas as características da amostra estudada para os dois grupos: idade materna, idade gestacional dos recém-nascidos, tempo para os bebês estarem em dieta plena com leite de suas mães, peso, comprimento e perímetro cefálico dos bebês ao nascimento,

analisadas pelo teste t-student. Os valores de p mostram que não existe diferença estatisticamente significativa para as características citadas do grupo suplementado e do não suplementado com zinco, estando os dois grupos pareados.

TABELA – 3: Características da população de mães e bebês do grupo suplementadas e não suplementadas com zinco, e valor de **p** pelo teste t-student.

CARACTERÍSTICA	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
IDADE MÃE (anos)	23,50 ± 5,23	25,45 ± 5,94	0,29
IG RNPT (semanas)	32,28 ± 2,04	31,59 ± 1,64	0,60
PESO (g) NASCIMENTO	1690,28 ± 367,59	1625,58 ± 267,13	0,36
COMPRIMENTO (cm) NASCIMENTO	40,83 ± 3,09	40,47 ± 2,37	0,69
PC (cm) NASCIMENTO	29,39 ± 2,26	29,03 ± 1,98	0,61
TEMPO PARA DIETA PLENA DOS BEBÊS (dias)	12,39 ± 11,11	11,60 ± 5,50	0,86

IG – Idade gestacional, RNPT – Recém-nascido prematuro, PC – Perímetro cefálico.

Os valores de zinco no leite de mães suplementadas e não suplementadas estão apresentados como média e desvio padrão, para cada momento analisado, na TABELA 4. Não houve diferença significativa na concentração de zinco no leite materno, em nenhum dos tempos analisados, na comparação entre o grupo de mães que receberam zinco e aquelas que não receberam a suplementação.

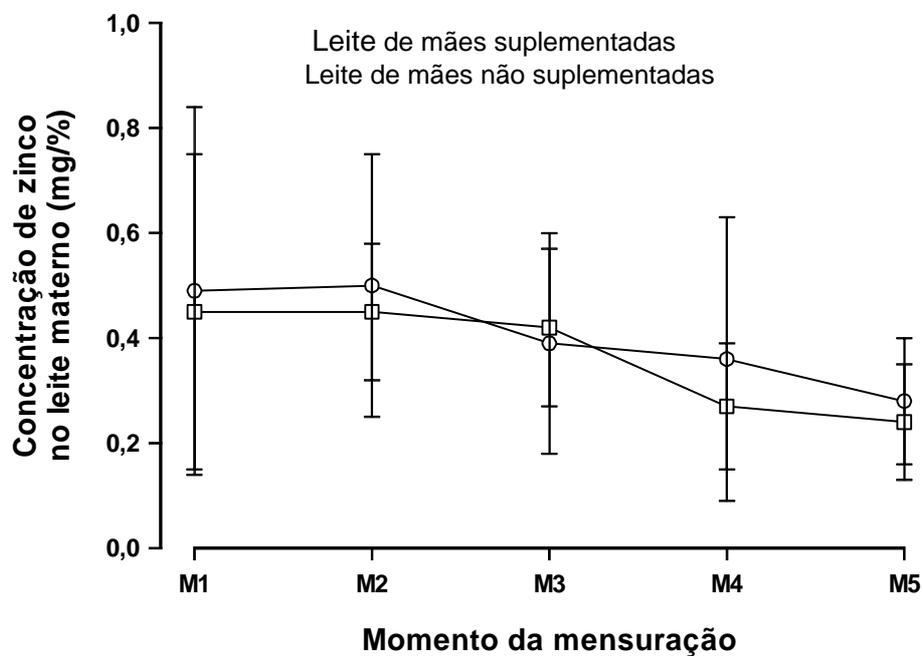
TABELA – 4: Valores da média e desvio padrão de zinco no leite de mães suplementadas e não suplementadas com zinco, em avaliação quinzenal, até a idade pós-conceptual dos bebês corrigida para 40 semanas (mg%).

ZINCO NO LEITE MATERNO (mg%)			
Momento da mensuração	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
M1	0,49 ± 0,35	0,45 ± 0,30	0,88
M2	0,50 ± 0,25	0,45 ± 0,13	0,51
M3	0,39 ± 0,21	0,42 ± 0,15	0,63
M4	0,36 ± 0,27	0,27 ± 0,12	0,22
M5	0,28 ± 0,12	0,24 ± 0,11	0,36

M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

Nas mães que receberam suplementação de zinco, a concentração desse no leite materno, no momento M2, foi significativamente maior do que aquela observada nos momentos M3, M4 e M5. Além disso, a concentração de zinco no momento M3 foi significativamente maior do que aquela observada no momento M5 (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$; seguida do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$).

Para as mães que não receberam a suplementação de zinco, a concentração desse no leite, nos momentos M2 e M3, foi significativamente maior do que aquela observada nos momentos M4 e M5 (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$; seguida do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). Pode ser observado na FIGURA 18, a diminuição progressiva dos níveis de zinco no leite materno para os dois grupos analisados, ao longo do período de seguimento.



M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

FIGURA – 18: Gráfico ilustrando a concentração de zinco no leite materno entre lactantes sem e com suplementação de zinco, em relação ao momento de mensuração. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média.

As concentrações de cobre no leite materno das mães que receberam suplementação de zinco, e das que não receberam esse elemento traço, nos momentos da mensuração M1, M2, M3, M4 e M5 estão apresentadas na TABELA 5.

TABELA – 5: Valores de cobre no leite de mães suplementadas e não suplementadas com zinco (mg%).

COBRE NO LEITE MATERNO (mg%)			
Momento da mensuração	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
M1	0,150 ± 0,187	0,012 ± 0,144	0,84
M2	0,112 ± 0,157	0,095 ± 0,104	0,70
M3*	0,048 ± 0,016	0,061 ± 0,018	0,02
M4	0,042 ± 0,015	0,051 ± 0,017	0,10
M5*	0,037 ± 0,017	0,048 ± 0,016	0,04

M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

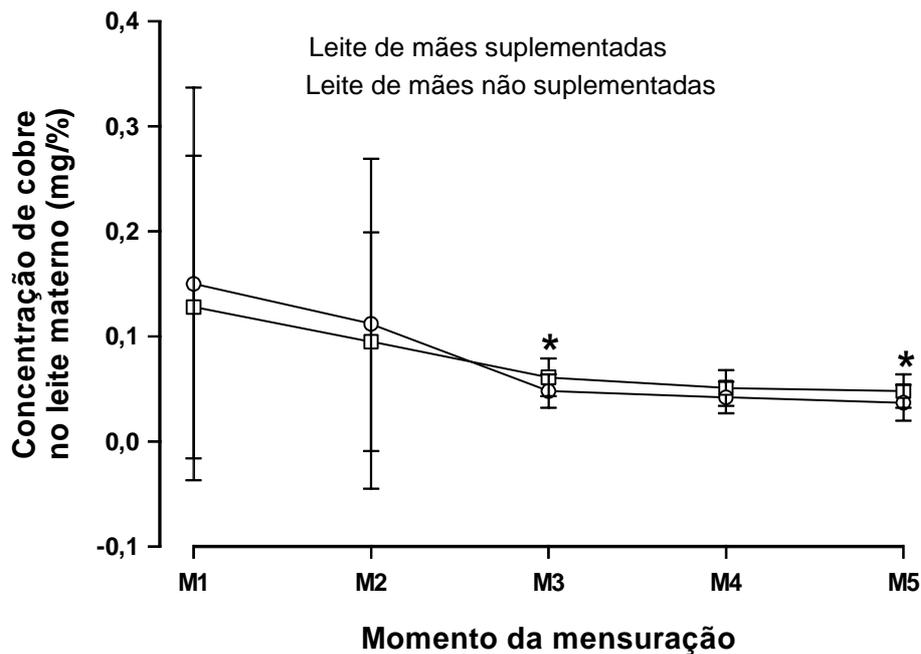
* Valores com diferença estatisticamente significativa na comparação dos dois grupos.

A concentração de cobre no leite materno das mães que não receberam suplementação de zinco, nos momentos M3 e M5, foi significativamente maior do que a concentração observada para as mães que receberam a suplementação de zinco (teste t-student; M3: $p = 0,02$ e M5: $p = 0,04$). Nos demais momentos não houve diferença significativa na concentração de cobre no leite materno, na comparação entre o grupo de lactantes que receberam zinco e aquelas que não receberam a suplementação (teste t-student; M1: $p = 0,84$; M2: $p = 0,70$ e M4: $p = 0,10$).

Nas mães que receberam suplementação de zinco, a concentração de cobre no leite materno, no momento M2, foi significativamente maior do que aquela observada nos momentos M4 e M5 (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p = 0,02$; seguida do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$).

Nas mães que não receberam a suplementação de zinco, a concentração de cobre no leite materno, no momento M2, foi significativamente maior do que aquela observada no momento M5 (ANOVA de uma via de

medidas repetitivas, $p = 0,003$; seguida do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). A variação dos níveis de cobre no leite de mães suplementadas e não suplementadas com zinco, é apresentada no gráfico da FIGURA 19, mostrando os pontos de diferença estatisticamente significativa, que ocorreu na terceira (M3) e última medida (M5).



M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

FIGURA – 19: Gráfico ilustrando a concentração de cobre no leite materno entre lactantes suplementadas e não suplementadas com zinco, em relação ao momento de mensuração. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média. * Diferença significativa em relação ao grupo de mães suplementadas e não suplementadas com zinco (teste t-student, $p < 0,05$).

O peso dos prematuros, filhos de mães suplementadas com zinco, nos momentos da mensuração M1, M2, M3, M4 e M5, e dos bebês de mães não suplementadas com zinco, estão apresentados na TABELA 6. Não foi observada diferença significativa no peso dos prematuros, em nenhum dos momentos analisados, na comparação entre filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.

TABELA – 6: Peso dos bebês (g) filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.

PESO DOS BEBÊS NO SEGUIMENTO (g)			
Momento da mensuração	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
M1	1683,44 ± 347,80	1707,50 ± 311,59	0,84
M2	1847,78 ± 282,51	1689,20 ± 335,10	0,13
M3	2063,06 ± 312,98	1922,00 ± 451,85	0,28
M4	2450,83 ± 426,32	2368,75 ± 615,47	0,64
M5	2866,39 ± 533,57	2836,55 ± 777,56	0,89

M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

Quando se analisa a comparação entre os momentos dentro de cada grupo, houve um aumento significativo do peso dos prematuros, no decorrer do tempo, para ambos os grupos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que para os filhos de mães que receberam suplementação de zinco, no momento 5, o peso dos prematuros foi maior do que aquele observado nos momentos 1, 2, 3 e 4; no momento 4, o peso foi maior do que aquele observado nos momentos 1, 2 e 3; e no momento 3, o peso foi maior do que aquele observado nos momentos 1 e 2 (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). Para os filhos de lactantes que não receberam suplementação de zinco, no momento 5, o peso dos prematuros foi maior do que aquele observado nos momentos 1, 2, 3 e 4; no momento 4, o peso foi maior do que aquele observado nos momentos 1, 2 e 3; e no momento 3, o peso foi maior do que aquele observado no momento 1 (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$).

O ganho quinzenal de peso dos prematuros, filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco, é apresentado na TABELA 7. Não houve diferença significativa no ganho de peso dos prematuros, na comparação entre os dois grupos.

TABELA – 7: Ganho de peso (g) dos bebês prematuros, filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.

GANHO DE PESO (g)	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
G1 (M1 _ M2)	165,67 ± 190,19	107,31 ± 138,92	0,37
G2 (M2 _ M3)	215,28 ± 155,96	232,80 ± 176,37	0,75
G3 (M3 _ M4)	387,78 ± 198,3	446,75 ± 250,82	0,43
G4 (M4 _ M5)	415,56 ± 203,79	467,80 ± 273,89	0,41

M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida

O comprimento dos bebês prematuros, filhos de mães que receberam suplementação de zinco, e dos bebês prematuros de mães que não foram suplementadas, nos momentos da mensuração M1, M2, M3, M4 e M5 estão expressos em média e desvio padrão na TABELA 8. Não houve diferença significativa no comprimento dos prematuros, em nenhum dos tempos analisados, na comparação entre filhos de mães que receberam zinco e aqueles filhos de mães que não receberam a suplementação.

TABELA – 8: Valores para as medidas de comprimento (cm) dos bebês prematuros, filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco .

COMPRIMENTO DOS BEBÊS NO SEGUIMENTO (cm)			
Momento da mensuração	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
M1	40,87 ± 3,29	41,04 ± 1,53	0,86
M2	42,31 ± 2,24	42,22 ± 3,24	0,93
M3	43,97 ± 2,37	44,13 ± 2,62	0,85
M4	45,69 ± 2,37	46,05 ± 2,75	0,68
M5	47,79 ± 2,59	48,30 ± 2,97	0,74

M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

Na comparação entre os tempos, dentro de cada grupo, houve um aumento significativo no comprimento dos prematuros, no decorrer do seguimento, para ambos os grupos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que em cada tempo analisado após o momento 1, o comprimento foi maior do que aquele observado para o(s) período(s) antecedente(s) (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$).

