

# Concentração de $\alpha$ -tocoferol no soro e colostro de mães com diabetes melito gestacional

*Alpha-tocopherol concentration in serum and colostrum of mothers with gestational diabetes mellitus*

Fernanda Barros S. Resende<sup>1</sup>, Heleni Aires Clemente<sup>1</sup>, Dalila Fernandes Bezerra<sup>1</sup>, Evelylyn Câmara Grilo<sup>1</sup>, Larisse Rayanne M. de Melo<sup>1</sup>, Paula Emília N. R. Bellot<sup>1</sup>, Raquel Costa S. Dantas<sup>1</sup>, Roberto Dimenstein<sup>1</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar e comparar a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no leite colostro e no soro de mães diabéticas e saudáveis.

**Métodos:** Estudo transversal, realizado com 51 parturientes voluntárias, sendo 20 diagnosticadas com diabetes melito gestacional e 31 sem nenhuma doença associada. Coletaram-se as amostras de soro e de colostro em jejum no pós-parto imediato e o  $\alpha$ -tocoferol foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para definir o estado nutricional de vitamina E, adotou-se ponto de corte sérico (697,7 $\mu$ g/dL). O teste *t* de Student para variáveis independentes comparou as concentrações médias de  $\alpha$ -tocoferol no soro e no colostro entre os grupos controle e com diabetes melito gestacional. A correlação de Pearson testou a relação entre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no soro e no colostro para ambos os grupos. As diferenças foram consideradas significantes quando  $p < 0,05$ .

**Resultados:** As concentrações de  $\alpha$ -tocoferol no colostro foram 1.483,1 $\pm$ 533,8 $\mu$ g/dL para as mulheres do Grupo Controle e 1.368,8 $\pm$ 681,8 $\mu$ g/dL para as diabéticas, não havendo diferenças ( $p = 0,50$ ). Entretanto, no soro das puérperas controle, a concentração de  $\alpha$ -tocoferol foi 1.059,5 $\pm$ 372,7 $\mu$ g/dL e, nas diabéticas, 1.391,4 $\pm$ 531,5 $\mu$ g/dL, com  $p < 0,01$ . Não houve correlação entre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no soro e no colostro para o Grupo Controle. Resultado semelhante foi encontrado para o grupo com diabetes melito gestacional.

**Conclusões:** Os grupos apresentaram estado nutricional adequado quanto à vitamina E. Não houve associação entre diabetes melito gestacional e mudanças na concentração de  $\alpha$ -tocoferol no colostro.

**Palavras-chave:** diabetes gestacional; colostro; soro; alfa-tocoferol.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate and compare the levels of  $\alpha$ -tocopherol in colostrum and in the serum of healthy and diabetic mothers.

**Methods:** This cross-sectional study enrolled 51 volunteer mothers, 20 with the diagnosis of gestational diabetes mellitus and 31 without associated diseases. Serum and colostrum samples were collected in fasting in the immediate postpartum period and  $\alpha$ -tocopherol was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). In order to define the nutritional status of vitamin E, the cutoff point for the serum (697.7 $\mu$ g/dL) was adopted. Student's *t*-test for independent variables compared the average concentrations of  $\alpha$ -tocopherol in the serum and in the colostrum between control and gestational diabetes mellitus groups. Pearson's correlation was used to assess the relationship between the concentration of  $\alpha$ -tocopherol in serum and colostrum for both groups. Differences were considered significant when  $p < 0.05$ .

