
FERNANDA DANIELA FERNANDES CARVALHO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3
E ÔMEGA 6 EM NUTRIZES NA COMPOSIÇÃO DE
ÁCIDOS GRAXOS SÉRICO E DO LEITE MATERNO E NOS
BIOMARCADORES DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA.**

Bragança Paulista

2010

FERNANDA DANIELA FERNANDES CARVALHO

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3
E ÔMEGA 6 EM NUTRIZES NA COMPOSIÇÃO DE
ÁCIDOS GRAXOS SÉRICO E DO LEITE MATERNO E NOS
BIOMARCADORES DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA.**

Orientadora: Prof^a Dra^a Patrícia de Oliveira Carvalho

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação *Stricto
Sensu* em Ciências da Saúde da
Universidade São Francisco (USF) para
obtenção do título de Mestre em
Ciências da Saúde.

Bragança Paulista

2010

QU 90 Carvalho, Fernanda Daniela Fernandes.

C323e Efeito da suplementação com ácidos graxos ômega 3 e
ômega 6 em nutrízes na composição de ácidos graxos sérico
e do leite materno e nos biomarcadores de oxidação lipídica /

Fernanda Daniela Fernandes Carvalho. -- Bragança Paulista, 2010.
53 p.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação
Stricto Sensu em Ciências da Saúde da Universidade São
Francisco. Orientação de: Patrícia de Oliveira Carvalho.

1. Ácidos graxos. 2. Óleos de peixe. 3. Óleo de prímula.
4. Leite humano. 5. Peroxidação de lipídeos. I. Carvalho,
Patrícia de Oliveira. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada pelas bibliotecárias do Setor de
Processamento Técnico da Universidade São Francisco.

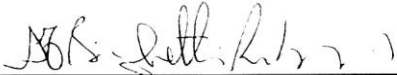
CARVALHO, Fernanda Daniela Fernandes. “Efeito da suplementação com ácidos graxos ômega 3 e ômega 6 em nutrízes na composição de ácidos graxos sérico e do leite materno e nos biomarcadores de oxidação lipídica”. Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em trinta de Junho de 2010 pela Banca examinadora constituída pelos professores:



Profª. Drª. Patrícia de Oliveira Carvalho - Orientadora e Presidente
Universidade São Francisco



Profª. Drª. Alessandra Gambero
Universidade São Francisco



Profª. Drª. Aparecida Érica Bighetti Ribas
Universidade São Francisco

DEDICATÓRIA

À Deus...

Presença constante em minha vida, por me permitir acordar a cada novo dia de muitas bênçãos; pelo pleno funcionamento do meu corpo físico, mental, espiritual e emocional, para que assim realizasse mais um sonho.

À Minha querida Mãe e ao meu querido Pai, que zelaram por mim com toda sua dedicação e amor, incansáveis em proporcionar, com muito sacrifício, as condições necessárias para que eu alcançasse os meus objetivos; sempre presente ajudando a vencer os obstáculos que aparecem em nosso caminho, procurando mostrar a melhor forma de superá-los e apoiando as minhas decisões.

A minha irmã Flávia pelo apoio, incentivo e confiança depositada, sempre acreditando nos meus sonhos.

A minha irmã Isadora pelo carinho e admiração ao ver o meu trabalho.

DEDICATÓRIA ESPECIAL

Ao meu marido Larri, pela paciência, compreensão, companheirismo e amor incondicional. Obrigada por estar sempre ao meu lado, por me incentivar a seguir em frente nos momentos difíceis e por comemorar comigo cada conquista alcançada. Sem você eu não teria conseguido. Te amo!

AGRADECIMENTOS

À profª Dra Patrícia de Oliveira Carvalho , minha orientadora, pela amizade e dedicação. Minha sincera gratidão e admiração eterna.

A profª Dra Pérola Ribeiro, pela dedicação no desenvolvimento deste trabalho. Minha sincera gratidão e admiração eterna.

As amigas e alunas de Iniciação Científica Marcela e Amanda, pelo carinho e amizade, que tanto contribuíram com o trabalho, pois sempre que precisei estavam dispostas e presentes me auxiliando na realização das análises.

A amiga Viviane Bozolan, que sempre me estendeu as mãos nas horas mais difíceis desta trajetória com seu conhecimento, conselhos e palavras sábias.

As amigas do Laboratório de Pesquisa da Universidade São Francisco Bel Bíaseto, Aline Curiel, Camila Moraes, Gabi Sabbadine, , Fernanda Martins, Paula Campos, Jane, Rose e Ana Jacopucci pelas risadas, companherismo, e auxílio nas horas de dúvidas.

*A Profª Dra Nágila Raquel Teixeira Damasceno e
Dra Ana Paula de Queiroz Mello do Departamento de Saúde
Pública - USP, que se propuseram a auxiliar na realização de
ensaio clínico, meu muito obrigada.*

*A todos colaboradores e em especial Drº Marcos Franfini do
Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do HUSF, que nos permitiu
a realização da seleção de voluntárias.*

*As minhas queridas amigas Alessandra, Ludmíla, Daiane,
Damíla, Paula, Ângela, Carolina, pela amizade, energia positiva,
idéias, mesmo que aparentemente não tinham nada a ver com o
Trabalho.*

Aos meus alunos que sempre torceram por esta conquista.

*E a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para
elaboração deste trabalho.*

Que Deus os abençoe sempre!

*“Procure ser uma pessoa de valor,
em vez de procurar ser uma pessoa de sucesso.*

O sucesso é consequência.”

Albert Einstein.

RESUMO

O leite humano sob o ponto de vista nutricional, imunológico e de segurança, é considerado o melhor alimento nos primeiros meses de vida. A dieta materna, durante a gestação e lactação, é de suma importância, uma vez que influencia o conteúdo de ácidos graxos presentes no leite materno. É conhecido que ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) da família ômega 3 ($\omega 3$) e ômega 6 ($\omega 6$) desempenham papel fundamental no crescimento neuronal, transdução de sinais e excitabilidade das membranas neurais, sistema imunológico e na expressão de genes que regulam a diferenciação celular e o crescimento, durante o desenvolvimento intra-uterino e na vida pós-natal. Face ao exposto, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito da suplementação da dieta de gestantes por 15 dias (2g de óleo/dia) com cápsulas de óleo de peixe (grupo ômega 3, n=7) e óleo de prímula (grupo ômega 6, n=4) na composição de ácidos graxos sérico e no leite materno. Além disto, foi avaliado também as alterações dos níveis de lípides, enzimas hepáticas, biomarcadores de oxidação lipídica e dos anticorpos anti-LDL(-) das gestantes. No início do estudo foi aplicado um recordatório de 24 horas para caracterização da alimentação da gestante, e a coleta de sangue realizada no T₀ (antes da suplementação) e no T₁ (após 15 dias de suplementação) para as análises séricas. Após o parto foi feita coleta de leite maduro para a determinação da composição de ácidos graxos no leite materno. Os resultados mostraram que somente a suplementação com óleo de peixe (grupo $\omega 3$) alterou de forma favorável a composição de ácidos graxos séricos e do leite materno, devido ao aumento dos níveis de AGPI da família $\omega 3$, em especial os ácidos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA), o que refletiu diretamente na redução da relação $\omega 6/\omega 3$. O aumento dos níveis destes ácidos não refletiu no aumento da peroxidação lipídica, medida pelos níveis de malondialdeído no plasma das gestantes e pelos anticorpos anti-LDL(-). Também foi observado um aumento de lípides séricos nas gestantes, em especial LDL e colesterol total nos dois grupos, o qual pode ser atribuído ao nível elevado de ingestão de ácidos graxos (AGS), conforme dados de caracterização de alimentação das gestantes. Portanto, o presente trabalho mostra que o aporte de AGPI $\omega 3$ em gestantes é capaz de influenciar a composição destes ácidos nos níveis séricos e no leite materno, o qual fica armazenado na glândula mamária, passando para o concepto no aleitamento.

Descritores: leite materno, composição de ácidos graxos, óleo de peixe, óleo de prímula, peroxidação lipídica.

ABSTRACT

Human milk under the nutritional, immunological, and security point of view, is considered the best food in the first months of life. The maternal diet during pregnancy and lactation, is of paramount importance since it influences the content of fatty acids present in breast milk. It is known that polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the $\omega 3$ and $\omega 6$ family play a fundamental role in neuronal growth, signal transduction and excitability of neuronal membranes, immune system and expression of genes that regulate cell differentiation and growth during the development of intra-uterine and postnatal life. For the reasons shown, the study aimed to evaluate the effect of dietary supplementation of pregnant women for 15 days (2g of oil/day) with capsules of fish oil ($\omega 3$ group, $n = 7$) and evening primrose oil (group $\omega 6$, $n = 4$) in fatty acid composition in serum and breast milk. Moreover, we also evaluated the changes in serum lipids and liver enzymes, biomarkers of lipid oxidation and anti-LDL-pregnant women. At the beginning of the study it was administered a 24-hour recall to characterize the feeding of pregnant women, and blood collection performed at T_0 and T_1 for serum analysis. After that delivery was collected for determination of mature milk fatty acid composition in breast milk. The results showed that only supplementation with fish oil ($\omega 3$ group) altered favorably the fatty acid composition of serum and breast milk, due to increased levels of PUFA $\omega 3$ family, especially eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), which directly reflected in a lower ratio $\omega 6/\omega 3$. Increased levels of these acids did not result in increased lipid peroxidation measured by malondialdehyde levels in pregnant women's plasma and the anti-LDL (-). There was also an increase of serum lipids in pregnant women, in particular LDL and total cholesterol in both groups, which can be attributed to the high level of intake of saturated fatty acids (SFA), according to characterization data of pregnant women feeding. Therefore, this study shows that the contribution of $\omega 3$ PUFAs in pregnant women can influence the composition of these acids in serum and breast milk, which is stored in the mammary gland, passing to the fetus in lactation.

keywords: breast milk, fatty acid composition, fish oil, primrose oil, lipid peroxidation.

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido Araquidônico
AGCC	Ácido Graxo de Cadeia Curta
AGCM	Ácido Graxo de Cadeia Média
AGCL	Ácido Graxo de Cadeia Longa
AGMI	Ácido Graxo Monoinsaturado
AGPI	Ácido Graxo Poliinsaturado
AGPICL	Ácido Graxo Poliinsaturado Cadeia Longa
AGS	Ácido Graxo Saturado
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CT	Colesterol
DHA	Ácido Docosaheptaenóico
EPA	Ácido Eicosapentaenóico
HDL	Lipoproteína de alta densidade
LDL _n	LDL normal
LDL(-)	LDL eletronegativa
LDLox	LDL oxidada
LPO	Lipoperoxidação
LDL _{mm}	LDL minimamente modificada
LDL _{pd}	LDL pequena e densa
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TG	Triglicerídeo
ω3	Ômega 3
ω6	Ômega 6
VLDL	Lipoproteína de muita baixa densidade

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Composição de ácidos graxos (% do total) presentes no leite materno segundo dados da literatura.	4
Tabela 2:	Principais ácidos graxos segundo o número de átomos de carbono e duplas ligações.	7
Tabela 3:	Distribuição percentual média de macronutrientes, em relação ao valor energético total (VET) da alimentação das gestantes antes da suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).	29
Tabela 4:	Composição (%) dos principais ácidos graxos do soro das gestantes antes e após a suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).	30
Tabela 5:	Composição (%) dos principais ácidos graxos do leite materno das nutrizes após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).	32
Tabela 6:	Parâmetros bioquímicos séricos de gestantes antes e após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Apresenta a estrutura química dos AGPI das famílias ômega 3 e ômega 6.	6
Figura 2:	Metabolismo dos ácidos graxos família ômega 6 e ômega 3.	11
Figura 3:	Formação de placa aterosclerótica.	19
Figura 4:	Possíveis vias de geração da LDL(-) e potenciais mecanismos de ação.	20
Figura 5:	Níveis de malondialdeído (MDA) antes e após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).	35
Figura 6:	Determinação de anticorpos anti - LDL(-) antes e após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1 LEITE MATERNO: COMPOSIÇÃO E SUAS PROPRIEDADES	3
1.2 ÁCIDOS GRAXOS: ESTRUTURA QUÍMICA E NOMENCLATURA	6
1.3 ÁCIDOS GRAXOS POLIINSATURADOS (AGPI)	8
1.3.1 Fontes.....	8
1.3.2 Metabolismo	9
1.3.3 Importância dos AGPI durante a gestação e lactação.....	12
1.3.4 Importância nutracêutica.....	13
1.4 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA	16
1.5 OXIDAÇÃO DA LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE (LDL)	17
2. OBJETIVOS.....	21
2.1 OBJETIVO GERAL.....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	22
3.1 CASUÍSTICA.....	22
3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	23
3.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO	23
3.4 AVALIAÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR	24
3.5 DESENHO DO ESTUDO.....	24
3.5.1 Coleta de sangue e leite materno	24
3.5.2 Análises bioquímicas	25
3.5.3 Determinação da composição de AG séricos e no leite materno por cromatografia a gás (CG)	25
3.5.4 Quantificação de malondialdeído (MDA).....	26
3.5.5 Detecção de anticorpos anti - LDL (-).....	26

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1 DETERMINAÇÃO DE MACRONUTRIENTES SEGUNDO A INGESTÃO DE AGS E AGI DAS GESTANTES.....	28
4.2 COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO SORO DAS GESTANTES.....	29
4.3 COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE MATERNO	31
4.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	33
4.5 QUANTIFICAÇÃO DO MALONDIALDEÍDO (MDA).....	35
4.6 QUANTIFICAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-LDL ELETRONEGATIVA	36
5. CONCLUSÃO	38
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
7. ANEXOS	48

1. INTRODUÇÃO

Os lipídios desempenham diferentes papéis nos organismos vivos. Óleos e gorduras, por exemplo, são a principal reserva de energia, muitos ácidos carboxílicos foram, inicialmente, isolados de fontes naturais, principalmente, de gorduras e, por isso, foram denominados de ácidos graxos (AG) (Lehninger *et al.*, 1995). Os AG são constituintes estruturais de membranas celulares, cumprem funções energéticas e de reservas metabólicas, além de formarem hormônios e sais biliares (Valenzuela & Nieto, 2003).

A ingestão de lipídios durante a gestação e o primeiro ano de vida do ser humano é fundamental para suprir as necessidades de energia, servir como veículo de transporte de vitaminas lipossolúveis, favorecendo sua absorção e, também, servir como importante fonte de ácidos graxos essenciais (Makrides & Gibson, 2000).

Estudos com recém-nascidos constataram que o conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) $\omega 3$ e $\omega 6$, especialmente o ácido docosaheptaenóico (DHA), juntamente com o ácido araquidônico (AA) do leite materno, são os principais componentes das membranas celulares do cérebro, já que se encontram em mais de 30% dos AG que formam os fosfolipídios componentes das membranas (Valenzuela & Nieto, 2003).

Al & Badart (1996) ao estudarem a ingestão de lipídios por mulheres, durante a gestação, e sua incorporação, através do leite materno, observaram uma correlação entre a nutrição materna no terceiro trimestre de gestação e as concentrações séricas de lipídios nos recém-nascidos. Estes resultados ressaltam a necessidade de uma ingestão dietética adequada de AG desde as etapas iniciais da gestação e, também, durante a lactação, com a finalidade de permitir uma transferência adequada de AG ao feto, pela placenta, e, posteriormente, ao recém-nascido através do leite materno.

Crawford (2000) relata uma associação entre a baixa ingestão de vitaminas e AGPI e a maior incidência de baixo peso ao nascer. Estudos demonstram ainda que a suplementação da dieta materna com AGPI $\omega 3$, principalmente o DHA, durante a gestação e lactação, é de fundamental importância para o desenvolvimento mental e cognitivo das crianças (Valenzuela & Nieto, 2003; Innis, 2005).

Lauritzen *et al.*, (2004) ao avaliarem os efeitos bioquímicos e funcionais da suplementação de óleo de peixe em lactantes e lactentes verificaram que a acuidade visual

infantil não apresentou diferenças significantes entre os grupos (suplementado e controle) mas foi positivamente associada com o aumento de DHA nas membranas das células sangüíneas vermelhas aos 4 meses de vida.

Portanto, a nutrição materna é de crucial importância durante a gestação e lactação, mas também antes da concepção, pois o crescimento e o desenvolvimento do feto dependem da alimentação materna, especialmente do aporte de AGPI (Jensen *et al.*, 1990).