O perímetro cefálico dos prematuros, filhos de mães que receberam suplementação de zinco, e dos prematuros filhos de mães que não foram suplementadas, nos momentos da mensuração M1, M2, M3, M4 e M5, são apresentados na TABELA 9. Não houve diferença significativa no perímetro cefálico dos prematuros, em nenhum dos tempos analisados, na comparação dos bebês prematuros filhos de mães que receberam zinco e aqueles filhos de mães que não receberam a suplementação.

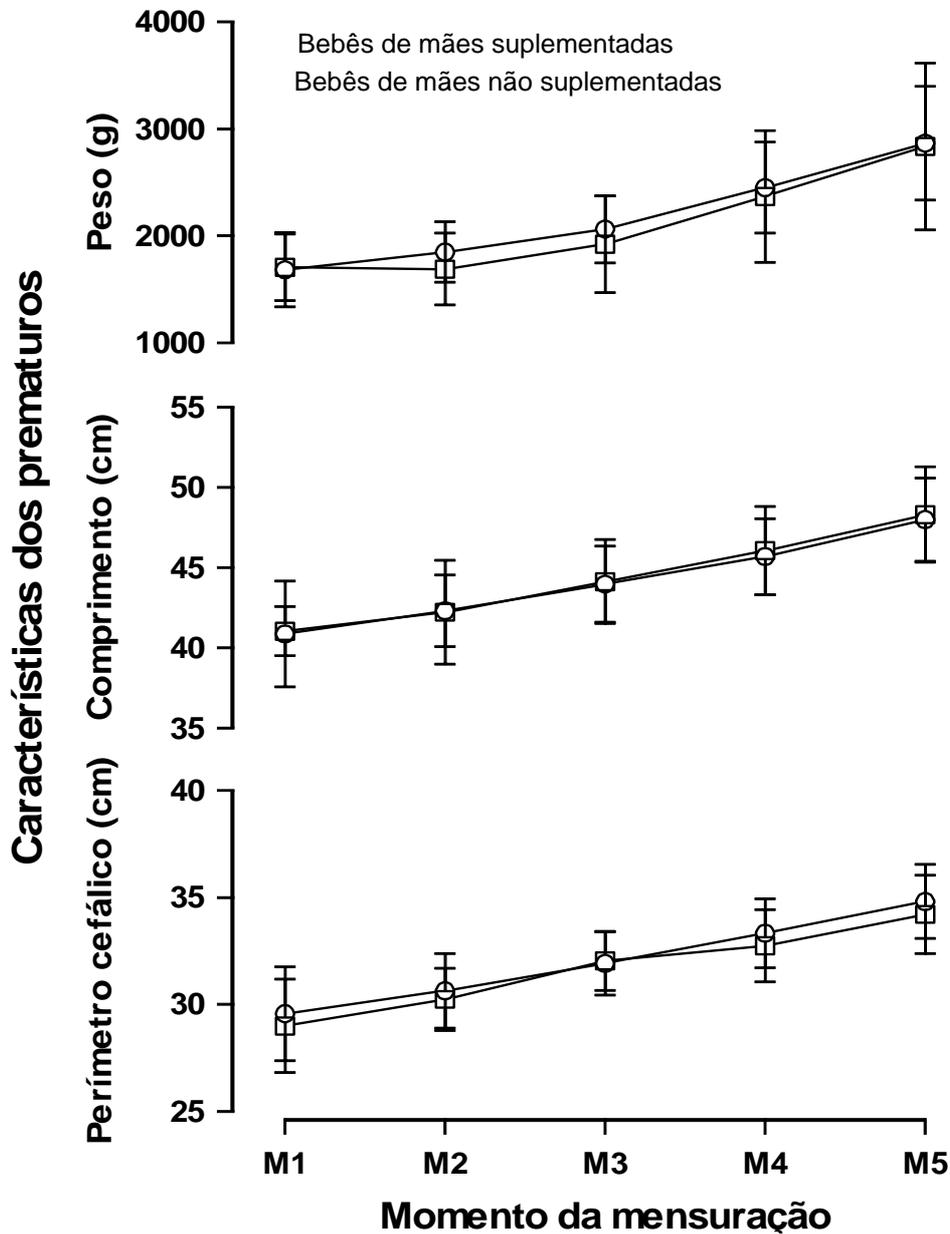
Na comparação entre os tempos, dentro de cada grupo, houve um aumento significativo no perímetro cefálico dos prematuros no decorrer do seguimento, para ambos os grupos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que em cada tempo analisado após o momento 1, o perímetro cefálico foi maior do que aquele observado para o período antecedente (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$).

TABELA – 9: Medidas do perímetro cefálico dos bebês filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco (mg).

PERIMETRO CEFÁLICO DOS BEBÊS NO SEGUIMENTO (cm)			
Momento da mensuração	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
M1	29,57 ± 2,19	29 ± 2,19	0,49
M2	30,64 ± 1,74	30,24 ± 1,45	0,45
M3	31,92 ± 1,49	32,03 ± 1,37	0,82
M4	33,33 ± 1,61	32,74 ± 1,69	0,28
M5	34,81 ± 1,73	34,21 ± 1,84	0,32

M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida

O comportamento das medidas para peso, estatura e perímetro cefálico ao longo do seguimento, para os bebês dos dois grupos do estudo, estão representados na FIGURA 20.



M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

FIGURA – 20: Gráfico ilustrando os resultados referentes ao peso, comprimento e perímetro cefálico em prematuros filhos de lactantes sem e com suplementação de zinco. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média.

As concentrações de zinco no sangue dos prematuros de mães que receberam suplementação de zinco, e para os prematuros, filhos de mães que não receberam a suplementação, nos momentos da mensuração M1, M2, M3, M4 e M5, são apresentadas na TABELA 10.

TABELA – 10: Valores de zinco (mg%) no sangue de bebês prematuros, filhos de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.

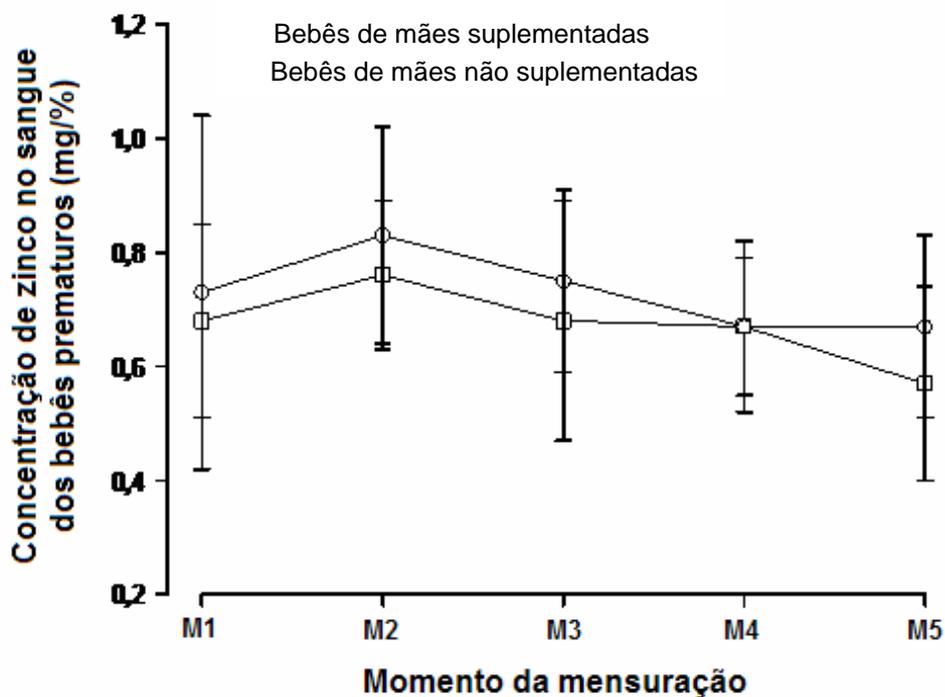
ZINCO NO SANGUE DOS BEBÊS NO SEGUIMENTO (mg%)			
Momento da mensuração	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS	P
M1	0,73 ± 0,31	0,68 ± 0,21	0,76
M2	0,83 ± 0,19	0,76 ± 0,13	0,28
M3	0,75 ± 0,16	0,68 ± 0,21	0,25
M4	0,67 ± 0,15	0,67 ± 0,12	0,89
M5	0,67 ± 0,16	0,57 ± 0,17	0,07

M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

Não houve diferença significativa na concentração de zinco no sangue dos lactentes, em nenhum dos tempos analisados, na comparação entre filhos de mães que receberam zinco e filhos daquelas que não receberam a suplementação. Observamos que na medida de 40 semanas de idade corrigida existiu uma tendência a uma maior concentração de zinco no sangue dos bebês das mães suplementadas ($p = 0,07$).

Nos lactentes filhos de mães que receberam suplementação de zinco, a concentração de zinco no sangue, no momento M2, foi significativamente maior do que aquela observada nos momentos M3 e M5

(ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$; seguida do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). Nos lactentes filhos de mães que não receberam a suplementação de zinco, a concentração de zinco no sangue, no momento M2, foi significativamente maior do que aquela observada nos momentos M4 e M5 (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$; seguida do pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). O comportamento do zinco no sangue dos bebês prematuros de mães suplementadas e não suplementadas com zinco é ilustrado na FIGURA 21.



M1= 32 semanas, M2 = 34 semanas, M3 = 36 semanas, M4 = 38 semanas, M5 = 40 semanas de idade pós-natal corrigida.

FIGURA – 21: Gráfico ilustrando a concentração de zinco no sangue em filhos de lactantes sem e com suplementação de zinco, em relação ao momento de mensuração. Os símbolos representam os valores médios e as barras o desvio padrão da média.

VI. DISCUSSÃO

VI. DISCUSSÃO

Estudos realizados por Caufield et al. (1998, 1999) em mulheres peruanas, demonstraram a importância da suplementação de zinco já na gestação. A mesma importância pode ser observada na revisão sistematizada sobre suplementação de micronutrientes em gestantes (BHUTA & KHAN, 2006), a qual alerta para a importância de microminerais na gestação e no bebê, em especial em populações carentes. Os bebês de mulheres deficientes de zinco no pré-natal podem ter seu desenvolvimento imunológico afetado, com efeitos negativos no primeiro ano de vida. O zinco fetal é dependente do materno, e a deficiência desse mineral no neonato ocorre mais em mulheres com ingestão inadequada de zinco. Essa deficiência, embora transitória, põe em risco os bebês mais vulneráveis como os de muito baixo peso ou prematuros.

Embora o colostro seja rico em zinco, a concentração diminui com o decorrer da lactação, como demonstra o estudo conduzido por Moura (2006) na cidade de Campo Grande/MS; expondo esses bebês ao risco de desenvolverem déficit deste mineral, com falha no crescimento, maior risco de infecção e óbito no primeiro ano de vida.

O presente estudo foi motivado pelo interesse em prover ao bebê prematuro uma maior quantidade de zinco altamente biodisponível. O alimento em foco é o leite da própria mãe deste bebê. A oferta de zinco adicional à dieta habitual da mãe, na forma de suplemento, teve o objetivo de aumentar a concentração desse mineral no leite. As mães foram suplementadas logo após o nascimento de seus bebês, na primeira semana após o parto. O tempo de suplementação materna variou de cinco a nove semanas, em decorrência da idade gestacional de seus bebês, uma vez que a idade corrigida de 40 semanas foi o ponto de interrupção do estudo e a idade gestacional dos prematuros variou de 26 a 34 semanas.

De acordo com os resultados obtidos observamos que a concentração de zinco no leite diminuiu gradativamente ao longo do tempo de seguimento deste estudo; muito embora as mães tenham iniciado sua

participação em diferentes tempos de lactação, entre 5 e 47 dias. Este achado é concordante com a literatura científica, unânime em mostrar esse padrão de comportamento para alguns componentes do leite humano, em particular o zinco. Casey et al. (1989) avaliaram zinco, cobre e manganês no leite materno até 18 meses de lactação após o parto. Observaram diminuição da concentração de zinco de $71,9 \pm 18,3 \mu\text{mol/L}$ com sete dias de lactação, para $44,3 \pm 10,7 \mu\text{mol/L}$ ao final do primeiro mês, e $7,64 \pm 4,59 \mu\text{mol/L}$ aos doze meses de lactação.

Garza et al. (1983), analisando a concentração de zinco no leite de mulheres entre cinco e sete meses após o parto, observaram redução de 58% do valor inicial ao final de 12 semanas de seguimento.

Estudo realizado no Brasil por Lamounier et al. (1989), com vinte e três mulheres de baixo estado socioeconômico da região de Ribeirão Preto, mostra valores mais elevados de zinco no colostro. A análise de amostras coletadas com 15 dias de intervalo até o final do sexto mês de lactação, mostrou redução progressiva nos níveis de zinco. A maior redução, cerca de 40% do valor inicial do colostro que foi de $0,47 \pm 0,10 \text{ mg/dl}$, ocorreu durante a segunda semana de lactação, que foi de $0,2 \pm 0,06 \text{ mg/dl}$. A diminuição foi progressiva até 24 semanas de seguimento.

