


 Juliane Oliveira de Medeiros¹
 Amanda de Sousa Rebouças²
 Roberto Dimenstein²
 Karla Danielly da Silva Ribeiro
Rodrigues¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Nutrição. Natal, RN, Brasil.

² Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Departamento de Bioquímica. Natal, RN, Brasil.

Trabalho oriundo de monografia do Departamento de Nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Juliane Oliveira de Medeiros, intitulada "Lipídeos totais e alfa-tocoferol no leite maturo: existe relação após suplementação com vitamina E?", e parte da dissertação de mestrado da Pós-graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) intitulada "Efeito da suplementação com 800 UI de alfa-tocoferol no soro e leite de mulheres lactantes", Amanda de Sousa Rebouças (Rebouças, 2019).

Correspondência
Karla Danielly da Silva Ribeiro
Rodrigues
karladaniellysr@yahoo.com.br

Lipídeos totais e alfa-tocoferol no leite maturo: existe relação após suplementação com vitamina E?

Total fat and alpha-tocopherol in breast milk: is there a relationship after supplementation with vitamin E?

Resumo

Introdução: O consumo de lipídeos durante a lactação pode alterar a concentração de vitamina E do leite materno, provavelmente, por ambos os nutrientes possuírem caráter lipossolúvel e compartilharem vias similares de distribuição, metabolismo e ação molecular. Sabe-se que o alto consumo materno de vitamina E via suplementação altera a concentração de alfa-tocoferol no leite, porém ainda não foi estudado se essa suplementação afetaria a quantidade de lipídeos do leite. **Objetivo:** Avaliar a associação entre as concentrações de alfa-tocoferol e de lipídeos totais no leite materno após suplementação materna com megadosa de vitamina E. **Método:** O presente estudo é parte de um ensaio clínico randomizado, composto por lactantes atendidas em ambulatório público de Natal-RN. O recorte foi realizado com 26 lactantes do grupo suplementado, as quais receberam dose única de 800 UI de RRR-alfa-tocoferol (588 mg) entre 30 e 90 dias pós-parto, sendo coletado leite antes e 24h após a suplementação. O consumo alimentar foi obtido pelo recordatório de 24h, o alfa-tocoferol foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência e a concentração de lipídeo foi determinada por crematócrito. **Resultados:** Todas as mulheres apresentaram consumo inadequado de vitamina E (<16mg). A concentração de alfa-tocoferol no leite aumentou de 294,8 µg/dL para 631,6 µg/dL após a suplementação (p = 0,002), e não foi encontrada relação entre o alfa-tocoferol e lipídeos totais no leite antes e após a suplementação. **Conclusão:** A suplementação de vitamina E não evidenciou relação entre alfa-tocoferol e lipídeos totais no leite materno.

Palavras-chave: Lactação. Ácidos Graxos. Consumo Alimentar. Suplementação alimentar.

Abstract

Introduction: Fat intake during lactation may modify the concentration of vitamin E in human milk, probably because both nutrients are fat soluble and also share similar pathways of distribution, metabolism and molecular action. It is known that the high maternal vitamin E intake through supplementation alters alpha-tocopherol concentration in breast milk, but the relationship with human milk lipids has not yet been studied. **Objective:** This study aims to evaluate the association between alpha-tocopherol and total fat in breast milk after maternal supplementation with megadoses of vitamin E. **Method:** This study is part of a clinical trial composed of lactating women from a public outpatient clinic in the city of Natal, RN, Brazil. The group studied were 26 lactating women from a supplemented group whom were given a single dose of 800 IU of RRR-alpha-tocopherol (588 mg) between 30 and 90 days postpartum. Breast milk was collected before and 24h after supplementation. The food intake was assessed by a 24-hour Dietary Recall, the concentration of alpha-

tocopherol was determined by high-performance liquid chromatography, and lipid concentration was determined by a creatocrit analyzer. **Results:** All participants had inadequate vitamin intake (<16mg). Alpha-tocopherol concentration in milk increased from 294.8 µg/dL to 631.6 µg/dL after supplementation ($p = 0.002$). No relationship was found between alpha-tocopherol and total fat in breast milk before and after RRR-alpha-tocopherol supplementation. **Conclusion:** Therefore, vitamin E supplementation did not show a relationship between alpha-tocopherol and total fat in breast milk.

Keywords: Lactation. Fatty acids. Food intake. Nutrient supplementation

INTRODUÇÃO

O alfa-tocoferol é um composto de caráter lipossolúvel, considerado a forma bioativa da vitamina E, devido à sua maior atividade biológica na forma natural como RRR-alfa-tocoferol, e, portanto, o único isômero estudado para contribuição do requerimento nutricional da vitamina E.^{1,2} Dentre as suas funções, está a de antioxidante biológico, devido à proteção oferecida aos ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) e as lipoproteínas contra as reações de oxidação e peroxidação lipídica, sendo essencial em período de elevado estresse oxidativo, como a gestação e o nascimento.^{3,4}

A transferência de vitamina E da mãe para o feto no período da gestação ocorre de forma limitada e, como consequência, a criança apresenta baixas reservas corporais dessa vitamina ao nascer. Dessa forma, tendo em vista a recomendação de consumo exclusivo de leite materno durante os 6 primeiros meses de vida, este deve fornecer quantidade suficiente de vitamina E, visando suprir a necessidade diária do lactente e prevenir o surgimento de doenças como anemia hemolítica, hemorragia ventricular e doenças pulmonares, decorrentes da deficiência dessa vitamina.⁵⁻⁷

A literatura relata que os níveis de vitamina E no leite humano podem sofrer mudanças de acordo com o estágio de lactação (colostró, transição e maduro) e a dieta materna, como encontrado em estudo realizado por Mata et al.,⁸ no qual foi observada uma relação entre a ingestão materna de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) e os níveis de alfa-tocoferol no leite maduro. No entanto, a relação entre o perfil lipídico e o nível de alfa-tocoferol no leite materno ainda não foi completamente elucidada.