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil

<sup>1</sup>UFRN, Natal, RN, Brasil

Endereço para correspondência:  
Roberto Dimenstein  
Avenida Senador Salgado Filho, 3.000 – Lagoa Nova  
CEP 59072-970 – Natal/RN  
E-mail: rdimenstein@gmail.com

Conflito de interesse: nada a declarar

Recebido em: 9/9/2013  
Aprovado em: 28/11/2013

**Results:** The  $\alpha$ -tocopherol concentration in colostrum was  $1,483.1 \pm 533.8 \mu\text{g/dL}$  for Control Group and  $1,368.8 \pm 681.8 \mu\text{g/dL}$  for diabetic women, without differences between groups ( $p=0.50$ ). However,  $\alpha$ -tocopherol concentration in the serum was  $1,059.5 \pm 372.7 \mu\text{g/dL}$  in the Control Group and  $1,391.4 \pm 531.5 \mu\text{g/dL}$  in the diabetic one ( $p<0.01$ ). No correlation was found between the concentration of  $\alpha$ -tocopherol in the serum and in the colostrum for control and diabetic groups.

**Conclusions:** The groups had adequate nutritional status of vitamin E. Gestational diabetes was not associated with changes in  $\alpha$ -tocopherol concentration in colostrum.

**Key-words:** diabetes, gestational; colostrum; serum; alpha-tocopherol.

## Introdução

Durante a gestação, geralmente ocorre um acúmulo de reserva energética, caracterizado por respostas fisiológicas maternas comuns à gestação como aumento da gordura visceral, resistência à insulina e elevação dos lipídios circulantes<sup>(1)</sup>. A resistência à insulina promove a elevação na concentração de glicose, caracterizando um quadro de diabetes melito gestacional (DMG). Estudos têm demonstrado a ocorrência de produção maior de radicais livres de oxigênio, apoiando a hipótese de que há um aumento do estresse oxidativo em pacientes com diabetes gestacional<sup>(2)</sup>. No entanto, ainda há lacunas sobre o estresse oxidativo na gravidez e seus reflexos sobre o neonato.

A DMG acarreta diversos fatores de risco para o binômio mãe-filho, entre eles, o aumento da incidência de teratogênia, maior nos fetos de mães diabéticas quando comparados aos de mães saudáveis, sendo essas malformações decorrentes também do dano celular causado pela atividade de radicais livres<sup>(2)</sup>.

Os antioxidantes naturais reduzem os efeitos adversos dos radicais livres por possuírem a capacidade de captar e neutralizar as espécies reativas de oxigênio (ERO), impedindo a peroxidação lipídica. Essa neutralização é essencial, especialmente em situações de aumento do estresse oxidativo, como ocorre na DMG<sup>(3)</sup>. Dentre essas substâncias, destaca-se a vitamina E, micronutriente essencial, que corresponde a um grupo de oito compostos lipossolúveis classificados em  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol ou tocotrienol, sendo o  $\alpha$ -tocoferol o biologicamente mais ativo<sup>(4)</sup>.

Sabe-se que a transferência placentária da vitamina E durante a gestação é limitada e que as reservas formadas desse micronutriente no recém-nascido são baixas, tornando o aleitamento materno exclusivo a única fonte de aquisição para suprir suas necessidades nutricionais<sup>(4)</sup>. Essa oferta é extremamente importante, pois a mudança para um ambiente hiperoxêmico no momento do parto eleva o risco de formação de radicais livres<sup>(5)</sup>. Pesquisadores avaliaram a relação entre vitamina E e diabetes e verificaram que a suplementação desta relaciona-se à produção de insulina e à proteção das células-beta do pâncreas, revelando que a vitamina E pode se relacionar diretamente ao diabetes<sup>(6)</sup>.

Diante da importância da vitamina E para o binômio mãe-filho, este trabalho teve o objetivo de verificar a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no leite colostro e no soro de mães diabéticas e saudáveis, bem como comparar os valores vitamínicos entre os grupos estudados. A relevância deste trabalho consiste em verificar se a DMG pode ser um fator de risco para deficiência em vitamina E na parturiente e/ou no recém-nascido, considerando-se que o leite materno é a única fonte dessa vitamina para recém-nascidos em aleitamento materno exclusivo.