No nosso estudo os valores iniciais encontrados nas três primeiras dosagens quinzenais são semelhantes aos relatados por Lamounier et al.(1989) na primeira avaliação. Porém, em nossa população os níveis de zinco foram maiores que aqueles descritos em seu estudo na segunda semana, talvez retratando diferenças regionais, estado nutricional materno, o nascimento prematuro ou a ingesta dietética de zinco. É importante considerar que, os valores de nosso estudo na primeira e segunda medidas se referem a leite de transição e maduro, sendo a última medida de nosso estudo referente a leite maduro de mães com 42 a 77 dias de lactação. Portanto nas mães participantes de nosso estudo os valores de zinco mantiveram-se maiores por mais tempo que nas mães do estudo acima referido.

Outro estudo realizado no Brasil, conduzido por Trugo et al. (1988), com mães de baixo nível sócio-econômico da cidade do Rio de Janeiro, demonstra que as concentrações de zinco e proteína no leite humano diminuem significativamente no decorrer da lactação. Nesse estudo foram selecionadas mães de bebês prematuros, com idade gestacional de 28 a 36 semanas; e mães de bebês de termo, com idade gestacional de 37 a 40 semanas. Todas as mães estavam praticando aleitamento materno exclusivo durante o seguimento que foi de 36 dias. A concentração de zinco foi maior no colostro (6 dias de lactação), em comparação ao leite maduro (36 dias de lactação), tanto para o leite das mães de bebês prematuros ($5,5 \pm 3,84 \mu\text{g/ml}$ no colostro e $2,32 \pm 1,56 \mu\text{g/ml}$ no leite maduro), como para o de bebês à termo ($7,3 \pm 3,03 \mu\text{g/ml}$ no colostro e $2,79 \pm 1,14 \mu\text{g/ml}$ no leite maduro). Esses valores se assemelham aos encontrados no leite das mães de bebês prematuros em nosso estudo, tanto para o grupo suplementado como o não suplementado, na primeira (suplementadas $0,49 \pm 0,35 \text{ mg\%}$ e não suplementadas $0,45 \pm 0,3 \text{ mg\%}$) e segundo (suplementadas $0,5 \pm 0,25 \text{ mg\%}$ e não suplementadas $0,45 \pm 0,13 \text{ mg\%}$) medidas, bem como na última medida (suplementadas $0,28 \pm 0,12 \text{ mg\%}$ e não suplementadas $0,24 \pm 0,11 \text{ mg\%}$).

Dorea (2000), em seu artigo de revisão sobre o zinco no leite humano, analisa vários fatores que possam influenciar na concentração desse mineral no leite: tempo de lactação, paridade, tabagismo, uso de contraceptivo oral, diferenças regionais, estado nutricional materno, mãe adolescente, mastite e outras doenças que afetem o estado de saúde materno, perdas fetais e aborto, tabagismo, composição da dieta materna. De todos esses fatores citados aquele que afeta de forma consistente e unânime nos artigos revisados é o tempo de lactação. A dieta parece não ter efeito na quantidade de zinco no leite, exceto em um único estudo citado na revisão (ORTEGA et al., 1997). No presente estudo observamos que o tempo de lactação influenciou na diminuição da concentração de zinco no leite materno.

A redução da quantidade de zinco no leite humano é gradual e, em determinados períodos da lactação ocorre de forma mais intensa. Na fase inicial de colostro, ao final dos primeiros quinze dias, Dorea (2000) relata em

sua revisão uma diminuição intensa, que variou de uma mediana de 8,12 µg/ml para 3,36 µg/ml, cerca de 40% do valor inicial, semelhante ao encontrado por Lamounier et al. (1989) em seu estudo. No nosso estudo não observamos uma redução tão intensa da primeira para a segunda dosagem, fato que se explica por termos iniciado as dosagens no leite no momento em que as mães se encontravam em torno de quinze dias ou mais de lactação, quando a redução é menos dramática. Por esse mesmo motivo, os valores iniciais de zinco em nosso estudo são menores que os relatados por Dorea (2000). Em nosso estudo não foram avaliados os valores de zinco no colostro, normalmente mais elevados.

Guimarães (2002), em estudo realizado com mães de bebês de termo na cidade de Brasília/ Brasil, observou o mesmo comportamento de redução para os níveis de zinco no leite materno com 15, 30, 60 e 90 dias de lactação. Relata redução de 59% nos níveis de zinco entre 15 dias ($3,47 \pm 0,72$ µg/ml) e 60 dias ($2,05 \pm 0,84$ µg/ml). O mesmo comportamento foi observado para o grupo de mães de seu estudo, suplementadas diariamente com 50 mg de sulfato de zinco durante 90 dias de lactação. Essas observações foram confirmadas na avaliação da concentração de zinco no leite materno nas amostras analisadas em nosso estudo.

Chierici et al. (1999), avaliando o zinco no leite de 22 mães com e sem suplementação de zinco, relatam o mesmo comportamento quanto à diminuição progressiva ao longo de 90 dias de seguimento. A suplementação materna com esse mineral pelo período de 90 dias, na dose diária de 20 mg, não interferiu na redução dos níveis no decorrer do tempo. Não houve diferença significativa entre os valores de zinco no leite de mães suplementadas e não suplementadas com 3 dias (controle $8,16 \pm 2,96$ mg/L⁻¹ e suplementadas $5,89 \pm 2,65$ mg/L⁻¹); 30 dias (controle $3,99 \pm 1,01$ mg/L⁻¹ e suplementadas $3,36 \pm 1,40$ mg/L⁻¹) e 90 dias (controle $2,87 \pm 1,23$ mg/L⁻¹ e suplementadas $2,63 \pm 1,35$ mg/L⁻¹) de lactação, à semelhança do que pudemos observar no presente estudo.

Karra et al. (1989) avaliaram o efeito da suplementação diária de zinco na dose de 50mg, em 16 mulheres americanas de área urbana e 15 mulheres egípcias de área rural, por um período de 34 dias, do sétimo ao nono mês de lactação. Quando comparadas aos seus pares não suplementadas não se evidenciou diferença significativa nas concentrações de zinco no leite. Esse mesmo estudo evidenciou uma maior redução dos níveis de zinco no grupo de mães americanas não suplementadas. No nosso estudo observamos resultados semelhantes, com tendência de diminuição mais acentuada de zinco no leite do grupo não suplementado, embora sem significância estatística.

Moser-Villon et al. (1988) e Moran et al. (1982), em seus estudos em que as mães foram suplementadas com zinco na dose diária de 25 mg, e 60 e 75 mg; também não observaram maior secreção desse mineral no leite materno, mesmo quando a ingesta da dieta esteve abaixo do recomendado. Os dados de ingesta dietética de zinco nas mães participantes de nosso estudo não foram objetivamente avaliados, porém podemos inferir que a ingesta de zinco alimentar tenha sido adequada, baseados no tipo de dieta que tem como fonte protéica a carne numa dieta balanceada.

Shrimpton et al. (1985) em estudo realizado com mães de baixo nível socioeconômico da cidade de Manaus no Brasil, com suplementação de 15 mg/dia de zinco por 120 dias, não observaram diferença significativa quando comparado mães sem e com a suplementação. Entretanto a suplementação diminuiu a velocidade de redução na concentração de zinco no leite em comparação à de mães não suplementadas. Essa redução na diminuição do zinco pode ser observada no grupo de mães suplementadas em nosso estudo.

Em trabalhos anteriores ao de Karra (1989), Karra et al. (1988) e Karra & Kirksey (1988), relatam aumento significativo de zinco no soro e leite de mães americanas suplementadas com 25 mg/dia desse mineral até seis meses de lactação. Talvez o tempo de suplementação, que foi mais longo que o de nosso estudo, e o fato da suplementação ter sido iniciada na fase precoce da lactação, possam ter contribuído para a diferença por eles encontrada, diferentemente dos resultados obtidos no nosso estudo.

Em dois estudos realizados por Krebs et al. (1985 e 1995) em que as mães receberam suplementação diária de 15 mg de zinco por nove e sete meses de lactação, respectivamente, os resultados são conflitantes. No primeiro estudo a redução do zinco no leite foi menor para o grupo suplementado. Já no segundo estudo as concentrações de zinco no leite foram semelhantes para o grupo suplementado em comparação ao que recebeu placebo, resultado esse concordante com o observado no presente estudo.

Estudo conduzido por Donangelo et al. (1989), com 83 mães de baixo nível socioeconômico na cidade do Rio de Janeiro no Brasil, do nascimento até nove meses, mostrou diminuição dos níveis de zinco ao longo do seguimento. O folato, que foi suplementado durante o seguimento, também diminuiu apesar da suplementação. Os pesquisadores não encontraram relação entre os indicadores maternos de zinco, ferro, folato e B12 e as respectivas concentrações no leite, apesar do pobre estado nutritivo materno. Em nosso estudo participaram mães de diferentes níveis econômicos, entretanto, essa condição não pareceu afetar a quantidade de zinco observada no leite materno.

Na contramão dos demais estudos, e diferente do que observamos no presente estudo, estão os resultados obtidos por Salmenpera et al. (1994) e Sazawal et al. (1996), que demonstraram aumento significativo de zinco no leite de mães suplementadas.

Sazawal et al. (1996), em estudo realizado com mães indianas recebendo suplementação diária de 20 mg de zinco do primeiro ao sexto mês de lactação, relataram aumento significativo desse mineral no leite os primeiros seis meses de lactação, com valores de 4,46 mg/L, 2,10 mg/L, 1,51 mg/L, 1,06 mg/L, 1,19 mg/L e 1,21 mg/L respectivamente para 1, 2, 3, 4, 5 e 6 meses. Muito embora tenham observado valores mais elevados no grupo suplementado, também ocorreu diminuição progressiva ao longo do tempo de lactação, como em nosso estudo.

Salmenpera et al. (1994) observaram aumento significativo de zinco no leite de mães suplementadas com dose diária de 40 mg de zinco. Essa diferença foi observada apenas após um tempo longo de suplementação, entre 6 a 7,5 meses de uso diário do mineral. No grupo de mães que recebeu 20 mg/dia de suplementação não constataram diferença significativa de zinco no leite. No nosso estudo a suplementação diária de 50 mg de zinco para 18 mães de prematuros, até a idade corrigida dos bebês de 40 semanas, também não resultou em aumento da quantidade de zinco no leite, quando comparamos com a concentração no leite das 20 mães não suplementadas.

Os resultados encontrados na literatura, e no presente estudo, sugerem a existência de mecanismo regulador próprio da glândula mamária, ainda desconhecido. Moore et al. (1984), relatam o caso de um bebê prematuro de 31-32 semanas de gestação, alimentado exclusivamente com leite de sua mãe, e que apresentou deficiência clínica de zinco claramente evidenciada aos 5 meses de vida: diarreia, eritema macular perioral, dermatite perineal resistente a tratamento habitual desde os 2 ½ meses de vida e nível sanguíneo de zinco de 16 µg/dl (normal: 70 µg/dl a 140 µg/dl). Sua mãe apresentava 35 µg/dl de zinco no leite aos 5 meses de lactação, considerado normal para o período (18 a 120 µg/dl). A reposição de zinco para o bebê na dose de 15 mg na forma de sulfato, fez com que houvesse recuperação do quadro no terceiro dia, e remissão total com 10 dias de tratamento.

O caso descrito acima motivou estes pesquisadores a realizar um teste de tolerância ao zinco em 10 mães sadias de bebês prematuros com idade gestacional de 27 a 34 semanas. Foram suplementadas com 60 mg/dia de zinco por duas semanas. Concentrações de zinco no leite e sangue dessas mães foram analisadas antes e ao término do período de suplementação. Em seguida nova suplementação foi realizada por sete dias, com 50 mg, 100 mg e 150 mg/dia de zinco para três, quatro e três mães respectivamente. As análises revelaram aumento de zinco no sangue de todas as mães suplementadas, entretanto no leite não houve aumento significativo em resposta a essa suplementação, independente da dose diária utilizada, fato observado também em nosso estudo.

Moore et al. (1984), avaliaram também as concentrações de cobre no sangue materno e não encontraram diminuição em função da suplementação de zinco. No presente estudo não avaliamos as concentrações sanguíneas maternas de zinco e cobre, entretanto encontramos diminuição de cobre no leite de mães suplementadas. Não temos como relacionar diretamente a menor concentração de cobre no sangue dessas mães, decorrente de menor absorção desse, com a diferença observada. Mas é bem definido na literatura que a maior oferta de um elemento traço pode interferir com a absorção dos demais, uma vez que ocorre no mesmo sítio no duodeno.

É importante reconhecer que a glândula mamária normal não é uma rota de excreção para a ingesta materna excessiva de nutrientes. A concentração de minerais no leite humano não é reflexo direto da dieta materna. A concentração de elementos traço no leite humano é tida como sendo resistente à ingesta desses minerais. Mesmo quando a ingestão dietética de um nutriente é menor que a recomendada, há muito pouco ou nenhum efeito na concentração desse mineral no leite humano, à semelhança do que pudemos observar no presente estudo (DOREA, 2000; CHIERICI et al., 1999; OMS, 1998; FUNG et al., 1997).

