

Níveis de alfa-tocoferol no soro e leite materno de puérperas atendidas em maternidade pública de Natal, Rio Grande do Norte

Levels of alpha-tocopherol in the serum and breast-milk of child-bearing women attending a public maternity hospital in the city of Natal, in the Brazilian State of Rio Grande do Norte

Lígia Rejane Siqueira Garcia ¹
 Karla Danielly da Silva Ribeiro ²
 Katherine Feitosa de Araújo ³
 Gabrielle Mahara Martins Azevedo ⁴
 Jeane Franco Pires ⁵
 Samara Dantas Batista ⁶
 Roberto Dimenstein ⁷

¹⁻⁷ Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Av. Senador Salgado Filho, 3000 Lagoa Nova, Natal, RN, Brasil. CEP: 59.072-970. E-mail: rdimen@uol.com.br

Abstract

Objectives: to evaluate levels of alpha-tocopherol in the serum and breast-milk of women at various stages in lactation and to confirm whether nutritionally appropriate levels of vitamin E are present in the milk given to the babies.

Methods: thirty-two child-bearing women with an average age of 25 years took part in the study. 5 mL of blood and 2 mL of colostrum were collected, under fasting conditions, for the purposes of analyzing the levels of alpha-tocopherol. Between 10 to 15 days after childbirth, a further 2 mL of breast-milk was collected. The samples were analyzed using High-Efficiency Liquid Chromatography. The nutritional adequacy of the breast-milk in terms of vitamin E content was calculated by multiplying the estimated volume of milk ingested by the infant by the concentration of α -tocopherol in the breast-milk and comparing this directly with the gold standard for intake of this nutrient (4 mg/day).

Results: alpha-tocopherol in the blood were $29 \pm 0.9 \mu\text{mol/L}$ (mean \pm standard error) and in the colostrum and transition milk were $28.7 \pm 4.7 \mu\text{mol/L}$ and $7.8 \pm 1.0 \mu\text{mol/L}$, respectively. The estimated consumption of colostrum provided 241% the recommended dietary intake and the transition milk provided 66%.

Conclusions: the group of women under study had nutritionally adequate levels of vitamin E, and these levels are reflected in their breast-milk, especially in the colostrum, which contained more than double the nutritional requirement of the infant.

Key words Tocopherol, Milk, human, Colostrum

Resumo

Objetivos: avaliar os níveis de alfa-tocoferol no soro e leite materno em diferentes estágios de lactação de puérperas e verificar a adequação nutricional de vitamina E do leite oferecido ao lactente.

Métodos: participaram do estudo 32 parturientes adultas com idade média de 25 anos. Foram coletados 5 mL de sangue e 2 mL de colostro, em condição de jejum, para análise dos níveis de alfa-tocoferol. Entre 10 e 15 dias pós-parto foram coletados mais 2 mL de leite. As amostras foram analisadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. A adequação nutricional do leite para a vitamina E foi calculada pelo produto do volume estimado de ingestão de leite com a concentração de α -tocoferol no leite e por comparação direta desse produto com o valor de referência para ingestão do nutriente (4 mg/dia).

Resultados: os níveis de alfa-tocoferol no sangue foram $29 \pm 0,9 \mu\text{mol/L}$ (Média \pm Erro padrão) e no colostro e leite de transição foram $28,7 \pm 4,7 \mu\text{mol/L}$ e $7,8 \pm 1,0 \mu\text{mol/L}$, respectivamente. O consumo estimado de colostro forneceu 241% da recomendação dietética e o de leite de transição atingiu 66%.

Conclusões: o grupo de mulheres estudadas apresentou um estado nutricional satisfatório de vitamina E, refletido no leite materno, principalmente no colostro, cujos valores foram capazes de suprir mais do que o dobro do requerimento nutricional do lactente.

