

Influence of postpartum supplementation with vitamin A on the levels of immunoglobulin A in human colostrum

Influência da suplementação pós-parto de vitamina A sobre os níveis de imunoglobulina A no colostro humano

Mayara S. R. Lima¹, Penha P. C. Ribeiro¹, Jovilma M. S. Medeiros¹,
Isabelle F. Silva¹, Ana C. P. Medeiros², Roberto Dimenstein³

Resumo

Objetivo: Avaliar a influência da suplementação com palmitato de retinol no pós-parto imediato sobre os níveis de imunoglobulina A secretora (SIgA) no colostro.

Métodos: Ensaio clínico realizado com 96 parturientes atendidas em uma maternidade pública, divididas em grupo controle, que não foi suplementado (n = 44), e teste, suplementado no primeiro dia pós-parto (n = 52). Coletaram-se amostras de 2 mL de colostro nos dois primeiros dias pós-parto. A SIgA foi quantificada por turbidimetria, e os dados, analisados por teste t de Student.

Resultados: Antes da suplementação, a média de SIgA foi de 829,1±337,6 mg/dL no grupo controle e 827,3±249,8 mg/dL no teste (p = 0,52). Após a suplementação, a média foi de 343,9±177,2 mg/dL no grupo não suplementado e 501,2±54,5 mg/dL no suplementado (p < 0,00001).

Conclusão: O colostro de mulheres suplementadas com palmitato de retinol possui mais SIgA, sugerindo modulação da produção de anticorpos pela vitamina A.

J Pediatr (Rio J). 2012;88(2):115-8: Vitamina A, imunoglobulina A secretora, colostro, suplementos dietéticos, ensaio clínico.

Abstract

Objective: To evaluate the influence of supplementation with retinyl palmitate in the immediate postpartum period on the levels of secretory immunoglobulin A (SIgA) in colostrum.

Methods: A clinical trial was conducted among 96 recently-delivered mothers treated at a public maternity hospital, divided into control group, which was not supplemented (n = 44), and test group, supplemented on the first day postpartum (n = 52). Samples of 2 mL of colostrum were collected on the first 2 days postpartum. SIgA was measured by turbidimetry and data were analyzed by the Student t test.

Results: Before supplementation, the average SIgA was 829.1±337.6 mg/dL in the control group and 827.3±249.8 mg/dL in the test group (p = 0.52). After supplementation, the average SIgA was 343.9±177.2 mg/dL in the unsupplemented group and 501.2±54.5 mg/dL in the supplemented group (p < 0.00001).

Conclusion: The colostrum of women supplemented with retinyl palmitate has higher levels of SIgA, which suggests that the production of antibodies is modulated by vitamin A.

J Pediatr (Rio J). 2012;88(2):115-8: Vitamin A, secretory immunoglobulin A, colostrum, dietary supplements, clinical trial.

Introdução

O leite materno é a melhor forma de alimentação para o recém-nascido (RN), por possuir características nutricionais ideais e oferecer vantagens imunológicas e psicológicas importantes para a redução da morbimortalidade infantil¹.

O colostro humano, secreção láctea dos primeiros dias pós-parto, é rico em anticorpos, oferecendo benefícios imunológicos ao RN, o que o faz ser comparado a uma

vacina². O principal anticorpo do leite humano é a imunoglobulina A secretora (SIgA), produzida pelas células secretoras da mama e liberada por meio da circulação êntero-mamária, protegendo o RN contra antígenos microbianos e alérgenos³.

Além da maior concentração de componentes imunológicos, o colostro é rico em vitaminas lipossolúveis, como a

1. Acadêmica de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.

2. Mestre. Bioquímica, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica, UFRN, Natal, RN.

3. Doutor. Professor, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica, Laboratório de Bioquímica de Alimentos e Nutrição, UFRN, Natal, RN.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Como citar este artigo: Lima MS, Ribeiro PP, Medeiros JM, Silva IF, Medeiros AC, Dimenstein R. Influence of postpartum supplementation of vitamin A on the levels of immunoglobulin A in human colostrum. *J Pediatr (Rio J)*. 2012;88(2):115-8.