Fung et al. (1997), estudando o zinco durante a gravidez e a lactação, observaram que a quantidade no leite humano não é determinada simplesmente pela quantidade de zinco absorvida.

No organismo as reservas de zinco do fígado e dos ossos podem ser outras fontes desse mineral para o leite humano. É possível que mulheres em lactação mobilizem cálcio e zinco dos ossos para atender as necessidades de seus bebês em crescimento. É possível também que as mães suplementadas não aumentem a quantidade de zinco no leite, por aproveitarem esse mineral para repor suas próprias fontes endógenas, como parte de um mecanismo compensador do grande consumo imposto pela gestação e lactação. Essas são hipóteses que merecem ser analisadas por novos estudos da dinâmica de zinco na nutriz.

A dieta das mães participantes no presente estudo foi a do hábito regional, que incluiu carne (bovina e de frango), ovos, leite e derivados de leite diariamente. Durante o período em que os bebês foram acompanhados enquanto internados, as mães receberam dieta nutricionalmente balanceada pelo serviço de nutrição dos hospitais envolvidos no estudo.

Apenas uma mãe das 38 participantes praticava dieta isenta de carne, porém rica em ovos, leite e seus derivados. Essa mãe participou do grupo que recebeu suplementação de zinco, e os níveis desse mineral no seu leite foram semelhantes ao das mães com dieta regional. Questionamos se o fato de não observarmos diferença nos níveis de zinco no leite nas mães do estudo possa estar relacionado com a dieta materna, pois a dieta da região contém alimentos que constituem boas fontes de zinco.

A concentração de zinco no leite materno apresentou grande variabilidade entre as mães do presente estudo. Essa diferença, mostrada pelo desvio padrão, pode ser explicada não só pela variação entre indivíduos, como também pela forma como as mães foram agrupadas para a análise dos dados: foi respeitada a idade pós-natal corrigida dos bebês para haver pareamento de idade no ponto de interrupção do estudo, definido em 40 semanas de idade pós-natal corrigida. No grupo de mães suplementadas, 8 iniciaram o seguimento com 5 a 7 dias de lactação, 9 entre 10 e 17 dias e 2 com um mês. No grupo de mães não suplementadas, 7 iniciaram o seguimento com 5 a 7 dias de lactação, 12 com 8 a 16 dias de lactação e uma com um mês de lactação. Assim, temos mães em diferentes tempos de lactação em cada conjunto de medidas estudadas. O tempo de lactação, em especial o primeiro mês, é o maior determinante da variabilidade do conteúdo de zinco no leite materno. Independentemente da forma como os dados do presente estudo foram agrupados, pode-se observar esse efeito na amostra analisada, pois houve redução estatisticamente significativa do conteúdo de zinco durante o seguimento, como mostram os valores de p para os testes aplicados (ANOVA e pós-teste de TUKEY).

Na tentativa de esclarecer a causa de níveis reduzidos de zinco no leite de algumas mães, foi proposto por Michalczyk et al. (2003) um defeito dos transportadores de zinco da glândula mamária, de origem genética. Esse defeito é observado em ratas apresentando baixos níveis de zinco em seu leite (“leite letal”), o que levou a deficiência sintomática nos filhotes, por defeito no gen ZnT4. Entretanto, o estudo concluiu que o mesmo gen, em humanos, não estaria envolvido no transporte de zinco nas vesículas mamárias destinadas a secretar esse mineral no leite. A hipótese de defeito glandular para explicar a deficiência de zinco observada em alguns bebês não parece ser a melhor opção, embora mereça investigação, uma vez que algumas mulheres apresentam níveis reduzidos de zinco no leite.

A deficiência de zinco observada em alguns bebês de baixo peso, ou mesmo de extremo muito baixo peso, deve-se basicamente a falta de reserva corporal e aporte inadequado, frente a uma situação de alto consumo. Dessa forma, a ingesta torna-se o mecanismo compensador, e a oferta de zinco alimentar adquire grande importância para estes bebês.

Atualmente, à luz dos conhecimentos sobre o leite materno, torna-se inquestionável a importância desse na alimentação do bebê prematuro. Entretanto numa fase de crescimento rápido, é interessante analisarmos se a oferta de determinados nutrientes se adequa às necessidades momentaneamente aumentadas. No presente estudo, observamos que a quantidade de zinco, embora decrescente no decorrer da lactação para os dois grupos de mães, parece ser suficiente para atender a demanda inicial dos bebês. Se considerarmos que os bebês tiveram uma ingesta média de leite materno de 150 ml a 200 ml/kg/dia, podemos inferir à partir das concentrações de zinco analisadas a cada quinzena, o zinco fornecido pelo leite materno, como apresentado na TABELA 11.

A necessidade de zinco para o prematuro segundo a Academia Americana de Pediatria é de 600µg/kg/dia. A ESPGAN (European Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition) recomenda a ingesta de 720 a 1400 µg/kg/dia. Shaw et al., numa revisão sobre o tema, recomenda que prematuros

em dieta enteral recebam 500 a 800 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ de zinco no período de transição até 14 dias de vida; e 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ no período estável ou pós-alta hospitalar. Podemos observar que a oferta média de zinco nas amostras analisadas atende as necessidades estimadas de zinco nessa fase inicial, até as mensurações obtidas na idade pós-natal corrigida de 40 semanas, quando observamos redução nas concentrações de zinco.

TABELA – 11: Quantidade média de zinco ($\text{mg}/\text{kg}/\text{dia}$) fornecida, calculada pelo volume médio de ingestão diária de leite materno ($\text{ml}/\text{kg}/\text{dia}$), para os bebês das mães do estudo, suplementadas ou não suplementadas com zinco.

MEDIDAS SEQUENCIAIS	VOLUME DE LEITE INGERIDO	SUPLEMENTADAS	NÃO SUPLEMENTADAS
M1	150	0,74	0,67
	180	0,88	0,81
	200	0,98	0,90
M2	150	0,75	0,67
	180	0,90	0,81
	200	1,0	0,90
M3	180	0,72	0,76
	200	0,78	0,84
M4	180	0,65	0,49
	200	0,72	0,54
M5	180	0,50	0,43
	200	0,56	0,48

Higashi et al. (1984), entretanto, relatam que independente da oferta de zinco ao bebê prematuro, o balanço positivo e a retenção só iniciam por volta de 36 semanas de idade pós-natal. O requerimento mínimo de zinco para o bebê prematuro na idade pós-natal corrigida de 36 a 40 semanas seria de 0,8 $\text{mg}/\text{kg}/\text{dia}$, para uma retenção de zinco de 250 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$. Essa oferta pode ser atingida no nosso estudo, por cerca de 45 dias de seguimento, como se observa na TABELA 11 em que temos calculada a estimativa da quantidade fornecida de zinco, baseada nos resultados da análise das concentrações de zinco no leite materno por nós realizada.

O leite materno é vantajoso para o prematuro de muito baixo peso. Segundo o estudo de balanço de zinco realizado por Hambidge et al. (1984), a retenção de zinco é maior em bebês alimentados com leite materno, sendo menor a perda fecal e menor também o balanço negativo, quando comparados aos bebês alimentados com fórmula.

É importante ressaltar que o zinco do leite materno é altamente biodisponível e, portanto, melhor absorvido. Esse fato pode ser reiterado pelo estudo de Wauben et al. (1998), que descreveram o estado de zinco de bebês prematuros alimentados com leite materno, de 35 semanas até 12 meses de idade corrigida. Observaram que os prematuros alimentados com leite de sua mãe tinham maior concentração de zinco no cabelo, quando comparados aos alimentados com fórmula, aos 6 e 12 meses de idade. A retenção de zinco, avaliada na fase intra-hospitalar, foi maior no grupo de bebês que recebeu leite materno e aditivo contendo zinco, cálcio, fósforo e proteína em comparação aos alimentados com fórmula para prematuros, porém não refletiu no zinco analisado no cabelo. A avaliação dos dados de peso, comprimento e perímetro cefálico para todos os bebês acompanhados nesse estudo estiveram entre o percentil 3 e 97 da curva de referência para bebês de termo alimentados ao seio, não havendo deficiência de crescimento. Esses autores sugerem que oferta adicional de zinco não parece ser necessária para prematuros alimentados com leite materno.

Friel et al. (1993), em estudo comparando o estado de zinco em bebês prematuros alimentados com fórmula, que tem maior concentração de zinco que o leite materno, observaram que esses bebês apresentaram estado sub-ótimo de zinco. A concentração plasmática de zinco, bem como o crescimento e o desenvolvimento motor, apresentaram melhora apenas após suplementação deste mineral. Esses achados sustentam a idéia de maior biodisponibilidade do zinco no leite materno, contribuindo para sua maior absorção quando comparado às formulas infantis.

No presente estudo observamos que os prematuros apresentaram ganho progressivo de peso, comprimento e perímetro cefálico. Esses ganhos

foram maiores a cada quinzena, tanto para o grupo de bebês que as mães foram suplementadas, como para o de mães não suplementadas. Na contramão desse crescimento esteve a concentração de zinco no leite materno, que diminuiu progressivamente. Essa redução, entretanto, não causou efeito negativo no ganho de peso e no crescimento dos bebês.

Dorea (1993), em estudo de análise de regressão logística, demonstrou que a concentração de zinco e nitrogênio no leite são preditivos do ganho de peso e crescimento linear. Baseado em seus resultados questiona se o zinco não seria um nutriente limitante no crescimento de bebês alimentados exclusivamente com leite materno.

Salmenpera et al. (1994), em estudo de suplementação de zinco para as mães, concluíram que a concentração desse mineral reduziu de forma mais lenta. Observaram que a ingesta de zinco e a concentração desse no sangue dos bebês de seu estudo foi baixa, porém não causaram diminuição no crescimento. Ao contrário, bebês em aleitamento materno exclusivo, com maior velocidade de crescimento e maior ganho de peso, tiveram menores concentrações de zinco no sangue que os bebês com menor velocidade de crescimento.

Prasad (1978), em seu artigo de revisão afirma que o zinco atinge seu menor valor no sangue aos 3 meses de idade, e eleva aos valores do adulto aos 4 meses, em bebês saudáveis e em crescimento adequado.

No presente estudo observamos diminuição nas concentrações de zinco no sangue dos bebês a partir da segunda análise, para os dois grupos, coincidido com a fase de aumento de peso, crescimento linear e perímetro cefálico, à semelhança do estudo de Salmenpera em 1994. Esse achado sugere que o consumo de zinco na fase de crescimento acelerado é grande. Altigani et al. (1989), analisando as concentrações plasmáticas de zinco em bebês prematuros em fase de crescimento acelerado, observaram que a redução de zinco sérico se correlaciona com a fase de rápido crescimento. Também que a velocidade de ganho de peso está correlacionada com o zinco

no sangue. Esse estudo sugere que o crescimento é o principal modulador da concentração plasmática de zinco no bebê prematuro.

Os valores de zinco encontrados nas amostras de sangue dos bebês de nosso estudo, que variaram de $0,73 \pm 0,31$ mg% a $0,68 \pm 0,21$ mg% (grupo mães suplementadas), e $0,67 \pm 0,1$ mg% a $0,57 \pm 0,17$ mg% (grupo de mães não suplementadas) para um tempo de vida pós-natal de 42 a 84 dias; são semelhantes aos descritos por Shaw (1980) em sua revisão sobre zinco e recém-nascido, e que variam de uma média de 88 ± 12 µg/dl aos cinco dias de vida, para 66 ± 8 µg/dl com um mês de vida e 68 ± 9 µg/dl aos 3 meses para bebês de termo. Esses valores estão dentro da faixa de normalidade descrita na literatura, que varia de 60 a 130 µg/dL (0,6 a 1,3 mg%).

Não temos dados para inferir se, em maior tempo, os bebês do presente estudo estariam em deficiência marginal ou clínica de zinco, o que sugere a necessidade de um seguimento mais longo, em particular para bebês prematuros com idade gestacional menor que 30 semanas, pouco representados em nossa amostra.

Walravens et al. (1992), estudando bebês alimentados exclusivamente ao seio, concluíram que aqueles que receberam zinco adicional tiveram crescimento linear e ganho de peso maior, em comparação ao grupo não suplementado. Alertam que em bebês alimentados exclusivamente com leite materno, por tempo superior a 4 meses de vida, a diminuição na velocidade de crescimento resulta parcialmente da ingestão de zinco inadequada.

Bebês prematuros, com idade gestacional de $32 \pm 2,1$ semanas e peso de nascimento de 1704 ± 364 g, suplementados com zinco à partir de 36 semanas de idade corrigida, até a idade pós-natal e 6 meses; apresentaram maiores níveis de zinco eritrocitário, menores níveis séricos de cobre e maior crescimento linear no estudo conduzido por Díaz-Gómez et al. (2003). Esse estudo mostrou um efeito positivo da suplementação a partir do momento em que o balanço de zinco se torna positivo no bebê prematuro. No período inicial

de dois a três meses de vida pós-natal, não observamos falhas no crescimento dos bebês de nosso estudo que não receberam zinco adicional. Entretanto, não temos um grupo em aleitamento materno exclusivo, suplementado com zinco adicional e nas mesmas condições de pareamento, que nos permita avaliar o efeito dessa suplementação.