O lipídeo está presente no leite materno na forma de glóbulos de gordura, os quais são sintetizados pelas células alveolares mamárias por indução da prolactina, compõem em média 3% do conteúdo do leite materno e contribuem com 45-55% da energia total fornecida ao lactente.^{9,10} Desse modo, o leite materno se encontra como um importante fornecedor de energia e nutrientes para o recém-nascido, contribuindo para o desenvolvimento do seu sistema nervoso central, regulação do risco de inflamação e infecção, redução do risco de doenças metabólicas e cardiovasculares na idade adulta.¹¹

Estudo realizado por Rebouças et al.¹² encontrou que o alto consumo de vitamina E através da suplementação aumentou a concentração de alfa-tocoferol do leite materno, porém o efeito dessa suplementação na composição e proteção dos lipídeos do leite ainda não foi abordado.

Sabendo da existência de uma relação entre a vitamina E e os lipídios, em que ambos possuem caráter lipossolúvel e compartilham vias similares de distribuição, metabolismo e ação molecular,⁴ bem como da proteção fornecida por essa vitamina aos lipídeos,³ a hipótese deste estudo é que exista uma influência do consumo materno de vitamina E sobre a associação entre as concentrações de alfa-tocoferol e os lipídeos totais no leite materno em situação de suplementação materna com megadose de vitamina E.

Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar a associação entre o alfa-tocoferol e os lipídeos totais no leite materno após a suplementação materna com megadose de vitamina E.

METODOLOGIA

Tipo de estudo

O presente estudo é parte do ensaio clínico randomizado referente a dissertação de mestrado da Pós-graduação em Bioquímica (UFRN) intitulada "Efeito da suplementação com 800 UI de alfa-tocoferol no soro e leite de mulheres lactantes".¹² A coleta ocorreu no período de 2017 a 2018 e foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte sob o protocolo 2.327.614 (CAAE 76779217.1.0000.5537) e registrado no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos – REBEC, sob o código RBR-38nfg2.

Seleção das participantes

Foram selecionadas mulheres lactantes entre 30 e 90 dias pós-parto, atendidas no Ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL), em Natal-RN. No momento da seleção, as lactantes foram submetidas aos seguintes critérios de inclusão: estarem amamentando sua criança, serem residentes de Natal-RN e regiões metropolitanas, sem diagnóstico de doenças (hipertensão, diabetes, neoplasias, doenças do trato gastrointestinal e hepáticas, sífilis, HIV positivo), não fumantes e com partos de conceito único e sem má-formação. Foram excluídas do estudo as que fizeram uso de suplementos diários contendo vitamina E durante a lactação, as usuárias de drogas ilícitas e as que não possuíam leite suficiente para a análise. Ocorreram, ainda, perdas por seguimento pela impossibilidade da segunda coleta, que deveria ser realizada no domicílio da participante, bem como perdas por impossibilidade de realização das análises na centrífuga segundo o método de crematócrito, devido à não homogeneidade das amostras.

Os objetivos do estudo foram esclarecidos às participantes elegíveis, que, ao aceitarem participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Intervenção e coleta de dados

As lactantes receberam duas cápsulas de 400 UI de acetato de RRR-alfa-tocoferol (CVS Health, Woonsocket, USA) (Anexo A), totalizando uma dose de 800 UI, equivalente a 588 mg de alfa-tocoferol. As etapas de coletas de dados ocorreram em dois momentos: o primeiro (coleta 1), entre 30 e 90 dias pós-parto, e o segundo (coleta 2), no dia seguinte à primeira coleta, no domicílio da participante, após agendamento prévio. As cápsulas de vitamina E foram entregues no momento da coleta 1 e a escolha do momento da coleta 2 ocorreu visando gerar uma situação de alta ingestão de vitamina E para, assim, verificar uma possível associação entre o alfa-tocoferol e o lipídeo presente no leite. Em ambos os momentos, foram coletados o leite materno e as informações dietéticas, porém apenas no momento 1 foi aplicado um formulário semiestruturado com informações socioeconômicas, antropométricas, de saúde e de parto (Anexo B).

ANEXO A – Suplemento de vitamina E.



Ingredients

Vitamin E 400 IU (As D-Alpha Tocopheryl Acetate). Other Ingredients: Gelatin (Bovine), Glycerin, Soybean Oil.

Nutritional Facts

Serving Size: 1softgels Servings Per Container: 100		
Nutrient	Amount per Serving	% Daily Value
Vitamin E (as D-Alpha Tocopheryl Acetate)	400 IU	1333%

Coleta de material biológico

Foram obtidos 3 mL de leite maduro, por meio da expressão manual de uma única mama não sugada previamente, sendo desprezadas as primeiras ejeções do leite, a fim de evitar alterações no conteúdo lipídico. O material foi coletado em tubo de polipropileno envolvido em folha de alumínio e, assim, transportado sob refrigeração para o Laboratório de Bioquímica dos Alimentos e da Nutrição, localizado no Departamento de Bioquímica - Centro de Biociências (UFRN), onde foi armazenado a -20°C até o momento das análises.

Informações obtidas do formulário

Um questionário semiestruturado (Anexo B) foi utilizado para a obtenção dos dados socioeconômicos (renda, estado civil e escolaridade) e de saúde (idade, informações do parto e história clínica). Também foram obtidas informações antropométricas (peso, estatura e índice de massa corporal), acerca do parto (tipo e paridade), bem como da renda familiar, a qual foi utilizada para se obter a renda *per capita* através da divisão da renda familiar pelo número de moradores do domicílio. As famílias com renda mensal bruta entre R\$ 85,01 e R\$ 170,00 por pessoa foram consideradas em situação de pobreza.¹³ A renda familiar foi expressa em salário-mínimo, considerando o valor do salário-mínimo mensal no Brasil no ano de 2018 (R\$ 954,00), e as famílias que recebiam até 3 salários mínimos foram classificadas como > 1 salário-mínimo.