Além disto, a ingestão de quantidades adequadas destes AG tem um importante papel na prevenção e modulação de várias doenças comuns nas civilizações ocidentais, como: doenças coronarianas, doenças auto-imunes, câncer de mama, próstata e cólon e artrite reumatóide (Connor, 2000; Jump, 2002).

Entretanto, deve-se levar em consideração o processo de peroxidação lipídica, o qual é ocasionado pelo ataque de radicais livres às duplas ligações de AGPI, e conseqüente oxidação da lipoproteína – LDL transportadora de AGPI, tendo como produto final do estresse oxidativo a produção de malondialdeído (MDA) além disto, alterações na LDL torna-a imunogênica levando a produção de anticorpos anti - LDLox (Jorge *et al.*, 1997; Sniderman, 2004).

Face ao exposto, o presente trabalho teve como objetivo investigar possíveis alterações na composição de ácidos graxos séricos e do leite materno após suplementação de gestantes com cápsulas de óleo de peixe (ácidos graxos ômega 3) e de óleo de prímula (ômega 6). Além disto, analisar e comparar o efeito da suplementação nos níveis séricos de lípides, enzimas hepáticas, biomarcadores de oxidação lipídica e anticorpos anti-LDL(-) das nutrízes.

1.1 Leite materno: composição e suas propriedades

O leite materno é considerado o melhor alimento para crianças na primeira fase de sua vida, sob os pontos de vista nutricional, imunológico e de segurança (Silva *et al.*, 2007). Dentre suas inúmeras vantagens nutricionais, podemos destacar sua capacidade de proteção contra infecções, através de fatores imunes específicos e não-específicos no leite, além disso, também, possui um efeito modulador direto no sistema imune do recém-nascido, o qual poderia explicar sua proteção contra algumas doenças como: diabetes, linfoma maligno e doença de Crohn (Michaelsen *et al.*, 1994). Makrides & Gibson (2000) e Jorgensen *et al.* (1996) enfatizam, ainda, que seu conteúdo de AGPI ômega 3 e ômega 6, especialmente o DHA, afeta a composição das membranas celulares cerebrais e da retina e poderiam, também, afetar o desenvolvimento da acuidade visual no recém nascido a termo.

Vários estudos têm demonstrado que os AGPI $\omega 3$ e $\omega 6$ desempenham papel fundamental no crescimento neuronal, transdução de sinais e excitabilidade das membranas neurais, sistema imunológico e na expressão de genes que regulam a diferenciação celular e o crescimento, além de poder ter repercussão na inteligência e na intelectualidade do indivíduo na vida adulta (Uauy & Dangour, 2006).

O leite materno é um líquido rico em gordura, minerais, vitaminas, enzimas e imunoglobulinas que protegem contra doenças, sendo que o leite maduro é formado por cerca de 87% de água e os restantes 13%, uma combinação de elementos, fundamentais para o crescimento e desenvolvimento da criança, podendo ser classificado em: a) colostro: secretado até o 5º dia após o parto, contém 2% de gordura e alto teor de proteínas, principalmente, imunoglobulinas e lactoferrina; b) leite transicional: secretado entre o 6º e o 15º dia após o parto, a imunoglobulina diminui e a lactose, gorduras e vitaminas hidrossolúveis aumentam. Nesta fase, a composição do leite pode variar entre as lactantes; c) leite maduro: secretado após o 15º dia após o parto, é uma secreção mais aquosa e fina, quando comparado ao colostro, e apresenta entre 3 a 5% de gordura. O leite inicial da mamada é mais fino e aquoso, pois tem a função de suprir a sede e as necessidades de líquidos do bebê, enquanto o leite final da mamada tem 4 vezes mais gordura que o inicial, com a função de fornecer calorias (energia) para o lactente (Silva *et al.*, 2007).

Do total de 3 a 5% de gorduras presentes no leite humano, 98% são compostos por triacilgliceróis, 1,3% por fosfolipídios e 0,4% por colesterol, sendo que nele estão presentes os ácidos graxos essenciais, tais como: ácido linoléico ($\omega 6$) e ácido linolênico ($\omega 3$). Participa, ainda, do transporte de vitaminas (A, D, E e K) e hormônios lipossolúveis (Jensen *et al.*, 1990). Segundo Christie (1995) a composição em ácidos graxos da gordura do leite humano, varia de acordo com alguns fatores, como dieta, estágio de lactação, estação do ano e condições individuais da lactente. A Tabela 1 mostra a composição de ácidos graxos no leite materno descrita por diversos autores.

Tabela 1: Composição de ácidos graxos (% do total) presentes no leite materno segundo dados da literatura.

Ácidos Graxos	Silva <i>et al.</i> , 2007	Patin <i>et al.</i> , 2006	Boris <i>et al.</i> , 2004	Lien <i>et al.</i> , 1997
10:0 ácido cáprico	1,3	1,7	0,6	-
12:0 ácido láurico	7,0	7,0	2,8	4,9
14:0 ácido mirístico	8,0	7,5	4,8	6,6
16:0 ácido palmítico	21,6	20,3	23,2	21,8
18:0 ácido esteárico	6,1	5,9	8,8	8,0
18:1 ácido oléico	27,7	30,5	37,6	33,9
18:2 ácido linoléico	19,1	20,7	12,3	13,2
20:4 AA	0,6	0,56	0,1	-
18:3 ácido linolênico	1,2	0,2	1,2	1,2
20:5 EPA	-	0,08	0,1	-
22:6 DHA	-	0,46	0,5	-

AA: ácido araquidônico, EPA: ácido eicosapentaenóico, DHA: ácido docosahexaenóico.

A dieta materna, durante a gestação e a lactação, é de suma importância, pois influencia o conteúdo de EPA ($\omega 3$), DHA ($\omega 3$) e AA ($\omega 6$) no leite materno. Estes AGPI podem aumentar através do consumo de peixe, leite, carne e ovos, sendo que uma dieta contendo apenas AA tende a diminuir a concentração de DHA e EPA (Innis, 2005).

Estes AGPI de origem dietética são absorvidos, reesterificados, entrando na circulação na forma de quilomícrons, e são rapidamente transferidos para a glândula mamária pela ação da lipase lipoprotéica, sendo em seguida transferidos para o leite materno. Os triacilgliceróis hepáticos também são transportados (como VLDL) do fígado para a glândula mamária e liberados deste tecido por ação da lipase lipoprotéica (Koletzko *et al.*, 2007).

Apesar de todos os esforços em estimular o aleitamento materno, a urbanização e a falta de tempo reduziram o período de amamentação. Além disso, alguns recém-nascidos não são amamentados devido à baixa produção de leite, estado nutricional e condição de saúde desfavorável da lactante, ou até em função do óbito da mãe durante ou após o parto. Conseqüentemente, existe a necessidade de fornecer meios alternativos de alimentação para estes recém-nascidos que não podem ser amamentados, o qual deve estar o mais próximo possível das características do leite humano quantitativa e qualitativamente (Maduko *et al.*, 2007).

Segundo Karupaiah & Sudram (2007), em relação à gordura, a principal diferença entre os leites materno e bovino está na quantidade dos ácidos graxos saturados presentes na posição *sn*-2 dos triacilgliceróis, onde no leite bovino, os ácidos palmítico e esteárico estão igualmente distribuídos entre as posições *sn*-1,3 (34 e 10%, respectivamente) e *sn*-2 (32 e 10% respectivamente). O leite humano apresenta maior quantidade de ácido palmítico (58%) e menor de ácido esteárico (3%) na posição *sn*-2, em contraste com suas quantidades nas posições *sn*-1,3 (16 e 15% respectivamente), também a presença de ácidos graxos ω 3 (EPA e DHA).

Segundo Lien *et al.*, (1997) & Forsynth, (1998), os ácidos graxos no leite humano têm distribuição posicional muito específica na molécula de triacilglicerol, a qual tem sido sugerida como principal causa da absorção do leite humano, a lipase pancreática hidrolisa seletivamente os ácidos graxos das posições *sn*-1 e *sn*-3 produzindo ácidos graxos livres e 2-monoacilgliceróis, sendo que o 2-palmitoilglicerol é mais bem absorvido que o ácido palmítico na sua forma livre.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (World Health Organization, 2000), a prática do aleitamento materno exclusivo (sem a introdução de água, chás ou outros alimentos) deve ser até os seis meses de vida. A partir dessa idade, deve-se introduzir alimentos de transição nutricionalmente adequados, inócuos e culturalmente apropriados, com manutenção do aleitamento materno até os dois anos de vida ou mais.

1.2 Ácidos Graxos: estrutura química e nomenclatura

De acordo com Curi *et al.* (2002) os AG possuem uma cadeia carbônica longa e um grupo carboxílico terminal. As duplas ligações presentes na cadeia permitem diferenciá-los em saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e poliinsaturados (AGPI). O tamanho da cadeia carbônica varia, em geral, entre quatro e vinte átomos, os AG com dois e quatro carbonos são classificados como de cadeia curta (AGCC) ou voláteis; de seis a doze átomos de carbono são considerados cadeia média (AGCM) e de catorze a vinte e seis de cadeia longa (AGCL).

Geralmente são representados pela seguinte simbologia: $C_{n,x}$, onde n representa a quantidade de átomos de carbono (C) e x , o número de ligações duplas. Por exemplo, o ácido palmítico é representado da seguinte maneira: $C_{16:0}$, ou seja, apresenta 16 átomos de carbonos e nenhuma ligação dupla. Já o ácido oléico ($C_{18:1}$) tem 18 carbonos na cadeia e 1 dupla ligação (Bobbio & Bobbio, 2003). Os AGPI, também, podem ser divididos em famílias ômega 3 ($\omega 3$), ômega 6 ($\omega 6$), ômega 7 ($\omega 7$) e ômega 9 ($\omega 9$) dependendo da localização da última dupla ligação em relação ao seu grupamento metílico terminal, como mostra a Figura 1.

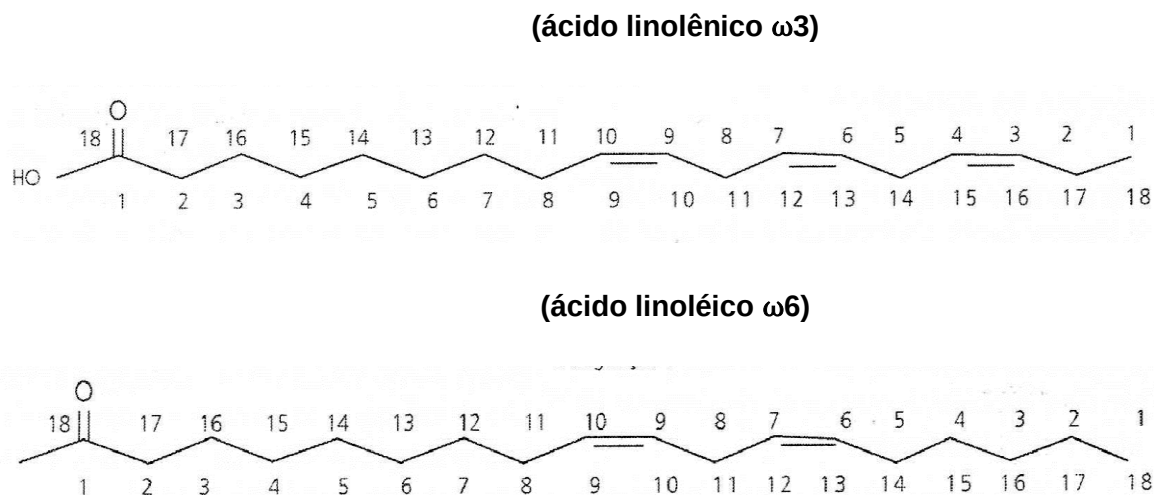


Figura 1: Apresenta a estrutura química dos AGPI das famílias $\omega 3$ e $\omega 6$.

O grupo $\omega 3$ é representado pelo ácido linolênico ($C_{18:3}$), eicosapentaenóico (EPA – $C_{20:5}$) e docosahexaenóico (DHA – $C_{22:6}$). O $\omega 6$ pelos ácidos linoléico ($C_{18:2}$) e araquidônico (AA – $C_{20:4}$), o $\omega 7$ pelo ácido vacênico ($C_{18:1}$) e o $\omega 9$ pelo ácido oléico ($C_{18:1}$) (Bobbio & Bobbio, 2003). Na Tabela 2 são apresentados os principais AG, segundo o número de átomos de carbono e duplas ligações.

Tabela 2: Principais ácidos graxos segundo o número de átomos de carbono e duplas ligações.

Ácidos Graxos Saturados	Nº átomos de carbono	
Mirístico	14	
Palmítico	16	
Esteárico	18	
Araquídico	20	
Lignocérico	24	
Ácidos Graxos Insaturados		Insaturações
Palmitoléico	16	Δ^9
Oléico	18	Δ^9
Linoléico	18	$\Delta^{9,12}$
Linolênico	18	$\Delta^{9,12,15}$
Araquidônico	20	$\Delta^{5,8,11,14}$
EPA	20	$\Delta^{3,6,9,12,15}$
DHA	22	$\Delta^{3,6,9,12,15,18}$

(Fonte: Marzocco & Torres, 1999)

1.3 Ácidos Graxos Poliinsaturados (AGPI)

1.3.1 Fontes

À exceção dos ácidos linoléico ($\omega 6$) e alfa linolênico ($\omega 3$), os AG podem ser sintetizados no organismo humano. A partir dos AG são sintetizados os AGPI de fundamental importância para o corpo, como: AA, formado por dessaturação e alongamento da cadeia do ácido linoléico e EPA e DHA, ambos formados por dessaturação e alongamento da cadeia do ácido alfa linolênico (Broadhurst *et al.*, 1998). As fontes alimentares dos AG $\omega 3$, de acordo com Broadhurst *et al.* (1998) são:

- ✓ Ácido alfa linolênico: encontrado em folhas verdes, em oleaginosas, tais como: nozes, castanhas, amêndoas, pistaches e amendoins, assim como na semente da linhaça, mostarda e óleo de soja.
- ✓ EPA e DHA: presentes, principalmente, em peixes de águas frias, como atum, cavala, sardinha, e salmão. Segundo Shimidt & Dyerberg (1994), os peixes brancos magros (como o bacalhau e o linguado) contêm quantidades reduzidas de DHA e EPA.

As fontes alimentares dos AG $\omega 6$, de acordo com Broadhurst *et al.* (1998) são:

- ✓ Ácido linoléico: encontrado em sementes oleaginosas, sementes de abóbora e óleos vegetais (algodão, milho, girassol, soja e canola). Devido à grande quantidade de alimentos a base de óleos vegetais, o ácido linoléico é muito mais prevalente nas dietas atuais que no passado.
- ✓ AA: os alimentos mais ricos são a gema do ovo, as vísceras e carne de animais terrestres e, também, em peixes tropicais.

Segundo Drevon (1992), a relação ótima entre a quantidade de AGPI $\omega 6/\omega 3$ deveria ser de 4 a 10:1. Ingestões maiores que 2g/dia de ácidos graxos $\omega 3$ parece ser uma recomendação adequada, com base nas informações disponíveis. Lanzmann-Petihory (2001) demonstrou que a ingestão de 2g/dia de ácido graxo $\omega 3$, na proporção de 5:1 de $\omega 6/\omega 3$, exerce importante função na diminuição da agregação plaquetária e do infarto do miocárdio. Para se atingir essa recomendação seria necessário a ingestão de 100 a 200g de produtos marinhos por semana.

Frente a desproporção do consumo de AG $\omega 3$ e $\omega 6$, sendo elevado o consumo de $\omega 6$ em detrimento do $\omega 3$, a suplementação com $\omega 3$, seria uma alternativa importante no sentido de evitar desfechos desfavoráveis causado por tal desbalanço. Comumente entre as principais fontes de suplementação de $\omega 3$ destacam-se as cápsulas de óleo de peixe. Entretanto, deve-se levar em consideração que existem relatos de alguns efeitos colaterais, tais como: distúrbios gastrintestinais, aumento do tempo de sangramento, sangramento gengival e odor de peixe (Moriguchi & Batlouni, 2001).