Palavras-chave Tocoferol, Leite materno, Colostrum

Introdução

A vitamina E (tocoferol) é um nutriente lipossolúvel com função principal de proteger os ácidos graxos polinsaturados de cadeia longa das membranas celulares e as lipoproteínas contra a oxidação.¹ Essa vitamina é extremamente importante nos estágios iniciais de vida, desde a concepção até o desenvolvimento pós-natal da criança, porque protege contra a toxicidade do oxigênio.²

Existem evidências de que a deficiência de vitamina E provavelmente participa na patogênese da aterosclerose, diabetes e alguns tipos de câncer, bem como na modulação da inflamação e resposta imune.^{3,4} Além disso, a deficiência de tocoferol pode causar anemia hemolítica e afetar o desenvolvimento do sistema nervoso central, principalmente em recém-nascidos prematuros.^{5,6}

A vitamina E é repassada à prole por limitada transferência placentária, assim como pela ingestão do leite produzido pela mãe durante o período neonatal,² desempenhando importante fator de proteção contra os possíveis danos causados pelos radicais livres, principalmente para as crianças nascidas prematuramente. Os níveis de vitamina E no leite materno variam em função do período lactacional, sendo o colostro particularmente rico nesse micronutriente^{7,8} e sua ingestão pelo recém-nascido é essencial para fortalecer suas defesas contra o estresse oxidativo.⁹

O estado nutricional materno em vitamina E tem relação direta com os níveis séricos de alfa-tocoferol do feto e recém-nascido, destacando-se que situações de valores limítrofes ou baixos de alfa-tocoferol no plasma materno podem indicar deficiência de vitamina E para o binômio mãe-filho, reforçando a importância da saúde materna no crescimento fetal e proteção contra o estresse oxidativo.^{10,11}

Devido à importância da vitamina E para o desenvolvimento do lactente, esse estudo teve como objetivo avaliar os níveis de alfa-tocoferol no soro sanguíneo e no leite materno em dois estágios da lactação, que correspondem à secreção de colostro e de leite de transição de nutrízes, e verificar a adequação nutricional de vitamina E do leite oferecido ao lactente.

Métodos

Estudo do tipo transversal, realizado no período de abril a junho de 2008, com 32 nutrízes adultas, com idade média de 25 anos, atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco (MEJC), Natal, RN, Brasil. O

tamanho da amostra foi calculado usando o *software* Statcalc (Epi-Info version 3.4.3), considerando uma média de 200 partos por mês; e, para um nível de confiança de 95%, estimou-se a amostra de 26 sujeitos como representativa da Maternidade. O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (protocolo nº 174662).

Parturientes que apresentaram gestação múltipla, má-formação do neonato, uso de suplementos vitamínicos contendo alfa-tocoferol durante a gestação, doenças crônicas (diabetes, hipertensão) e residiam em outro município foram excluídas do estudo. As mães também não poderiam ter parido há mais de 12 horas no momento da coleta do sangue e colostro.

Os dados referentes às características maternas, parto e puerpério (paridade, tipo de parto, idade gestacional e peso ao nascer) foram obtidos dos prontuários das pacientes.

Após jejum noturno foram coletadas amostras de sangue (5 mL) e leite colostro (2 mL) das nutrízes em aleitamento exclusivo. O leite foi coletado por expressão manual de única mama, obtendo-se um *pool* do início e final da mamada para evitar flutuações na concentração de alfa-tocoferol. Entre 10 e 15 dias pós-parto as nutrízes retornaram ao ambulatório da MEJC para acompanhamento do crescimento infantil e prática de aleitamento. Nesse retorno foram coletados mais 2 mL de leite de transição. As amostras foram mantidas a -20° C até o momento das análises.

A concentração de alfa-tocoferol nas amostras de soro e leite foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com adaptação do método utilizado por Ortega *et al.*¹² Tanto no soro como no leite foram adicionados 1 mL de etanol 95° (Merck), utilizado para precipitação das proteínas, seguido por duas extrações com 2 mL de hexano (Merck). Os extratos foram reunidos e evaporados sob atmosfera de nitrogênio, em banho-maria a 37° C. Em seguida, as amostras foram redissolvidas em etanol absoluto (Vetec) e 20 µL foram aplicados no aparelho CLAE em sistema de fase reversa, utilizando Cromatógrafo LC-20 AT Shimadzu, acoplado a um Detector SPD-20A Shimadzu UV-VIS e Coluna Shim-pack CLC-ODS (M) 4,6 mm x 15 cm. Os dados foram processados pelo programa *LC solution* (Shimadzu Corporation). A fase móvel utilizada para as amostras de leite foi metanol: água (97:3), com fluxo de 1,5 mL/min e, para o soro, foi metanol 100% e fluxo de 1 mL/min. O comprimento de onda de 292 nm foi adotado para monitoramento da absorbância.