ANEXO B – Modelo do Questionário semiestruturado para a pesquisa.



**CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA**

**QUESTIONÁRIO DO PROJETO "EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM 800 UI DE VITAMINA E
SOBRE O ALFA-TOCOFEROL DO SORO E LEITE DE MULHERES LACTANTES"**

Nº: _____

001	Número do questionário:	_____	[]
002	Nome e código do entrevistador	_____	[]
003	Data de aplicação do questionário	____/____/____ (dd/mm/aaaa)	____/____/____ (Dia/Mês/Ano)
CARACTERIZAÇÃO DA ENTREVISTADA			
004	Nome: _____ Nome da criança: _____		
005	Endereço: _____ _____ Telefone: _____ Email: _____		
006	Qual sua idade em anos completos?	____	[]
007	Atualmente qual seu estado civil?	01. Solteira 02. Casada/ União estável 03. Divorciada 04. Viúva	[]
008	Qual seu nível de escolaridade?	01. Analfabeta 02. Ensino Fundamental Incompleto 03. Ensino Fundamental Completo 04. Ensino Médio Incompleto 05. Ensino Médio Completo 06. Graduação Incompleta 07. Graduada 08. Pós-graduada 00. Não se aplica	[]
009	Quantos anos de estudo?	____	[]
010	Qual sua ocupação?	01. Trabalha _____ 02. Dona de casa 03. Não trabalha	[]
011	Número de moradores na casa? (incluindo o bebê)	____	[]
012	Qual o rendimento mensal da sua família? (Devem ser somados todos os rendimentos)	01. Sem renda 02. Até 1 salário mínimo (até R\$ 880,00) 03. De 1 a 3 salários mínimos (de R\$ 880,00 a R\$ 2.640,00)	

	das pessoas da família que moram na mesma casa)	04. De 3 a 5 salários mínimos (de R\$ 2.640,00 a R\$ 4.400,00) 05. De 5 a 7 salários mínimos (de R\$ 4.400,00 a R\$ 6.160,00) 06. De 7 a 10 salários mínimos (de R\$ 6.160,00 a R\$ 8.800,00) 07. De 10 a 20 salários mínimos (de R\$ 8.800,00 a R\$ 17.600,00) 08. Acima de 20 salários mínimos (acima de R\$ 17.600,00) 09. Não sabe 00. Não respondeu	[]
013	Número de filhos?	__ __	[]
014	Número de abortos?	__ __	[]
015	Utilizou algum medicamento, vitamina ou suplemento durante a gestação? Se sim, qual?	01. Sim _____ 02. Não	[]
016	Realizou acompanhamento nutricional após o parto? Se sim, quantas vezes?	01. Sim _____ 02. Não	[]
017	Utilizou algum medicamento, vitamina ou suplemento após o parto? Se sim, qual?	01. Sim _____ 02. Não	[]
DADOS DO PARTO			
018	Qual foi seu peso na última consulta da gestação?	_____ kg 00. Não se aplica	[]
019	Data do parto/ Horário	____/____/____ (dd/mm/aaaa) ____ h	____/____/____
020	Tipo de parto	01. Normal 02. Cesário 00. Não se aplica	[]
021	Sexo do Recém-nascido (RN)	01. Masculino 02. Feminino	[]
022	Peso ao nascer do RN	_____ kg	[]
023	Comprimento ao nascer do RN	_____ cm	[]
024	Estado nutricional do RN	01. <1500g muito baixo peso 02. 1500-2500g baixo peso 03. 2500-4000g adequado 04. >4000g Macrosomia	[]
025	Idade gestacional (capurro do bebê ou USG) – prontuário do Bebê	_____ sem	[]
026	Intercorrências da criança Ao nascer	_____ _____ _____ _____	
DADOS ANTROPOMÉTRICOS			

027	Altura atual	_____ m 00. Não se aplica	[]
028	Peso atual (30-60 dias)	_____ kg 00. Não se aplica	[]
029	Estado nutricional atual (30-60 dias): IMC = _____	01. Baixo peso (IMC < 18,5 kg/m ²) 02. Normal (IMC 18,5 - 24,9 kg/m ²) 03. Sobrepeso (IMC 25 - 29,9 kg/m ²) 04. Obesidade (IMC ≥ 30,0 kg/m ²) 00. Não se aplica	[]
030	Perda peso:	01. Sim _____ 02. Não	[]
031	Intercorrências:	_____ _____ _____	
ALIMENTAÇÃO DA CRIANÇA			
032	Alimentação infantil dia 30-60 _____ _____ _____ _____ _____	01. Aleitamento materno exclusivo enteral 02. Aleitamento materno exclusivo oral 03. Aleitamento misto (oral e enteral) 04. Aleitamento materno (LM e outros leite) 05. Leite materno + suplementos 06. Fórmula infantil ou outro leite 07. Alimentação complementar 08. Dieta zero 00. Não se aplica	[]
DADOS DA COLETA			
033	Sangue 30-60 dias	Data da Coleta: __ / __ / ____ Hora: __: __	TOH []
034	Leite 30-60 dias	Data da Coleta: __ / __ / ____ Hora: __: __	TOH []
035	Sangue 24h	Data da Coleta: __ / __ / ____ Hora: __: __	TOH []
036	Leite 24h	Data da Coleta: __ / __ / ____ Hora: __: __	TOH []