## Método

O estudo, do tipo transversal, foi realizado com 51 parturientes voluntárias, sendo 20 diabéticas e 31 sem nenhuma doença associada, todas atendidas em maternidade pública de Natal, Rio Grande do Norte. Coletaram-se as amostras de outubro de 2011 a agosto de 2012.

Para o cálculo amostral, utilizou-se o *software* G\*Power, versão 3.1.7<sup>(7)</sup>. O cálculo foi realizado considerando-se os seguintes parâmetros: valor de  $\alpha=5\%$ , poder do teste de 80% e expectativa da medida de efeito de 0,81. O tamanho total indicado para a amostra foi de 50 casos.

Os critérios de exclusão para o grupo de parturientes saudáveis foram: presença de doenças (diabetes, hipertensão, neoplasias, doenças do trato gastrointestinal e hepáticas, cardiopatias, infecciosas, sífilis e HIV positivo); utilização de suplementos vitamínicos contendo vitamina E durante a gestação; conceptos múltiplos ou com malformação. Quanto às parturientes com diabetes gestacional, excluíram-se as insulino-dependentes, com conceptos múltiplos ou com malformação e aquelas que fizeram uso de suplementos vitamínicos durante a gestação. O diagnóstico de DMG foi realizado pela equipe médica durante o pré-natal das

participantes. Para rastreamento positivo durante o pré-natal, independentemente do período gestacional, estabeleceu-se que a glicemia de jejum materna deveria ser igual ou superior a 85mg/dL. Para o diagnóstico do DMG, utilizaram-se os pontos de corte de 110mg/dL para a glicemia de jejum e de 140mg/dL para o valor do Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG), realizado duas horas após sobrecarga oral com 75g de glicose.

Todos os procedimentos realizados no estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Onofre Lopes da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Todas as participantes foram esclarecidas sobre a pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Os dados sobre as características maternas e obtétricas foram obtidos do prontuário da parturiente, do cartão de acompanhamento pré-natal e por meio de entrevistas realizadas pelos pesquisadores. O estado nutricional antropométrico pré-gestacional foi determinado pelo índice de massa corpórea (IMC), calculado pela razão entre o peso corpóreo habitual da mulher antes da gestação e sua estatura elevada ao quadrado. As mulheres com IMC  $<19,8\text{kg/m}^2$  foram classificadas como baixo peso; aquelas com IMC entre  $19,8\text{--}26\text{kg/m}^2$  como eutrofia; as com IMC entre  $26\text{--}29\text{kg/m}^2$  como portadoras de sobrepeso e as mulheres com IMC  $>29\text{kg/m}^2$  foram classificadas como obesas<sup>(8)</sup>.

O ganho de peso gestacional das participantes foi calculado pela diferença entre o peso corpóreo pré-parto e o peso pré-gestacional e avaliado de acordo com o preconizado pelo Instituto de Medicina<sup>(8)</sup>. As mulheres com baixo peso pré-gestacional deveriam ganhar entre 12,5–18kg até o final da gestação; aquelas com peso adequado pré-gestacional, entre 11,5–16kg; as com sobrepeso, entre 7–11,5kg; e as mulheres com obesidade deveriam ganhar aproximadamente 7kg até o final da gestação.

Os dados sobre as características dos recém-nascidos das mães participantes foram obtidos do prontuário médico. Classificaram-se os recém-nascidos segundo a idade gestacional em pré-termo (os que nasceram com menos de 37 semanas) e a termo (os que nasceram entre a 37<sup>a</sup> e 42<sup>a</sup> semana)<sup>(9)</sup>. Os recém-nascidos também foram classificados segundo o peso ao nascer em baixo peso (peso inferior a 2500g); adequado (peso entre 2500 e 4000g); e macrossômicos (peso acima de 4000g)<sup>(10)</sup>.