A identificação e quantificação do alfa-tocoferol

foi obtida por comparação da área do pico da amostra com a área do padrão alfa-tocoferol – Sigma. A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico para alfa-tocoferol (ϵ 1%, 1 cm = 75,8 a 292 nm) em etanol absoluto (Vetec), como utilizado por Nierenberg e Nann.¹³ Antes da determinação da concentração de alfa-tocoferol nas amostras, foi realizado teste de controle de qualidade, obtendo-se uma recuperação de 96% quando adicionado acetato de tocoferol como padrão interno.

Valores de alfa-tocoferol sérico materno menores que 11,6 $\mu\text{mol/L}$ (499,6 $\mu\text{g/dL}$) são indicativos de deficiência de vitamina E, entre 11,6 a 16,2 $\mu\text{mol/L}$ (499,6 a 697,7 $\mu\text{g/dL}$) valores de risco e acima de 16,2 $\mu\text{mol/L}$ (697,7 $\mu\text{g/dL}$) foram considerados como aceitáveis.¹⁴

A adequação nutricional do leite para a vitamina E foi calculada pelo produto do volume estimado de ingestão de leite (equivalente a produção de 780 mL/dia), com a concentração de alfa-tocoferol no

leite e por comparação direta desse produto com o valor de referência para ingestão do nutriente (4 mg/dia – *Adequate Intake*).¹⁵

As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa Statistica 6 (Statsoft, Inc) e os dados foram expressos como médias e erro padrão. Para testar as diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos – concentrações de tocoferol no leite colostro e transição – foi utilizado o teste t de Student em amostras dependentes. Os dados foram expressos como médias e desvio padrão. A relação entre o tocoferol no soro sanguíneo e leite foi avaliada pela correlação de Pearson. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

Resultados

As características das nutrizes e seus infantes são apresentadas na Tabela 1. Entre as participantes, 59,4% tiveram parto cesárea, 31,3% tiveram partos

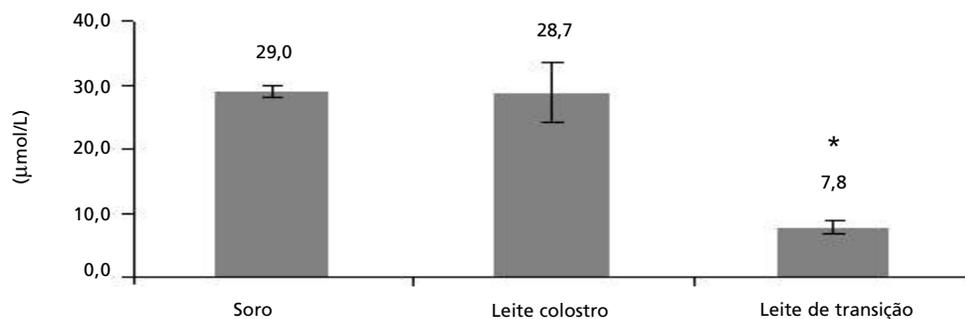
Tabela 1

Características das nutrizes (N=32) e seus infantes atendidos na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal, Rio Grande do Norte.

Características	\bar{X}	\pm	DP
Idade (anos)	25,00	\pm	6,3
Duração da gestação (semanas)	39,20	\pm	1,4
Paridade (número de gestações)	2,00	\pm	1,2
Peso do recém-nascido (g)	3.313,00	\pm	557,8

Figura 1

Concentração de alfa-tocoferol no soro sanguíneo, leite colostro e de transição de nutrizes atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco. Natal, Rio Grande do Norte.



* Teste t de Student - Comparação ao leite colostro ($p < 0,001$). Barras de dispersão nas colunas representam Erro-padrão das Médias.

normais e 9,4% do tipo *fôrceps*. Cerca de 97% das mães estavam amamentando seus filhos através do aleitamento exclusivo.