1.3.2 Metabolismo

Os AG se tornam essenciais quando apresentam basicamente dois requisitos: serem imprescindíveis ao organismo e não poderem ser sintetizados pelo mesmo. Assim, os AGE compõem um conjunto de moléculas que não podem ser geradas pelo organismo, mas são extremamente necessárias ao seu perfeito funcionamento. A ausência de tais nutrientes na dieta está relacionada a síndromes que podem levar a morte (Curi *et al.*, 2002).

Os ácidos das famílias $\omega 3$ e $\omega 6$ são obtidos por meio da dieta ou produzidos pelo organismo a partir dos ácidos linoléico e alfa-linolênico, pela ação de enzimas alongase e dessaturase. As alongases atuam adicionando dois átomos de carbono à parte inicial da cadeia, e as dessaturases agem oxidando dois carbonos da cadeia, originando uma dupla ligação com a configuração *cis* (Nakamura & Nara, 2004).

A $\Delta 9$ dessaturase atua, predominantemente, na síntese de AGMI, tendo como principal substrato o ácido esteárico (18:0), que é precursor do ácido oléico (18:1). As enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ atuam na dessaturação de AGPI, apresentando maior afinidade com os substratos mais insaturados, o que resulta em uma maior probabilidade da síntese dos AGPI da família $\omega 3$ (Brenner, 2003).

O ácido alfa-linolênico, AGE representante da família $\omega 3$, se converte em EPA e DHA, que são precursores de mediadores bioquímicos, denominados prostaglandinas da série 3 e leucotrienos da série 5. Estes mediadores desempenham efeitos biológicos protetores contra o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. O mecanismo de ação destes mediadores ainda não está completamente esclarecido, no entanto, sugere-se que eles têm efeitos

antitrombóticos, antiateroscleróticos, antiinflamatórios e agem na melhora da função endotelial e na redução da pressão arterial e concentração de triglicerídeos (Din *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 2006).

Em contraste, o ácido linoléico, AGE representante da família $\omega 6$, se converte em AA, que por sua vez, é precursor da síntese de eicosanóides da série par, ou seja, das prostaglandinas 2 e leucotrienos 4. Estes mediadores químicos desempenham efeitos biológicos envolvidos nos processos de infecção, inflamação, lesão tecidual, modulação do sistema imune e agregação plaquetária (Din *et al.*, 2004).

De acordo com Stoll (1998), há uma competição entre os AGE $\omega 3$ (alfa linolênico) e $\omega 6$ (linoléico) pelas mesmas enzimas de dessaturação (Δ -6 dessaturase), sendo que estas preferem o ácido alfa-linolênico em detrimento ao linoléico. Assim, os AGPI: EPA e DHA, produtos da conversão do ácido alfa-linolênico bloqueiam a ação da Δ -6 dessaturase, inibindo a conversão do ácido linoléico a AA e, conseqüentemente, a produção de eicosanóides da série 2 e 4. Dessa forma, os AGPI $\omega 3$ exercem um efeito protetor, impedindo os eicosanóides, provenientes da família $\omega 6$, de exercerem seus efeitos, entre eles o de promover a proliferação celular em linhagens cancerígenas, invasividade e metástase de tumor. A Figura 2 mostra o metabolismo dos ácidos graxos família $\omega 6$ e $\omega 3$ e a formação de eicosanóides.

Tem sido verificado que a atividade das enzimas $\Delta 6$ e $\Delta 5$ dessaturase é diminuída por fatores como tabagismo, consumo de álcool, diabetes, estresse, ingestão elevada de gorduras *trans*, e principalmente, pelo envelhecimento (Harris *et al.*, 2006).

Em recém-nascidos tem sido verificado que as enzimas $\Delta 5$ e $\Delta 6$ dessaturases estão ativas, e mesmo bebês prematuros são capazes de produzir o AA e o DHA (Carnielli *et al.*, 1996). Contudo, inúmeros estudos têm demonstrado que o leite humano apresenta os níveis mais elevados de AA e DHA nas primeiras semanas e após o parto, variando da dieta materna, essa condição sugere que a quantidade de AA e DHA produzida pelo recém-nascido ainda é insuficiente, sendo necessária a sua ingestão (Jensen, 2000).

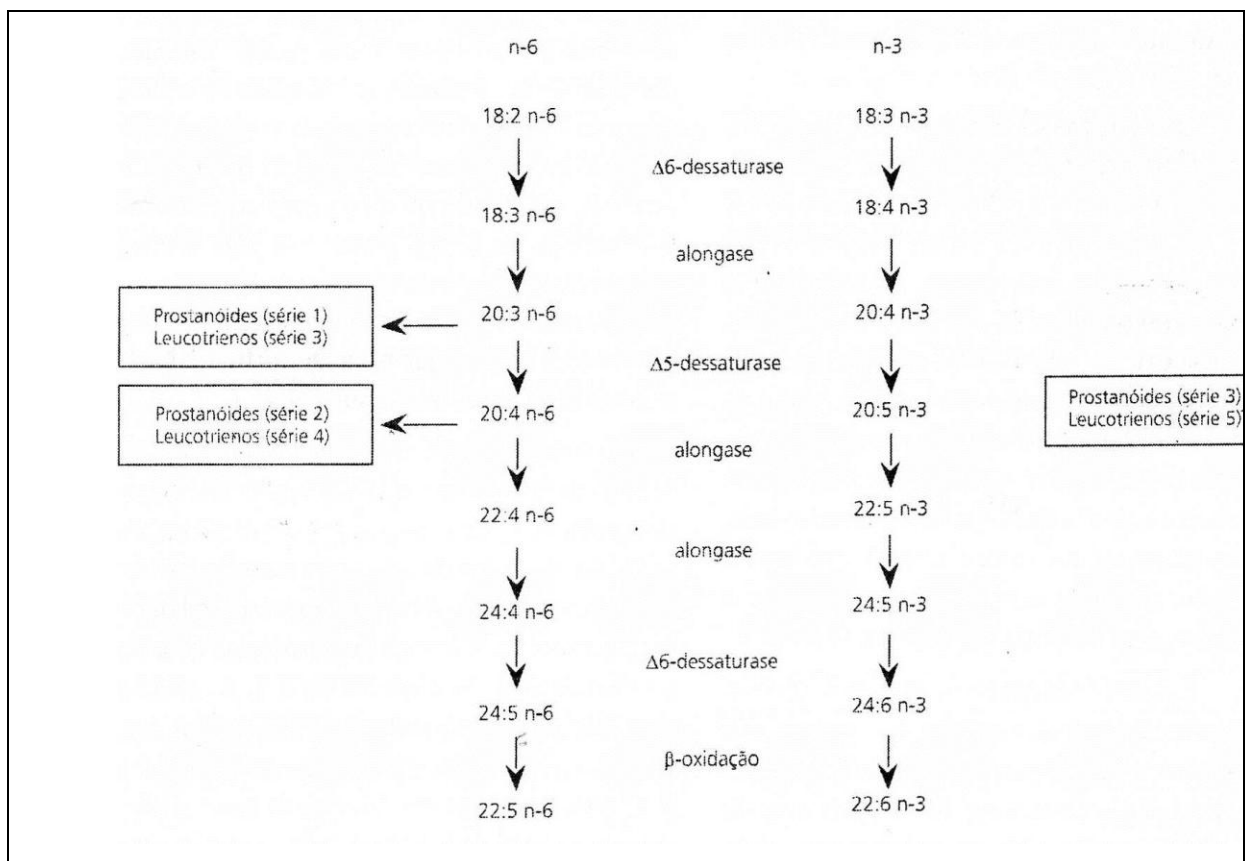


Figura 2: Metabolismo dos ácidos graxos família $\omega 6$ e $\omega 3$. Fonte: Innis, 2005.

Assim, como o feto não tem a capacidade de sintetizar AGPI necessários, através de seus precursores $\omega 3$ e $\omega 6$, tendo a sua necessidade suprida unicamente pela placenta. Assim como o fígado fetal, esse anexo não tem atividade biossintética de alongação e dessaturação para formar AGPI. Durante o último trimestre de gestação, a placenta estabelece preferência no transporte de DHA e AA, pelas maiores necessidades (Corria, 2001). O aporte dos AGPI deve ser garantido pelas reservas tissulares da mãe, principalmente no tecido adiposo, isso devido à intensa lipólise que ocorre durante a lactação, os AGPI dos triacilgliceróis armazenados no tecido adiposo são liberados e podem ser transportados na circulação como AG não esterificados ligados à albumina, podendo ser direcionados para a célula alveolar mamária (Koletzko *et al.*, 2007).

1.3.3 Importância dos AGPI durante a gestação e lactação

Os AGPI atuam em processos fisiológicos normais, sendo responsáveis pela geração e estocagem de energia, manutenção de estruturas, integridade e funcionamento das membranas plasmáticas e síntese de eicosanóides (Hajri & Abumrad, 2002).

Além disto, a ingestão de quantidades adequadas destes AG tem um importante papel na prevenção e modulação de várias doenças comuns nas civilizações ocidentais, como: doenças coronarianas, doenças auto-imunes, câncer de mama, próstata e cólon e artrite reumatóide (Connor, 2000; Jump, 2002).

Dentro da diversidade dos AG, existem aqueles que o organismo tem a capacidade de síntese, os quais são denominados de ácidos graxos não essenciais, porém outros não, os quais são denominados ácidos graxos essenciais (AGE) e são conhecidos como: ácido alfa linolênico ($\omega 3$) e ácido linoléico ($\omega 6$). Para suprir a demanda orgânica, os mesmos devem estar em quantidades suficientes na alimentação (Gonzáles, 2002; Valenzuela & Nieto, 2003).

Segundo Gonzáles (2002) e Schmeits *et al.* (1999), a dieta materna, antes da concepção, é de grande importância, já que ela determina o tipo de AG que se acumulará no tecido fetal. O transporte dos AG é realizado através da placenta e são depositados no cérebro e retina do concepto. Além disso, também, ocorre acúmulo simultâneo nas glândulas mamárias durante esta fase. O depósito de DHA na retina e no córtex cerebral ocorre, principalmente, no último trimestre de gestação e nos primeiros seis meses de vida extra-uterina, podendo se estender até os dois primeiros anos de vida. Dessa forma, se a mãe receber uma alimentação com aporte adequado de AGPI poderá oferecer ao feto a quantidade necessária para o bom desenvolvimento do sistema nervoso e visual.

De acordo com Corria (2001), após o nascimento, o lactente continua incapaz de sintetizar os AGPI em função de sua imaturidade hepática. Durante a lactação, a mãe continua a oferecer o aporte de AGPI. O leite materno apresenta três vezes mais AA e DHA que o leite bovino, sendo o segundo insuficiente para atender as necessidades do lactente. Os AGPI são essenciais em prematuros com pouca reserva lipídica. Pela limitada reserva calórica, os mesmos deverão mobilizar parte dos AG para atender suas necessidades quando o aporte exógeno for inadequado. Isso poderá ocasionar transtornos como: crescimento inadequado, dermatites, aumento da suscetibilidade a infecções entre outras.

Dessa forma, segundo Valenzuela & Nieto (2003), a oferta de AGPI em quantidades adequadas é primordial, principalmente para os grupos mais vulneráveis em apresentar a deficiência desses AG, sendo o leite humano, indiscutivelmente, o alimento mais indicado durante os primeiros meses de vida.

Na gestação há situações que podem alterar o aporte desses ácidos como: nutrição inadequada, consumo de gordura e óleos com alta proporção de $\omega 6$ e muito baixo aporte de $\omega 3$, o que é muito comum, em gestações frequentes e múltiplas que podem diminuir consideravelmente as reservas de AGPI (Valenzuela & Nieto, 2003).

Várias pesquisas tem demonstrado que a oferta de DHA para as gestantes e lactantes aumenta, significativamente, a concentração desse ácido graxo no leite (Jensen *et al.*, 2000; Gaete *et al.*, 2002), no plasma e eritrócitos (Jensen *et al.*, 2000) sem promover redução de $\omega 6$. Estudo randomizado, realizado por Filder *et al.* (2000) mostrou que, após duas semanas, a suplementação materna de DHA (200mg/dia) durante o período de lactação foi capaz de dobrar o conteúdo do mesmo no leite em relação ao grupo placebo ($p=0,003$). Por isso, Simopoulos *et al.* (1999), Gaete & Atalah (2003) e Koletzko *et al.* (2007) sugerem que uma oferta de 300mg/dia de DHA na gestação seria adequada para atender as recomendações nesse período e que uma oferta acima de 200mg/dia de DHA na lactação seria capaz de aumentar a concentração desse ácido graxo no leite. Já Smit *et al.* (2000) sugerem que a suplementação na lactação apenas com AA tende a diminuir a concentração de DHA e EPA no leite. No entanto, a suplementação de AA em combinação com DHA e EPA leva a um aumento da concentração desses AGPI na secreção láctea.

1.3.4 Importância nutracêutica

Nos últimos anos, diversos estudos têm investigado a importância dos AGPI na alimentação do recém-nascido para obter o máximo potencial de desenvolvimento neurológico, sendo fundamentais para o perfeito desenvolvimento cerebral e visual do bebê antes e após o nascimento. A dieta materna antes da concepção é de grande importância, já que ela determina o tipo de AG que se acumulará no tecido fetal, uma vez que o transporte de AG é realizado através da placenta e são depositados no cérebro e retina do conceito, além disso, ocorre acúmulo simultâneo nas glândulas mamárias durante esta fase (Schmeits *et al.*, 1999).

Os lipídios do cérebro são ricos em AGPI ω 3 e ω 6, os quais contêm grandes proporções de DHA e AA, respectivamente, e, estes desempenham papel fundamental no crescimento neuronal, transdução de sinais e excitabilidade das membranas neurais, e na expressão de genes que regulam a diferenciação celular e o crescimento (Uauy & Dangour, 2006).

Segundo Das (2003), receptores de insulina nas células do cérebro têm função cognitiva, incluindo aprendizado e memória. Sugere-se que uma das funções dos AGPI no cérebro pode ser a manutenção de um adequado número de receptores de insulina nas membranas celulares neuronais, conseqüentemente, modulando a função cognitiva. Já o AA é essencial para o crescimento normal e é criticamente importante por sua função de sinalização e divisão celular, e como precursor de prostaglandinas da série 2 e leucotrienos da série 4, que também desempenham função na transmissão sináptica. Pela ação das fosfolipases, estimulada por neurotransmissores, o AA é obtido na forma de AG livre, permanecendo por um curto espaço de tempo, podendo alterar a atividade dos canais iônicos e das proteínas quinases (Piomelli, 1994).

Estudo realizado por Kelley (2001) demonstrou que os AGPI ω 3 modulam a geração de células TH1 e TH2, a produção de suas citocinas e a proliferação de células, podendo servir, portanto, como moléculas endógenas anti-inflamatórias. Além disso, os AGPI ω 3 diminuem a expressão de proteínas Bcl-xL e Bcl-2, identificadas como antiapoptóticas, sugerindo que estes AG têm habilidade de prevenir e suprimir doenças auto-imunes. Devendo considerar em especial, o efeito sobre a agregação plaquetária, a fibrinólise e a formação de prostaciclina, impedindo a formação de eicosanóides provenientes da família ω 6 (Das, 2004).

De acordo com a American Heart Association (2000) os AGPI ω 3 e ω 6 também exercem efeito positivo sobre o colesterol total, LDL e triglicerídeos séricos. Porém, os AGPI podem induzir maior oxidação lipídica e há indícios de que possam reduzir as concentrações de HDL (Rique *et al.*, 2002).

Desde 1956, sugere-se que o óleo de peixe pode reduzir os altos níveis de colesterol no sangue (Bronte-Stewart *et al.*, 1956). Os mecanismos propostos para a proteção contra o desenvolvimento de placas ateroscleróticas e, conseqüentemente de doenças cardiovasculares por AG da série ω 3 incluem, além dos efeitos anti-inflamatórios, as modificações favoráveis nos níveis de lipídios plasmáticos, alterações hepáticas do metabolismo do colesterol e até a redução da captação do colesterol pelo fígado (Jorge *et al.*, 1997; Lombardo & Chico, 2006).

