

ALTERAÇÕES NA COMPOSIÇÃO LIPÍDICA DO LEITE MATERNO DURANTE AS PRIMEIRAS DEZASSEIS SEMANAS DE AMAMENTAÇÃO

Carla Matos

Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências da Saúde - UFP
cmatos@ufp.pt

Carla Moutinho

Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências da Saúde - UFP

Cristina Almeida

Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências da Saúde - UFP

Adriana Pereira

Professora Auxiliar
Faculdade de Ciências da Saúde - UFP

Victor Balcão

Professor Associado
Faculdade de Ciência e Tecnologia - UFP

Marta Ribeiro

Licenciada em Ciências da Nutrição
FCNAUP

Hercília Guimarães

Professora Associada
FMUP

Gustavo Rocha

Assistente Hospitalar de Pediatria em Serviço de Neonatologia

António Guerra

Professor Associado
FMUP

RESUMO

O estudo realizado teve como objectivo a avaliação da composição de ácidos gordos (AG) no leite materno aos 7 dias e 4, 8, 12 e 16 semanas de lactação. A metodologia para a extracção da gordura do leite materno foi adaptada da norma ISO 14156:2001. Os ácidos gordos foram quantificados após derivatização, com base na norma ISO 15885:2002, por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama. Concluiu-se com este trabalho de investigação que o decréscimo na percentagem dos ácidos araquidónico (AA) e docosahexaenóico (DHA), para o valor total de AG, não se traduz num aporte desequilibrado destas moléculas para o lactente, dado que, o que realmente importa, é o rácio estável destes AG ao longo do período de lactação.

ABSTRACT

The research effort described herein has as main goal the evaluation of the fatty acid composition (AG) in human mother's milk at 7 days and 4, 8, 12 and 16 weeks of breastfeeding after giving birth. The methodology used for the extraction of fat in human milk was adapted from the ISO 14156:2001 norm. Individual fatty acids were quantified by gas chromatography (GC-FID) with flame ionization detector, after derivatization, following the procedure described in the ISO 15885:2002 norm. As a major conclusion evolving from the results obtained in this research effort, the decrease in the percentage of arachidonic (AA) and docosahexaenoic (DHA) acids, relative to the total content of fatty acids (AG), does not translate into an unbalanced uptake of these molecules by the suckling baby, since that, what really matters, is the stable ratio of these fatty acids throughout the lactation period.

1. INTRODUÇÃO

As fêmeas dos mamíferos têm a capacidade de produzir leite. A composição do mesmo vai diferir de acordo com as necessidades de crescimento e desenvolvimento de cada espécie, (Ribeiro et al., 2006).

Na espécie humana, o corpo da mulher prepara-se para a lactação desde os primeiros momentos da gravidez. O amadurecimento da glândula mamária ocorre a partir da puberdade, mas só durante a gravidez, pela elevação dos níveis circulantes das hormonas ovarianas e placentárias, é que o desenvolvimento mamário se vai completar, para dar início à produção de leite. Assim, por volta da quinta semana de gestação, inicia-se com o desenvolvimento do sistema de ductos alveolares e das células galactóferas, (Worthington-Roberts, 1988; Neville et al., 2001).

O alvéolo pode ser considerado como sendo a unidade funcional da glândula mamária. É composto por uma linha de células epiteliais rodeadas de tecido conjuntivo, por células mioepiteliais e vasos sanguíneos. As células epiteliais são capazes de extrair nutrientes a partir do sangue materno e sintetizar alguns dos componentes do leite (gordura, proteínas, lactose) e secretar o leite para o lúmen dos alvéolos. As células mioepiteliais são células musculares especializadas que envolvem os alvéolos e os ductos menores e que por acção da ocitocina se contraem levando à ejeção do leite, Neville et al., (2001).