No primeiro dia pós-parto, coletaram-se 2mL de colostro e 5mL de sangue de cada parturiente envolvida no estudo. Essas amostras biológicas foram colhidas de manhã, após

jejum de 8 a 12 horas. Obteve-se o colostro por expressão manual de uma única mama, para evitar flutuação no teor de gordura, e obteve-se o sangue por punção venosa. As amostras foram coletadas em tubos de polipropileno protegidos da luz e transportados em caixas térmicas ao Laboratório de Bioquímica dos Alimentos e da Nutrição do Departamento de Bioquímica da UFRN. As amostras de colostro foram submetidas a banho-maria a 37°C por cinco minutos e agitadas para homogeneização da amostra. Em seguida, retirou-se uma alíquota de 500 $\mu$ L, colocada em tubo de polipropileno protegido da luz e armazenada a -18°C até o momento da análise. O sangue foi centrifugado para a retirada do soro, separando-se 1mL e armazenando-o da mesma forma que o colostro.

A concentração de alfa-tocoferol nas amostras de soro e de colostro foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A análise bioquímica do  $\alpha$ -tocoferol nas amostras biológicas ocorreu conforme a adaptação do método de extração utilizado por Ortega et al<sup>(11)</sup>, como descrito adiante. Para 1mL de soro, utilizou-se 1mL de etanol 95% (Merck<sup>®</sup>, USA); em seguida, houve duas extrações com 2mL de hexano (Merck<sup>®</sup>, USA) e evaporação de 2mL de extrato hexânico em banho-maria a 37°C. Para 500 $\mu$ L de colostro, adicionaram-se 500 $\mu$ L de etanol 95% (Merck<sup>®</sup>, USA); em seguida, houve duas extrações com 2mL de hexano (Merck<sup>®</sup>, USA) e evaporação nas mesmas condições do soro. Após esses procedimentos, as amostras foram redissolvidas em 500 $\mu$ L de etanol absoluto (Vetec<sup>®</sup>, Brasil) e 20 $\mu$ L foram aplicados no aparelho CLAE (modelo LC-10 AD, Shimadzu Corporation<sup>®</sup>, Japão) acoplado a um detector UV-VIS (SPD-10 A, Shimadzu Corporation<sup>®</sup>, Japão) e a um integrador Chromatopac C-R6A (Shimadzu Corporation<sup>®</sup>, Japão). Utilizou-se coluna de fase reversa (CLC-ODS (M), Shim-pack, Japão) de 4,6mm d.i.x25cm de comprimento. A fase móvel utilizada nessas análises foi metanol 100% (J. T. Baker, México) em um fluxo de 1,0mL/minuto.

Identificou-se o  $\alpha$ -tocoferol nas amostras por comparação entre o tempo de retenção dos picos obtidos nos cromatogramas e aquele obtido com a aplicação do padrão de  $\alpha$ -tocoferol Sigma<sup>®</sup>. A fim de quantificar o  $\alpha$ -tocoferol nas amostras biológicas, utilizou-se uma curva padrão para padronização externa. A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico em etanol absoluto<sup>(12)</sup>,  $\epsilon$  1%, 1cm=75,8 a 292nm (Sigma<sup>®</sup>, USA).

Concentrações de  $\alpha$ -tocoferol sérico materno acima de 697,7 $\mu$ g/dL são consideradas aceitáveis, conforme os valores estabelecidos por Sauberlich<sup>(13)</sup>.

Para determinar a precisão e a exatidão, realizaram-se os testes de recuperação e de repetitividade expressa por desvio padrão relativo (DPR), com três concentrações, (50, 100 e 200ng/mL), contemplando-se a faixa de variação dentro da curva de linearidade. Determinou-se também o limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ).

O  $\alpha$ -tocoferol foi detectado no colostro e no soro. A taxa de recuperação média de  $\alpha$ -tocoferol para o soro foi de 100% e, para o colostro, de 98,8%. As medições caracterizaram-se por repetibilidade satisfatória, com DPR de soro e colostro de 7,7 e 4,2%, respectivamente.