A maior necessidade de DHA ocorre durante a vida intra-uterina, especialmente durante o último trimestre de gestação e nos primeiros meses de vida (Gaete & Atalah, 2003; Valenzuela & Nieto, 2003). Dessa forma, se a mãe receber uma alimentação com um aporte adequado de AGPI poderá oferecer ao feto a quantidade necessária desses ácidos para um bom desenvolvimento do sistema nervoso e visual. Além disso, a própria gestação caracteriza-se como um período vulnerável para a deficiência desses ácidos, devendo a gestante ingerí-los em sua dieta para satisfazer não só as necessidades do conceito como também as suas. Por isso, a dieta materna, antes da concepção, é de grande importância, já que ela determina o tipo de ácido graxo que se acumulará no tecido fetal (Schmeits *et al.*, 1999). O consumo de pescados e a suplementação com óleo de pescados podem reduzir a incidência de parto prematuro e melhorar o peso do bebê ao nascer. Além disso, o conteúdo de AGPI no cordão umbilical se correlaciona diretamente com o consumo destes ácidos graxos pela mãe (Gaete & Atalah, 2003).

Diversos estudos vêm abordando a relação entre consumo de AG e a fase gestacional, sugerindo-se que os ácidos graxos *trans* são transferidos ao feto através da placenta. Para Honstra (2000), deve haver prudência ao considerar-se a associação entre estes fatores pois as evidências ainda são insuficientes.

Entre as pesquisas voltadas para análise da ação dos isômeros *trans* sobre a saúde da criança, Koletzko *et al.* (2007) relata o bloqueio e inibição na biossíntese dos AGPI, na fase fetal e após o nascimento. O estudo de Koletzko & Müller (1990) demonstrou correlação inversamente proporcional ($r=0,47$) e significativa ($p<0,01$) entre os AG linoléico e *trans*, acredita-se que esse processo ocorra através da inibição da enzima dessaturase.

1.4 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica ou lipoperoxidação (LPO) é causada pelo ataque de uma espécie reativa, geralmente ocasionada por uma molécula $\text{OH}^\cdot$, que abstrai um átomo de hidrogênio de um grupo metileno alílico, normalmente, de um AGPI, deixando um elétron desemparelhado no carbono, caracterizando a etapa de iniciação. Este radical é estabilizado por um rearranjo molecular para formar um dieno conjugado, ou seja, duas duplas ligações intercaladas por uma ligação simples que forma o radical peroxila (Halliwell & Gutteridge, 1999).

A reação do radical peroxila com o átomo de hidrogênio abstraído gera um hidroperóxido lipídico (LOOH). Peróxidos cíclicos também podem ser formados, quando o radical peroxila reage com uma dupla ligação na mesma cadeia de ácido graxo, o que, também, pode propagar a LPO (Halliwell & Gutteridge, 1999).

A última etapa da peroxidação lipídica instala-se com a neutralização dos radicais formados por ação de antioxidantes lipossolúveis (α -tocoferol, β -caroteno) ou pela reação de dois radicais lipídicos formando produtos não radicalares. Sistemas enzimáticos também podem iniciar a oxidação dos AGPI. As principais enzimas envolvidas neste processo são as peroxidases e diogenases. As peroxidases são enzimas inespecíficas que catalisam a oxidação de muitos substratos, incluindo ácidos graxos (Halliwell & Gutteridge, 1999).

A reação dos radicais livres com os AGPI, presentes nas membranas celulares e nas lipoproteínas, inicia um processo em cadeia conhecido como peroxidação lipídica ou lipoperoxidação, que pode ser avaliado e utilizado como um indicador do estresse oxidativo celular (Giller & Sigler, 1995)

Segundo Vasconcelos *et al.* (2007), todas as modificações oxidativas causam mudanças nas propriedades físicas e químicas das membranas, alterando sua fluidez e permeabilidade, com expansão do líquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com conseqüente morte celular. Para prevenir ou reduzir os efeitos do estresse oxidativo, o organismo dispõe de diversos mecanismos antioxidante de defesa, tais como a presença de antioxidantes não enzimáticos (α -tocoferol ou vitamina E, β -caroteno ou vitamina A, ácido ascórbico ou vitamina C, flavonóides, etc) e os antioxidantes enzimáticos, tais como: superóxido dismutase, catalase, NADPH quinona oxidoreductase, glutathione peroxidase e enzimas de reparo (Yu, 1994).

1.5 Oxidação da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL)

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são partículas com densidade entre 1.019 ~ 1.063g/mL, que possuem diâmetro médio de 22nm, contendo na parte central cerca de 170 moléculas de triglicérides e 1.600 moléculas de ésteres de colesterol, e superfície formada por uma monocamada constituída por cerca de 700 moléculas de fosfolipídios, principalmente fosfatidilcolina e esfingomiéline, 600 moléculas de colesterol não-esterificado e uma única molécula de apoproteína B (ApoB-100) (Mahley *et al.*, 2003).

Esta lipoproteína circulante na corrente sanguínea é reconhecida por receptores de superfície específicos, chamados de receptores LDL, nas células que precisam captar o colesterol. A ligação da LDL em um receptor ocorre por um processo de endocitose, que transporta a LDL e seu receptor associado para o interior da célula dentro de um endossomo, o qual se funde com o lisossomo. Este por sua vez, contém enzimas que hidrolisam os ésteres de colesterol, liberando-o, assim como, os AG no interior do citosol. A ApoB-100 da LDL é também degradada em aminoácidos que são liberados no citosol, porém o receptor da LDL escapa da degradação e retorna para superfície celular, onde ele pode funcionar novamente na captação de uma nova LDL (Nelson & Cox, 2006).

Segundo Esterbauer *et al.* (1993), a LDL é sintetizada e secretada pelo fígado ou intestino e têm como principais funções: solubilizar os lipídios no plasma e regular o movimento destes em sua entrada e saída de células-alvo e tecidos específicos. O mecanismo de oxidação da LDL *in vivo*, ainda é foco de muitos estudos, desde a década de 1980 quando identificou-se a presença de LDL oxidada (LDL_{ox}) em placas ateroscleróticas tanto em modelos animais quanto em humanos.

O conceito mais provável, é que a peroxidação lipídica começaria nos AGPI da superfície fosfolipídica da LDL e então se propagaria para o núcleo, terminando com a oxidação de todos os lipídios da partícula, seguida pela degradação dos grupos lisina da ApoB-100. Esta sendo modificada pelos produtos de degradação lipídica (aldeídos) deixa de ser reconhecida pelos receptores de membrana, fazendo com que a LDL seja capturada pelos receptores scavenger dos macrófagos de uma maneira descontrolada, levando assim ao desenvolvimento das células espumosas ("foam cells") e da lesão aterosclerótica (Esterbauer *et al.*, 1993) como mostra a Figura 3, Formação de placa aterosclerótica .

Teoricamente a LDLox não deveria ser encontrada circulante pois estaria protegida pelos antioxidantes plasmáticos, como a vitamina C, no entanto Henriksen *et al.* (1981) verificaram que, após a incubação da LDL normal (LDL_n) com células endoteliais por 12 a 18 horas, a partícula resultante era captada por macrófagos em cultura, 3 a 10 vezes mais rapidamente que a LDL_n, células musculares lisas exerciam efeito semelhante sobre a partícula e os próprios monócitos e macrófagos induziam tais modificações.

De acordo com Duarte *et al.* (2008), estudos demonstram que a modificação da LDL é um fator importante no desenvolvimento de determinadas doenças, assim a reação de lipoperoxidação em cadeia dos lipídios da LDL tem sido muito utilizada em métodos experimentais que visam avaliar a oxidação da LDL.

Berliner & Heinecke (1996) demonstraram que a LDL modificada por oxidação *in vitro* apresenta características inflamatórias, que favorecem a ativação de citocinas e agentes quimiotáticos associados ao processo de aterosclerose. Apesar destas observações, a extrapolação dos resultados, obtidos através de modelos oxidativos *in vitro*, para sistemas biológicos, ainda é conflitante. Neste sentido procurou-se identificar sub-frações da LDL que apresentassem *in vivo*, características oxidativas.

A LDL, uma vez oxidada, tem aumento da carga negativa na sua superfície. Avogaro *et al.* (1988) isolaram, por cromatografia de troca iônica, uma fração da LDL do plasma de indivíduos normolipidêmicos com maior carga negativa, denominando-a de LDL eletronegativa (LDL⁻), a qual apresentava características semelhantes à LDLox. Mas, convém assinalar que o *pool* de LDL(-) não é formado exclusivamente por LDLox, mas, também, origina-se de outros processos, como a glicação não enzimática, o enriquecimento em AG não esterificados, modificações enzimáticas por fosfolipases, reação cruzada com a hemoglobina e outros mecanismos ainda não identificados (Sanchez *et al.*, 2004).

De acordo com Berliner & Heinecke,(1996), diferente da LDLox *in vitro*, a LDL(-) não apresenta fragmentação da ApoB e outras alterações decorrentes de uma oxidação excessiva. Esta observação deu origem ao termo “LDL minimamente modificada” (LDL_{mm}), o qual estabeleceu dois fenótipos relacionados à LDL: padrão A: LDL grande e leve e padrão B: LDL pequena e densa (LDL_{pd}), sendo que LDL(-) está contida na subfração de LDL_{pd}, podendo ser responsável pela maior suscetibilidade à oxidação desta sub-população de partículas Avogaro *et al.* (1988).

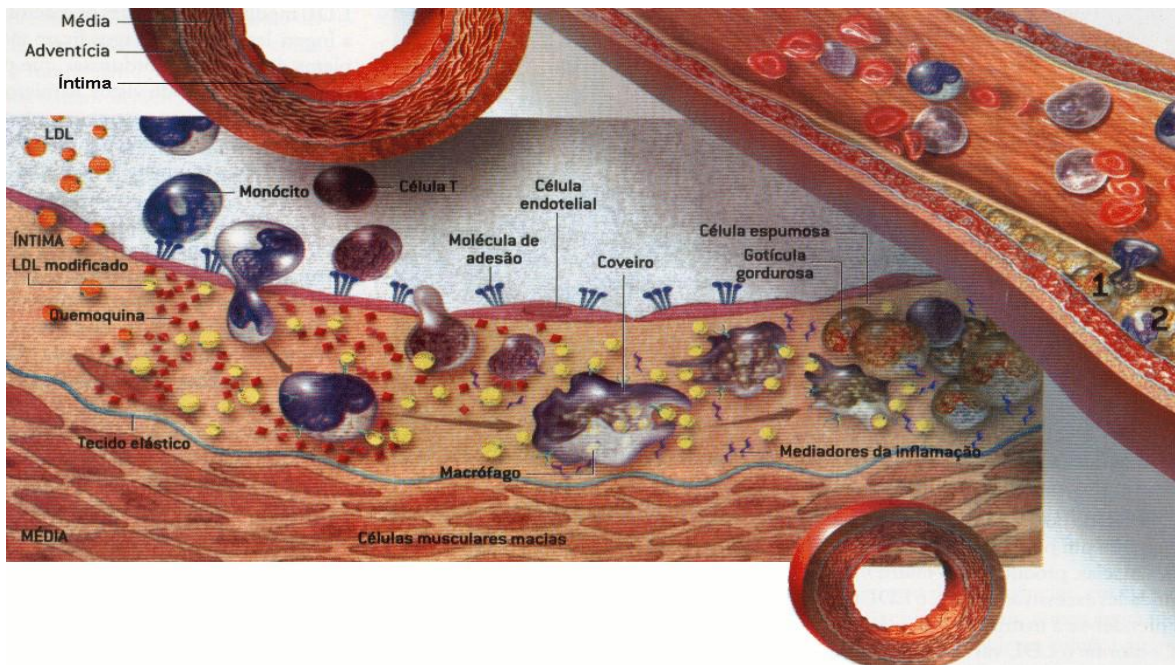


Figura 3: Formação de placa aterosclerótica. Fonte: Filho, 2010.

Benítez *et al.* (2006) sugeriram que a modificação oxidativa da LDL ocorresse localmente na parede da artéria. A LDLmm, com aumento de carga negativa, induz a disfunção endotelial com expressão de moléculas de adesão intracelular (ICAM-1), moléculas de adesão das células vasculares (VCAM-1), P-selectina, E-selectina, fator estimulador de colônia de macrófagos e expressão da proteína quimiotática de monócitos (MCP-1). Estes fatores promovem recrutamento de linfócitos T e monócitos, assim como favorecem a migração destes para o tecido subendotelial através da liberação de agentes quimiotáticos, como fibrinopeptídios, linfocinas e fatores de crescimento. Em seguida, de acordo com Frostegard *et al.* (1990), Ross (1999) e Gottlieb *et al.* (2005), ocorre a diferenciação de monócitos em macrófagos, estimulados pelas citocinas (Interleucina-1 e Fator de Necrose Tumoral- α) que amplificam e mantêm os sinais pró-inflamatórios de aterosclerose, como representado na Figura 4, as possíveis vias de geração da LDL(-) e seus potenciais mecanismos de ação.

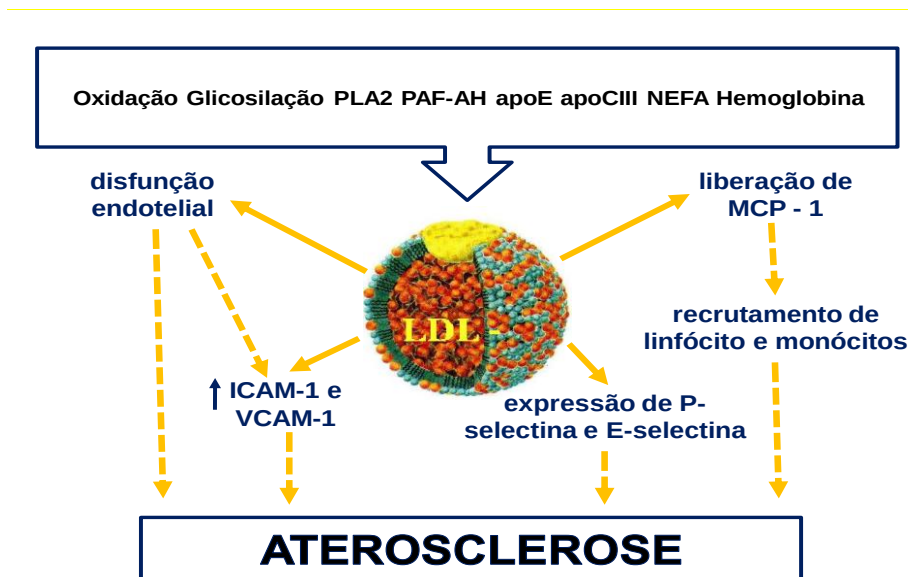


Figura 4: Possíveis vias de geração da LDL(-) e potenciais mecanismos de ação. Fonte: Mello, 2007.

O receptor da LDL em situações normais reconhece um domínio específico na ApoB-100, contendo cargas positivas da lisina, arginina e histidina, no entanto, as alterações neste domínio resultam na diminuição da ligação da ApoB com o receptor. Um aumento da carga negativa da ApoB-100, resultante da formação de lisolecitina e da derivatização de resíduos da lisina, faz com que ocorra menor afinidade da LDL por seus receptores *scavenger*, presentes em macrófagos, o que também induz a formação das células gordurosas (*foam cells*) no processo inicial da aterogênese (Sniderman, 2004). Como a LDLox é imunogênica, há produção de auto-anticorpos que formam imunocomplexos com a partícula modificada, os quais são internalizados pelo receptor Fc gama dos macrófagos, induzindo também a formação de células espumosas (Lopes & Virella, 1992).

Por isso estes anticorpos que reconhecem as partículas dessa LDLm, tem sido considerados como marcadores de risco para aterosclerose, sabendo que o papel antiaterogênico dos anticorpos reativos a partículas de LDLm ainda não está completamente elucidado, uma vez que respostas imuno-humorais específicas podem ser moduladas diferentemente quando comparadas com outros processos envolvidos na aterogênese (Lobo *et al.*, 2008).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar o efeito da suplementação com cápsulas de óleo de peixe (grupo ômega 3) e de óleo de prímula (grupo ômega 6) na composição de ácidos graxos séricos e do leite materno, assim como o efeito da suplementação nos níveis de biomarcadores de oxidação lipídica.