A produção do leite passa por duas etapas simultâneas que incluem a etapa da síntese e secreção do leite para o lúmen alveolar, e a etapa da propulsão ou ejeção, que consiste na passagem do leite ao longo do sistema de ductos ou canais, devido à contracção das células mioepiteliais que envolvem os alvéolos e os ductos galactóferos (Worthington-Roberts, 1988).

Durante a gravidez, o tecido glandular diferencia-se para iniciar a síntese dos componentes específicos do leite. O leite é sintetizado a partir dos nutrientes, que chegam através da corrente sanguínea às células secretoras da glândula mamária (alvéolos). Estes nutrientes são provenientes directamente da dieta da mãe ou após terem sofrido modificações nos tecidos, antes de terem atingido a glândula mamária, (Ribeiro, et al., 2006).

No final da gravidez, os componentes acumulados nos alvéolos começam a ser eliminados para o lúmen dos ductos ou canais. Inicialmente ocorre libertação de uma secreção amarelada (colostró) mesmo antes do nascimento do bebé e logo após o parto. A produção propriamente dita do leite (processo designado por *descida do leite*), que se processa após o nascimento, é mediada por hormonas, e pelo estímulo de sucção da criança (Ribeiro et al., 2006).

A lactose (dissacarídeo constituído por glicose e galactose) é o hidrato de carbono predominante no leite humano. É sintetizada no Aparelho de Golgi dos alvéolos, a partir da glicose sanguínea circulante e da galactose proveniente da glicose-6-fosfato, mediada por uma enzima específica, agalactosil transferase. Após a síntese, a lactose fixa-se a uma proteína e é então libertada da superfície da célula por transporte vesicular e exocitose (Worthington-Roberts, 1988).



FIGURA 1 Representação do ciclo de mudanças na célula secretora dos alvéolos, desde a fase de repouso até à fase de produção e secreção do leite. Fonte: Adaptada de Worthington-Roberts BS, Vermeersch J, Williams, S.R. (1988). Nutrição na gravidez e lactação. 3ª ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara, p.192.

A síntese das proteínas na célula secretora da glândula mamária é induzida pela prolactina e posteriormente estimulada pela insulina e pelo cortisol. A síntese ocorre no retículo endoplasmático rugoso (RER) a partir de aminoácidos essenciais captados do plasma materno e de alguns não essenciais sintetizados pelas próprias células alveolares (Figura 1). Os grânulos de proteína ficam acumulados no Aparelho de Golgi antes de serem transportados através da célula e libertados no lúmen dos ductos por exocitose, (Worthington-Roberts, 1988; Neville, 2001).

A síntese da gordura láctea é controlada pela prolactina e pela insulina. Realiza-se no retículo endoplasmático (RE), a partir da esterificação dos ácidos gordos de cadeia longa e dos triglicerídeos, que são retirados do plasma materno, e de ácidos gordos de cadeia curta sintetizados na célula alveolar a partir do acetato disponível. Os triglicerídeos também podem ser sintetizados na célula alveolar a partir dos hidratos de carbono intracelulares. As gotículas de gordura resultantes fundem-se na região basal da célula em gotículas maiores que migram para o ápice da célula sendo depois libertadas através da secreção apócrina (ver Figura 1) (Worthington-Roberts, 1988).

A fracção lipídica do leite materno tem um papel importantíssimo como fonte de energia (Scopesi et al., 2001), contribuindo com cerca de 40 a 55% da ingestão calórica diária do lactente (Koletzko and Rodriguez-Palmero, 1999). Esta fracção tem também funções plásticas e reguladoras, dependentes, sobretudo, do conteúdo em Ácidos Gordos Polinsaturados (PUFA) (Scopesi et al., 2001).