A literatura é vasta, e os dados conflitantes. A maioria dos estudos tem amostra limitada devido às particularidades inerentes ao bebê prematuro e à dificuldade de lactação satisfatória de sua mãe.

O presente trabalho não pretendeu estabelecer regras definitivas quanto à alimentação do bebê prematuro, em particular no que diz respeito à obrigatoriedade ou não em se repor zinco rotineiramente a todo bebê prematuro. Observamos, pelos dados obtidos, que a utilização do leite materno, como fonte alimentar exclusiva e fonte de zinco, não limitou o ganho de peso e o crescimento dos bebês na fase inicial da vida pós-natal. A suplementação materna não interferiu nesses resultados. É importante lembrar que o zinco não é o único nutriente responsável pelo crescimento e ganho de peso dos bebês; pois a absorção e utilização de outros nutrientes, como a gordura por exemplo, também interferem.

No presente estudo, a redução de cobre no leite foi observada no grupo de mães suplementadas com zinco, na terceira e na quinta medida. Calculando a oferta média de cobre para os bebês prematuros nesses dois momentos, para uma ingesta média de 180 a 200 ml/kg/dia de leite materno, observamos que a oferta média foi de 0,08 a 0,1 mg/kg/dia (suplementadas com zinco) e 0,11 a 0,12 mg/kg/dia (não suplementadas) na terceira medida; e 0,06 a 0,07 mg/kg/dia (suplementadas com zinco), e 0,09 a 0,1 mg/kg/dia (não suplementadas) na quinta medida. A oferta média de cobre inferida à partir dos dados obtidos, no grupo de bebês de mães suplementadas foi menor que a recomendada pela ACADEMIA AMERICANA DE PEDIATRIA, que é de 108 µg/kg/dia; e da recomendação da ESPGAN que é de 117 a 156 µg/kg/dia, para os dois momentos referidos.

Os dados relativos às concentrações de cobre na literatura são mais escassos. Moura (2006) em estudo realizado na cidade de Campo Grande - Mato Grosso do Sul, com mães de bebês de termo, encontrou uma dinâmica linear para o cobre no seguimento de 3, 15 e 30 dias de lactação, com valores muito semelhantes. Diferente desse achado, no presente estudo, com mães de bebês prematuros e período de lactação mais longo, de 6 a 11 semanas, observamos uma fase inicial linear nas duas primeiras medidas, com grande desvio padrão dos valores encontrados; seguida de período de redução progressiva, porém com pequeno desvio padrão. Não sabemos se esse fato se atribui a estarmos trabalhando com mães de bebês prematuros, ou à competição na absorção pela suplementação de zinco, uma vez que para o cobre não se observam diferenças em função do tempo de lactação. Também é possível que a suplementação com zinco faça diminuir a quantidade de cobre, tanto pela ação ao nível dos sensores no estômago, como no nível duodenal, devido à competição dos íons bivalentes por metalotioneína.

A avaliação do estado marginal de zinco ainda permanece como um grande desafio. A dosagem de metalotioneína eritrocitária tem sido estudada como medida do estado de zinco, e parece ser tão expressiva quanto é a dosagem de ferritina para avaliar estados de deficiência de ferro (WOOD, 2000). Estudos em populações de bebês a termo e prematuros devem ser conduzidos para avaliar a utilidade desse marcador na população em questão.

No momento, o único método definitivo para diagnóstico de deficiência marginal de zinco é a observação de resposta clínica e bioquímica à suplementação desse mineral. Bebês prematuros com falha de crescimento e ganho de peso, mesmo que alimentados com leite materno, merecem especial atenção quanto à necessidade de reposição de zinco.

Novos estudos, com população maior que incluam prematuros de extremo baixo peso, e tempo de seguimento mais longo, talvez possam responder as questões que permanecem em aberto.

VII. CONCLUSÕES

VII. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos das análises do conteúdo dos elementos traço zinco e cobre, no leite de mães de bebês prematuros suplementadas e não suplementadas com zinco na dose diária de 50 mg, e no sangue dos seus bebês, permitem as seguintes conclusões:

1 _ As mães que receberam a suplementação diária de zinco não apresentaram aumento da concentração de zinco no leite ao longo de todo o período de seguimento, quando comparadas com o grupo de mães não suplementadas. Portanto, a suplementação de zinco, na dose de 50 mg, não alterou a secreção desse elemento traço no leite de mães de bebês prematuros.

2 _ A concentração de zinco no leite das mães suplementadas e não suplementadas com zinco, diminuiu ao longo do tempo de lactação. Observamos uma diminuição mais gradual no leite das mães que foram suplementadas, porém sem diferença significativa. Esse fato talvez possa ser melhor avaliado com um período mais longo de suplementação, superior ao deste estudo.

3 _ A concentração do cobre no leite das mães suplementadas com zinco foi significativamente menor em duas medidas, que no de mães não suplementadas. Observamos uma tendência à mesma diferença nas demais medidas. Esse dado deve ser considerado quando da suplementação materna isolada de zinco, pois a oferta isolada de um elemento traço afeta a absorção dos demais. Novo estudo, com suplementação de cobre e zinco, deve ser conduzido para avaliar a adequada oferta também de cobre à mãe e seu bebê.

4 _ Não foi observado diferença significativa no ganho de peso, no crescimento linear (comprimento) e no perímetro cefálico dos bebês dos dois grupos, o de filhos de mães suplementadas e o de não suplementadas. Para todos os bebês observamos ganho ponderal e crescimento progressivo, maior a cada quinzena de seguimento.

5 _ Os valores de zinco no sangue dos bebês prematuros são semelhantes para os dois grupos, o de bebês filhos de mães suplementadas e o de não suplementadas. Ao longo do seguimento observamos diminuição progressiva dos valores no soro dos bebês.

***VIII. REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS***

VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANS, S.A.; WEN, J.; STUFF, J.E. Absorption of calcium, zinc and iron from breast milk by five to seven month old infants. **Pediatric Research**, v.39, n.3, p. 384-390, 1996.
- AGGETT, P.J. Aspects of neonatal metabolism of trace metals. **Acta Paediatr.**, v. 402, p.75-82, 1994.
- AGGETT PJ. Severe zinc deficiency. In: **Mills CF (ed) Zinc in human biology**. Springer, Berlin Heidelberg New York, p. 259 - 279, 1989.
- AGETT, P.J.; ATHERTON, D.J.; MORE, J.; DAVEY, J.; DELVES, H.T.; HARRIES, T. Sintomatic zinc deficiency in a breastfed preterm infant. **Arch. Dis. Child.**, v. 55; p. 547-550, 1980.
- AL-AWADI FM, SRIKUMAR TS. Trace element status in milk and plasma of Kuwaiti and non - Kuwaiti lactating mothers. **Nutrition**, v. 16, p.1069–1073, 2000.
- ALTIGANI,M.; MURPHY, J.P.; GRAY, P. Plasma zinc concentration and catch-up growth in preterm infants. **Acta Paediatr.**, v. 35, p. 20-33, 1989.
- AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS. Committee on nutritional needs for low-birth-weight infants. **Pediatrics**, v. 75, n. 6, p. 976-986, 1985.
- Atomic absorption spectromity. **Theory, design and applications**. Haswell ST editor. New York: Elsevier; 1991.
- BAKER,D.H.; AMMERMAN, C.B. Zinc bioavailability. **Bioavailability of Nutriente for Animals: Aminoacid, Minerals and Vitamins**, p. 367-389, 1995.

- BALLARD, J.L.; KHOURY, J.C.; WEIDIG, K.; WANG, L.; EILERS-WAISMAN B.L., LIPP, R. New Ballard score, expanded to include extremely premature infants . **J. Pediatr.**, v. 119, p. 417-23, 1991.
- BHUTTA, Z.A.; KHAN, I. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy (Protocol for a Cochrane Review). In: **The Cochrane Library**, Issue 1, 2006. Oxford: Update Software.
- BILINSKI, D.L.; EHRENKRANS, R.A.; COOLEY-JACOBS, J.; McGUIRE, J. Symptomatic zinc deficiency in a breast-fed premature infant. **Arch. Dermatol.**, v. 123, p. 1221-1224, 1987.
- BORTOLOZO, E.A.F.Q.; TIBONI, E.B.; CÂNDIDO, L.M.B. Leite humano processado em bancos de leite para o recém-nascido de baixo peso: análise nutricional e proposta de um novo complemento. **Rev. Panam. Salud Publica**, v.16, n. 3, p.199-205, 2004.
- BUEHNING, L.J. & GOLTZ, R. W. Acquired zinc deficiency in a premature breast-fed infant. **Am. J. Acad. Dermatol.**, v. 28, p. 499 - 501, 1993.
- CANADIAN PAEDIATRIC SOCIETY – NUTRITION COMMITTEE. Nutrient needs and feeding of premature infants. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 1, n. 152, p. 1765-1785, 1987.
- CASEY, C.E.; HAMBIDGE, K.M; NEVILLE, M.C. Studies in human lactation: zinc, cooper and chromium in human milk in the first month of lactation. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 41, p. 1193-1200, 1985.
- CASEY, C.E.; NEVILLE, M.C.; HAMBIDGE, K.M. Studies in human lactation: secretion of zinc, copper and manganese in human milk. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 49, p. 773-785, 1989.

- CAUFIELD, L.E.; ZAVALETA, N.; FIGUEROA, A. Adding zinc to prenatal iron and folate supplements improves maternal and neonatal zinc status in a Peruvian population. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 69, p. 1256-63, 1999.
- CAUFIELD, L.E.; ZAVALETA, N.; SHANKAR, A.; MERIALDI, M. Potential contribution of maternal zinc supplementation during pregnancy for maternal and child survival. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 68, p. 499-508, 1998.
- COLLIP, P.J.; KUO, B.; CASTRO-MANGANA, M.; CHEN, S.Y.; SALVATORA, S. Hair zinc, scalp hair quantity, and diaper rash in normal infants. **Cutis**, v. 35, n. 1, p. 66-70, 1985.
- CONNORS, T.J.; CZARNECKI, D.B.; HASKETT, M.I. Acquired zinc deficiency in a breast-fed premature infant. **Arch. Dermatol.**, v. 119, p. 319-321, 1983.
- CHIERICI, R.; SACCOMANDI, D.; VIGI, V. Dietary supplements for the lactating mother: influence on the trace element content of milk. **Acta Paediatr. Suppl**, Aug, v. 88, n. 430, p. 7-13, 1999.
- DÍAZ-GOMES, N.M.; DOMENÉCH, E.; BARROSO, F.; CASTELLS, S.; CORTABARRIA, C.; JIMÉNEZ, A. The effect of zinc supplementation on linear growth, body composition and growth factors in preterm infants. **Pediatrics**, v. 111, n. 5, p. 1009, 2003.
- DONANGELO, C.M.; TRUGO, N.M.F.; KOURY, J.C.; BARRETO SILVA, M.I.; FREITAS, L.A.; FELDHEIM, W.; BARTH, C. Iron, zinc, folate and vitamin B12 nutritional status and milk composition of low-income Brazilian mothers. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 43, p. 253-266, 1989.
- DOREA, J.G. Zinc in human milk. **Nutr. Res.**, v. 20, n. 11, p. 1645-1687, 2000.
- DOREA, J.G.; BRITO, M.; ARAUJO, M. Concentration of copper and zinc in liver of fetuses and infants. **J. Am. Coll. Nutr.**, v. 6, p. 491- 495, 1987.

apud: DOREA, J.G. Zinc in human milk. **Nutr. Res.**, v. 20, n. 11, p. 1645-1687, 2000.

DOREA, J.G. & OLSON, J.A. The rate of rhodopsin regeneration in the bleached eyes of Zn deficient rats. **J. Nutr.**, v. 16, p.121-127, 1986. **apud:** DOREA, J.G. Zinc in human milk. **Nutr. Res.**, v. 20, n. 11, p. 1645-1687, 2000.

DORNER, K.; DZIADZKA, S.; HOHN, A.; SIEVERS, E.; OLDIGS, H.D.; SCHULS-LELL, G.; SCHAUB, J. Longitudinal manganese and copper balances in young infants and preterm infants fed on breast milk and adapted cow's milk formulas. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 49, n. 5 , p. 773-85, 1989.

ESPGAN – Committe on nutrition of the preterm infant: Nutrition and feeding of preterm infants. **Acta Paediatr. Scand.**, v. 78, Supl. 336, p. 2-14, 1987.

EVANS, G.W. & JOHNSON, P.E. Characterization and quantitation of a zinc-binding ligand in human milk. **Pediatr. Res.**, v. 14, n. 7, p. 876-880, 1980.