Data: _____ Assinatura do entrevistador: _____

Data: _____ Assinatura do entrevistador: _____

Avaliação do estado nutricional antropométrico

O peso e a estatura das mulheres lactantes foram coletados seguindo as recomendações do Ministério da Saúde - Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional (SISVAN).¹⁴ Para avaliar o estado nutricional antropométrico, foi considerado o índice de massa corporal (IMC), calculado a partir do peso atual e estatura materna, a partir da fórmula abaixo e classificado em baixo peso ($< 18,5 \text{ kg/m}^2$), eutrofia ($\geq 18,5$ e $< 25 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso (≥ 25 e $< 30 \text{ kg/m}^2$) e obesidade ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$).¹⁴

Índice de Massa Corporal (IMC) = $\frac{\text{Peso (Kg)}}{\text{Altura}^2 \text{ (m)}}$

Altura² (m)

Avaliação do consumo alimentar

Para a avaliação do consumo alimentar, foi utilizado o recordatório 24 horas, inquérito que compreende a investigação de todos os alimentos, bebidas e suplementos consumidos pela entrevistada nas últimas 24 horas (Anexo C). A análise dos recordatórios foi feita pelo *software* Virtual Nutri Plus, no qual foi construído um banco de dados de alimentos com base em uma tabela produzida a partir das informações químicas dos alimentos, obtida pela tabela de composição de alimentos TACO.¹⁵ e tabela de alimentos do United States Department of Agriculture (USDA).¹⁶ Nesse banco de dados estavam inseridas informações de energia, lipídeos, tipos de ácidos graxos (saturados, monoinsaturados e poli-insaturados) e vitamina E. A ingestão desses nutrientes foi obtida pela média dos dois recordatórios 24 horas aplicados.

Já o cálculo da estimativa do consumo diário de lipídeo pelos lactentes foi realizado a partir do volume ingerido de leite (expresso em volume de leite compatível com ingestão diária de um lactente) e comparado com o ponto de corte de *Adequate Intake* (AI) para crianças entre 0 e 6 meses, cuja recomendação corresponde a 31g/dia.¹⁷ Considerou-se para esse cálculo que um lactente nos primeiros 6 meses ingere volume diário de leite equivalente a 780 mL.¹⁷

ANEXO C – Modelo de recordatório 24 horas para avaliação do consumo alimentar da mãe

Nº: _____

() 30-60 dias

RECORDATÓRIO 24 HORAS PARA MÃE

() Dia seguinte - 24h

Nome: _____

Peso: _____ Altura: _____

REFEIÇÃO /HORÁRIO/ LOCAL	ALIMENTO	MEDIDA CASEIRA	QTDE	OBS.

DATA: ____/____/____

Responsável:

Extração e análise do alfa-tocoferol do leite materno

Extração do alfa-tocoferol

O alfa-tocoferol foi extraído do leite materno de acordo com o método adaptado de Ortega et al.¹⁸ A cada 1,0 mL de leite foi adicionado 1,0 mL de etanol 95% (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) para precipitação proteica e 2 mL de hexano PA (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) para extração da fração lipídica, na qual se encontra o alfa-tocoferol. As amostras foram homogeneizadas durante 1 minuto em vortex e centrifugadas durante 10 minutos a 4.000 rpm para separação da camada de sobrenadante de aproximadamente 2mL, que foi removida posteriormente para um segundo tubo. Essa etapa foi realizada três vezes, sendo ao final reunido um total de 6mL de sobrenadante, dos quais apenas 4 mL foram colocados em um terceiro tubo e evaporados em banho-maria a 37°C. O extrato seco foi dissolvido em 250 µL de diclorometano (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil); metanol (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) 2:1 (v:v) para análise do alfa-tocoferol no leite, para serem analisados em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Análise por cromatografia líquida de alta eficiência

Para a determinação da concentração de alfa-tocoferol, foi utilizado o cromatógrafo Shimadzu (Shimadzu, Quioto, Japão), constituído de bomba LC-20 AT Shimadzu (Quioto, Japão), acoplado a um detector SPD-10A UV-VIS (Shimadzu, Quioto, Japão) e a um comunicador CBM 20A. Para separação cromatográfica, foi usada a coluna C¹⁹ de fase reversa (LiChroCART 250-4; Merck, Darmstadt, Alemanha).

Durante a análise, os dados obtidos foram processados pelo programa LC Solution (Shimadzu Corporation). A fase móvel utilizada para a análise da vitamina nas amostras de leite consistiu em metanol 100%, em sistema isocrático com fluxo de 1,0 mL/min. A detecção ocorreu com o comprimento de onda de 292 nm para o alfa-tocoferol, de modo que a vitamina foi identificada e quantificada nas amostras através da comparação da área do pico obtida no cromatograma com a área do padrão de alfa-tocoferol (Sigma-Aldrich, Brasil). O tempo de retenção seguido foi de 10,3 minutos para o alfa-tocoferol, e os valores da vitamina nas amostras foram expressos em µg/dL.