Artigo submetido em 02.07.11, aceito em 16.11.11.

<http://dx.doi.org/10.2223/JPED.2162>

vitamina A ou retinol, conhecida também como vitamina anti-infecciosa, por ser importante para a função imunológica⁴.

Lactantes e crianças amamentadas são consideradas grupos de risco para a deficiência de vitamina A (DVA), e a carência na mãe pode levar à inadequação do estado nutricional de vitamina A no RN, aumentando o risco de morbimortalidade infantil⁵. Assim, a suplementação de vitamina A é uma estratégia de saúde pública útil para melhorar a sobrevivência infantil, diminuindo o risco de morbidade de origem infecciosa, por doenças como sarampo, diarreia grave, HIV e, possivelmente, malária e helmintíases intestinais⁶.

Nikawa et al.⁷ testaram a influência da suplementação com acetato de retinol sobre a produção de imunoglobulina A (IgA) da mucosa de camundongos e observaram que, na maioria dos animais, houve um aumento da concentração de IgA após suplementação com vitamina A.

Outros estudos com ratos e camundongos observaram a influência da suplementação com betacaroteno (pró-vitamina A) sobre a IgA do leite, chegando à conclusão de que a suplementação com essa substância durante a gravidez e a lactação é útil para aumentar a transferência de IgA para o leite materno⁸.

Tendo em vista a importância da vitamina A para a função imunológica e as evidências de aumento da produção de IgA após a sua suplementação em animais, o presente estudo objetivou avaliar a influência da suplementação com palmitato de retinol no pós-parto imediato sobre os níveis de SIgA no colostro de parturientes atendidas em uma maternidade pública.

Métodos

Trata-se de um ensaio clínico no qual a amostragem foi obtida por conveniência, composta por parturientes voluntárias atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal (RN).

O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) (protocolo nº 284/09), assim como da diretoria da Maternidade Escola Januário Cicco.

O cálculo do tamanho amostral foi realizado por método inferencial, sendo utilizados valores médios e medidas de dispersão de trabalho anterior⁹. Foi suposto que o desvio padrão do retinol materno em 1 mês pós-parto não era maior que 14,9 µg/dL. Consequentemente, seria necessário recrutar no mínimo 42 mulheres em cada grupo para detectar uma diferença de 10,0 µg/dL com poder de 80%, 95% de confiança e perda de seguimento de 25%.

Como critérios para inclusão no estudo, as mulheres deveriam ter conceito único, sem má-formação, a termo ou pré-termo. Não foram incluídas no estudo puérperas com patologias, tais como diabetes, neoplasias, doenças do trato gastrointestinal e hepáticas, cardiopatias, doenças infecciosas, sífilis e HIV positivo ou que afirmaram ter feito uso de suplementos vitamínicos contendo vitamina A durante

a gestação. A amostra foi composta por 96 parturientes, sendo 44 pertencentes ao grupo controle (sem suplementação) e 52 ao grupo suplementado (suplementado com uma megadose de 200.000 UI de palmitato de retinol no pós-parto imediato).

A coleta de dados foi dividida em duas etapas, ocorridas em períodos distintos. Num primeiro momento, houve a constituição do grupo controle, composto por mulheres saudáveis admitidas na maternidade no período dessa coleta, sendo incluídas no grupo todas aquelas que obedeciam aos critérios de inclusão e aceitavam participar da pesquisa. Após a constituição desse grupo, passou-se à coleta dos dados do grupo teste, utilizando os mesmos procedimentos e critérios citados, exceto pela suplementação das mães, que foi realizada nesse grupo.