Estes Ácidos Gordos (AG) e respectiva função fisiológica têm vindo a ser alvo de especial atenção nas duas últimas décadas. Os PUFA incluem o ácido linoleico (AL, C18:2n-6) da série n-6 e o ácido α -linolénico (ALN, C18:3n-3) da série n-3 (Koletzko et al., 2003; Rocquelin et al., 1998). Estas moléculas são essenciais para o crescimento e desenvolvimento humanos, mas não podem ser sintetizadas *de novo* no corpo humano, tendo

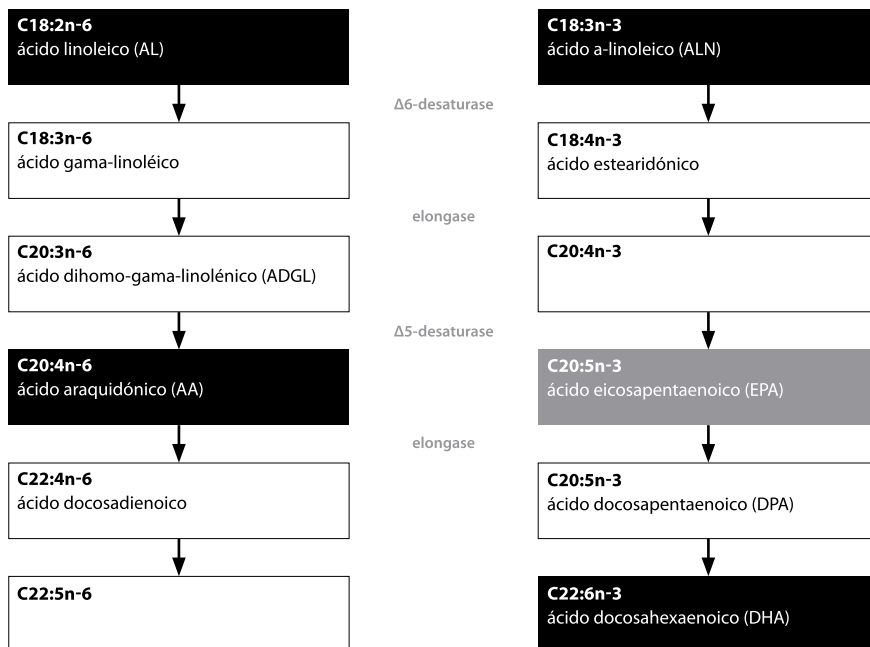


FIGURA 2 Esquema simplificado do metabolismo dos AGE.

necessariamente de ser obtidas através da dieta. São, por este motivo, designadas por Ácidos Gordos Essenciais (AGE) (Jensen et al., 2000). O AL e o ALN, são precursores de Ácidos Gordos Polinsaturados de Cadeia Longa (LC-PUFA), com 20 e 22 átomos de carbono da série n-6 e n-3, respectivamente (Kurlak et al., 1999; Fidler et al., 2000).

O metabolismo dos AGE a LC-PUFA (ver Figura 2) ocorre por desaturação e alongação, através de enzimas específicas, levando à formação de ácidos gordos de elevada importância fisiológica, dos quais se destacam o ácido araquidónico (AA, 20:4n-6), a partir do AL, e o ácido docosahexaenóico (DHA, C22:6n-3), a partir do ALN (Kurlak et al., 1999; Fidler et al., 2000; Gil et al., 2003).

Os LC-PUFA resultantes da metabolização dos AGE, desempenham diversos papéis nos mecanismos que modulam a função celular (Kurlak et al., 1999). O LC-PUFA derivado do AL com maior importância fisiológica é o AA (20:4n-6). Este é um importante AG estrutural do córtex cerebral, sendo componente dos fosfolípidos das membranas sinápticas. O LC-PUFA derivado do ALN com maior importância fisiológica é o DHA (22:6n-3). O DHA é o AG predominante no Sistema Nervoso Central, sendo particularmente abundante nas membranas dos neurónios da retina e do córtex cerebral (Kurlak et al., 1999; Fidler et al., 2000; Gil et al., 2003). Durante o último trimestre da gestação ocorre um rápido crescimento do Sistema Nervoso do feto e, por conseguinte, há uma grande mobilização de DHA e AA para estes tecidos (Kurlak et al., 1999; Innis et al., 2000; Gil et al., 2003).