Determinação do teor de lipídeo

Para a determinação do teor de lipídeo do leite maduro, foi utilizado o método do crematócrito descrito por Lucas et al.,²⁰ no qual as amostras de leite foram agitadas em vortex por 30 segundos e postas em tubos de vidro microcapilares (triplicata) e submetidas a centrifugação a 12.000 rpm por 15 minutos, para separação do soro e creme. Em seguida, com auxílio de régua (mm), foi medido o comprimento da coluna de creme (menor coluna) e da coluna total de produto (coluna de creme + coluna de soro, expressos em mm). O teor de lipídeo foi obtido usando as seguintes fórmulas:

$$\% \text{ Teor de creme} = \frac{\text{Coluna de creme (em mm)}}{\text{Coluna total de produto (em mm)}} \times 100$$

$$\text{Teor de lipídeo (g/dL)} = \frac{\% \text{ Teor de creme} - 0,59}{1,46}$$

1,46

Análise estatística

A análise estatística foi realizada no *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Aplicou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliar a distribuição das amostras quanto ao grau de normalidade, e as variáveis contínuas foram expressas em média e desvio padrão. Para avaliar a associação entre gordura e alfa-tocoferol do leite materno antes e após a suplementação, foi realizado o teste de correlação de Pearson. As relações alfa-tocoferol/lípídeos totais foram calculadas a partir dos valores de alfa-tocoferol total e lípídeos totais e as médias e desvio padrão foram expressos em µg de alfa-tocoferol/g de lípídeo. Para verificar diferenças entre as proporções dos nutrientes nos dois tempos, foi realizado teste de *T* de Student pareado. Todas as diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

Para o presente estudo, foram selecionadas 26 mulheres lactantes após critérios de exclusão e perdas (amostras inadequadas para a realização das análises), equivalentes a 35% a menos da amostra do estudo original. A caracterização socioeconômica está descrita na tabela 1. Observa-se que a média de idade foi 27 anos, a maioria apresentou educação secundária completa (42,3%) e 96,2% apresentavam renda familiar *per capita* menor que 1 salário-mínimo. Em relação ao estado nutricional antropométrico avaliado pelo IMC, 26,9% delas apresentaram sobrepeso e 23%, obesidade.

Tabela 1. Caracterização geral das 26 mulheres lactantes suplementadas com 800 UI de RRR-alfa-tocoferol. Natal, Rio Grande do Norte, Brasil, 2017-2018.

Características	Mulheres lactantes suplementadas N = 26	
	N	%
Idade materna, anos (média-desvio padrão)	27 (6,8*)	-
Nível de escolaridade		
Educação primária incompleta	5	19,2%
Educação primária completa	1	3,8%
Educação secundária incompleta	3	11,5%
Educação secundária completa	11	42,3%
Ensino superior incompleto	4	15,4%
Ensino superior completo	2	7,7%
Estado Civil		
Solteira	9	34,6%
Casada	17	65,4%
Renda familiar ^a		
≤ 1 salário-mínimo	1	3,8%
>1 salário-mínimo	25	96,2%
Tipo de parto		
Vaginal	10	38,5%
Cesário	16	61,5%
Paridade materna		
Primípara	11	42,3%
Multípara	15	57,7%
Classificação do IMC materno (kg/m ²)		
Baixo peso	2	7,7%
Eutrofia	10	38,5%
Sobrepeso	7	26,9%
Obesidade	6	23%

N: Número; * Desvio Padrão; IMC: Índice de Massa Corporal. ^a Salário-mínimo brasileiro por mês = 954 reais. > 1 salário-mínimo (até 3 salários mínimos).

Indicadores dietéticos

Os valores referentes ao consumo de cada nutriente analisado estão expressos na tabela 2. Quanto ao consumo de vitamina E proveniente dos alimentos, foi observado que 100% das lactantes apresentaram baixo consumo da vitamina (<16 mg/dia). A ingestão média de energia e demais nutrientes não diferiu entre as coletas.

Tabela 2. Valores do consumo dietético das lactantes (n=26) suplementadas com 800 UI de RRR-alfa-tocoferol.

Características	Mulheres lactantes N = 26	
	0h	24h
Consumo de calorias (Kcal/dia), média (dp)	2244,5 (705,5)	2178,7 (781,28)
Consumo de vitamina E (mg/dia), média (dp)	5,5 (2,9)	6,5 (3,64)
Consumo de lipídeos total (g/dia), média (dp)	69,5 (29,3)	71,5 (36,9)
Ácido graxo saturado (g/dia), média (dp)	22,74 (14,26)	22,13 (13,9)
Ácido graxo monoinsaturado (g/dia), média (dp)	21,85 (10,67)	22,24 (11,7)
Ácido graxo poli-insaturado (g/dia), média (dp)	12,73 (6,34)	16,21 (10,6)

N: número; DP: Desvio padrão.

Determinação da quantidade de gordura total e alfa-tocoferol no leite antes e após a suplementação com vitamina E

Ao avaliar a concentração de alfa-tocoferol no leite materno referente ao momento 0h (coleta 1), a média obtida foi de 294,81 (87,9) µg/dL; após a suplementação com 800 UI de RRR-alfa-tocoferol, no momento 24h (coleta 2), a média foi de 631, 57 (182,3) µg/dL ($p = 0,002$). Em relação à concentração de lipídeos totais do leite, a média obtida antes da suplementação foi de 2,03 (1,3) g/dL e após foi de 2,11 (1,6) g/dL ($p = 0,688$).

Ao realizar o cálculo do consumo de lipídeos totais pelos lactentes através da concentração média desse nutriente obtida e da ingestão diária estimada de cerca de 780mL de leite maduro, foi observada uma oferta média de 15,8g/780mL na coleta 1 e 16,5g/780mL na coleta 2

Em relação à concentração média de alfa-tocoferol por lipídeos totais do leite materno, o mesmo perfil de aumento foi observado após a suplementação ($p = 0,002$) (Figura 1); no entanto, não foi encontrada correlação significativa entre o alfa-tocoferol e o teor de lipídeos no leite materno antes (Figura 2a) e após a suplementação (Figura 2b).

Figura 1. Relação alfa-tocoferol/lipídeos totais do leite materno na coleta 1 e na coleta 2.