FRANSSON, G.B.; LONNERDAL, B. Zinc, copper, calcium, and magnesium in human milk. **J. Pediatr.**, v. 101, p. 504-508, 1982.

FRANSSON, G.B. & LONNERDAL, B. Iron, copper, zinc, calcium, and magnesium in human milk fat. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 39, p. 185-189, 1984.

FRANSSON, G.B. & LONNERDAL, B. Distribution of trace-elements and minerals in human and cow's milk. **Ped. Res.**, v.17, n.11, p. 912-915, 1983.

FRIEL, J.K.; ANDREWS, W.L.; MATTHEW, J.D. Zinc supplementation in very-low-birth-weight infants. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 17, p. 97–104, 1993.

- FRIEL, J.K.; ANDREWS, W.L.; JACKSON, S.E.; LONGERICH, H.P.; MERCER, C.; MCDONALD, A.; DAWSON, B.; SUTRADHAR, B. Elemental composition of human milk from mothers of premature and full-term infants during the first 3 months of lactation. **Biol. Trace Elements Research**, v.67, n. 3, p. 225–47, 1999.
- FUNG, E.B.; RITCHIE, L.D.; WOODHOUSE, L.R.; ROEHL, R.; KING, J.C. Zinc absorption in women during pregnancy and lactation: a longitudinal study. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.66, p. 80-8, 1997.
- GARZA, C.; JOHNSON, C.A.; O'BRIEN, E.; NICHOLS, B. Changes in the nutrient composition of human milk during gradual weaning. **Am. J. Clin. Nutr.** , v. 37, p. 61-65, 1983.
- GLOVER, M.T.; ATHERTON, D.J. Transient zinc deficiency in two full-term breast-fed siblings associated with low maternal breast milk zinc concentration. **Pediatr. Dermatol.**, v.5, n.1, p.10-13, 1985.
- GOUVÊA, L.C. **Zinco, ferro e cobre no colostro de mães adolescentes eutróficas e desnutridas de dois níveis sociais**. São Paulo, 1998, 141p. Tese de doutorado. Universidade Federal de São Paulo. Escola Paulista de Medicina.
- GUIMARÃES, A.B. **Zinco no leite de mães suplementadas**. Brasília, 2002, 64 p. Tese de doutorado. Universidade Federal de Brasília. Faculdade de Medicina.
- HEINEN, F.; MATERN, D.; PRINGSHEIM, W.; LEITITIS, J.U.; BRANDIS, M. Zinc deficiency in an exclusively breast-fed preterm infant . **Eur. J. Pediatr.**, v. 154, p. 71- 75, 1995.
- HEIMALATHA, P.; BHASKARAM, P.; KUMAR, P.A.; MOINUDDIN, M. K.; AMINUL, M.I. Zinc status of breastfed and formula-fed infants of different gestacional ages. **J. Trop. Ped.**, v.43, p. 52–54, 1997.

- HIGASHI, A.; IKEDA, T.; IRIBE, K.; MATSUDA, I. Zinc balance in premature infants given the minimal dietary zinc requirement. **J. Pediatr.**, v.1, n.12, p. 262-266, 1988.
- KARRA, M.V.; KISKSEY, A.; GALAL, O.; BASSILY, N.S.; HARRISON, G.G.; JEROME, N.W. Effect of short term zinc supplementation on the concentration of zinc milk of American and Egyptian women. **Nutr. Res.**, v.9, p. 471- 478, 1989.
- KARRA, M.V.; KIRKSEY, A.; GALAL, O.; HARRISON, G.G.; JEROME, N.W. Zinc, calcium and magnesium concentrations in milk from American and Egyptian women throughout the first 6 months of lactation. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.47, n.4, p. 642-648, 1988.
- KARRA, M.V., KIRKSEY, A. Variation in zinc, calcium and magnesium concentrations of human milk within a 24-hour period from 1 to 6 months of lactation. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v.7, n.1, p. 100-106, 1988.
- KREBS, N.F. Zinc transfer to the breastfed infant. **J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia**, v.4, n.3, p. 259 – 68, 1999.
- KREBS, N.F.; REIDINGER, S.; HARTLEY, A.D.R.; HAMBIDGE, K.M. Zinc supplementation during lactation: effects on maternal status and zinc milk concentrations. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.61, p. 1030-1036, 1995.
- KREBS, N.F.; REIDINGER, C.J.; MILLER, L.V.; HAMBIDGE, K.M. Zinc homeostasis in breast-fed infants. **Pediat. Res.**, v.39, n.4, p. 661- 5, 1996.
- KOSHOO, V.; KJARSGAARD, J.; KRAJCHICK, B.; SLOTKIN, S.H. Zinc deficiency in a full-term breast-fed infant: unusual presentation. **Pediatrics**, v. 89, p.1094- 1095, 1992.
- KUMAR, S.P.; ANDAY, E.K. Edema, hypoproteinemia and zinc deficiency in low birth weight infants. **Pediatrics**, v.73, p. 327-329, 1984.

- KURAMOTO, Y.; IGASHI, Y.; TAGAMI, H. Acquired zinc deficiency in breastfed infants. **Semin. Dermatol.**, v. 10, p. 309 - 12, 1991.
- KURAMOTO, Y.; IGARASHI, Y., KATO, S.; TAGAMI, H. Acquired zinc deficiency in two breast-fed mature infants. *Acta Derm. Venereol.*, v.66, n.4p, X9-361, 1986.
- LOMBECK, I. The clinical significance of trace element in childhood. **Ergeb. Inn. Méd. Kinderheilk**, v. 44, p. 1-35, 1980.
- LÖNNERDAL B. Biochemistry and physiological function of human milk proteins. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.42, p.1299 - 317, 1985.
- LÖNNERDAL B. Concentrations, compartmentation, and bioavailability of trace elements in human milk and infant formula. **In: CHANDRA R J (ed) - Trace elements in nutrition of children – II , Nestlé nutrition workshop series, 23:** 153–171, Vevey / Raven Press, 1991.
- LÖNNERDAL B. Effects of milk and milk components on calcium, magnesium and trace element absorption during infancy. **Physiol. Rev.**, v.77 p. 643 - 69, 1997.
- LÖNNERDAL, B.; KEEN, C.L.; HURLEY, L.S. Iron, copper, zinc and manganese in milk. **Am. Rev. Nutr** , v.1, p.149- 4, 1981.
- LONNERDAL, B.; STANISLOWSKI, A.G.; HURLEY, L.S. Isolation of a low molecular weight zinc binding ligand from human milk. **J. Inorg. Biochem.**, v. 12, n.1, p. 71-78, 1980.
- MARET, W. & SANDSTEAD, H.H. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. **J. Trace Ele. Med. Biol.**, v.20, p. 3-18, 2006.
- MARMET C. Extração manual do leite materno: técnica de Marmet . Tradução da UNICEF. **In: ALEITAMENTO materno: separata para profissionais.**

Los Angeles, La Leche League International , 1981 (Folheto informativo, 27).

MARTIN, M.T.; JACOBS, F.A.; BRUSHMILLER, J.G. Identification of copper- and zinc-binding ligands in human and bovine milk. **J. Nutr.**, v.14, n.5, p. 869-879, 1984.

MENDELSON RA, BRYAN MH, ANDRESON GH. Trace mineral balances in preterm infants fed their own mother's milk. **J. Ped. Gastroenterol. Nutr.**, v. 2, p. 256-261, 1983.

MICHALCZYK, A.; VARIGOS, G.; CATTO-SMITH, A.; BLOMELEY, R.C.; ACKLAND, M.L. Analysis of zinc transporter, hZnT4 (Slc 30A4), gene expression in a mammary gland disorder leading to reduced zinc secretion into milk. **Hum. Genet.**, v. 113, p. 202 – 210, 2003.

MILNER, J.A. Trace minerals in nutrition of children. **J. Pediatr.**, v.117, p. 3147-3154, 1990.

MOORE, M.E.C.; M.S.N., R.D.; MORAN, J.R.; GREENE, H.L. Zinc supplementation in lactating women: evidence for mammary control of zinc secretion. **J. Pediatr.**, v.103, n.4, p. 601-603, 1984.

MORAN JR; COURTNEY ME; MURREL J; GREENE HL. Effect of oral zinc supplementation in zinc content in breast milk. **Clin. Res.**, v.30, p. 887A, 1982 (Abstract).

MOSER-VEILLON, P.B. Zinc needs and homeostasis during lactation. **Analyst**, v.120, p. 895-897, 1995.

MOSER-VEILLON, P.B.; REYNOLDS, D.R. A longitudinal study of pyridoxine and zinc supplementation of lactating women. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.52, p. 135-141, 1990.

- MOURA A.J.C.M. **Determinação de elementos traço no leite materno em Campo Grande, Mato Grosso do Sul.** Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2006, 97p. Tese de doutorado, convênio Rede Centro-Oeste – UNB/UFG/UFMS.
- MURPHY, J.F.; GRAY, O.P.; RENDALL, J.R.; HANN, S. Zinc deficiency: a problem with preterm breast milk. **Early Hum. Dev.**, v. 10, n. 3-4, p. 303-7, 1985.
- NAQVI, M., CARROLL, A.L.; McCUE, W., HABERSANG R. Zinc deficiency in a breast-fed infant. **Tex. Med.**, v.83, n.10, p. 43-44, 1987.
- NEVILLE, M.C.; KELLER, R.P.; SEACAT, J.; CASEY, C.E.; ALLEN, J.C.; ARCHER, P. Studies on human lactation. Within-feed and between-breast variation in selected components of human milk. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 40, n.3, p. 635-46, 1984.
- NICHOLS, B.L. & NICHOLS, V.N. Nutritional physiology in pregnancy and lactation. **Adv. Pediatr.**, v.30, p. 475-515, 1983.
- NISHI, Y. Zinc and growth. **J. Am. Col. Nutr.**, v.15, n.4, p. 340-344, 1996.
- NIELSEN FH. Trace and ultratrace elements in health and diseases. **Compr. Ther.**, v.17, p. 20-6, 1991.
- NIEMI, K.M.; ANTILA, P.H.; KANERVA, L.; JOHANSSON, E. Histopathological study of transient acrodermatitis enteropathica due to decreased zinc in breast milk. **J. Cutan. Pathol.**, v.16, p. 269-273, 1989.
- NÓBREGA, F.J. **Human milk composition.** São Paulo, Revinter, 1996, 236p.
- OBLADEN, M.; LOUI, A.; KAMPMANN, W.; RENZ, H. Zinc deficiency in rapidly growing preterm infants. **Acta Paediatr.**, V.87, p. 685-91, 1988.

- OKOLO, S.N.; ONWUANAKU, C.; OKONJI, M.; VANDERJAGT, D.J.; MILLSON, M.; CHURCHWELL, C.; GLEW, R.H. Concentration of eight trace minerals in milk and sera of mother-infant pairs in northern Nigeria. **J. Trop. Pediatr.**, v.46, n. 3, p. 160-162, 2001.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Alimentação infantil: Bases fisiológicas**. Genebra, OMS, 1989, 97 p.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**, tradução: WHO – Trace elements in human nutrition and health, Genebra, 1996, 297p, editora ROCA, Brasil, 1998.
- ORTEGA, R.M.; ANDRES, P.; MARTINEZ, R.M.; LOPEZ-SOBALER, A.M.; QUINTAS, M.E. Zinc levels in maternal milk: the influence of nutritional status with respect to zinc during the third trimester of pregnancy. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v.5, n.1, p.253-248, 1997.
- PABON, M. L. & LÖNNERDAL B. Bioavailability of zinc and its binding to casein in milks and formulas. **J. Trace Elem. Med. Biol.**, v.14, n.3, p.146, 2000.
- PARKER, P.H.; HELINEK, G.L.; MENNELY, R.L.; STROOP, S.; GHISHAN, F.K.; GREENE, H.L. Zinc deficiency in a premature infant fed exclusively human milk. **Am. J. Dis. Child.**, v.136, n.77-78, 1982.
- PRASAD AS, AUGUST MIALE JR, FARID Z, SANDSTEAD HH, SCHULERT AR. Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism. **J. Lab. Clin. Med.**, v.61, n.4, p. 537-539, 1963.
- REIFEN, R.M. & SLOTKIN, S.H. - Microminerals. In: TSANG R.C.; LUCAS, A.; UAY, R; et al. (eds): **Nutritional needs of preterm infant**. Baltimore, WILLIAMS & WILKINS, 195-207, 1997.