2.2 Objetivos Específicos

- ❖ Avaliar a ingestão de macronutrientes (proteínas, carboidratos, lipídios totais, saturados e insaturados e fibra) das gestantes, através da aplicação de um recordatório de 24 horas.
- ❖ Determinar a composição de ácidos graxos no soro, antes e após o período de suplementação com ômega 3 e ômega 6.
- ❖ Determinar a composição de ácidos graxos no leite materno, após o período de suplementação com ômega 3 e ômega 6.
- ❖ Avaliar o efeito da suplementação com ômega 3 e ômega 6 nos seguintes parâmetros bioquímicos séricos: lípides (CT, LDL, VLDL, HDL e TG), alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST),
- ❖ Quantificar o malondialdeído (MDA), produto final de peroxidação lipídica, no plasma antes e após o período de suplementação com ômega 3 e ômega 6.
- ❖ Quantificar anticorpos anti - LDL (-) antes e após o período de suplementação com ômega 3 e ômega 6.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casuística

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade São Francisco (protocolo CAAE: 0132.0.142.000-07). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado em duas vias, sendo que uma ficou com a voluntária e outra com o pesquisador. Todas as voluntárias foram informadas dos objetivos e procedimentos do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo 1). As voluntárias responderam um questionário (Anexo 2) para obtenção de dados sócio econômicos e sobre alimentação da gestante.

As voluntárias foram orientadas a manterem a alimentação habitual durante sete dias antes (período basal) e durante o período de intervenção com as cápsulas de óleos (15 dias) foram orientadas a ingerir alimentos saudáveis (Anexo 3). Após o término do período basal, as gestantes selecionadas e com consultas pré-agendadas no Ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Universitário São Francisco (HUSF), com jejum de 12 horas foram submetidas à primeira coleta de sangue (Tempo 0 – T_0) para a realização dos seguintes exames:

- Glicemia: para confirmação de ausência de voluntárias diabéticas;
- Colesterol total e frações e triglicerídeos: para quantificação dos níveis séricos de lipídeos;
- Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST): parâmetros de funcionalidade hepática normal;
- Malondialdeído (MDA): quantificar a LDL oxidada;
- Anticorpo anti LDL eletronegativa: quantificar anticorpos anti-LDL eletronegativa.

Neste dia, distribuiu-se as cápsulas de óleo (peixe ou prímula), adquiridas comercialmente, para a ingestão por 15 dias (2g/dia). Finalizado o período de intervenção (15 dias), as voluntárias foram submetidas a uma nova coleta de sangue (Tempo 1 – T_1) para a realização dos mesmos exames realizados no Tempo - T_0 .

3.2 Critérios de inclusão

Para fazer parte do estudo, as gestantes tiveram que preencher os seguintes critérios de inclusão:

- Terem entre 20 e 30 anos de idade;
- Estarem na trigésima semana gestacional;
- Não estarem fazendo uso de medicamentos;
- Não apresentarem doenças no período pré ou pós parto;
- Não apresentarem alergia ou intolerância à peixe no período pré ou pós-gestacional;
- Apresentarem disponibilidade de tempo para comparecerem aos retornos agendados;
- Após o parto, estarem praticando aleitamento materno exclusivo (sem a administração de água, chá, sucos ou leite não materno).

3.3 População de estudo

Durante o período de maio de 2009 a fevereiro de 2010, foram selecionadas 25 gestantes que freqüentavam o ambulatório do Hospital Universitário São Francisco (HUSF). Entretanto, foi necessária a exclusão de 14 gestantes, pelos seguintes motivos:

- ✓ Não autorização do médico ginecologista/obstetra: 7;
- ✓ Não disponibilidade de tempo para comparecer aos retornos agendados: 3;
- ✓ Uso de medicamentos sem informação prévia para o pesquisador ou início da utilização do medicamento após a inclusão no estudo: 4.

Por isso, selecionou-se 11 gestantes que freqüentavam o ambulatório do HUSF, divididas em 2 grupos:

- Grupo ômega 3 (n=7): as gestantes receberam 30 cápsulas de óleo de peixe desodorizado, contendo 1g cada (composição: 19,8 % EPA e 11,4 % de DHA;

perfazendo o total de AG saturados = 26,6%, AGMI = 25,7%, AGPI = 40,5% sendo que AGPI ω 3=35,9 % e AGPI ω 6=4,6 %) Foi recomendada a ingestão de 2 cápsulas diárias, preferencialmente, pela manhã ou no meio do dia e imediatamente antes ou durante uma refeição com baixo teor de gordura, para evitar-se refluxo esofágico, náuseas e vômitos.

- Grupo ômega 6 (n=4): as gestantes receberam 60 cápsulas de óleo de prímula, contendo 0,5g cada (composição: 65 % de ácido linoléico e 8 % de gama-linolênico; perfazendo o total de AG saturados = 10,7%, AGMI = 12,7%, AGPI = 75,6% sendo que AGPI ω 6 = 73,0 % e AGPI ω 3 = 2,6 %). Foi recomendada a ingestão de 4 cápsulas diárias, preferencialmente pela manhã ou no meio do dia e imediatamente antes ou durante uma refeição com baixo teor de gordura, para evitar-se refluxo esofágico, náuseas e vômitos.

3.4 Avaliação do consumo alimentar

O valor nutritivo dos alimentos ingerido pelas voluntárias nas 24 horas anteriores à coleta de sangue foi determinado por análise indireta, através da tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional (Philippi, 2002) e tabela de composição de alimentos (Unicamp, 2006). Os nutrientes avaliados foram energia, em quilocalorias, carboidratos, proteínas, lipídios totais, AGS, AGMI e AGPI. Avaliou-se, também, a distribuição das fontes de energia, proveniente de macronutrientes, utilizando-se como referência os valores da distribuição de macronutrientes aceitáveis (Acceptable Macronutrients Distribution Range – AMDR), na faixa etária de 19 a 30 anos: carboidratos: 45 a 65%; proteínas: 10 a 35% e lipídios: 20 a 35% do valor energético total (VET) (Institute Of Medicine, 2002).

3.5 Desenho do estudo

3.5.1 Coleta de sangue e leite materno

De cada voluntária obteve-se, aproximadamente, 55 mL de sangue em tubos de coleta (vacutainer), sendo:

- Tubo gel: destinado para realizar os exames bioquímicos (colesterol total e frações, triglicerídeos, ALT e AST) e a quantificação de AG séricos;
- Tubo com EDTA: destinado para quantificar a LDL oxidada (malondialdeído e LDL eletronegativa);

- Tubo com citrato: destinado para quantificar a glicose sérica.

As coletas foram realizadas em duas etapas: T_0 antes da suplementação com as cápsulas óleo de peixe ou óleo de prímula, e T_1 após a suplementação das cápsulas por um período de quinze dias.

As amostras de leite maduro por expressão manual, como descrito por Marmet (1981). Antes da coleta, realizou-se higienização das mamas com gazes esterilizadas e umedecidas com água deionizada. Padronizou-se a coleta com a retirada do leite (mínimo de 40 mL) logo após a mamada, em ambas as mamas. Após a coleta o frasco foi transportado imediatamente para armazenamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.5.2 Análises bioquímicas

Após a coleta, o tubo contendo citrato e o tubo gel contendo amostras de sangue foi imediatamente transportado ao Laboratório Universitário de Análises Clínicas (LUAC) do HUSF, onde se realizou as dosagens bioquímica, tais como: glicemia, lípides (CT, LDL, VLDL, HDL e TG), enzimas hepática (ALT e AST), através do teste automatizado pelo equipamento Hitachi 911.

3.5.3 Determinação da composição de AG séricos e no leite materno por cromatografia a gás (CG)

As amostras de leite maduro e as amostras de soro (T_0 e T_1), foram transportadas e congeladas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após o descongelamento do leite e do soro (T_0 e T_1), separou-se uma porção de 5 mL e 1 mL, respectivamente, a fim de realizar a extração dos lipídios pelo método de Folch *et al.* (1957).

Para a determinação da composição dos ácidos graxos, através de cromatografia a gás, tanto a fração de ácidos graxos livres quanto a fração de acilgliceróis foram convertidos em metil ésteres, o reagente esterificante BF_3 -metanol, de acordo com o método oficial da AOCS (Ce 2-66, 1993). Após derivação, os ésteres metílicos diluídos em hexano foram analisados por cromatografia a gás (CG).

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia a gás em um cromatógrafo marca CHROMPACK modelo CP 9001 com detector de ionização de chama (FID)

e coluna capilar Chrompack ("WCOT Fused Sílica" CP-Sil 88 50m x 0,25mm). A temperatura do detector foi de 280°C, a do injetor, 250°C e a temperatura inicial da coluna de 180°C por 7 minutos com programação de 5°C/minuto até a temperatura máxima de 220°C. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio (H₂) com fluxo de 2,0 mL/min na coluna.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada por comparação do tempo de retenção dos componentes da amostra com os de padrões autênticos de ésteres de AG injetados nas mesmas condições. Foi utilizada, também, a técnica de co-eluição ("spiking") de padrões de AG da SIGMA[®] junto com a amostra.

A quantificação foi realizada por normalização das áreas calculadas por meio de integrador (Chromato-Integrator) e expressa em porcentagem relativa de cada ácido graxo em relação aos ácidos graxos totais.

3.5.4 Quantificação de malondialdeído (MDA)

O malondialdeído (MDA), composto de três carbonos, é um dos principais produtos finais da peroxidação lipídica de AGPI e seus ésteres, sendo formado pela cisão desses ácidos graxos, após a peroxidação. O MDA é o marcador para determinar peroxidação lipídica mais amplamente utilizado atualmente realizado por técnica espectrofotométrica (Duarte, 2008).

Para avaliar a lipoperoxidação foi utilizada a medida de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico), antes (T₀) e após a suplementação com cápsulas de óleo peixe ou prímula, por 15 dias, (T₁), de acordo com o método desenvolvido por Ohkawa *et al.* (1979). Conforme a técnica, 250µL de amostra (plasma) foram misturados com 25µL BHT 4% em metanol, 1mL de ácido tricloroacético a 12%, 1mL de ácido tiobarbitúrico 0,73% e 750µL 0,1 mol/L tampão Tris-HCl contendo 0,1mmol/L EDTA pH 7,4. Após 60 minutos de incubação em banho-maria fervente, as amostras foram rapidamente resfriadas em banho de gelo, e foi adicionado 1,5mL de n-butanol. A amostra foi homogeneizada por 30 segundos em vórtex e centrifugada a 3.000 RPM por 10 minutos. As absorbâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 532nm. A quantificação foi feita utilizando uma curva de calibração com tetratoxipropeno (TEP).

3.5.5 Detecção de anticorpos anti - LDL (-)

Os anticorpos anti - LDL(-) foram detectados através de ELISA de captura de anticorpo, método proposto por Mello (2007). Inicialmente as placas foram sensibilizadas com LDL(-), isolada por FPLC (Fast protein liquid chromatography), previamente diluída em tampão

carbonato-bicarbonato (0,25M, pH 9,6) até a concentração final de 0,5µg de proteína/poço, e incubada 12hs a 4°C. Os espaços livres foram bloqueados com leite desnatado a 5% diluído em tampão fosfato-salina 0,01M (PBS – pH 7,4) e incubados a 37°C por 2h. As placas foram lavadas 4 vezes com PBS-Tween (0,05%). As amostras de plasma, em triplicata, foram diluídas (1:200 a 1:3200) em PBS e incubadas as 37°C por 2h. Após as placas foram novamente lavadas, conforme descrito acima. Adicionou-se 50µL/poço de anti - IgG humano marcado com peroxidase (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) (1:2000) diluído em PBS. As placas foram incubadas a 37°C por 1 hora e 30 minutos e, em seguida, lavada, conforme descrito acima. A reação de cor foi desenvolvida através da adição de substrato composto por tetrametilbenzina (TMB), tampão citrato-fosfato (0,1M, pH 4,2) e H₂O₂ (30%) (250µL/12mL/10µL). As placas foram incubadas por 30 minutos em temperatura ambiente, sob proteção da luz. A reação foi bloqueada com 50µL/poço H₂SO₄ (2,0 M) e a absorbância monitorada por leitora de placa (Spectra Count, Canberra Company, Meriden, CT) em 450nm. Os resultados foram determinados aplicando-se a média das absorbâncias das amostras menos o controle à equação da curva padrão IgG humana (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) (0,18 – 11,7mg/mL), sendo expressos em Equivalentes de IgG humana anti-LDL⁻.

3.6 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando-se o software SigmaStat for Windows® versão 3.5 (SPSS, 2008). O teste t de *Student* e Mann-Whitney foram empregados para comparar o consumo alimentar entre as gestantes dos grupos ômega 3 e ômega 6. O teste t de *Student*, também, foi utilizado na comparação da distribuição percentual macronutrientes, em relação ao valor energético total (VET). O teste t pareado foi empregado na comparação dos parâmetros bioquímicos, concentração do malondialdeído e dos auto-anticorpos anti LDL⁻, nos tempos T₀ (antes da suplementação) e T₁ (após suplementação). Em todos os testes aplicados fixou-se o nível de significância em p≤0,05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Determinação de macronutrientes segundo a ingestão de AGS e AGI das gestantes.

Na **Tabela 3** é possível visualizar a distribuição percentual média de macronutrientes, em relação ao valor energético total (VET) da alimentação das gestantes antes da suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).

Independente do ácido graxo consumido, as gestantes apresentaram porcentagens adequadas de energia proveniente de proteínas ($\omega 3$: 14,2%; $\omega 6$: 15,4%) e carboidratos ($\omega 3$: 51,1%; $\omega 6$: 57,7%), entretanto, a energia derivada dos lipídios encontrava-se acima (36,0%) para o grupo ômega 3. Quanto à distribuição dos ácidos graxos, em relação ao recomendado, observa-se que tanto as gestantes do grupo ômega 3 quanto do grupo ômega 6 apresentaram porcentagens adequadas para a ingestão de AGMI ($\omega 3$: 10,6% e ω : 8,3%), elevadas para AGS ($\omega 3$: 12,3% e $\omega 6$: 10,4%) e baixas para AGPI ($\omega 3$: 4,9% e $\omega 6$: 3,2%), sendo que segundo dados do recordatório, ambos os grupos não faziam ingesta de EPA e DHA.

Outro fator que poderia limitar a adequação de DHA entre as gestantes é a predominância de óleos vegetais na dieta, especialmente o óleo de soja, como fonte dietética de AGPI. Os óleos vegetais são ricos em ácido linoléico ($\omega 6$) e alfa-linolênico ($\omega 3$), mas pobre em EPA e DHA (Korotkova *et al.*, 2004; Patin *et al.*, 2006; Lottenberg, 2009).

Portanto se a mãe receber uma alimentação com um aporte adequado de AGPI poderá oferecer ao feto a quantidade necessária desses ácidos para um bom desenvolvimento do sistema nervoso e visual. Além disso, a própria gestação caracteriza-se como um período vulnerável para a deficiência desses ácidos, devendo a gestante ingerí-los em sua dieta para satisfazer não só as necessidades do conceito como também da mãe. Por isso, a dieta materna, antes da concepção, é de grande importância, já que ela determina o tipo de ácido graxo que se acumulará no tecido fetal (Schmeits *et al.*, 1999). O consumo de pescados e a suplementação com óleo de pescados podem reduzir a incidência de parto prematuro e melhorar o peso do bebê ao nascer. Além disso, o conteúdo de AGPI no cordão umbilical se correlaciona diretamente com o consumo destes ácidos graxos pela mãe (Gaete & Atalah, 2003).

Tabela 3: Distribuição percentual média de macronutrientes, em relação ao valor energético total (VET) da alimentação das gestantes antes da suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6)

Nutrientes	Grupos		Análise estatística Teste t de <i>Student</i>
	Ômega 3 (n = 7)	Ômega 6 (n =4)	
Proteína (%) (Valor de referência: 10-35% VET)	14,2	15,4	p=0,188
Carboidratos (%) (Valor de referência: 45-65% VET)	51,1	57,7	p=0,241
Lipídios (%) (Valor de referência: 20-35% VET)	36,0	26,9	p=0,083
AGS (%) (Valor de referência: máximo 10% VET)	12,3	10,4	p=0,562
AGMI (%) (Valor de referência: máximo 20% VET)	10,6	8,3	p=0,410
AGPI (%) (Valor de referência: máximo 10% VET)	4,9	3,2	p=0,203

AGS: ácidos graxos saturado, AGMI: ácidos graxos monoinsaturados, AGPI: ácidos graxos poliinsaturados.

4.2 Composição de ácidos graxos do soro das gestantes

A **Tabela 4** mostra os valores apresentados em % relativa dos principais ácidos graxos do soro, expresso em média e desvio padrão.