Após esclarecimento dos objetivos da pesquisa e obtida a autorização das puérperas através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, amostras de 2 mL de colostro foram coletadas após jejum noturno, sempre no período da manhã. Em seguida, foi administrada uma cápsula de 200.000 UI (60 mg) de palmitato de retinol nas mães pertencentes aos grupos teste, enquanto as do grupo controle não receberam tal suplementação. No dia seguinte, 24 horas depois, foi realizada nova coleta antes do café da manhã. Após a segunda coleta de colostro, as mulheres do grupo controle também receberam a suplementação com palmitato de retinol, por ser uma recomendação do Ministério da Saúde do Brasil. O colostro foi obtido por expressão manual de uma única mama, no início e final da mamada, a fim de evitar flutuações no teor de gordura. Esses procedimentos foram realizados por alunas de iniciação científica que foram treinadas para esse fim.

As amostras de colostro foram coletadas em tubos de polipropileno protegidos da luz e conduzidas, sob refrigeração, até o Laboratório de Bioquímica de Alimentos e Nutrição do Departamento de Bioquímica do Centro de Biociências da UFRN e armazenadas a -20 °C até o momento das análises. Os dados das puérperas e dos RN, bem como informações sobre o parto foram adquiridos no prontuário de cada parturiente.

A SIgA foi avaliada através do método turbidimétrico, utilizando o *kit* para determinação de IgA da In Vitro Diagnóstica (Itabora, Brasil). Esse método é baseado na reação entre as imunoglobulinas – como antígeno – e o anticorpo específico – como anticorpo. Essa reação, que geralmente forma imunoprecipitados insolúveis, implica em turbidez, que é medida em espectrofotômetro.

Sabendo-se que a SIgA está concentrada no soro do leite, apesar de uma pequena quantidade estar limitada aos seus glóbulos de gordura¹⁰, o leite foi previamente centrifugado (500 x g) por 10 minutos, e a camada sólida e gordurosa descartada, enquanto o soro foi coletado e refrigerado a -20 °C. Para o teste, esse soro foi diluído na proporção de 1:20 com solução salina de NaCl 0,9%; sendo assim, para cada 50 µl de soro de leite, foram adicionados 1.000 µl da solução. Do soro diluído, foram retirados 20 µl e adicionados a estes 1.000 µl de antissor IgA (AS-A), que estava pronto para uso e contém etilenoglicol como acelerador. A solução

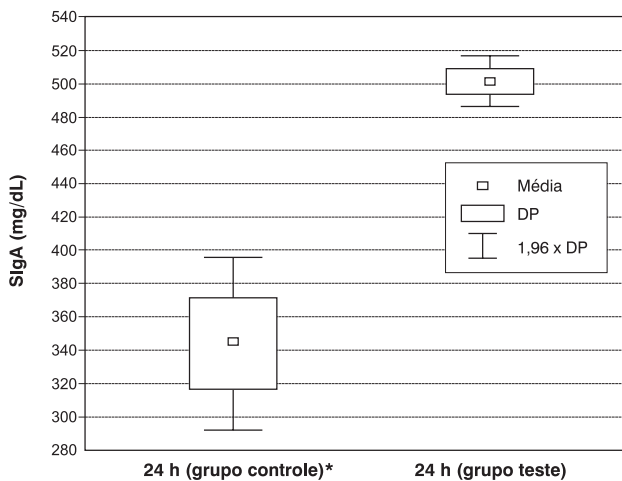
padrão passou pelo mesmo procedimento. Fez-se, então, a homogeneização cuidadosa dos tubos e das amostras, juntamente com o padrão e o branco; foram incubadas por 10 minutos a 37 °C, em banho-maria, para que a reação entre a SIgA e o seu antissoro correspondente ocorresse. A turbidez gerada foi detectada a 340 nm por espectrofotômetro da marca Femto (São Paulo, Brasil). A concentração da imunoglobulina foi calculada usando o padrão de IgA (IgA Cat. 11.002), e os valores são dados em mg/dL.

Os valores de IgA foram expressos em média e desvio padrão. Para testar as diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos, foi utilizado o teste *t* de Student, e as diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$.

Resultados

No primeiro dia pós-parto (0 h), a média de SIgA no colostro das mães do grupo controle foi de $829,1 \pm 337,6$ mg/dL, semelhante à obtida para o grupo teste ($827,3 \pm 249,8$ mg/dL), uma vez que as parturientes desse último ainda não haviam recebido a suplementação. Portanto, não houve diferença significativa entre as médias dos níveis da imunoglobulina dos dois grupos no primeiro dia pós-parto ($p = 0,52$).