- RODRIGUEZ RODRIGUEZ E M, SANZ ALAEJOS M, DIAZ ROMERO C. Concentrations of iron, copper and zinc in human milk and powdered infant formula. **Int J Food Sci Nutr**, v.51, n.5, p.373–80, 2000.
- ROTHER, E.T. & BRAGA, M.E.R. **Como elaborar sua tese: Estrutura e referências**. -- São Paulo, 2001. x, 86p.
- SHAW IC. Trace elements in the fetus and young infants. **Am. J. Dis. Child.**, v.133, p.1260-1266, 1979.
- SANDSTROM, B.; DAVIDSON, L.; LEDERBLAD, A.; et al. Zinc absorption from human milk, cow's milk and infant formula. **Am. J. Dis. Child.**, v.137, p. 726–729, 1983.
- SESHADRI, S. Prevalence of micronutrient deficiency particularly of iron, zinc and folic acid in pregnant women in South East Asia. **B. J. Nutr.**, v.28, n.2, p.S87-S89, 2001. (Suplemento).
- SHARDA B, ADHIKARI R, AJMERA M, GAMBHIR R, SING PP. Zinc and copper on preterm neonates: relationship with breast milk. **Indian J Pediatr**, v.66, n. 5, p. 685–95, 1999.
- SCHANLER, R.J. Conveniência do leite humano para o neonato de baixo peso. **Clin. Perinatol.**, v.1, p.209 – 224, 1995.
- SCHANLER, R.J.; SHULMAN, R.J.; LAU, C. Feeding strategies for premature infants: beneficial outcomes of feeding fortified human milk versus preterm formula. **Pediatrics**, v.103, p.1150-1157, 1999.
- SHAW, J.C.L. Trace elements in the fetus and young infant. I. Zinc. **Am. J. Dis. Child.**, v.133, p.1260 - 1268, 1979.

- SHAW, J.C.L. Trace elements in the fetus and young infant. II. Copper, manganese, selenium and chromium. **Am. J. Dis. Child.**, v.134, p.74-8, 1980.
- SHORES, J.T.; VANDERJAGT, D.J.; MILSON, M.; HUANG, Y.; GLEW, R.H. Correlation between the content of intermediate chain length fatty acids and copper in the milk of Fulani women. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, v.63, n.4, p.203-207, 2000.
- SHOTT, S. **Statistics for health professionals**. London: W.B. Saunders Company, 1990.
- SILVESTRE, M. D.; LAGARDA, M. J.; FARRE, R.; MARTINEZ-COSTA, C.; BRINES, J.; MOLINA, A.; CLEMENTE G. A study of factors that may influence the determination of copper, iron, and zinc in human milk during sampling and in sample individuals. **Biol. Trace Elem. Res**, v.76, n.3, p. 217-27, 2000.
- SOUZA, M.S.F. Elementos-traço. In: FEFERBAUM, R. & FALCÃO, M.C. **Nutrição do recém-nascido**. São Paulo, Atheneu, 2003, p. 179-205.
- STEVENS, J. & LUBITZ, L. Symptomatic zinc deficiency in breast-fed term and premature infants. **J. Paediatr. Child. Health**, v.34, n.1, p.97-100, 1998.
- TRINDADE, C.E. Importância dos minerais na alimentação do pré-termo extremo. **J. Pediatr.**, v.81, n.1, p.S43.(Suplemento)
- TRUGO, N.M.F.; DONANDELO, C.M.; KOURY, J.C.; BARRETO SILVA, M.I.; FREITAS, L.A. Concentration and distribution pattern of selected micronutrients in preterm and term milk from urban Brazilian mothers during early lactation. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v.42, p. 497-507, 1988.
- UNSTUNDAG, B.; YILMAZ, E.; DOGAN, Y.; AKARSU, S.; CANATAN, H.; HALIFEOGLU, I.; CIKIM, G.; AYGUN, AD. Levels of cytokines (IL-1beta, IL-

- 2, IL-6, IL-8, TNF-alfa) in breast milk from mothers of preterm and term infants. **Mediators Inflamm.**, v.14, n.6, p.331-336, 2005.
- VUORI, E. & KUITUNEN, P. The concentrations of copper and zinc in human milk. **Acta Paediatr. Scand.**, v.68, p.33-37, 1979.
- VUORI, E.; MAKINEN, R. K.; KUITUNEN, P. The effects of dietary intakes of copper, iron, manganese and zinc on the trace element content of human milk. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.33, p.227 - 231, 1980.
- WALRAVENS P A. Nutritional importance of copper and zinc in neonates and infants. **Clin Chem**, **26**: 185 - 189, 1980.
- WASTNEY, M.E.; ANGELUS, P.A.; BARNES, R.M.; SUBRAMANIAN, K.N.S. Zinc absorption, distribution, excretion and retention by healthy preterm infants. **Pediatr. Res.**, v.45, n.2, p.191-196, 1999.
- WAUBEN, I.; GIBSON, R.; ATKINSON, S. Premature infants fed mother's milk to 6 months corrected age demonstrate adequate growth and zinc status in the first year. **Early Hum. Dev.**, v.54, p. 181-194, 1999.
- WEYMOUTH, R.D.; KELLY, R.; LANDSDELL, B.J. Symptomatic zinc deficiency in a premature infant. **Aust. Paediatr. J.**; v.18, p.208 - 210, 1982 .
- WIDDOWSON, E.M.; DAUNCEY, J.; SHAW, J.C.L. Trace elements in foetal and early postnatal development. **Proc. Nutr. Soc.**, v.33, p.275, 1974.
- ZIMMERMANN AW, HAMBIDGE KM, LEPOW M L, GREENBERG R D, STOVER ML, CASEY CE. Acrodermatitis in breast-fed premature infants: evidence for a defect of mammary zinc secretion. **Pediatrics**, v.69, p.176-183, 1982.
- ZLOTKIN SH, ATKINSON S, LOCKITCH G. Oligoelementos na nutrição de neonatos prematuros. **Clin. Perinatol.**, v.1, p.225 - 43, 1995.

ZLOTKIN, S.H. & CHERIAN, G. Hepatic metallothionein as a source of zinc and cysteine during the first year of life. **Pediatr. Res.**, v.24, p.326-329, 1988.

IX. ANEXOS

IX . ANEXOS

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____ declaro estar de acordo em participar do estudo até a idade de termo de meu bebê e permito, de livre e espontânea vontade e sem recebimento de recompensa, a coleta de amostra de meu leite em volume não superior a 30ml, bem como a coleta de sangue do meu bebê, com o intuito de que seja analisado laboratorialmente, para determinação da composição de oligoelementos .

Estou ciente que poderei deixar de participar do estudo assim que o desejar, sem prejuízo ao meu tratamento e de meu bebê.

Autorizo a utilização dos dados pela pesquisadora e pela instituição, com o objetivo de divulgação em meio científico .

Campo Grande , de de 200

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, _____ declaro estar de acordo em receber suplementação oral de zinco , até a idade de termo de meu bebê e permito, de livre e espontânea vontade e sem recebimento de recompensa, a coleta de amostra de meu leite em volume não superior a 30ml, bem como o seguimento e a coleta de sangue do meu bebê, com o intuito de que seja analisado laboratorialmente, para determinação da composição de oligoelementos .

Estou ciente que poderei deixar de participar do estudo assim que o desejar, sem prejuízo ao meu tratamento e de meu bebê.

Autorizo a utilização dos dados pela pesquisadora e pela instituição, com o objetivo de divulgação em meio científico .

Campo Grande , de de 200

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Mãe, você está sendo convidada para participar dessa pesquisa e eu gostaria muito que, antes de tomar sua decisão, que você lesse muito bem o que está escrito abaixo. Caso você tenha alguma dúvida do que leu, estou à sua disposição.

Esse estudo está sendo realizado sob a responsabilidade da Dra Carmen Figueiredo.

Bebês prematuros, em especial aqueles que nascem com menos de 35 semanas de gravidez, necessitam de um bom suporte nutricional para se desenvolverem. Dentro do útero recebem os nutrientes já prontos, na medida certa, pela placenta. Quando nascem antes do tempo os bebês precisam receber esses nutrientes pela alimentação, e o leite da mãe é o melhor alimento que dispomos. Alguns minerais são muito importantes no crescimento do bebê, sendo o zinco essencial para o ganho de peso e crescimento. Os bebês prematuros precisam receber esse mineral na forma de medicamento, para um bom crescimento. Então, ao invés de dar o remédio ao bebê, que muitas vezes se recusa a tomar devido ao sabor ou mesmo não consegue fazer uma boa absorção desse mineral no intestino, podemos dar para a mãe. Dessa forma uma maior quantidade de zinco sairá no seu leite, facilitando a absorção no intestino do bebê e ajudando no crescimento e ganho de peso.

Todas as mães de bebês prematuros podem participar desse estudo.

A mãe que participar irá fazer coleta de leite para análise dos minerais, a cada quinze dias, até a data prevista para o nascimento de seu bebê, que também irá fazer exame de sangue para análise de zinco, na mesma época da mãe.

Participarão quinze mães e bebês no grupo que vai receber a suplementação de zinco, e quinze mães e bebês no grupo que não vai receber a suplementação.

Não há conhecimento de efeitos ruins causados pela oferta de zinco, uma vez que eles já fazem parte da composição de vários complementos vitamínicos usados em nosso meio.

Todas as mães e bebês que participarem do estudo serão atendidos no Hospital Universitário, e seu estado de saúde será acompanhado pela pesquisadora.

Os resultados dos exames serão do conhecimento apenas da pesquisadora. A mãe será informada dos resultados dos exames sempre que desejar.

No caso de dúvida você poderá ligar para o HU e falar com a pesquisadora pelo telefone 33453247 ou 33453113, nos dias da consulta de seu bebê ou, ainda conversar pessoalmente, na UTI-NEONATAL pela manhã..

Sua participação é voluntária e não tem fins lucrativos. Você pode sair do estudo quando desejar, não perdendo o direito de continuar a ser atendida n HU-UFMS.

Se você concorda em participar do estudo, e não tem nenhuma dúvida sobre a sua realização, peço que assine o termo de consentimento, em duas vias. Uma via é sua, e fica com você.

ANEXO 2

PROTOCOLO DE SEGUIMENTO DA PESQUISA

Nº

NOME DA MÃE

IDADE MATERNA

ENDEREÇO

FONE CONTATO: CEL-

FIXO-

LOCAL DE NASCIMENTO

DATA

HORA

HOSPITAL

CAUSA DO PARTO PREMATURO

NOME DO RECÉM-NASCIDO

SEXO

DUM

CAPURRO

BALLARD

TIPO DE PARTO

PESO DO RN AO NASCIMENTO

PESO DE ALTA

IDADE DE INÍCIO DA DIETA PLENA COM LEITE MATERNO: _____

DIAS

VALORES DOS OLIGOELEMENTOS NO LEITE MATERNO

DATA COLETA	ZINCO (mg%)	COBRE (mg%)

VALORES DE ZINCO NO SORO DO RN

DATA COLETA	ZINCO (mg%)

AVALIAÇÃO DO RN

DATA COLETA	PESO	COMPRIMENTO	PC
NASCIMENTO			
ANTROPOMETRIA 1			
ANTROPOMETRIA 2			
ANTROPOMETRIA 3			
ANTROPOMETRIA 4			
ANTROPOMETRIA 5			

ANEXO 3

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COORDENADORIA DE PESQUISA**

PARECER DA COMISSÃO DE PESQUISA

Número: 007/05

Data: 14/02/2005

De: Chefe da Coordenadoria de Pesquisa - CPq/PROPP

De: Presidente da Comissão de Pesquisa - CP/PROPP

Para: Prof. CARMEN SILVIA M. DE FIGUEIREDO

Depto: DPD/CCBS

Orientador: Prof. DURVAL BATISTA PALHARES

Projeto n°: 2005/0010

Prazo de execução: **Início:** 03/2004

Término: 12/2005

Título do Projeto:

"SUPLEMENTO DE OLIGOELEMENTOS - ZINCO, COBRE E MANGANÊS - EM MÃES DE BEBÊS PRÉ-TERMO COM PESO DE NASCIMENTO INFERIOR A 1.500g".

Tese para obtenção do título de Doutor.

SUBMETTER PROJETO AO COMITÊ DE ÉTICA *Humanos* *Animais* *CTBIO*

APROVADO *PRORROGADO* *INTERROMPIDO* *CANCELADO* *CONCLUÍDO*

REFORMULAR

Observação:

A Comissão de Pesquisa analisou o presente Projeto de Pesquisa e deliberou pelo seu cadastramento.


Profª Drª Célia Maria da Silva Oliveira
Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação


Profª Drª Marize Terezinha L. P. Peres
Chefe da Coordenadoria de Pesquisa/PROPP

ANEXO – 4: Características de idade materna (ID MÃE), idade gestacional (IG RN), dias para dieta plena, peso (P NTO), comprimento (COMP NTO) e perímetro cefálico (PC NTO) das mães suplementadas com zinco e de seus bebês ao nascimento.

CASO	ID MÃE (anos)	IG RN (semanas)	DIAS DIETA PLENA (dias)	P NTO (g)	COMP NTO (cm)	PC NTO (cm)
1	28	32	11	1395	36	30
2	17	31	10	1675	40	28
3	19	34	05	1995	43	31
4	20	30	17	1120	37	27
5	26	33	05	1690	44	31
6	18	34	10	2005	42,5	28
7	23	28	42	915	33	25
8	20	27	47	1090	39	26,5
9	20	31	06	1665	40	29
10	22	34	05	2000	42	32
11	22	33	10	2085	43	32
12	16	34	06	1440	40	30
13	35	34	05	2130	44	28
14	26	32	13	1930	41	30
15	28	34	05	1730	43	30
16	22	32	05	1670	40,5	27
17	33	33	07	2400	45	34
18	26	32	14	1615	40	29,5

ANEXO – 5: Características de idade materna (ID MÃE), idade gestacional (IG RN), dias para dieta plena, peso (P NTO), comprimento (COMP NTO) e perímetro cefálico (PC NTO) das mães não suplementadas e de seus bebês ao nascimento.