Após o nascimento, os lactentes exclusivamente amamentados com leite materno recebem quantidades significativas de LC-PUFA pré-formados. Este facto é particularmente importante porque a actividade enzimática do lactente recém-nascido é imatura, tornando a conversão endógena dos AGE a LC-PUFA lenta e insuficiente. A deposição de AA (C20:4n-6) e DHA (C22:6n-3) nas membranas neuronais continua após o nascimento. Estudos realizados em lactentes humanos demonstraram que a ingestão de gordura proveniente do leite materno, particularmente de DHA, afecta positivamente a função visual e o desenvolvimento mental (Makrides et al., 1995).

Foi objectivo deste estudo avaliar, prospectivamente, aos 7 dias, e 4, 8, 12 e 16 semanas de lactação, numa população de mulheres lactantes residentes no Distrito do Porto, a composição em AG do leite materno e a estabilidade da composição em PUFA e LC-PUFA do leite materno. A amostra em estudo foi constituída por 31 lactantes, com idades compreendidas entre os 21 e os 39 anos de idade.

A gordura do leite foi extraída de acordo com a Norma ISO 14156:2001, com algumas modificações, e os AG foram determinados com base no procedimento descrito na Norma ISO 15885:2002, por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (GC-FID).

2. METODOLOGIAS

2.1. POPULAÇÃO

A selecção de mulheres lactantes obedeceu aos seguintes critérios: (i) recém-nascido com peso adequado à idade gestacional, (ii) de termo (idade gestacional igual ou superior a 37 semanas), (iii) sem patologias ou intercorrências que impedissem a amamentação ou que interferissem com o normal crescimento (doenças neurológicas, metabólicas, síndromes polimalformativos, cardiopatias congénitas ou outras que interferissem com a amamentação), (iv) deveriam ter tido uma gestação vigiada, (v) residir no Distrito do Porto, (vi) ser saudáveis e (vii) ter a intenção de alimentar, de um modo exclusivo, ao peito, o lactente, nos primeiros 4 meses de vida.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. RECOLHA DAS AMOSTRAS DE LEITE MATERNO

As amostras de leite materno foram recolhidas pelas lactantes, por expressão manual ou com bomba, durante um período de 24 horas, aos 7 dias e às 4, 8, 12 e 16 semanas de lactação. O leite recolhido em cada refeição do bebé (5 mL no início e 5 mL no final), foi imediatamente posto em refrigeração a uma temperatura de, aproximadamente, 4 °C. No final das 24 horas, o produto das várias colheitas foi homogeneizado e congelado a -18 °C por um período máximo de 48 horas, após o qual foi conservado a -80 °C até ao momento das análises.

2.2.2. DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Para a determinação da composição em ácidos gordos do leite materno, a gordura do leite foi extraída de acordo com a Norma ISO 14156:2001 (Milk and milk products – Extraction methods for lipids and liposoluble compounds), com algumas modificações. A referida metodologia foi adaptada por forma a utilizar uma pequena quantidade de amostra (1 mL) e a evitar isomerizações e decomposições dos ácidos gordos, recorrendo à evaporação em corrente de azoto a baixa temperatura. A metodologia utilizada baseou-se na extracção dos lípidos e compostos lipossolúveis pelo *n*-pentano, após precipitação do material proteico, sendo a fracção lipídica mantida a baixa temperatura até à determinação dos AG.

Os AG foram determinados com base na Norma ISO 15885:2002 (Milk fat – Determination of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography), por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama, após transesterificação, de acordo com a Norma ISO 15884:2002 (Milk fat – Preparation of fatty acid methyl esters).

Os resultados foram obtidos em percentagem relativa, calculada por normalização interna das áreas cromatográficas. A identificação de cada um dos picos nos cromatogramas das amostras foi feita por comparação com os tempos de retenção dos ésteres metílicos dos AG de misturas padrão apropriadas.