No dia seguinte, 24 horas após terem recebido a dose de 200.000 UI de palmitato de retinol, as mulheres do grupo suplementado apresentaram em seu colostro níveis de SIgA superiores aos detectados no colostro das mães que não foram suplementadas ($501,2 \pm 54,5$ mg/dL e $343,9 \pm 177,2$ mg/dL, respectivamente), havendo diferença estatisticamente significativa entre os valores médios dos dois grupos ($p < 0,00001$) (Figura 1).



DP = desvio padrão; SIgA = imunoglobulina A secretora.
* Diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo teste – teste *t* de Student para amostras independentes ($p < 0,0001$).

Figura 1 - Valores de SIgA (mg/dL) no colostro das parturientes dos grupos controle e teste no segundo dia pós-parto (24 horas após a suplementação do grupo teste)

Observou-se, em ambos os grupos, que os valores de SIgA no colostro 24 horas após o parto foram menores se comparados ao primeiro dia. Entretanto, o decréscimo nos níveis da imunoglobulina do grupo sem suplementação foi de 58,4%, enquanto que no grupo suplementado com a vitamina A foi de 39,5%.

Discussão

O fato de o nível de SIgA ter sido maior no colostro das mães que receberam suplementação com palmitato de retinol demonstra a importância da vitamina A na imunidade e reforça a hipótese de que esta vitamina está ligada a maiores níveis de SIgA no leite de parturientes que amamentam.

De acordo com Semba¹¹, a suplementação com vitamina A tem mostrado diminuir a incidência e a severidade de diversas patologias. Experiências com animais sugerem que a vitamina A e os retinoides relacionados modulam muitos elementos do sistema imunológico, incluindo a expressão de queratina e mucinas, linfopoiese, apoptose, produção de citocinas, a função de neutrófilos, células *natural killer*, monócitos e macrófagos, linfócitos T e B e a produção de imunoglobulinas¹².

Uma medida indireta do potencial efeito da suplementação com vitamina A na função das células B é a produção de anticorpos. Este é um efeito indireto que, segundo Duriancik et al.¹², provavelmente acontece pela influência da vitamina sobre as células apresentadoras de antígenos, que têm a função de apresentar o antígeno ao linfócito B, favorecendo a síntese de imunoglobulinas.

Já um estudo em ratos mostrou que o fator nuclear de células T ativadas é menor na DVA e maior na presença de vitamina A, sendo esse fator requerido para que as células B possam sintetizar IgA. Portanto, segundo os autores, a vitamina A desempenha um papel crítico na resposta imunológica, pois sua ingestão induz à formação de IgA, por aumentar a concentração do fator que estimula as células produtoras dessa imunoglobulina¹³.

Os mecanismos que levam à maior presença de IgA secretora no leite humano após a suplementação com vitamina A ainda não estão totalmente elucidados, sendo necessárias mais pesquisas sobre o assunto, inclusive para verificar quais fatores estão envolvidos numa resposta tão rápida à suplementação como a vista neste estudo.

Além disso, uma limitação deste trabalho foi não ter verificado os níveis de SIgA no colostro durante um maior período de tempo após a suplementação, podendo, inclusive, observar as quantidades da imunoglobulina no leite maduro, a fim de verificar se há benefícios a longo prazo da suplementação materna sobre as quantidades de SIgA do leite.

Observou-se que a concentração de SIgA no colostro das mulheres no primeiro dia pós-parto foi, aproximadamente, duas vezes maior que a concentração dessa imunoglobulina no colostro do segundo dia. Porém, a redução observada era esperada, uma vez que, segundo Ballabio et al.¹⁴, a concentração de SIgA no colostro decresce de forma significativa

nos primeiros dias pós-parto. Entretanto, a quantidade total dessa imunoglobulina ingerida pela criança permanece praticamente inalterada durante os primeiros 2 a 3 meses de vida, devido a um aumento no volume de leite consumido pelo lactente¹⁵.