Foi observado que no grupo ômega 3, após a suplementação com cápsulas de óleo de peixe teve-se um aumento significativo nas concentrações séricas dos ácidos graxos $\omega 3$ (EPA e DHA). No que diz respeito a relação entre os AGPI $\omega 6/\omega 3$ observa-se que há diminuição significativa desta relação após a suplementação ($T_0= 13,7$ e $T_1=6,3$), mostrando que o modelo de suplementação proposto no estudo refletiu de maneira favorável os níveis de AGPI no organismo. Por outro lado, no grupo ômega 6 é possível observar aumento significativo nos níveis de AA e um aumento significativo na relação entre os AGPI $\omega 6/\omega 3$ após a suplementação com óleo de prímula ($T_0= 21,6$ e $T_1=26,2$).

Tabela 4: Composição (%) dos principais ácidos graxos do soro das gestantes antes e após a suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).

Ácidos Graxos	% relativa dos principais ácidos graxos			
	Grupo Ômega 3 (n=7)		Grupo Ômega 6 (n=4)	
	T ₀	T ₁	T ₀	T ₁
AG saturados	40,96	35,86	39,94	36,2
14:0 ácido mirístico	2,65±8,6	2,77±0,3	1,01±2,7	2,17±0,1
16:0 ácido palmítico	29,94±4,7	23,94±1,1	29,20±1,3	24,13±3,0
18:0 ácido esteárico	8,37±3,3	9,15±1,9	9,73±1,2	9,9±3,3
AG monoinsaturados	20,95	16,6	20,99	20,3
16:1 ácido palmitoléico	1,59±2,6	1,15±0,3	1,63±1,4	5,9±0,3
18:1 ácido oléico	19,36±2,7	15,45±0,7	19,36±2,0	14,40±3,6
AG poliinsaturados	27,6	28,9	22,61	31,34
18:3 ácido linolênico (ω3)	0,53±0,9	0,69±0,4	0,24±0,2	0,42±0,2
20:5 EPA (ω3)	0,50±0,1	1,18±0,3*	0,65±0,1	0,60±0,5
22:6 DHA (ω3)	0,85±0,3	2,09±0,6*	0,12±0,1	0,13±0,4
18:2 ácido linoléico (ω6)	22,31±4,2	22,32±2,4	20,36±5,0	24,73±3,1
20:4 AA (ω6)	3,41±1,4	2,62±0,6	1,24±1,2	5,46±1,1*
Total de AG ω6	25,72	24,94	21,60	30,19
Total de AG ω3	1,88	3,96	1,01	1,15
Relação AGPI ω6/ω3	13,7±1,4	6,3±1,0**	21,6±1,4	26,2±2,8**
Outros	10,5	18,64	16,4	11,16

AA: ácido araquidônico, EPA: ácido eicosapentaenóico, DHA: ácido docosahexaenóico

Teste t pareado: EPA: * p= 0,040, DHA: * p= 0,020, AA: * p= 0,012; ** p< 0,05.

É importante enfatizar que além da ingestão dos ácidos graxos ω3 presentes na cápsula de óleo de peixe, os níveis plasmáticos destes AGPI também são influenciados pela dieta da gestante assim como pelo metabolismo endógeno de conversão do ácido alfa-linolênico em EPA e DHA e, do ácido linoléico em AA.

É conhecido que no processo de conversão endógena há a competição destes substratos (ácido alfa-linolênico e ácido linoléico) pela enzima Δ6-dessaturase, favorecendo o alfa-linolênico porém, este em declínio favorece a conversão partindo do ácido linoléico (Sant' Ana, 2004).

Segundo apontado por Simopoulos *et al.* (1999) a composição das dietas de algumas populações ocidentais pode resultar em uma relação AGPI $\omega 6/\omega 3$ de até 25:1. Por outro lado, segundo apontado por Drevon (1992) a relação recomendada entre a quantidade de AGPI $\omega 6/\omega 3$, deve ser de 4 a 10:1 para o equilíbrio da produção de eicosanóides derivados do AA e do EPA.

De acordo com Sant'Ana (2004), as dietas ocidentais possuíam há 100-150 anos atrás uma razão entre $\omega 6/\omega 3$ de aproximadamente 1/1. No entanto, atualmente, esta razão está em torno de 10/1, podendo chegar a até 25/1 em alguns países. De acordo com dados de Lottenberg (2009), 92% da população brasileira utilizam o óleo de soja no preparo dos alimentos, estimando-se que a média de consumo diário seja de 25g por indivíduo, o que corresponde ao consumo de 1,8g de ácido alfa-linolênico ($\omega 3$) e 13,6g de ácido linoléico ($\omega 6$), o que corresponde a uma razão de consumo de $\omega 6/\omega 3$ de 7/1.

4.3 Composição de ácidos graxos do leite materno

A **Tabela 5** apresenta a composição dos AG do leite materno de nutrízes, expressos em média $\pm$ desvio padrão das determinações.

Segundo os resultados observa-se que, embora não haja alterações significativas na composição de ácidos graxos entre os grupos, os níveis obtidos da relação $\omega 6/\omega 3$ foi inferior para o grupo ômega 3 (6,4), embora os dados do recordatório não tenham mostrado perfil de dieta diferente entre elas. Este resultado mostra uma resposta favorável para a dieta do recém nascido, já que a suplementação com óleo de peixe aumentou os níveis dos AGPI $\omega 3$ no leite.

O resultado obtido da relação $\omega 6/\omega 3$ do grupo ômega 3 (6,4) é semelhante aos dados obtidos do leite materno de 32 nutrízes dinamarquesas relatado por Boris *et al* (1997). Os autores suplementaram as gestantes com 1g de óleo de peixe (32% EPA + 23% de DHA) por dia durante aproximadamente 6 semanas e após 30 dias do parto o leite das nutrízes mostraram níveis de $\omega 6$ de 12,8 e de $\omega 3$ de 2,3 (relação $\omega 6/\omega 3 = 5,5$). Nas nutrízes do grupo controle foram detectados níveis de $\omega 6$ de 13,8 e de $\omega 3$ de 2,1 (relação $\omega 6/\omega 3 = 6,6$).

Tabela 5: Composição (%) dos principais ácidos graxos do leite materno das nutrizes após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).

% Total de Ácidos Graxos no leite materno.		
Ácidos Graxos	Ômega 3 (n=7)	Ômega 6 (n=4)
AG saturados	33,86	34,66
12:0 ácido láurico	0,67±0,06	1,0±1,2
14:0 ácido mirístico	6,38±2,24	5,93±1,74
16:0 ácido palmítico	21,89±1,98	21,91±1,54
18:0 ácido esteárico	4,92±1,78	5,82±0,77
AG monoinsaturados	37,19	37,13
16:1 ácido palmitoléico	4,52±3,24	3,07±0,69
18:1 ácido oléico	32,67±0,07	34,06±3,82
AG poliinsaturados	22,97	25,57
18:3 ácido linolênico (ω 3)	2,88±2,31	1,88±0,21
20:5 EPA (ω 3)	0,10±0,03	ND
22:6 DHA (ω 3)	0,14± 0,11	ND
18:2 ácido linoléico (ω 6)	19,40±3,25	23,14±1,33
20:4 AA (ω 6)	0,45±0,54	0,55±0,16
Total de AG ω 6	19,85	23,69
Total de AG ω 3	3,12	1,88
Relação AGPI ω6/ω3	6,4	12,6
Outros	5,98	2,61

AA: ácido araquidônico, EPA: ácido eicosapentaenóico, DHA: ácido docosahexaenóico, ND: não detectado.

Por outro lado, o dado obtido no presente estudo é inferior quando comparado com estudo feito com mães brasileiras do Hospital de Santos (Patin *et al.*, 2006), banco de leite da Universidade de São Paulo (Silva *et al.*, 2007) e nutrizes americanas (Lien *et al.*, 1997), os quais obtiveram uma relação AGPI ω 6/ ω 3 de 9,2, 16,4 e 15,0 respectivamente. Os resultados acima são referentes a composição de leite de nutrizes que não fizeram nenhuma suplementação da dieta tradicional.

Segundo Koletzko *et al.*, 2007, grande parte dos AGPI secretados no leite materno são originados da síntese endógena e de estoques maternos, por meio de mecanismos regulatórios. Assim, acredita-se que os níveis menores de EPA no leite são reflexos da regulação da entrada desse ácido graxo na glândula mamária, para que se mantenha a proporção adequada de ω 6/ ω 3, já que os depósitos maternos estarão contribuindo com a série ω 3 por meio de DHA.

4.4 Análises Bioquímicas

A **Tabela 6** apresenta a média e desvio padrão das concentrações de glicemia, colesterol total e frações, triglicerídeos e enzimas hepáticas das gestantes dos grupos ômega 3 e ômega 6. No grupo ômega 3 foi observado aumento significativo nos níveis de colesterol total ($239,8 \pm 41,8$ para $251,6 \pm 36,0$; $p=0,040$) e de LDL ($128,0 \pm 29,9$ para $140,8 \pm 33,8$; $p=0,017$), sendo que nos demais parâmetros os valores não apresentaram significância. Por outro lado, no grupo ômega 6 foi observado aumento significativo nos níveis de LDL ($106,0 \pm 36,3$ para $114,8 \pm 39,5$; $p=0,018$) e de HDL ($64,3 \pm 8,7$ para $67,2 \pm 8,4$; $p=0,004$), sendo que os níveis de colesterol total também foram acrescidos, embora sem significância ($197,9 \pm 31,1$ para $213,3 \pm 37,3$; $p=0,074$).

Esses resultados podem ser explicados pela alimentação das gestantes, que contém alimentos ricos em ácidos graxos saturados e pobres em insaturados. A gordura saturada é a principal causa alimentar da elevação do colesterol plasmático (American Heart Association, 2000). Os AGS estão relacionados com o aumento do colesterol total e da LDL, bem como com a elevação dos triglicerídeos (Lottenberg, 2009). Por outro lado, os AGMI têm sido relacionados com melhoras nos níveis de triglicerídeos, diminuição do colesterol total e da LDL, aumentando também os níveis de HDL no plasma, característica importante no contexto da redução dos riscos cardiovasculares (Lottenberg, 2009). De acordo com Fagherazzi *et al.* (2008), além dos lipídios, outros fatores dietéticos afetam as concentrações plasmáticas de colesterol e lipoproteínas, como as fibras solúveis, os antioxidantes do café e do álcool, além de alguns componentes funcionais.

Segundo Schiavo *et al.* (2003), fatores intrínsecos do indivíduo, como: estilo de vida (obesidade, idade, consumo de álcool, estresse, sedentarismo e tabagismo), uso de medicação para doenças associadas como, por exemplo, diabetes e hipotireoidismo poderiam ser responsáveis pelo aumento das concentrações de colesterol observadas. Ainda que a genética, o sexo e a idade sejam de grande importância para o desenvolvimento das dislipidemias, a mudança de hábitos alimentares e a prática de atividade física são modificações no estilo de vida que podem melhorar de forma significativa essas doenças. Se associadas, essas práticas podem ainda otimizar as mudanças do perfil lipoprotéico plasmático, sendo, além disso, intervenções de baixo custo, se comparadas com tratamentos medicamentosos.

Tabela 6: Parâmetros bioquímicos séricos de gestantes antes e após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).

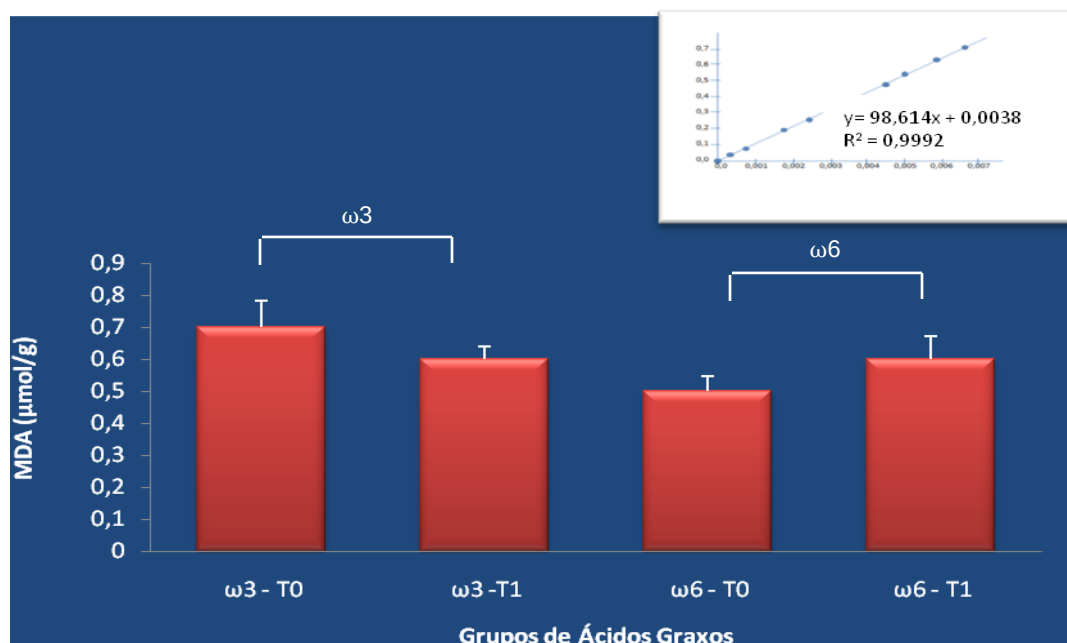
Parâmetros bioquímicos	Ácido Graxo					
	Ômega 3 (n = 7)		Análise estatística	Ômega 6 (n = 4)		Análise estatística
	T ₀	T ₁		T ₀	T ₁	
			Teste t pareado			Teste t pareado
Glicemia (mg/dL) Adultos: 70 a 99 mg/dL	85,6±9,8	87,3±9,1	p=0,516	85,8±1,8	87,1±2,8	p=0,428
Triglicerídeos (mg/dL) Desejável: < 200mg/dL Moderado: 200a 500mg/dL Alto risco: > 500mg/dL	216,7±21,8	229,0±41,6	p=0,625	138,2±38,8	156,8±64,4	p=0,552
Colesterol total (mg/dL) Desejável: < 200mg/dL Moderado: 200 a 239mg/dL Alto risco: > 240mg/dL	239,8±41,8	251,6±36,0	p=0,040*	197,9±31,1	213,3±37,3	p=0,074
HDL Colesterol (mg/dL) Desejável: > 45mg/dL	68,6±11,6	65,0±13,9	p=0,325	64,3±8,7	67,2±8,4	p=0,004*
LDL Colesterol (mg/dL) Desejável: < 130mg/dL Moderado: 130 a 159mg/dL Alto risco: > 160mg/dL	128,0±29,9	140,8±33,8	p=0,017*	106,0±36,3	114,8±39,5	p=0,018*
VLDL (mg/dL) Desejável: < 40mg/dL	43,2±4,5	45,8±8,4	p=0,605	27,6±7,7	31,4±12,9	p=0,550
ALT (U/L) Mulheres: 10-35 U/L	15,0±2,1	14,5±1,6	p=0,606	15,4±5,2	15,3±3,5	p=0,951
AST (U/L) Mulheres: 10-35 U/L	11,9±3,9	11,3±3,6	p=0,588	11,6±2,3	10,4±2,6	p=0,564

Teste t pareado: *p<0,05

4.5 Quantificação do Malondialdeído (MDA)

A **Figura 5** apresenta a concentração média $\pm$ desvio padrão dos níveis plasmáticos de malondialdeído das gestantes antes e após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6). A concentração média do MDA no grupo ômega 3 foi de $0,7 \pm 0,22 \mu\text{mol/g}$ (T_0) e $0,6 \pm 0,1 \mu\text{mol/g}$ (T_1), enquanto que no grupo ômega 6 observou-se um pequeno aumento de $0,5 \pm 0,009 \mu\text{mol/g}$ (T_0) para $0,6 \pm 0,14 \mu\text{mol/g}$ (T_1), sem diferença significativa ($p=0,486$). Este resultado possivelmente esteja relacionado com o aumento dos níveis de AA no soro das gestantes que ingeriram cápsulas de óleo de prímula (grupo ômega 6), conforme demonstrado na Tabela 4.

O MDA é o marcador para determinar peroxidação lipídica mais amplamente utilizado atualmente, por ser um dos principais produtos finais da peroxidação lipídica de AGPI (principalmente AA) e seus ésteres, sendo formado pela cisão destes ácidos graxos, após a peroxidação, é a base para muitos ensaios científicos que visam determinar indiretamente o estresse oxidativo da LDL (Chauhan *et al.*, 2004).