N ESTUDO	ID MÃE (anos)	IG RN (semanas)	DIAS DIETA PLENA (dias)	P NTO (g)	EST NTO (cm)	PC NTO (cm)
1	24	31	11	1445	40	28
2	28	31	10	1507	41	30
3	25	32	12	2070	43	31
4	14	33,5	14	1315	42	26,5
5	33	31	08	1620	41	31
6	35	32	13	1785	41	28
7	33	29	17	1010	33	23
8	18	33	11	1765	43	30
9	29	32	07	1654	43	30,5
10	24	31,5	12	1405	38	27,5
11	21	32,2	12	1410	40	29,5
12	22	32	15	1685	42	30
13	36	32	12	1940	44	31
14	22	33	08	1825	41	30
15	26	33	06	1925	41	30
16	23	34	15	1550	41	30
17	29	32	06	1435	39	28
18	26	33	06	1690	41	30
19	26	30	29	1405	40	29
20	18	30	15	1405	39	26

ANEXO – 6: Mensurações de peso, comprimento, perímetro cefálico e zinco no sangue de bebês prematuros de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.

CASO	VARIÁVEL	SUPLEMENTADAS					NÃO SUPLEMENTADAS				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	Peso (g)	1535	1640	2100	2580		1545	1670	1790	1930	2210
	Comprimento(cm)	38	42	43	46		41,5	42,5	44	45	47
	Perímetro cefálico (cm)	31,5	32	33	34		29,5	30,5	31	32	33,5
	Zinco no sangue (mg%)	0,85	0,7	0,65	0,63		0,4	0,7	0,3	0,75	0,65
2	Peso (g)	1765	2115	2235	2440	2550	1550	1775	1980	2395	2920
	Comprimento(cm)	42	43	46	48	50	41	42	43	45	48
	Perímetro cefálico (cm)	28,5	31	32	34	35	30	32	32,5	33,5	36
	Zinco no sangue (mg%)	1	1,1	0,95	0,8	0,9	0,75	0,65	0,45	0,5	0,25
3	Peso (g)	1980	2090	2750	3315		1990	2105	2860	3100	
	Comprimento(cm)	43	47	48	50		46	48	48	50	
	Perímetro cefálico (cm)	31,5	32	33	35,5		32	33	34	35	
	Zinco no sangue (mg%)	1	1,05	0,85	1		0,75	0,85	0,6	0,55	
4	Peso (g)	1415	1620	1835	1980		1325	1560	1780		
	Comprimento(cm)	37,5	38	40	42,5		43	44	45		
	Perímetro cefálico (cm)	28	29	30	31		27	29	32		
	Zinco no sangue (mg%)	0,4	1,1	0,45	0,35		0,65	0,7	0,8		
5	Peso (g)	2070	2225	2950	3345		1710	2045	2560	3480	
	Comprimento(cm)	45	45,5	48,5	51		42	43	47	50	
	Perímetro cefálico (cm)	31	32	34	36		31	32	33	35	
	Zinco no sangue (mg%)	0,8	0,8	0,65	0,65		0,9	0,8	0,65	0,45	
6	Peso (g)	1970	2550	2975			2100	2450	3250	3930	
	Comprimento(cm)	44,5	47	48,5			44	47	49	52	
	Perímetro cefálico (cm)	31	33	35,5			30	32	33	35	
	Zinco no sangue (mg%)	0,65	0,6	0,55			0,7	0,5	0,7	0,7	
7	Peso (g)	1400	1615	1665	1705		1160	1335	1620	1790	
	Comprimento(cm)	40	41	42,5	43		39	40	41	41	
	Perímetro cefálico (cm)	28	30	30	30,5		27	28	29	30	
	Zinco no sangue (mg%)	0,9	0,95	0,7	0,9		0,8	0,7	0,7	0,62	

ANEXO – 6: Mensurações de peso, comprimento, perímetro cefálico e zinco no sangue de bebês prematuros de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.

CASO	VARIÁVEL	SUPLEMENTADAS					NÃO SUPLEMENTADAS				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
8	Peso (g)	1575	2115	2540	2980		1830	2020	2630	3320	
	Comprimento(cm)	40,5	43	45,5	49,5		45	47,5	49	52	
	Perímetro cefálico (cm)	28	30	32	34,5		30,5	32	34,5	36	
	Zinco no sangue (mg%)	0,7	0,65	0,8	0,7		0,8	0,65	0,65	0,85	
9	Peso (g)	1605	1910	2510	3605	4730	1770	2440	2675	2860	
	Comprimento(cm)	42	45	46	49	52	44	47	48	49	
	Perímetro cefálico (cm)	30	31	33	34,5	36,5	32	34	35,5	37	
	Zinco no sangue (mg%)	0,8	0,6	0,45	0,6	0,65	0,6	0,4	0,7	0,75	
10	Peso (g)	2245	2700	3065	3195		1490	1605	1730	2136	
	Comprimento(cm)	44,5	46	46,5	48,8		39	41	42,5	45	
	Perímetro cefálico (cm)	32,5	33,5	34	35		28	30	31	32	
	Zinco no sangue (mg%)	0,65	0,65	0,55	0,6		0,95	0,65	0,85	0,3	
11	Peso (g)	2265	2615	3130			1670	1980	2340	2800	
	Comprimento(cm)	44	45,5	48			43,5	46	47	48	
	Perímetro cefálico (cm)	33	34	35			30	31	33	34,5	
	Zinco no sangue (mg%)	0,75	0,85	0,75			1,05	0,95	0,65	0,55	
12	Peso (g)	1690	1930	2600	2890		1750	1950	2100	2400	
	Comprimento(cm)	41	43	47	49		43	45	46	48,5	
	Perímetro cefálico (cm)	31	33	35	36,5		31	31,5	32,5	33,5	
	Zinco no sangue (mg%)	0,6	0,45	0,65	0,63		0,9	1	0,75	0,75	
13	Peso (g)	2100	2260	2950	3520		2035	2200	2590		
	Comprimento(cm)	44	46	48	50		45	46	48,2		
	Perímetro cefálico (cm)	30	33	34	35		32	33	34		
	Zinco no sangue (mg%)	0,95	0,6	0,6	0,65		0,9	0,85	0,55		
14	Peso (g)	1935	2025	2200	2670		1980	2320	2570		
	Comprimento(cm)	42,5	44	45	46,5		43	45	47		
	Perímetro cefálico (cm)	31	33	33,5	35		31	32,5	33,5		
	Zinco no sangue (mg%)	0,9	0,85	0,75	0,75		1,1	1	0,75		

ANEXO – 6: Mensurações de peso, comprimento, perímetro cefálico e zinco no sangue de bebês prematuros de mães suplementadas e não suplementadas com zinco.

CASO	VARIÁVEL	SUPLEMENTADAS					NÃO SUPLEMENTADAS				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
15	Peso (g)	1660	1910	2380	2970		2320	2570	3290	3800	
	Comprimento(cm)	44	44,5	46	47,5		43	46	48	51	
	Perímetro cefálico (cm)	30	30,5	33,5	36		32	33	35	36	
	Zinco no sangue (mg%)	0,55	0,65	0,6	0,45		0,65	0,65	0,45	0,55	
16	Peso (g)	1750	1880	2115	2620	3180	1690	2215	2790		
	Comprimento(cm)	41,5	43	44,5	46	47	42,5	45	47		
	Perímetro cefálico (cm)	30	31	32	34	35	31	31,5	34		
	Zinco no sangue (mg%)	0,8	0,9	0,7	0,85	0,45	0,85	0,65	0,55		
17	Peso (g)	2220	2660	3120	3800		1375	1740	1950	2280	
	Comprimento(cm)	46	48	49	53		40	42,5	43	48	
	Perímetro cefálico (cm)	35	36	38	39		28,5	32	32,5	33	
	Zinco no sangue (mg%)	0,6	0,7	0,65	0,65		0,8	0,7	0,55	0,45	
18	Peso (g)	1630	2050	2305	2780		1580	1790	2260	2795	
	Comprimento(cm)	41,5	43	45	47		42	44,5	45	48	
	Perímetro cefálico (cm)	31	32	33,5	35		31,5	32	33	35,5	
	Zinco no sangue (mg%)	0,55	0,6	0,5	0,45		0,75	0,75	0,55	0,55	
19	Peso (g)						1540	1835	2140	2730	
	Comprimento(cm)						42	44	46	49	
	Perímetro cefálico (cm)						30	33	33,5	35	
	Zinco no sangue (mg%)						0,8	0,75	0,65	0,3	
20	Peso (g)						1490	1575	1770	2070	2265
	Comprimento(cm)						41,5	42	45	46,5	47,5
	Perímetro cefálico (cm)						28,5	29,5	31	31	32
	Zinco no sangue (mg%)						0,8	0,75	0,55	0,6	0,63

ANEXO – 7: Valores dos elementos traço zinco e cobre no leite de mães suplementadas e não suplementadas com zinco (mg%).

CASO	ELEMENTOS TRAÇO (mg%)	SUPLEMENTADAS					NÃO SUPLEMENTADAS				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	Zinco	0,56	0,39	0,35	0,37		0,41	0,67	0,15	0,12	
	Cobre	0,06	0,04	0,05	0,04		0,05	0,07	0,05	0,05	
2	Zinco	0,87	0,93	0,59	0,58	0,5	0,4	0,27	0,26	0,14	0,09
	Cobre	0,06	0,08	0,05	0,08	0,02	0,01	0,02	0,05	0,05	0,02
3	Zinco	0,59	0,52	0,32	0,22		0,53	0,42	0,39	0,41	
	Cobre	0,08	0,05	0,05	0,05		0,08	0,06	0,02	0,08	
4	Zinco	0,17	0,12	0,06	0,1		0,56	0,11	0,24		
	Cobre	0,05	0,03	0,03	0,03		0,05	0,02	0,06		
5	Zinco	0,66	0,65	0,25	0,38		0,45	0,51	0,24	0,33	
	Cobre	0,08	0,07	0,05	0,06		0,05	0,05	0,05	0,03	
6	Zinco	0,3	0,24	0,17			0,6	0,19	0,17	0,16	
	Cobre	0,06	0,03	0,03			0,05	0,04	0,05	0,04	
7	Zinco	0,23	0,09	0,11	0,14		0,51	0,2	0,3	0,36	
	Cobre	0,05	0,04	0,02	0,07		0,09	0,04	0,06	0,06	
8	Zinco	0,23	0,48	0,48	0,32		0,46	0,27	0,3	0,15	
	Cobre	0,03	0,07	0,02	0,02		0,02	0,04	0,04	0,04	
9	Zinco	0,14	0,28	0,25	0,27	0,23	0,45	0,51	0,28	0,2	
	Cobre	0,01	0,07	0,04	0,02	0,05	0,03	0,06	0,05	0,02	
10	Zinco	0,42	0,38	0,45	0,37		0,43	0,31	0,32	0,27	
	Cobre	0,07	0,05	0,05	0,05		0,06	0,06	0,06	0,03	
11	Zinco	0,4	0,17	0,33			0,56	0,62	0,28	0,22	
	Cobre	0,06	0,05	0,01			0,07	0,07	0,07	0,07	
12	Zinco	0,53	0,67	0,36			1,02	0,93	1,22	0,46	
	Cobre	0,03	0,05	0,04	0,04		0,09	0,07	0,05	0,06	
13	Zinco	0,31	0,32	0,19	0,17		0,76	0,5	0,41	0,19	
	Cobre	0,03	0,05	0,05	0,05		0,09	0,1	0,07	0,06	
14	Zinco	0,45	0,35	0,28	0,2		0,49	0,42	0,42		
	Cobre	0,03	0,03	0,05	0,02		0,08	0,06	0,05		
15	Zinco	0,59	0,23	0,33	0,33		0,86	0,33	0,28	0,35	
	Cobre	0,1	0,03	0,03	0,02		0,12	0,07	0,05	0,06	
16	Zinco	0,43	0,22	0,23	0,28	0,25	0,62	0,6	0,45		
	Cobre	0,06	0,06	0,07	0,04	0,02	0,08	0,08	0,06		
17	Zinco	0,33	0,33	0,22	0,13		0,38	0,29	0,13	0,11	
	Cobre	0,06	0,03	0,03	0,03		0,07	0,06	0,04	0,04	
18	Zinco	0,4	0,24	0,16	0,14		0,4	0,26	0,13	0,03	
	Cobre	0,02	0,03	0,02	0,03		0,09	0,08	0,06	0,04	
19	Zinco						0,54	0,39	0,26	0,32	
	Cobre						0,07	0,05	0,06	0,06	
20	Zinco						0,4	0,35	0,45	0,32	
	Cobre						0,09	0,07	0,04	0,06	