Embora aconteça essa diminuição nos níveis da imunoglobulina, foi visto que as mães que receberam a suplementação de palmitato de retinol no pós-parto imediato apresentaram, em média, 30% mais SIgA no colostro no segundo dia pós-parto, quando comparadas às mães que não foram suplementadas.

Assim, os resultados obtidos mostram que a vitamina A é importante na imunidade, pois sugerem a modulação da produção de anticorpos por essa vitamina, apontando que a suplementação pode ser considerada uma alternativa eficaz para melhorar, além do estado nutricional, a imunidade de lactantes e seus RN.

Agradecimentos

À Maternidade Escola Januário Cicco e às mães que participaram do estudo, por permitirem a coleta dos dados.

Referências

1. Marques RF, Lopez FA, Braga JA. *O crescimento de crianças alimentadas com leite materno exclusivo nos primeiros 6 meses de vida*. J Pediatr (Rio J). 2004;80:99-105.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. *Promovendo o aleitamento materno*. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2007. Álbum seriado.
3. Fagarasan S, Kawamoto S, Kanagawa O, Suzuki K. *Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis*. Annu Rev Immunol. 2010;28:243-73.
4. Stephensen CB. *Vitamin A, infection, and immune function*. Annu Rev Nutr. 2001;21:167-92.
5. Ramalho RA, Flores H, Accioly E, Saunders C. *Associação entre deficiência de vitamina A e situação socioeconômica de mães e recém-nascidos*. Rev Assoc Med Bras. 2006;52:170-5.
6. Villamor E, Fawzi WW. *Effects of vitamin A supplementation on immune responses and correlation with clinical outcomes*. Clin Microbiol Rev. 2005;18:446-64.
7. Nikawa T, Ikemoto M, Kano M, Tokuoka K, Hirasaka K, Uehara S, et al. *Impaired vitamin A-mediated mucosal IgA response in IL-5 receptor-knockout mice*. Biochem Biophys Res Commun. 2001;285:546-9.
8. Nishiyama Y, Sugimoto M, Ikeda S, Kume S. *Supplemental β -carotene increases IgA-secreting cells in mammary gland and IgA transfer from milk to neonatal mice*. Br J Nutr. 2011;105:24-30.
9. Ayah RA, Mwaniki DL, Magnussen P, Tedstone AE, Marshall T, Alusala D, et al. *The effects of maternal and infant vitamin A supplementation on vitamin A status: a randomised trial in Kenya*. Br J Nutr. 2007;98:422-30.
10. Schroten H, Bosch M, Nobis-Bosch R, Köhler H, Hanisch FG, Plogmann R. *Secretory immunoglobulin A is a component of the human milk fat globule membrane*. Pediatr Res. 1999;45:82-6.
11. Semba RD. *The role of vitamin A and related retinoids in immune function*. Nutr Rev. 1998;56:S38-48.
12. Duriancik DM, Lackey DE, Hoag KA. *Vitamin A as a regulator of antigen presenting cells*. J Nutr. 2010;140:1395-9.
13. Maruya M, Suzuki K, Fujimoto H, Miyajima M, Kanagawa O, Wakayama T, et al. *Vitamin A-dependent transcriptional activation of the nuclear factor of activated T cells c1 (NFATc1) is critical for the development and survival of B1 cells*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108:722-7.
14. Ballabio C, Bertino E, Coscia A, Fabris C, Fuggetta D, Molfino S, et al. *Immunoglobulin-A profile in breast milk from mothers delivering full term and preterm infants*. Int J Immunopathol Pharmacol. 2007;20:119-28.
15. Weaver LT, Austin S, Cole TJ. *Small intestinal length: a factor essential for gut adaptation*. Gut. 1991;32:1321-3.

Correspondência:

Roberto Dimenstein
Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)
Av. Senador Salgado Filho, 3000, Lagoa Nova
CEP 59072-970 - Natal, RN
Tel.: (84) 3215.3416, ramal 205
Fax: (84) 3211.9208
E-mail: rdimension@gmail.com