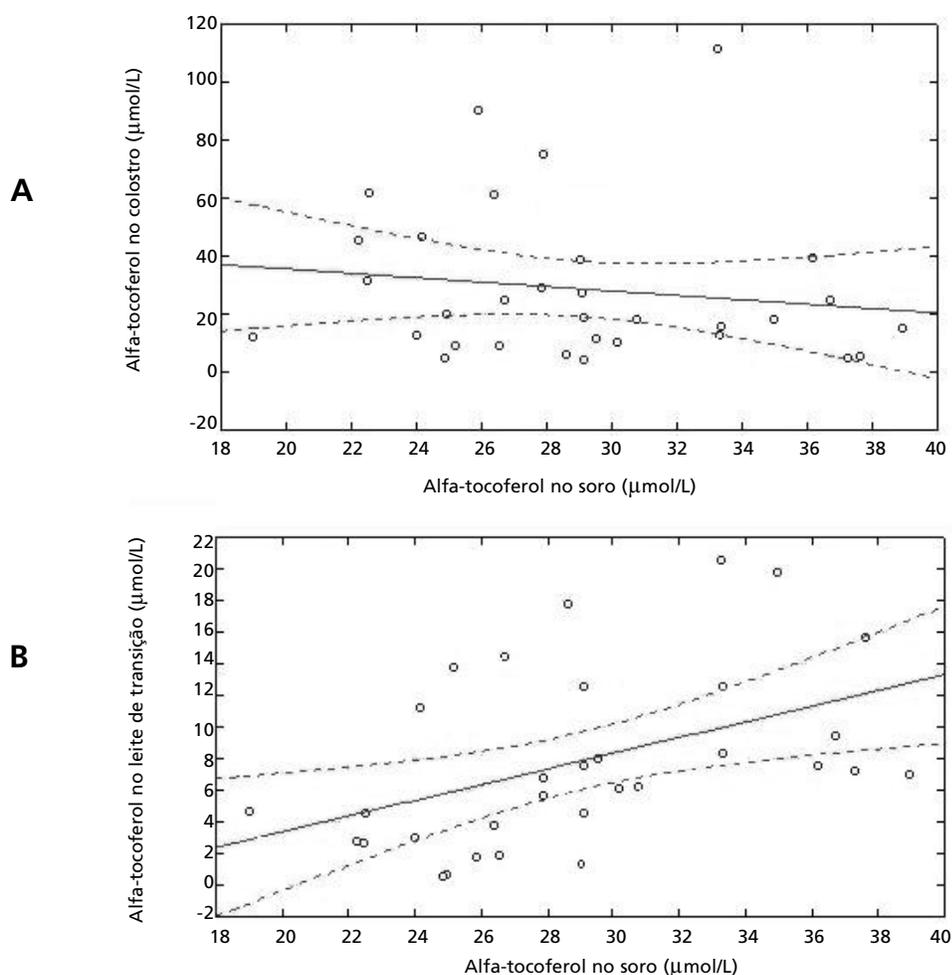
As parturientes apresentaram concentração de alfa-tocoferol no soro de $29,0 \pm 0,9 \mu\text{mol/L}$. Todas as voluntárias apresentaram estado nutricional adequado, com valores acima de $16,2 \mu\text{mol/L}$ ($697,7 \mu\text{g/dL}$),¹⁴ não sendo encontrada deficiência no grupo estudado. Os valores encontrados para alfa-tocoferol foram de $28,7 \pm 4,7 \mu\text{mol/L}$ e de $7,8 \pm 1,0 \mu\text{mol/L}$ no leite colostro e de transição, respectivamente, e foram significativamente diferentes ($p < 0,001$; Figura 1).

A relação entre o tocoferol do soro e do colostro não foi significativa ($p=0,421$; Figura 2a), mas foi encontrada uma correlação positiva entre o tocoferol do soro e o tocoferol do leite de transição ($r=0,456$ e $p=0,009$; Figura 2b).

Ao considerar o provável consumo de vitamina E de lactentes resultante da ingestão de leite materno, foi observado que o colostro atingiu mais do que o dobro da recomendação: 241% (9,6 mg), e o leite de transição contribuiu com 66% (2,6 mg) do valor recomendado para crianças de zero a seis meses de idade.

Figura 2

Correlação entre o alfa-tocoferol no soro sanguíneo e no leite materno em diferentes estágios da lactação.



A = análise de correlação com o colostro ($p=0,421$); B = análise de correlação com o leite de transição ($r=0,456$ e $p=0,009$).

Discussão

Todas as mulheres estudadas tinham níveis séricos de alfa-tocoferol adequados ($>16,2 \mu\text{mol/L}$), evidenciando um bom estado nutricional de vitamina E. Comparando com outros estudos, apresentaram média ($29 \pm 0,9 \mu\text{mol/L}$) próxima ao encontrado em mulheres americanas ($26,2 \mu\text{mol/L}$),¹⁶ a parturientes na Turquia ($32 \mu\text{mol/L}$),⁹ superiores aos de Cuba ($23,9 \mu\text{mol/L}$),¹⁷ do Nepal ($15,2 \mu\text{mol/L}$)¹⁸ e adolescentes do Rio de Janeiro, Brasil ($10,8 \mu\text{mol/L}$).¹⁹