Para se determinar o LD e o LQ, diluíram-se as amostras de soro e de colostro, cujas concentrações eram conhecidas. A cada diluição, as amostras foram aplicadas e o pico observado, de forma que o LD foi determinado quando não houve mais distinção entre o ruído e o sinal analítico, sendo atingido na concentração de 3,18ng/mL. O LQ foi determinado quando se detectou o sinal analítico na menor diluição, sendo equivalente a 6,36ng/mL, conforme o método visual<sup>(14)</sup>. A curva de calibração foi realizada com soluções padrão de  $\alpha$ -tocoferol (Sigma<sup>®</sup>). A curva de calibração para  $\alpha$ -tocoferol foi linear ( $r^2=0,9998$ ) e obtida dentro de 1,2–41,3 $\mu$ g/mL.

Analisaram-se os dados pelo *Statistic Release 7<sup>®</sup>*, sendo apresentados em média e desvio padrão. Utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade das variáveis métricas de interesse. Após a comprovação da normalidade, aplicou-se o teste *t* de Student para variáveis independentes, a fim de averiguar se havia diferença significativa entre as médias de  $\alpha$ -tocoferol dos grupos estudados. Utilizou-se a correlação de Pearson para avaliar a relação entre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no soro e no colostro, sendo significativa  $p<0,05$ . Essa correlação foi realizada para cada grupo estudado.

## Resultados

As parturientes que participaram deste estudo foram distribuídas para análise dos resultados em dois grupos: Controle (n=31) e Grupo de Diabetes Mellito Gestacional (n=20).

As parturientes incluídas no Grupo Controle eram, em sua maioria, adultas (81%), foram submetidas ao parto vaginal (55%) e tiveram filhos a termo (96%) e com peso adequado (87%). Quanto ao peso pré-gestacional, 42% foram classificadas como eutróficas. A média da idade gestacional (IG) dos recém-nascidos das parturientes desse grupo foi de 39 $\pm$ 1,2 semanas e somente um recém-nascido foi classificado como prematuro, com IG de 36 semanas.

Quanto às parturientes incluídas no grupo das diabéticas, todas eram adultas e a maioria teve a cesariana (90%) como via de parto e filhos a termo (71%). Quanto à classificação do peso pré-gestacional, 44% eram obesas. Quanto ao peso dos recém-nascidos desse grupo, 33,3% nasceram com peso insuficiente, 33,3% com peso adequado e 33,3% com macrosomia. A média da IG dos recém-nascidos das mães incluídas nesse grupo foi de 37 $\pm$ 2 semanas e quatro recém-nascidos foram classificados como prematuros, sendo a idade gestacional média de 35 $\pm$ 1 semanas (Tabela 1).

Nas parturientes do Grupo Controle, a concentração média de  $\alpha$ -tocoferol encontrada no soro foi de 1.059,5 $\pm$ 372,7 $\mu$ g/dL (mínimo: 482,3; máximo: 2.405,8).

**Tabela 1** - Caracterização da população estudada com base em características maternas, obstétricas e do neonato

	Grupo controle		Grupo diabético	
	n	%	n	%
Idade materna				
Adolescentes	6	19	0	0
Adultas	25	81	20	100
Estado nutricional pré-gestacional*				
Baixo peso	7	30	1	6
Eutrofia	11	42	4	22
Sobrepeso	4	14	5	28
Obesidade	4	14	8	44
Ganho de peso gestacional**				
Insuficiente	10	38	3	17
Adequado	9	35	4	22
Excessivo	7	27	11	61
Via de parto				
Cesariana	14	45	18	90
Vaginal	17	55	2	10
Paridade				
Primíparas	15	52	5	28
Multíparas	14	48	13	72
Idade gestacional***				
A termo	25	96	10	71
Pré-termo	1	4	4	29
Peso ao nascer****				
Baixo peso	3	10	3	17
Adequado	26	87	9	50
Macrossômico	1	3	6	33