2.2.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi efectuada utilizando o software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 12.0, para Microsoft Windows. A comparação entre médias foi efectuada através de análise de variância com procedimentos de comparação múltipla (*Oneway ANOVA*). Verificou-se a normalidade da distribuição das variáveis em estudo através da aplicação do teste de Kolmogorov – Smirnov – Lilliefors. A relação entre o conteúdo de AG nas diferentes avaliações foi obtida através do coeficiente de correlação de Pearson (*r*), para variáveis com distribuição normal, ou de Spearman (*s*), para variáveis com distribuição não normal. Foram consideradas significativas as correlações conducentes a uma $p < 0,050$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a composição do leite materno em AGs, MUFA, PUFA n-6 e PUFA n-3 aos 7 dias e às 4, 8, 12 e 16 semanas de lactação.

A composição em AG do leite materno das lactantes desta pequena população norte-nha não apresenta o perfil típico de países mediterrânicos (López-López et al., 2002). Os AGs apresentam-se em maior quantidade (43,08 a 39,5 % dos AG totais) do que os MUFA (31,15 a 32,85 % dos AG totais). Sendo que o AO (5,54 a 6,20 % dos AG totais) se apresenta em quantidades muito menores do que os doseados no estudo de López-López et

	7 dias	4 semanas	8 semanas	12 semanas	16 semanas
Ácido Gordo (AG)	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
ΣAGS	40,50 ± 3,72	40,42 ± 4,84	39,95 ± 4,42	41,46 ± 4,90	43,08 ± 4,61
ΣMUFA	33,04 ± 2,58	33,23 ± 3,16	32,65 ± 3,30	32,50 ± 2,84	31,48 ± 3,32
ΣPUFA n6	17,96 ± 3,29	18,09 ± 4,43*	19,16 ± 4,12	17,84 ± 4,17	17,58 ± 3,63
ΣPUFA n3	1,58 ± 0,38	1,42 ± 0,48	1,45 ± 0,51	1,53 ± 0,61	1,33 ± 0,36
ΣPUFA n-6/ ΣPUFA n-3	11,86 ± 2,80	13,67 ± 4,53	14,24 ± 4,08	13,04 ± 4,69	13,85 ± 3,69
C18:2n-6/C18:3n-3	23,64 ± 3,77	26,19 ± 7,51	26,62 ± 8,39	23,88 ± 8,48	27,81 ± 7,76
ΣLC-PUFA n6	2,20 ± 0,48	1,53 ± 0,27	1,41 ± 0,28	1,36 ± 0,28	1,25 ± 0,25
ΣLC-PUFA n3	0,91 ± 0,32	0,76 ± 0,40	0,74 ± 0,38	0,79 ± 0,53	0,73 ± 0,34
ΣLC-PUFAn-6/ΣLC-PUFA n-3	2,58 ± 0,72	2,39 ± 0,89	2,23 ± 0,85	2,21 ± 0,97	2,00 ± 0,84
C20:4 n6/ C22:6 n3	1,35 ± 0,44	1,48 ± 0,58	1,32 ± 0,53	1,42 ± 0,67	1,22 ± 0,66
C18:2 n6/C20:4 n6	24,31 ± 7,40	32,80 ± 11,76*	36,76 ± 10,21	35,19 ± 11,13	39,78 ± 10,43
C18:3 n3/C22:6 n3	1,34 ± 0,43	1,92 ± 1,10	1,88 ± 0,88	2,15 ± 1,18	1,81 ± 1,11
Trans totais	1,14 ± 0,55	1,20 ± 0,69	1,17 ± 0,61	1,13 ± 0,62	1,08 ± 0,42
CLAs totais	0,34 ± 0,08	0,36 ± 0,10	0,34 ± 0,10	0,34 ± 0,12	0,32 ± 0,09

TABELA 1 Composição do leite materno em AG (g/100g ácidos gordos), aos 7 dias e às 4, 8, 12 e 16 semanas de lactação.

al. (2002), numa população do Sul de Espanha, 26,36 a 27,34 % e 39,63 % dos AG totais, respectivamente.