Os níveis plasmáticos de alfa-tocoferol materno podem influenciar a quantidade de vitamina E no leite humano.²⁰ No presente estudo o estado nutricional materno influenciou positivamente a concentração de alfa-tocoferol apenas no leite de transição ($r=0,456$, $p=0,009$), evidenciando a importância de um adequado estado nutricional materno na composição do leite humano. A ausência de correlação entre o alfa-tocoferol do soro e o do colostro indica que, nesse período da lactação, os mecanismos de transporte dessa vitamina são mais complexos e devem envolver outros meios de transportes além daqueles que são predominantes no leite de transição e maduro. Essa situação fica bem evidenciada ao se comparar a diminuição acentuada do alfa-tocoferol presente no colostro com aquele do leite de transição e já bem discutida por outros pesquisadores.²

Quando avaliado os níveis de alfa-tocoferol no leite colostro ($28,7 \pm 4,7 \mu\text{mol/L}$), verificou-se que foram semelhantes ao nível encontrado em Cuba,⁸ inferiores ao encontrado na África⁷ e superiores ao visto na Suécia, por Jansson *et al.*¹¹

A comparação entre a concentração de alfa-tocoferol no colostro ($28,7 \pm 4,7 \mu\text{mol/L}$) e no leite de transição ($7,8 \pm 1,0 \mu\text{mol/L}$) mostrou uma redução três vezes menor deste último em relação ao colostro. Uma explicação para essa mudança pode ser reflexo do aumento do tamanho dos glóbulos de gordura no leite maduro, uma vez que a maior parte da vitamina E é secretada no leite como constituinte da membrana do glóbulo de gordura do leite. Ocorre que, partir das primeiras semanas de lactação, aumenta a síntese de triacilgliceróis na glândula mamária e a secreção desses lipídios no leite, sem aumento proporcional na secreção de fosfolipídios e outros componentes da membrana do glóbulo de gordura. Dessa forma, com o decorrer da lactação, especialmente na transição entre colostro e leite

maduro, há redução relativa na quantidade de componentes da membrana do glóbulo de gordura do leite, entre os quais faz parte a vitamina E.⁷

A concentração de alfa-tocoferol no leite de transição foi semelhante a de mulheres suecas¹¹ e inferiores àquelas encontradas na Turquia,²¹ Canadá²² e Espanha.²³

Nos seis primeiros meses de vida o lactente deve ingerir diariamente 4 mg de vitamina E, necessário para acumular reservas e evitar os possíveis danos do estresse oxidativo.¹⁵ O leite colostro, reconhecidamente rico em vitaminas lipossolúveis, contribuiu com mais do que o dobro da recomendação dietética de vitamina E, enquanto o leite de transição apresentou 66% da recomendação. A ingestão elevada de alfa-tocoferol é extremamente importante para o recém-nascido, principalmente para prematuros, visto que nos primeiros dias de vida os níveis plasmáticos e as reservas corporais estão baixos, aliados a uma maior exposição ao estresse oxidativo decorrente de infecções, oxigênio, nutrição intravenosa e ventilação mecânica.²³ Além disso, essa informação reforça a importância de se destinar o leite colostro para lactentes beneficiados pelo Banco de Leite Humano que se encontram nos primeiros dias de vida.

O grupo estudado apresentou um estado nutricional adequado de vitamina E, que foi refletido no leite materno, principalmente no colostro, que supriu o requerimento nutricional do lactente. Entretanto, a concentração do alfa-tocoferol presente no leite de transição aponta para uma aparente inadequação nutricional quanto a essa vitamina.

Investigações futuras são necessárias para avaliar a influência da dieta, dos suplementos vitamínicos e principalmente, da forma farmacêutica de vitamina E veiculada às gestantes ou nutrízes sobre os níveis de alfa-tocoferol consumidos pelo lactente e para utilização do leite como indicador do estado nutricional de vitamina E no grupo materno infantil.

Agradecimentos

À Maternidade Escola Januário Cicco por permitir a coleta de amostras biológicas, à enfermeira responsável pelo Banco de Leite Humano Ana Zélia Pristo, e à Dra. Alessandra Araújo, pela preciosa colaboração no desenvolvimento do estudo.