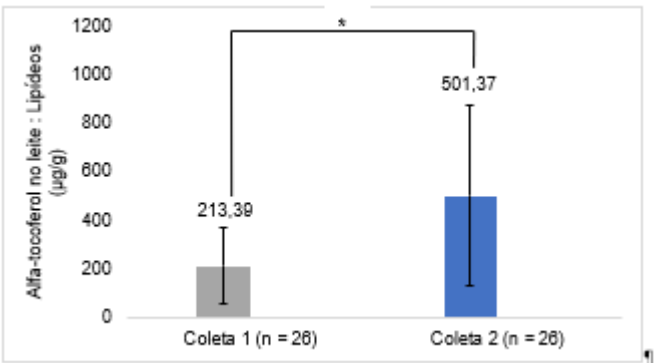
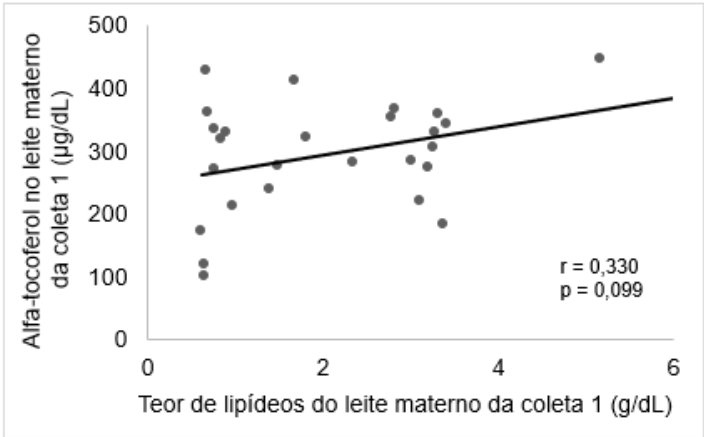
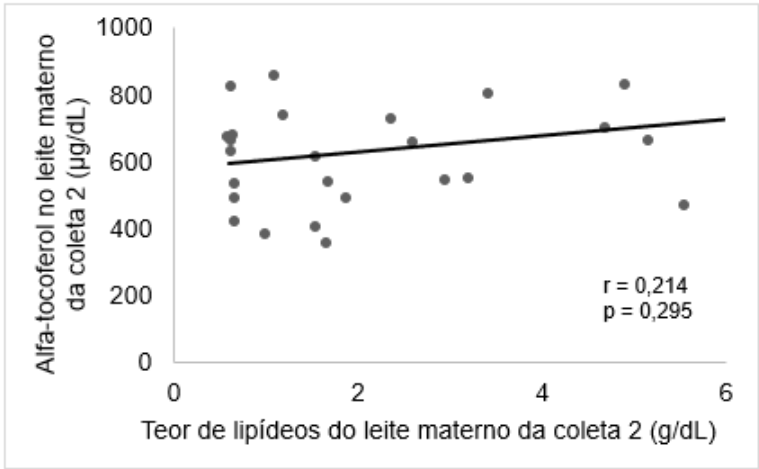


Figura 2. Relação entre as concentrações de alfa-tocoferol e lipídeos totais no leite materno.

(A) Representação da relação alfa-tocoferol e lipídeos totais no leite materno no momento 0h, expresso em µg/dL.



(B) Representação da relação alfa-tocoferol e lipídeos totais no leite materno no momento 24h, expresso em µg/dL.



DISCUSSÃO

No presente estudo, todas as lactantes apresentaram consumo de vitamina E abaixo do recomendado para a fase de lactação (EAR = 16mg/dia), tanto antes (5,5 mg/dia) quanto após a suplementação (6,5 mg/dia), demonstrando um consumo abaixo da recomendação, como relatado pela maioria dos estudos realizados com essa população.^{8,21-23} Destaca-se que as principais fontes alimentares de vitamina E são os óleos vegetais, como de girassol, amendoim e milho, além das nozes, amêndoas e sementes de girassol.³

Ademais, após a suplementação com 800 UI de RRR-alfa-tocoferol, foi possível observar um aumento significativo de 114% do alfa-tocoferol no leite materno. Esse resultado é extremamente positivo, visto que, apesar de a ingestão materna estar deficiente, com a superdose é possível aumentar a oferta dessa vitamina aos lactentes. Ressalta-se que o protocolo utilizado na suplementação da mulher lactante 800 UI de alfa-tocoferol (equivalente a 588 mg de alfa-tocoferol) pode ser considerado seguro, pois essa dose não ultrapassa o limite tolerável (UL = 1000 mg/dia) da vitamina para esse grupo. Além disso, o aumento também confirma a eficácia da suplementação, tendo em vista que em situações de não suplementação a concentração de alfa-tocoferol do leite materno tende a diminuir, sendo maior no leite colostro e menor no leite maduro. Esse fato pôde ser observado em estudo realizado por Silva et al.,²⁴ no qual as concentrações de alfa-tocoferol nos diferentes estágios da lactação foram quantificadas e os resultados mostraram esse decréscimo da vitamina à medida que o leite amadurece.

Sabendo que os lipídeos compreendem a principal fonte energética do leite materno, estando associado a diversos benefícios para a saúde do lactente, torna-se de extrema relevância que o consumo desse nutriente pelos lactentes esteja adequado.^{11,25} Diante disso, a estimativa de ingestão média de 15,8g/dia na coleta 1 e 16,5g/dia na coleta 2 demonstram baixos níveis frente ao requerimento de lipídeos totais de crianças entre 0 a 6 meses de vida (31g/dia), possivelmente insuficiente para atender às necessidades desse grupo no período de aleitamento exclusivo.²⁶ Entretanto, como esses valores partem de uma previsão de consumo diário de 780mL de leite para lactentes nos primeiros 6 meses,¹⁷ o aumento desse volume ingerido pelos lactentes pode garantir maior oferta do nutriente em questão, a fim de que se atinjam os níveis recomendados.