Nas restantes famílias de AG, os resultados são consistentes com a maioria dos doseamentos efectuados noutros estudos (Koletzko et al., 1992).

No presente trabalho de investigação verificámos que, apesar das variações de conteúdo dos AGE do leite de transição ao leite maduro, o *ratio* entre estes AGE (AL/ALN) manteve-se relativamente constante (de 23,88 a 27,81). Um *ratio* equilibrado, tal como o encontrado neste estudo, é extremamente importante porque o AL e o ALN competem pelas mesmas enzimas na biossíntese dos LC-PUFA das respectivas séries, o AA e o DHA, respectivamente. Comparando com outros estudos (Fidler et al., 2000), (de 15,81 a 17,89) este *ratio* é elevado.

As razões entre o AL e o AA encontradas no presente estudo não apresentam estabilidade, o que é habitual noutros trabalhos (Fidler et al., 2000; Koletzko et al., 2001), entrando em concordância com o que Del Prado et al. (2001) e Demmelmair et al. (1998) defendem nos seus estudos com AL marcado com U¹³C, em que a maior parte do AL e AA presentes no leite materno não provêm da dieta materna, mas sim das reservas corporais maternas, sendo o AA sintetizado *de novo* a partir do AL, sobretudo no tecido hepático.

Tal como os *ratio* AL/AA, as razões entre o ALN e o DHA encontradas neste estudo não são estáveis, o que traduz a considerável importância da ingesta materna sobre a composição do leite materno nestes AG (Lauritzen et al., 2002; Tiangson et al., 2003).

Pelo contrário, o *ratio* AA/DHA encontrado no presente estudo é muito estável. Este dado revela-se de extraordinária importância, pois sugere que estes dois LC-PUFA de enorme

valia no crescimento e desenvolvimento do lactente, partilham vias comuns de síntese e secreção pela glândula mamária e que, apesar das flutuações na dieta e reservas corporais maternas, parece existir um mecanismo de regulação endógeno que faz com que o leite materno tenha proporções tão equilibradas nestes AG (Koletzko et al., 2001).

Os valores de AG *trans* obtidos no presente estudo são inferiores aos obtidos por Boatella et al. (1993) numa população espanhola, e inferiores aos obtidos na maioria dos estudos do norte da Europa e Estados Unidos (Chardigny et al., 1995; Decsi, 2003). Este facto reflecte os ainda diferentes hábitos alimentares das lactantes portuguesas em relação às de países mais industrializados, possuindo, hipoteticamente, uma ingesta mais baixa de gorduras parcial ou totalmente hidrogenadas, margarinas, produtos de pastelaria, fritos variados e *shortenings* (Ratnayake and Chen, 1996; Koletzko et al., 2001; Decsi, 2003). As evidências disponíveis não permitem tirar conclusões firmes acerca das consequências da exposição do lactente aos AG *trans* via leite materno. Actualmente, vários estudos parecem sugerir que os AG *trans* podem interferir com o metabolismo dos *LC-PUFA*. Resta esclarecer, em futuros trabalhos de investigação, se esta interferência tem influência no crescimento e desenvolvimento da criança. É, no entanto, importante dosear os AG *trans* no leite materno, pois existem fortes evidências de que estes AG podem ser variáveis confundidoras em estudos que investiguem o papel dos *LC-PUFA* no desenvolvimento da criança (Decsi, 2003).

4. CONCLUSÕES

O conteúdo em AG do leite materno, na população estudada, particularmente o AA e o DHA, apresentam variações significativas sobretudo no período que corresponde à passagem entre o leite de transição e o leite maduro.