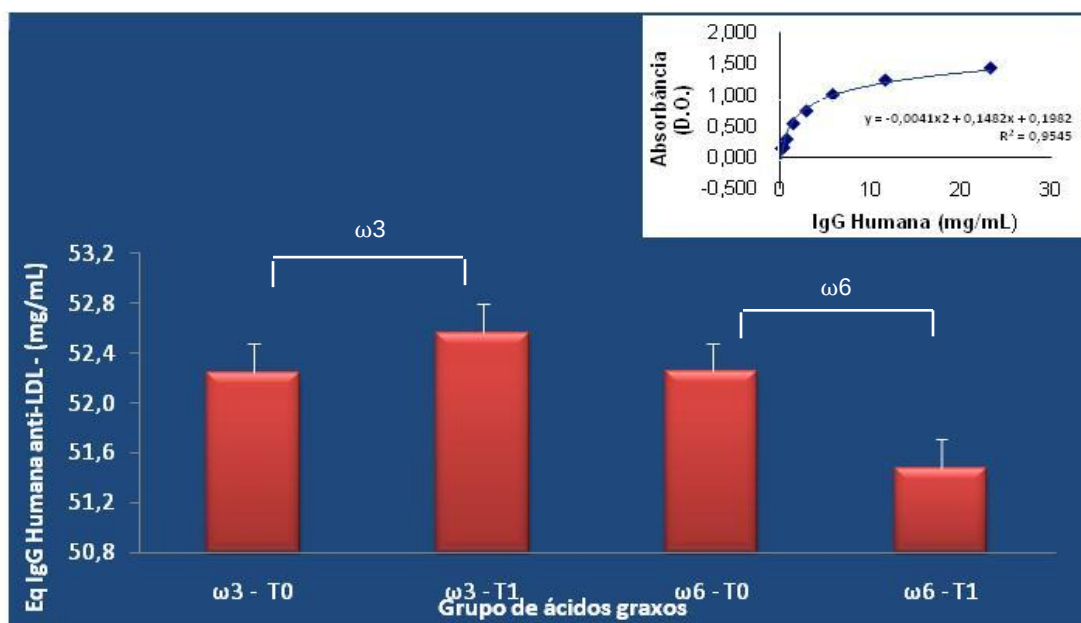


Teste t pareado: $\omega 3 - p=0,395$; $\omega 6 - p=0,486$.

Figura 5: Níveis de malondialdeído (MDA) antes e após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).

4.6 Quantificação de anticorpos anti-LDL eletronegativa

A **Figura 6** apresenta a concentração dos anticorpos anti LDL(-) no plasma expressos em média $\pm$ desvio padrão. A concentração média de anticorpos anti-LDL(-) do grupo ômega 3 não apresentou diferença significativa ($p=0,638$) nos tempos T_0 ($52,2\pm3,0\text{mg/mL}$ Eq. IgG Humana anti-LDL eletronegativa) e T_1 ($52,2\pm2,4\text{mg/mL}$ Eq. IgG Humana anti-LDL(-)). Entre as gestantes do grupo ômega 6 verificou-se diminuição nos níveis de Eq. IgG Humana anti- LDL(-) de $52,6\pm1,6\text{mg/mL}$ no tempo T_0 para $51,5\pm2,2\text{mg/mL}$ Eq. IgG Humana anti-LDL(-) no tempo T_1 , sem diferença significativa ($p=0,091$).



Teste t pareado: $\omega 3$ - $p=0,638$; $\omega 6$ - $p=0,091$.

Figura 6: Determinação de anticorpos anti - LDL(-) antes e após suplementação com óleo de peixe (grupo ômega 3) e óleo de prímula (grupo ômega 6).

As modificações sofridas pela LDL, mesmo sendo sutis, transformam-na em uma partícula altamente imunogênica devido a ligação com os AGPI. Após sofrerem modificações ligam-se a resíduos de lisina na ApoB, gerando neo-epítomos antigênicos, desencadeando dessa forma uma resposta auto-imune. Em modelos animais, níveis plasmáticos elevados de anti-LDLox correlacionaram-se fortemente com a idade e dieta rica em colesterol (Palinski *et al.*, 1994).

A LDL uma vez oxidada tem um aumento da carga negativa na sua superfície e se subdivide em dois fenótipos: LDL grande e leve e LDL pequena e densa (LDLpd), sendo que LDL(-) está contida na subfração de LDLpd (Avogaro *et al.*, 1988). Sendo assim não podemos correlacionar a determinação de MDA, um produto de oxidação da LDL com a quantificação de anticorpos anti-LDL(-), o qual está relacionada somente com uma subfração da LDL.

Segundo Sanchez *et al.*, 2004, anticorpos anti-LDL(-) podem-se originar de outros processos, como a glicação não enzimática, o enriquecimento em AG não esterificados, modificações enzimáticas por fosfolipases, reação cruzada com a hemoglobina e outros mecanismos ainda não identificados.

5. CONCLUSÃO

1. A suplementação com cápsulas de óleo de peixe (grupo ômega 3) promoveu alterações favoráveis nos níveis de AGPI, em especial em relação aos níveis de EPA e DHA e conseqüente redução na relação $\omega 6/\omega 3$ no soro das gestantes e no leite das nutrizes. Por outro lado, a suplementação com óleo de prímula (grupo ômega 6) teve um aumento significativo nos níveis de AA e conseqüente aumento na relação $\omega 6/\omega 3$ no soro das gestantes, contudo a relação $\omega 6/\omega 3$ no leite materno se encontra dentro dos valores recomendados.
2. As gestantes dos grupos ômega 3 e ômega 6 apresentaram uma dieta com VET elevado para AGS e baixo para os AGPI, o que possivelmente tenha contribuído para os níveis aumentados de colesterol total, em especial os níveis de LDL-colesterol.
3. A ingesta de óleo de peixe e prímula não refletiu no aumento da peroxidação lipídica medida no plasma, através da quantificação de MDA e dos anticorpos anti - LDL(-) das voluntárias.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL, M.D.; BADART-SMOOK, A.C. Fat intake of women during normal pregnancy: relationship with maternal and neonatal essential fatty acid status. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.15, n.1, p.49-55, 1996.

AVOGARO, P.; BOM, G.B.; CAZZOLATO, G. Presence of a modified low density lipoprotein in humans. **Arteriosclerosis**, v.8, n.6, p.79-87, 1988.

AMERICAN HEART ASSOCIATION. AHA Scientific Statement. Dietary Guidelines. Revision 2000. A Statement for Health Care Professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. **Circulation**, v.102, p.2284-2299, 2000.

BELL, S.J.; BRADLEY, D.; FORSE, R.A.; BRISTRIAN, B.R. The new dietary fats in health and disease. **Journal American Dietetic Association**, v.97, n.3, p. 280-286, 1997.

BENÍTEZ, S.; CAMACHO, M.; BANCELLS, C.; VILA, L.; SÁNCHEZ-QUESADA, J.L.; ORDÓÑEZ-LIANOS, J. Wide proinflammatory effect of electronegative low-density lipoprotein on human endothelial cells assayed by a protein array. **Biochimica Biophysica Acta**, v.1761, n.9, p.1014-1021, 2006.

BERLINER, J.A.; HEINECKE, J.W. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. **Free Radical Biology & Medicine**, v.20, n.5, p. 707-727, 1996.

BOBBIO, F.O; BOBBIO, P.A. **Introdução a química de alimentos**. 3ª Ed. São Paulo: Varela, 2003.127-160 p.

BORIS, J.; JENSEN, B.; SALVIG, J.D.; SECHER, N.J.; OLSEN, S.F. A Randomized Controlled Trial of the Effect of fish Oil Supplementation in Late Pregnancy and Early Lactation on the n-3 Fatty Acid Content in Human Breast Milk. **Lipids**, v. 39, n. 12, p. 1191-1196, 2004.

BRENNER, R.R. Hormonal modulation of delta 6 and delta 5 desaturase: case of diabetes. **Prostaglandins Leukot Essential Fatty Acids**, v.68, n.2, p.151-162, 2003.

BROADHURST, C.L.; CUNNANE, S.C.; CRAWFORD, M.A. Rift Valley lake fish and shellfish provided brain specific nutrition for early Homo. **British Journal of Nutrition**, v.79, p.3-21, 1998.

BRONTE-STEWART, B. The effect of dietary fats on the blood lipids and their relation to ischaemic heart. **British Medical Bulletin**, v.14, p.243-252, 1956.

CARNIELLI, V.P. et al. The very low birth weight premature infant is capable of synthesizing arachidonic and docosahexanoic acids from linoleic and linolenic acids. **Pediatric Research**, v.40, n.1, p.169-174, 1996.

CHAUHAN, A.; CHAUHAN, V.; BROWN, W.T.; COHEN, I. Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. **Life Sciences**, v.75, p.2539-2549, 2004.

CHRISTIE, W.W.; FOX, P.F. **Advanced Dairy Chemistry Lipids**. 2^a ed. Chapman & Hall: London, 1995. 1 - 36 p.

CONNOR, J.E. Importance of n-3 fatty acids in health and diseases. **American Journal Clinical Nutrition**, v.71, p.71S-75S, 2000.

CORRIA, V. Deficiência de ácidos grasos essenciais em el feto y en el recién nacido pretérmino. **Revista Cubana de Pediatría**, v.73, p.43-50, 2001.

CRAWFORD, M.A. Placental delivery of arachidonic and docosahexaenoic acids: implications for the lipid nutrition of preterm infants. **American Journal Clinical Nutrition**, v.71, n.1, p.275S-284S, 2000.

CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYASAKA, C.K.; PROCOPIO, J. **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002, 580p.

DAS, U.N. Long-chain polyunsaturated fatty acids in the growth and development of the brain and memory. **Nutrition**, v.19, p.62-65, 2003.

DAS, U.N. Perinatal supplementation of long-chain polyunsaturated fatty acids, immune response and adult diseases. **Medical Science Monitor**, v.10, n.5, p.HY19-25, 2004.

DIN, J.N.; NEWBY D.E.; FLANPAN, A.D. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease-fishing for a natural treatment. **British Medical Journal**, v. 328, n. 3, p. 30-35, 2004.

DREVON, C.A.; NENSETER, M.S.; RUSTAN, A.C.; LUND-KATZ, S., SOYLAND, E.; MAELANDSMO, G.; PHILLIPS, M.C. Effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on physical properties and metabolism of low density lipoprotein in humans. **Arteriosclerosis and Thrombosis**, v.12, p.369-379; 1992.

DUARTE, M.; MORESCO, R.N.; BEM, A.F.; Metodologias para a determinação da LDL oxidada e sua aplicação como marcador de risco cardiovascular. **Revista Brasileira Análises Clínicas**. v.40, p.101-106, 2008.

ESTERBAUER, H.; WAG, G.; PUHL, H. Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. **British Medical Bulletin**, v. 49, n. 3, p. 566-76, 1993.

FAGHERAZZI, S.; DIAS, R.L.; BORTOLON, F. Impacto do exercício físico isolado e combinado com dieta sobre os níveis séricos de HDL, LDL, colesterol total e triglicerídeos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.14, n. 4, p. 381-386, 2008.

FILDER, N.; SAUERWALD, T.; POHL, A.; DEMMELMAIR, H.; KOLETZKO, B. Docosaexaenoic acid transfer into human milk after dietary supplementation: a randomized clinical trial. **Journal of Lipid Research**, v.41, p. 1376-1383, 2000.

FILHO, W. S. Alimentos funcionais e risco cardiovascular. Unidade Clínica de Dislipidemias/ **InCor- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina Universidade São Paulo**. Disponível em: <http://www.incor.usp.br/conteudo-medico/aulas/Alim_Func_Risco_CV.pdf>. Acesso em: 19 março 2010.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOAN-STANLEY, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **Journal Biological Chemistry**, v.226, p.497-509, 1957.

FROSTEGARD, J.; NILSSON, J.; HAEGERSTRAND, A.; HAMSTEN, A.; WIGZELL, H.; GIDLUND, M. Oxidized low density lipoprotein induces differentiation and adhesion of human monocytes and the monocytic cell line U937. **Proceedings National Academy Sciences - USA**, v.87, n.3, p.904-908, 1990.

GAETE, M.G.; ATALAH, E.S.; ARAYA, J.A. Efecto de la suplementación de la madre durante la lactancia com ácidos grasos Omega 3 em la composición de los lípidos de la leche. **Revista Chilena Pediatría**, v.73, n.3, p.239-247, 2002.

GAETE, M.G.; ATALAH, E.S. Niveles de LC-PUFA n-3 en la leche materna después de incentivar el consumo de alimentos marinos. **Revista Chilena Pediatría**, v.74, n.2, p.158-165, 2003.

GILLER, G.; SINGLER, K. Oxidative stress and living cells. **Folia Microbiologica**, v.40, n.2, p. 131-152, 1995.

GONZÁLES, M.I. Ácidos grasos Omega 3: beneficios y fuentes. **Interciencia**, v.27, n.3, p.128-136, 2002.

GOTTLIEB, M.G.V; BONARDI, G.; MORIGUCHI, E.H. Fisiopatologia e aspectos inflamatórios da aterosclerose. **Scientia Medica**, v.15, n.3, p.203-207, 2005.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3.ed. New York: Oxford University, 1999. 936 p.

HARRIS, W.S.; WANG, C.; CHUNG, M.; LICHTENSTEIN, A.H.; BALK, E.M.; KUPELNICK, B.; JORDAN, H.S.; LAU, J. n-3 Fatty acids from fish or fish-oil supplements, but not α -linolenic acid, benefit cardiovascular disease outcomes in primary- and secondary-prevention studies: a systematic review. **American Journal Clinical Nutrition**, v.84, n.1, p.5-17, 2006.

HAJRI, T.; ABUMRAD, N.A. Fatty acid transport across membranes: relevance to nutrition and metabolic pathology. **Annual Review Nutrition**, v. 22, p.383-415, 2002

HENRIKSEN, T; MAHONEY, E.M.; STEINBERG, D. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins. **Proceedings National Academy Sciences USA**, v.78, p.6499-6503, 1981.

HONSTRA, G. Essential fatty acids in mothers and their neonates. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, n.5, p.1262S-1269S, 2000.

INNIS, S.H. Essential fatty acids transfer and fetal development. **Placenta**, v.26 p.S70-75, 2005.

Institute Of Medicine. Dietary Reference Intakes (DRI). Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. 2002 [acessado em 09/06/2009]. Disponível em <URL: <http://www.nap.edu>>

JENSEN, R.G.; FERRIS, A.M.; LAMMI-KEEFE, C. The Composition of Milk Fat. **Journal Dairy Science**, v.74, n.9, p.3228-3243, 1990.

JENSEN, C.L.; MAUDE, M.; ANDERSON, R.E.; HEIRD, W.C. Effect of docosahexaenoic acid supplementation of lactating women on the fatty acid composition of breast milk and maternal and infant plasma phospholipids. **American Journal Clinical Nutrition**, v.71,n.1, p.292S-299S, 2000.

JORGE, P.A.R. *et al.* Efeito dos ácidos graxos ômega-3 sobre o relaxamento-dependente do endotélio em coelhos hipercolesterolêmicos. **Arquivos Brasileiros Cardiologia**, v.69, n.1, p.13-18, 1997.

JORGENSEN, M.H.; HERNELL, O.; LUND, P.; HOLMER, G.; MICHAELSEN, F. Visual acuity and erythrocyte docahexaenoic acid status in breast-fed and formula-fed term infants during the first four months of life. **Lipids**, v.31, n.1, p.99-105, 1996.

JUMP, D.B. The biochemistry of n-3 polyunsaturayed fatty acids. **Journal Biological Chemistry**, v.277, p.8755-8758, 2002.

KARUPAIAH, T.; SUNDRAM, K. Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. **Nutrition & Metabolism**, v.12, n.4, p.16, 2007.

KELLEY, D.S. Modulation of human immune and inflammatory responses by dietary fattu acids. **Nutrition**, v.17, n.7, p.669-673, 2001.

KOLETZKO, B.; MÜLLER, J. Cis-and-trans- fatty acids in plasma lipds of newborn infants and their mothers. **Biology of the Neonate**, v.57, n.3/4, p. 172-178, 1990.