Referências

1. Bramley PM, Elmadfa I, Kafatos A, Kelly FJ, Manios Y, Roxborough HE, Schuch W, Sheehy PJA, Wagner KH. Vitamin E. *J Sci Food Agric.* 2000; 80: 913-38.
2. Debier C. Vitamin E during pre- and postnatal periods. *Vitam Horm.* 2007; 76: 357-73.

3. Stone WL, LeClair I, Ponder T, Baggs G, Reis BB. Infants discriminate between natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr.* 2003; 77: 899-906.
4. Morrissey PA, Sheehy PJA. Optimal nutrition. *Proc Nutr Soc.* 1999; 58: 459-68.
5. Azzi A, Stocker A. Vitamin E: non-antioxidant roles. *Prog Lipid Res.* 2000; 39: 231-55.
6. Romeu-Nadal M, Morera-Pons S, Castellote AI, Lopez-Sabater MC. Determination of γ and α -tocopherols in human milk by a direct high-performance liquid chromatographic method with UV-vis detection and comparison with evaporative light scattering detection. *J Chromat A.* 2006; 1114: 132-7.
7. Boersma ER, Offringa PJ, Muskiet FAJ, Chase WM, Simmons IJ. Vitamin E, lipid fractions, and fatty acid composition of colostrum, transitional milk, and mature milk: an international comparative study. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53: 1197-204.
8. Macias C, Schweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab.* 2001; 45: 82-5.
9. Baydas G, Karatas F, Gursu MF, Bozkurt HA, Ilhan N, Yasar A, Canatan H. Antioxidant vitamin levels in term and preterm infants and their relation to maternal vitamin status. *Arch Med Res.* 2002; 33: 276-80.
10. Scholl TO, Chen X, Sims M, Stein P. Vitamin E: maternal concentrations are associated with fetal growth. *Am J Clin Nutr.* 2006; 84: 1442-8.
11. Jansson L, Akesson B, Holmberg L. Vitamin E and fatty acid composition of human milk. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34: 8-13.
12. Ortega RM, López-Sobaler AM, Martínez RM, Andrés P, Quintas ME. Influence of smoking on vitamin E status during the third trimester of pregnancy and on breast-milk tocopherol concentrations in Spanish women. *Am J Clin Nutr.* 1998; 68: 662-7.
13. Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr.* 1992; 56: 417-26.
14. Sauberlich HE, Dowdy RP, Skala JH. Laboratory tests for the assessment of nutritional status. Cleveland, OH: CRC Press; 1974. p. 74-80.
15. Institute of Medicine. Food and Nutrition board. Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. Washington DC: National Academy Press; 2000.
16. Ascherio A, Stampfer M, Grahan A, Rimm EB, Litin L, Willet W. Correlations of vitamin A in E intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among american men and women. *J Nutr.* 1992; 122: 1792-801.
17. Rodríguez GP, Alonso DP, Sintés GS, Matos CM, Hernandez AC, Enríques YR, Gutierrez PM. Vitaminas antioxidantes en un grupo de embarazadas y recién nacidos durante un año de estudio. *Rev Cuba Aliment Nutr.* 2002; 16: 85-94.
18. Yamini S, West Jr KP, Dreyfuss ML, Yang DX, Khattry SK. Circulations level of retinol, tocopherol and carotenoid in nepali pregnant and postpartum women following long-term β -carotene and vitamin A supplementation. *Eur J Clin Nutr.* 2001; 55: 252-9.
19. Azeredo VB, Trugo NMF. Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations. *Nutrition.* 2008; 24: 133-9.
20. Zheng MC, Zhaw LS, Zhang GD. Alpha-tocopherol content of breast milk in China. *J Nutr Sci Vitaminol.* 1993; 39: 517-20.
21. Tokusoglu O, Tansug N, Aksit S, Dinc G, Kasirga E, Ozcan C. Retinol and alpha-tocopherol concentrations in breast milk of Turkish lactating mothers under different socio-economic status. *International J Food Scie Nutr.* 2008; 59: 166-74.
22. Bishara R, Dunn MS, Merko SE, Darling P. Nutrient composition of hindmilk produced by very low birth weight infants born at less than 28 weeks' gestation. *J Human Lact.* 2008; 24: 159-67.
23. Romeu-Nadal M, Castellote AI, Gayà A, López-Sabater MC. Effect of pasteurization on ascorbic acid, dehydroascorbic acid, tocopherols and fatty acids in pooled

Recebido em 28 de agosto de 2008

Versão final apresentada em 13 de agosto de 2009

Aprovado em: 13 de agosto de 2009