Em relação à média encontrada para a quantidade total de lipídeos do leite materno, o presente estudo observou uma média de 2,03 g/dL na coleta 1 e 2,11 g/dL na coleta 2, semelhante à média de 2,13 g/dL encontrada por Rydlewski e et al.²⁷ em estudo realizado com lactantes do Paraná. Por outro lado, esses valores foram inferiores aos encontrados em estudo realizado com lactantes sul-coreanas, no qual a média obtida foi de 3,30g/dL,²⁸ assim como Bortolozzo et al.,²⁹ em que a média foi de 2,56 g/dL, porém superiores ao relatado por Silva et al.,³⁰ de 1,38 g/dL.

Os resultados encontrados nos estudos citados podem ser justificáveis por se tratar de um macronutriente com grande variação inter e intraindividual, podendo sofrer interferência do estado nutricional materno, composição corporal, presença de patologias, alimentação, período da coleta, adesão de moléculas de gordura nas paredes internas dos frascos, entre outros.^{31,32}

De acordo com nossos resultados, diferentemente do exposto acerca da concentração de alfa-tocoferol antes e após a suplementação, o teor de lipídeos totais não sofreu alteração após a suplementação ($p>0,05$). A literatura relata a existência de uma relação entre os nutrientes estudados, como mostrado por Mata et al.,⁸ que objetivaram avaliar a relação entre o consumo habitual de lipídeo e vitamina E com a concentração de alfa-tocoferol no leite materno. Os autores observaram que lactantes com maior ingestão de ácidos graxos poli-insaturados apresentaram níveis mais altos de alfa-tocoferol no leite maduro, demonstrando uma associação entre os nutrientes.

Ademais, também é possível identificar uma ligação entre os nutrientes estudados em relação às funções desempenhadas por ambos, uma vez que as frações lipídicas desempenham papel essencial no metabolismo da vitamina E, participando da absorção, transporte e distribuição dessa vitamina.⁴ Por outro lado, a vitamina E também é fundamental para os lipídeos, devido a sua ação como importante antioxidante biológico, capaz de proteger os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) das membranas celulares e lipoproteínas contra a peroxidação ocasionada em períodos de elevado estresse oxidativo, como durante a gestação e o nascimento.^{3,4}

Porém, apesar da relação entre as duas variáveis já relatada pela literatura, como a influência do consumo materno de alimentos ricos em lipídeo sobre a concentração de alfa-tocoferol do leite materno e a ação protetora dessa vitamina sobre os lipídeos, os achados do presente estudo demonstram que o contrário não ocorre. Ou seja, mesmo em situações de suplementação com megadose de vitamina E, esta não foi responsável por um aumento significativo dos lipídeos totais do leite materno. Isso ocorre, provavelmente, pela glândula mamária sintetizar lipídeos para compor o leite materno, além dos provenientes da dieta e da circulação materna. Outro ponto observado é que o método do crematócrito utilizado quantifica apenas o teor total de lipídeos totais do leite, sendo necessária a realização de estudos que tenham como objetivo analisar o comportamento das frações lipídicas em situação de suplementação de vitamina E, uma vez que essa composição pode variar com a progressão da lactação, ocorrendo aumento de triglicerídeos e ácidos graxos de cadeia média e a diminuição dos ácidos graxos de cadeia longa.⁹

Dessa forma, a relação entre o perfil lipídico e o nível de alfa-tocoferol no leite materno ainda não foi completamente elucidada, mas possui extrema importância para o conhecimento acerca dos fatores que podem afetar a composição do leite materno, uma vez que com o controle dessas variáveis pode-se evitar a deficiência em puérperas e lactentes.

CONCLUSÃO

A suplementação com 800 UI de alfa-tocoferol aumentou a concentração da vitamina no leite materno, mas não interferiu na concentração de lipídeos totais. Não foi observada associação significativa entre o alfa-tocoferol e o teor de lipídeos no leite materno antes e após a suplementação com RRR-alfa-tocoferol.

REFERÊNCIAS

1. Debier C, Larondelle Y. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *British Journal of Nutrition*. 2005;93:153–74. doi: <https://doi.org/10.1079/BJN20041308>
2. Morrow AL, Dawodu A. Fatty Acids and Fat-Soluble Vitamins in Breast Milk: Physiological Significance and Factors Affecting Their Concentrations. *Human Milk: Composition, Clinical Benefits and Future Opportunities*. 2019;90:57-67. doi <https://doi.org/10.1159/000490294>
3. Traber MG. Vitamin E. In *Present Knowledge in Nutrition*, 10th ed.; Erdman, J.W., Jr., Macdonald, I.A., Zeisel, S.H., Eds.; ILSI Press: Washington, DC, USA, 2012:214–229. ISBN 978-0-470-95917-6.
4. Zingg JM, Meydani M. Interaction Between Vitamin E and Polyunsaturated Fatty Acids. In: Weber P, Birringer M, Blumberg J, Eggersdorfer M, Frank J. (eds) *Vitamin E in Human Health. Nutrition and Health*. Humana Press, Cham, 2019:141-159. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-05315-4_11
5. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med* 2007;43:4–15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.024>