KOLETZKO, B.; CETIN, I.; BRENNA, J.T. Perinatal lipid intake working group, child health foundation, diabetic pregnancy study group. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. **Brutish Journal Nutrition**, v.98, n.5, p.873-877, 2007.

KOROTKOVA, M.; TELEMÓ, E.; YAMASHIRO, Y.; HANSON, L.A.; SATRANDVI, B. The ratio of n-6 to n-3 fatty acids in maternal diet influences the induction of neonatal immunological tolerance to ovalbumin. **Clinical & Experimental Immunology**, v.137, n.2, p.237-244, 2004.

LANZMANN-PETITHORY, D. Alpha-linolenic acid and cardiovascular diseases. **Journal Nutrition, Health & Aging**, v.5, n.3, p.179-183, 2001.

LAURITZEN, L.; JOREGENSEN, M.H.; MIKKELSEN, T.B.; SKOVGAARD, I.M.; SATRAARUP, E.M.; OLSEN, S.F.; HOY, C.E.; MICHAELSEN, K.F. Maternal fish oil supplementation in lactation: effect on visual acuity and n-3 fatty acid content of infant erythrocytes. **Lipids**, v.39, n.3, p.195-206, 2004.

LEHINGER, A.L.; NELSON, D L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839 p.

LIEN, E.L; BOYLE, F.G.; YUHAS, R.; TOMARELLI, R.M.; QUINLAN, P. The effect of triglyceride positional distribution on fatty acid absorption in rats. **Journal Pediatric Gastroenterology Nutritional**, v.25, p.167-174, 1997.

LOBO, J.C.; MAFRA, D.; ABDALLA, D.S.P. Oxidative Changes of LDL in Chronic Kidney Disease: Focus on Electronegative LDL. **Jornal Brasileiro Nefrologia**, v.30, n.4, p. 294-300, 2008.

LOMBARDO, Y.B.; CHICCO, A.G. Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. **Journal Nutrition Biochemistry**, v.17, n.1, p.1-13, 2006.

LOPES-VIRELLA, M.F.; VIRELLA, G. Immune mechanisms of atherosclerosis in diabetes mellitus. **Diabetes**, v.41, n.2, p.86-91, 1992.

LOTTENBERG, A. M. P. Importância da gordura alimentar na prevenção e no controle de distúrbios metabólicos e da doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia & Metabologia**, v.53, n.5, p. 595-607, 2009.

MADUKO, C.O.; AKOH, C.C.; PARK, Y.W. Enzymatic production of infant milk fat analogs containing palmitic acid: optimization of reactions by response surface methodology. **Journal Dairy Science**, v.90, n.5, p.2147-2154, 2007.

MAHLEY, R.W.; WEISGRABER, K.H.; FARESE, R.V. **Disorders of lipid metabolism. In: Williams textbook of endocrinology.** 10. Ed., New York: Elsevier Science, 2003. p.1646-1652.

MAKRIDES, M.; GIBSON R. A. Long-chain polyunsaturated fatty acid requirements during pregnancy and lactation. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.71, n.1, p.307S-311S, 2000.

MARMET, C. **Extração manual do leite do seio: técnica de Marmet.** In: Aleitamento materno: separata por profissionais. Folheto informativo 27. Los Angeles: La Leche League International; 1981.

MARZZOCO, A.; TORRES, B.B. **Bioquímica Básica.** 2ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1999. 94 – 102 p.

MELLO, A.P.Q. **Lipoproteína de baixa densidade eletronegativa (LDL⁻) em indivíduos com diferentes níveis de risco cardiovascular: Parâmetros nutricionais e bioquímicos.** 151 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade São Paulo, São Paulo, 2007.

MICHAELSEN, K.F. et al. The Copenhagen Cohort Study on Infant Nutrition and Growth: breast-milk intake, human milk macronutrients content and influencing factors. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.59, p. 600-611, 1994.

MORIGUCHI, E.; BATLOUNI, M. IX-Ácidos graxos n-3 e n-6: outros efeitos adversos. **Arquivos Brasileiros Cardiologistas**, v.77, n.3, p. 287-310, 2001.

NAKAMURA, M.T.; NARA, T.Y. Structure, function and dietary regulation of delta-6, delta-5 and delta-9 desaturases. **Annual Review Nutrition**, v.24, n.4, p.345-376, 2004.

NELSON, D.L.; COX, M.M.; **Lehinger Princípios de Bioquímica.** 4ª Ed. São Paulo: Sarvier, 2006. 363p.

OHKAWA,H.; ONISHI,N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v.95, n.2, p. 351-358, 1979.

PALINSKI, W.; ORD, V.A.; PLUMP, A.S.; BRESLOW, J.L.; STEINBERG, D.; WITZTUM, J.L. Apo-E deficient mice are a model of lipoprotein oxidation in atherogenesis. Demonstration of oxidation-especific epítopes in lesions and high titers of autoantibodies to malondialdehyde-lysine in serum. **Arteriosclerosis & Thrombosis**, v.14, p.605-616, 1994.

PATIN, R.V.; VÍTOLO, M.R.; VALVAERDE, M.A.; CARVALHO, P.O.; PASTORE, G.M.; LOPEZ, F.A. The influence of sardine consumption on the omega-3 fatty acid content of mature human milk. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n.1, p. 63-69, 2006.

PHILIPPI, S.T. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. Brasília: Coronário, 2002. 106p.

PIOMELLI, D. Eicosanoids in synaptic transmission. **Critical Review Neurobiology**, v.8, n.1, p.65-83, 1994.

RIQUE, A.B.R.; SOARES, E.A.; MEIRELLE, C.M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira Medicina Esporte**, v.8, n.6 ; 2002.

ROSS, R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. **New England Journal of Medicine**, v.340, p.115-126, 1999.

SANCHEZ, Q.J.L.; BENITEZ, S.; ORDONEZ, L.J. Eletronegative low-density lipoprotein. **Journal: Current Opinion Lipidology**, v.15, p.329-35, 2004.

SANT'ANA, L.S. Biochemical mechanisms involved in the omega fatty acids digestion, absorption and metabolism. **Revista Brasileira em Promoção a Saúde**, v.17, n.4, p.211-216, 2004.

SCHMEITS, B.L.; COOK, J.A.; VANDERJAGT, D.J.; MAGNUSSEN, M.A.; BHATT, S.K.; BOBIK, E.G.; HUANG, Y.S.; ROBERT, H. Fatty acid composition of the milk lipids of women in Nepal. **Nutrition Research**, v.19, n.9, p.1339-1348, 1999.

SCHIAVO, G. Long chain polyunsaturated fatty acids are required for efficient neurotransmission in *C. elegans*. **Journal of Cell Science**, v.116, p:4965-4975, 2003.

SCHMIDT, E B.; DYERBERG, J. Omega-3 fatty acids. Current status in cardiovascular medicine. **Journal Article**, v.47, n.3, p.405-424, 1994.

SILVA, R.C.; ESCOBEDO, J.P.; GIOIELLI, L.A. Composição centesimal do leite humano e caracterização das propriedades físico-químicas de sua gordura. **Química Nova**, v.30, n.7, p. 1535-1538, 2007.

SIMOPOULOS, A.; LEAF, A.; SALEM, N. Essentiality and recommended dietary intakes of omega-6 and omega-3 fatty acids. **Annual Nutrition Metabolism**, v.43, p.127-130, 1999.

SMIT, E.N.; KOOPMANN, M.; BOERSMA, E.R.; MUSKIE, F.A.J. Effect of supplementation of arachidonic acid (AA) or a combination of AA plus docosahexaenoic acid on breastmilk fatty acid composition. **Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids**, v.62, p.335-340, 2000.

SNIDERMAN, A.D. Applying apoB to the diagnosis and therapy of the atherogenic dyslipoproteinemias: a clinical diagnostic algorithm. **Current Opinion Lipidology**, v.15, n.4, p.433-438, 2004.

STOLL, B.A. Breast cancer and western diet: role of fatty acids and antioxidant vitamins. **European Journal of Cancer**, v.34, n. 12, p.1852-1856, 1998.

TORRES, A.G.; TRUGO, N.M. Evidence of inadequate docosahexaenoic acid status in Brazilian pregnant and lactating. **Revista de Saúde Pública**, v.43, n.2, p:359-368; 2009.

UAUY, R.; DANGOUR, A.D. Nutrition in brain development and aging: role of essential fatty acids. **Nutrition Review**, v.64, n.5, p.S24-33, 2006.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS NÚCLEO DE PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO (NEPA). **Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO**. Versão 2. 2ª Ed. Campinas. 2006. 113p. Disponível em <http://www.unicamp.br/nepa/taco/>.

VALENZUELA, A. B.; NIETO, S. K.; Ácidos grasos Omega-6 y Omega-3 en La nutrición perinatal: su importância em el desarrollo del sistema nervioso y visual. **Revista Chilena Pediatría**, v.74, p.149-157, 2003.

VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M.S.; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, n.5, p. 1323-1338, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Complementary feeding. Family foods for breastfed children. Geneva, Switzerland, 2000.

YU, B.P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiological Review**, v.74, n.1, p.139-161, 1994.

7. ANEXOS

ANEXO 1

TERMO DE CONSETIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Avaliação da COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO LEITE MATERNO E METABOLISMO LIPÍDICO SÉRICO DE NUTRIZES, APÓS SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3 ÔMEGA 6.

O abaixo-assinado _____

(nome, idade, RG, endereço)

declara que é de livre e espontânea vontade que está participando como voluntário do projeto de pesquisa supra-citado, de responsabilidade da pesquisadora Prof^a. Dr^a. Pérola Ribeiro e Prof^a. Dr^a. Patrícia Oliveira Carvalho.

O abaixo-assinado está ciente que:

I - O objetivo da pesquisa é verificar o efeito da suplementação de ácidos graxos ômega 3 e ômega 6 no metabolismo lipídico e na composição do leite em gestantes.

II - Durante o estudo, deverá, segundo o grupo para o qual for selecionado receber: **Grupo Óleo de prímula:** as gestantes receberão cápsulas gelatinosas de óleo de prímula contendo AGPI ω -6. **Grupo Óleo de Peixe:** as gestantes receberão cápsulas gelatinosas de óleo de peixe comercial contendo AGPI ω -3. As cápsulas gelatinosas são **SUPLEMENTOS ALIMENTARES** e, portanto, não podem ser consideradas medicamentos. No início do estudo será aplicado um questionário para obtenção de dados para caracterização sócio-econômica e da alimentação da gestante, além de coleta de sangue para análises bioquímicas (glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações, ALT, AST). As gestantes receberão as cápsulas de AGPI ω -6 ou ω -3, as quais deverão ser ingeridas durante 15 dias consecutivos. Após este período, novamente, será aplicado um questionário para obtenção de dados da alimentação e coleta de sangue para análises bioquímicas. Após o nascimento do bebê será (T2) coletada uma amostra do leite materno da gestante para análise de lipídios totais e da composição de ácidos graxos.

III - A senhora terá o direito de ser mantida atualizada sobre os resultados parciais do estudo. Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. **Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.**

IV - A participação neste estudo não lhe acarretará nenhum benefício terapêutico.

V - Será submetido no início do estudo (T₀) e no término do estudo (T₁) ao seguinte procedimento: coleta de amostra de sangue para as análises bioquímicas (glicose, triglicerídeos, colesterol total e frações, ALT, AST) e biomarcadores de peroxidação.

VI - Obteve todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre a participação do referido ensaio clínico.

VII - Está livre para interromper a participação no ensaio clínico a qualquer momento, a não ser que esta interrupção seja contra-indicada por motivo médico.

VIII - A interrupção não causará prejuízo ao seu atendimento, cuidado e tratamento pela equipe do HUSF.

IX - Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, e a USF e o HUSF não identificarão o voluntário por ocasião da exposição e/ou publicação dos mesmos.

X - Caso surja alguma intercorrência, deverá procurar o serviço de Pronto Socorro do HUSF e solicitar que o mesmo contacte a Prof^a. Dr^a. Pérola Ribeiro, professora responsável pelo ensaio clínico.

XI - Poderá contactar o Comitê de Ética em Pesquisa para apresentar recursos ou reclamações em relação ao ensaio clínico (fone 11 – 2454-8028).

XII - É condição indispensável para participação no ensaio clínico que esteja em boa saúde, e portanto, não esteja no momento sob tratamento médico ou fazendo uso de quaisquer drogas ou medicações.

XIII - Poderá contactar o responsável pelo estudo, Prof^a. Dr^a. Pérola Ribeiro, sempre que necessário pelo telefone (11) 2454-8206.

Bragança Paulista, ____ de _____ de 2009.

ANEXO 2

IDENTIFICAÇÃO DA GESTANTE

Nº de Identificação: _____ Data de nascimento: ____/____/____

Data da coleta dados: ____/____/2009

Nome: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Cidade: _____ Telefone: _____

CLASSIFICAÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA

Estado civil:	☐ Solteiro (a)	☐ Casado (a)	☐ Separado (a)	☐ Viúvo (a)	☐ Desquitado (a) ou divorciado (a)
----------------------	---------------------------------------	-------------------------------------	---------------------------------------	------------------------------------	---

1) Qual a idade e o grau de parentesco, com você, das pessoas que residem em sua casa?

Nome	Idade	Grau de parentesco

2) Grau de instrução do chefe da família:

Grau de instrução	Pontos	Grau de instrução	Pontos
☐ Analfabeto/primário incompleto	0	☐ Colegial completo/superior incompleto	3
☐ Primário completo/ginasial incompleto	1	☐ Superior completo	5
☐ Giniasial completo/colégial incompleto	2		

3) Em sua casa tem.....? Quantos? (Assinalar com um X)

	0	1	2	3	4 ou +
Televisão em cores	0	2	3	4	5
Rádio	0	1	2	3	4
Banheiro	0	2	3	4	4
Automóvel	0	2	4	5	5
Empregada mensalista					

	0	2	4	4	4
Aspirador de pó	0	1	1	1	1
Máquina de lavar	0	1	1	1	1
Videocassete e/ou DVD	0	2	2	2	2
Geladeira	0	2	2	2	2
Freezer (aparelho independente ou parte da geladeira duplex)	0	1	1	1	1

Somatória de Pontos de Corte do Critério Brasil

Classe sócio-econômica	Pontos	Renda familiar média (R\$)	Classe sócio-econômica	Pontos	Renda familiar média (R\$)
A1	0 – 34	7.793	C	1 – 16	927
A2	5 – 29	4.648	D	– 10	424
B1	1 – 24	2.804	E	– 5	207
B2	7 – 20	1.669			

AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA GESTANTE

1) Você apresenta alguma das doenças abaixo? Assinale quais.

☐ Diabetes ☐ Hipertensão ☐ Colesterol alto ☐ Obesidade ☐ Triglicerídeos alto

2) Avaliação antropométrica da gestante:

Peso inicial da gestação (Kg): _____ Peso atual (Kg): _____ Altura atual (m): _____

IMC (Kg/m²): _____

Pratica atividade física: ☐ Não ☐ Sim Qual? _____

Quantas vezes/semana? _____

3) Recebeu orientação sobre aleitamento materno? ☐ Não ☐ Sim

Qual profissional orientou? _____

RECORDATÓRIO ALIMENTAR – INSTRUÇÕES

1. Por favor, relate tudo o que você comeu e bebeu ontem desde a hora que você levantou até a hora que você dormiu.
2. Anotar todos os horários das refeições.
3. Não esquecer de perguntar se a gestante:
 - a. Adicionou açúcar nas preparações como café com leite, suco, iogurte.
 - b. Se temperou a salada, quais os temperos utilizados.
 - c. Se consumiu balas, chicletes ou doces entre as refeições e se consumiu alguma bebida com as refeições principais.

Horário	Refeição	Alimento	Quantidade	Observações

ANEXO 3

Orientações para gestantes.

Aumentar o fracionamento das refeições (café-da-manhã, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, jantar, lanche da noite) com diminuição do volume de alimentos por refeição.



- **Evitar** extremos de temperatura (comida muito quente ou muito fria).
- **Evitar** alimentos e preparações com alto conteúdo de gorduras.



- **Aumentar** a ingestão de fibras alimentares, incentivando o consumo de vegetais, frutas, cereais integrais, farelo e germe de trigo.



Aumentar a ingestão de água.



-
- Universidade São Francisco – USF
 - Dra. Fernanda Fernandes Carvalho
 - ☎ (11) 2454-8206 ou (11) 9374-7080