O que é crucial salientar, como conclusão deste trabalho de investigação, é que o decréscimo na percentagem destes AG, nomeadamente AA e DHA, para o valor total de AG, não se traduz num aporte desequilibrado destas moléculas para o lactente, dado que, o que realmente importa, é o quociente estável destes AG ao longo do período de lactação. Tal estabilidade neste quociente foi de facto encontrada no leite materno da amostra em estudo, o que sugere um mecanismo de protecção, já que o AA e o DHA são componentes estruturais essenciais da retina e outros tecidos nervosos.

Tendo em consideração que o AGE, AL e o *LC-PUFA* AA, são grandemente dependentes das reservas corporais maternas, seria importante evitar a depleção destas reservas corporais, sobretudo no último trimestre da gestação.

Os níveis de AG *Trans* encontrados na população estudada são estáveis e mais baixos do que aqueles doseados na maioria dos países industrializados, reflectindo distintos hábitos alimentares. Devido aos potenciais efeitos nefastos destes AG no metabolismo dos *LC-PUFA*, dever-se-á ter em atenção os hábitos alimentares de mulheres grávidas e lactantes, de forma a evitar alimentos com alto conteúdo nestes AG e manter os níveis baixos destes isómeros no leite materno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOATELLA, J., RAFECAS, M., CODONY, R., GIBERT, A., RIVERO, M., TORMO, R., INFANTE, D. E SÁNCHEZ-VALVERDE, F. (1993). Trans fatty acid content of human milk in Spain. In: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 16, pp. 432-434.
- CHARDIGNY, J. M., WOLFF, R. L., MAGER, E., SEBEDIO, J. L., MARTINE, L. E JUANEDA, P. (1995). Trans mono and polyunsaturated fatty acids in human milk. In: *European Journal of Clinical Nutrition*, 49(7), pp. 523-31.
- DECSI, T. (2003). Nutritional relevance of trans isomeric fatty acids in human milk. In: *Acta Paediatrica*, 92, pp. 1369-1371.
- DEL PRADO, M., VILLALPANDO, S., ELIZONDO, A., RODRÍGUEZ, M., DEMMELMAIR, H. E KOLETZKO, B. (2001). Contribution of dietary and newly formed arachidonic acid to human milk lipids in women eating a low-fat diet. In: *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, pp. 242-247.
- DEMMELMAIR, H., BAUMHEUER, M., KOLETZKO, B., DOKOUPIL, K. E KRATL, G. (1998). Metabolism of U13C-labeled linoleic acid in lactating women. In: *Journal of Lipid Research*, 39, pp. 1389-1396.
- FIDLER, N., SALOBIR, K. E STIBILJ, V. (2000). Fatty acid composition of human milk in different regions of Slovenia. In: *Annals of Nutrition & Metabolism*, 44, pp. 187-193.
- GIL, A., RAMIREZ, M. E GIL, M. (2003). Role of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant nutrition. In: *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(Suppl 1), pp. S31-S34.
- INNIS, S. M. (2000). Essential fatty acids in infant nutrition: lessons and limitations from animal studies in relation to studies on infant fatty acid requirements. In: *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(Suppl 1), pp. S238-S244.
- JENSEN, C. L., MAUDE, M., ANDERSON, R. E. E HEIRD, W.C. (2000). Effect of docosahexaenoic acid supplementation of lactating women on the fatty acid composition of breast milk lipids and maternal and infant plasma phospholipids. In: *American Journal of Clinical Nutrition*, 7, pp. S292-S299.
- KOLETZKO, B. E RODRIGUEZ-PALMERO, M. (1999). Polyunsaturated fatty acids in human milk and their role in early infant development. In: *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 4(3), pp. 269-284.
- KOLETZKO, B., RODRIGUEZ-PALMERO, M., DEMMELMAIR, H., FIDLER, N., JENSEN, R. E SAUERWALD, T. (2001). Physiological aspects of human milk lipids. In: *Early Human Development*, 65 suppl, pp. S3-S18.
- KOLETZKO, B., RODRIGUEZ-PALMERO, M., DEMMELMAIR, H., FIDLER, N., JENSEN, R. E SAUERWALD, T. (2001) Physiological aspects of human milk lipids. In: *Early Human Development*, 65, pp.S3-S18.
- KOLETZKO, B., THIEL, I. E ABIODUN, P. O. (1992). The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. In: *Journal of Pediatrics*, 120 (4 Pt 2), pp. 62-70.
- KURLAK, L.O. E STEPHENSON, T.J. (1999). Plausible explanations for effects of long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) on neonates. In: *Archives of Disease in Childhood- Fetal and Neonatal Edition*, 80, pp. F148-F154.
- LAURITZEN, L., JØRGENSEN, M., HANSEN, H., MICHAELSEN, K. F. (2002). Fluctuations in human milk long-chain PUFA levels in relation to dietary fish intake. In: *Lipids*, 37(3), pp. 237- 244.
- LÓPEZ-LÓPEZ, A., LÓPEZ-SABATER, M. C., CAMPOY-FOLGOSO, C., RIVERO-URGELL, M. E CASTEL-LOTE-BARGALLÓ, A. I. (2002). Fatty acid and sn-2 fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and in infant formulas. In: *European Journal of Clinical Nutrition*, 56, pp. 1242-1254.