6. Debier C. Vitamin E during pre- and postnatal periods. *Vitam Horm*, 2007;76:357-373. doi: [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(07\)76013-2](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(07)76013-2)
7. Romeu-nadal M, Castellote AI, López-sabater MC. Effect of cold storage on vitamins C and E and fatty acids in human milk. *Food Chem*. 2008; 206(1):65-70. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.046>
8. Mata AMB, Silva AGCL, Medeiros JFP, Lima MSR, Bezerra SB, Silva AB. et al. Dietary lipid intake influences the alpha-tocopherol levels in human milk. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 2020;70(6):858-863. doi: 10.1097/MPG.0000000000002668
9. Koletzko B, Agostoni C, Bergmann R, Ritzenthaler K, Shamir R. Physiological aspects of human milk lipids and implications for infant feeding: a workshop report: Human milk lipids. *Acta Paediatrica*, 2011;100(11):1405-1415. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2011.02343.x>
10. World Health Organization (WHO). Infant and young child feeding. Geneva: WHO, 2018
11. Schipper L, Van dijk G, Van der beek, E. M. Milk lipid composition and structure; the relevance for infant brain development. *OCL*, 2020;27:5. doi: <https://doi.org/10.1051/ocl/2020001>
12. Rebouças AS, Silva AGCL, Oliveira AF, Silva LTP, Felgueiras VF, Cruz MS. et al. Factors associated with increased alpha-tocopherol content in milk in response to maternal supplementation with 800 IU of vitamin E. *Nutrients*. 2019; 11 (4): 900. doi: <https://doi.org/10.3390/nu11040900>
13. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Departamento de Emprego e Rendimento: IBGE, 2001: 158 p
14. Brasil. Orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: norma técnica do sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2011: 71 p.
15. Universidade Estadual De Campinas - UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO. 4. ed. rev. e ampl. Campinas: UNICAMP/NEPA, 2011: 161 p. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/tabela.php?ativo=tabela>.
16. United States Department of Agriculture Nutrient Database - USDA. Disponível em: <http://ndb.nal.usda.gov/>.
17. Institute Of Medicine. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. Washington, DC: Food and Nutrition Board, 2000.
18. Ortega RM, López-Sobaler AM, Elena Quintas M, et al. The influence of smoking on vitamin C status during the third trimester of pregnancy and on vitamin C levels in maternal milk. *J Am Coll Nutr* 1998;17:379-84. doi: <https://doi.org/10.1080/07315724.1998.10718779>
19. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1992;56:417-426. doi: <https://doi.org/10.1093/ajcn/56.2.417>
20. Lucas A, Gibbs JA, Lyster RL, Baum JD. Creamatocrit: simple clinical technique for estimating fat concentration and energy value of human milk. *Br med J*, 1978; 1(6119): 1018-1020. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.6119.1018>
21. Martysiak-zurowska D, Szlagatys-sidorkiewicz A, Zagierski, M. Concentrations of alpha-and gamma-tocopherols in human breast milk during the first months of lactation and in infant formulas. *Maternal & child nutrition*. 2013;9(4):473-482. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1740-8709.2012.00401.x>
22. Aubuchon-endsley NL, Kennedy TS, Gilchrist M, Thomas DG, Grant S. Relationships among Socioeconomic Status, Dietary Intake, and Stress in Breastfeeding Women. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 2015;115(6). doi: <https://doi.org/10.1016/j.jand.2014.12.017>
23. Silva AGC, Rebouças AS, Mendonça BMA, Silva DCN, Dimenstein R, Ribeiro KDS. Relationship between the dietary intake, serum, and breast milk concentrations of vitamin A and vitamin E in a cohort of women over the course of lactation. *Maternal & Child Nutrition*. 2019;15(3). doi: <https://doi.org/10.1111/mcn.12772>

24. Silva ALC, Ribeiro KDS, Melo LRM, Fernandes Bezerra D, Carvalho de Queiroz JL, Santa Rosa Lima M. et al. Vitamina e no leite humano e sua relação com o requerimento nutricional do recém-nascido a termo. *Revista Paulista de Pediatria* 2017;35:158–164. doi: <https://doi.org/10.1590/1984-0462/2017;35;2;00015>
25. Ramiro-cortijo D, Singh P, Liu Y, Medina-Morales E, Yakah W, Freedman SD. et al. Breast milk lipids and fatty acids in regulating neonatal intestinal development and protecting against intestinal injury. *Nutrients*, 2020;12(2):534. doi: <https://doi.org/10.3390/nu12020534>
26. Institute of Medicine - IOM. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. National Academies Press: Washington DC, USA, 2005.
27. Rydlewski AA, Silva PD, Manin LP, Tavares CBG, Paula MG, Figueiredo IL. et al. Lipid Profile Determination by Direct Infusion ESI-MS and Fatty Acid Composition by GC-FID in Human Milk Pools by Folch and Creamatocrit Methods. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2019;30(5):1063-1073.
28. Kim H, Jung BM, Lee BN, Kim YJ, Jung JA, Chang N. Retinol, α -tocopherol, and selected minerals in breast milk of lactating women with full-term infants in South Korea. *Nutrition research and practice*. 2017;11(1):64-69. Doi <https://doi.org/10.4162/nrp.2017.11.1.64>.
29. Bortolozo EAFQ, Tiboni EB, Cândido LMB. 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*. 2004;16(3):199–205.
30. Silva RC, Gioielli LA, Escobedo JP. Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. *Química Nova*. 2007;30(7):1535 – 1538. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000700007>
31. Fujimori M, França EL., Fiorin V, Morais TC, Honório-França AC, Abreu LC. Changes in the biochemical and immunological components of serum and colostrum of overweight and obese mothers. *BMC Pregnancy Childbirth* 15. 2015;166. doi: <https://doi.org/10.1186/s12884-015-0574-4>
32. Dritsakou K, Liosis G, Valsami G, Polychronopoulos E, Skouroliahou M. The impact of maternal- and neonatal-associated factors on human milk's macronutrients and energy, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2017;30(11):1302-1308. doi: 10.1080/14767058.2016.1212329

Colaboradores

Medeiros JO e Rebouças AS participaram da coleta, análise e interpretação de dados, redação do estudo, revisão e aprovação da versão final. Dimenstein R e Rodrigues KDSR também participaram da concepção e desenho, análise e interpretação de dados, revisão e aprovação final.

Conflito de Interesses: Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Recebido: 15 de fevereiro de 2022

Aceito: 24 de agosto de 2022