- MAKRIDES, M., NEUMANN, M., SIMMER, J. E GIBSON, R. (1995). Are long chain polyunsaturated fatty acids essential nutrients in infancy?. In: *Lancet*, 345, 1463-1468.
- NEVILLE, M.C. (2001). Anatomy and physiology of lactation. In: *Pediatrics Clinics of North America*, 48, pp. 13-33.
- NEVILLE, M.C. E MORTON, J. (2001). Physiology and endocrine change underlying human lactogenesis II. In: *J. Nutr*1., 131, pp. 3005S-8S .
- RATNAYAKE, W. M. E CHEN, Z. Y. (1996). Trans, n-3, and n-6 fatty acids in Canadian human milk. In: *Lipids*, 31, pp. S279-S282.
- RIBEIRO, L .C., DEVINCENZI, M. U., GARCIA, J. N., HADLER, M., YAMASHITA, C. E SIGULEM, D. (2006). Nutrição e alimentação na lactação. [Em linha]. Disponível em http://www.pnut.epm.br/Download_Files/Nut_Alim_Lactacao.pdf. [Consultado em 08/05/06].
- ROCQUELIN, G., TAPSOBA, S., DOP, M. C., MBEMBA, F., TRAISSAC, P. E MARTIN-PREVEL, Y. (1998). Lipid content and essential fatty acid (EFA) composition of mature Congolese breast milk are influenced by mother's nutritional status: impact on infant's EFA supply. In: *European Journal of Clinical Nutrition*, 52(3), pp.164-171.
- SCOPESE, F., CIANGHEROTTI, S., LANTIERI, P.B., RISSO, D., BERTINI, I., CAMPONE, F., PEDROTTI, A., BONACCI, W. E SERRA, G. (2001). Maternal dietary PUFAs intake and human milk content relationships during the first month of lactation. In: *Clinical Nutrition* 20(5), pp. 393-397.
- TIANGSON, C. L. P., GAVINO, V. C. E PANLASIGUI, L. (2003). Docosahexaenoic acid level of the breast milk of some Filipino women. In: *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54(5), pp. 379-386.
- WORTHINGTON-ROBERTS, B.S. (1988). Lactação e leite humano: considerações nutricionais. In: Worthington-Roberts B.S., Vermeersch, J. e Williwams, S.R. *Nutrição na gravidez e lactação*. 3ª ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara. pp. 187-240.
- WORTHINGTON-ROBERTS, B.S., VERMEERSCH, J. E WILLIAMS, S.R. (1988). *Nutrição na gravidez e lactação*. 3a ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara, p.192.