\*Estado nutricional pré-gestacional classificado conforme o índice de massa corpórea pré-gestacional<sup>(9)</sup>; \*\*ganho de peso gestacional classificado segundo o estado nutricional pré-gestacional<sup>(9)</sup>; \*\*\*pré-termo: idade gestacional <37 semanas e termo: 37 $\leq$  idade gestacional <42 semanas<sup>(9)</sup>; \*\*\*\*baixo peso: peso ao nascer <2500g, peso adequado: 2500g $\leq$  peso ao nascer  $\leq$ 4000g e macrosomia: peso ao nascer >4.000g<sup>(10)</sup>

Para as mulheres do grupo das diabéticas, a média foi de  $1.391,4 \pm 531,5 \mu\text{g/dL}$  (mínimo: 368,0; máximo: 2.311,5), havendo diferença significativa entre os grupos ( $p < 0,01$ ) (Figura 1). A concentração de  $\alpha$ -tocoferol no colostro foi de  $1.483,1 \pm 533,8 \mu\text{g/dL}$  (mínimo: 645,5; máximo: 2.360,1) para as participantes do Grupo Controle e de  $1.368,8 \pm 681,8 \mu\text{g/dL}$  (mínimo: 505,6; máximo: 2.750,6) para as diabéticas, não havendo diferença entre os grupos (Figura 2). Não se verificou correlação entre o soro e o colostro tanto para o Grupo Controle ( $p > 0,05$ ;  $r = 0,12$ ) quanto para o Grupo de Diabetes Melito Gestacional ( $p > 0,05$ ;  $r = -0,11$ ). A correlação para ambos os grupos está expressa nas Figuras 3 e 4.

## Discussão

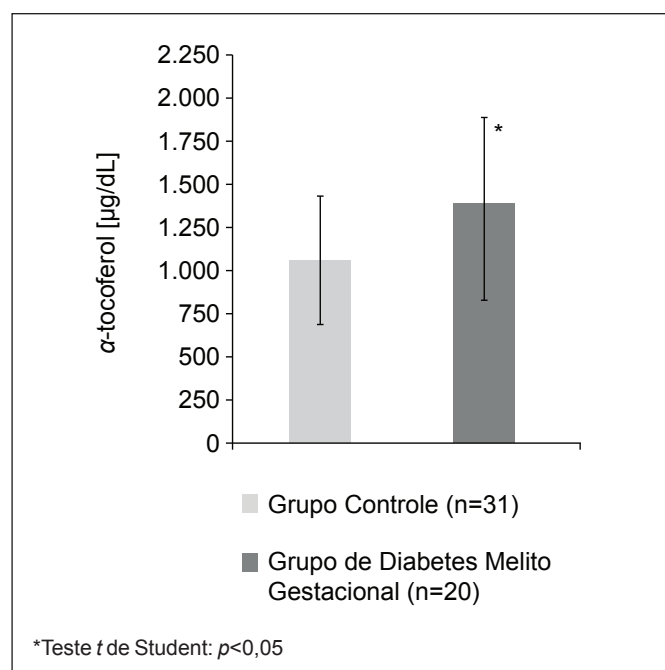
O estado nutricional materno pré-gestacional e durante a gravidez é um dos fatores modificáveis mais importantes para a saúde da gestante e de seu bebê. A inadequação do estado nutricional materno influencia o resultado da gravidez e as condições de crescimento apresentadas pelo recém-nascido, pois o período gestacional é uma fase em que as necessidades nutricionais estão elevadas, decorrentes dos ajustes fisiológicos da gestante e das demandas de nutrientes para o crescimento fetal<sup>(15)</sup>.

A partir das médias das concentrações séricas de  $\alpha$ -tocoferol observadas em ambos os grupos, o estado nutricional

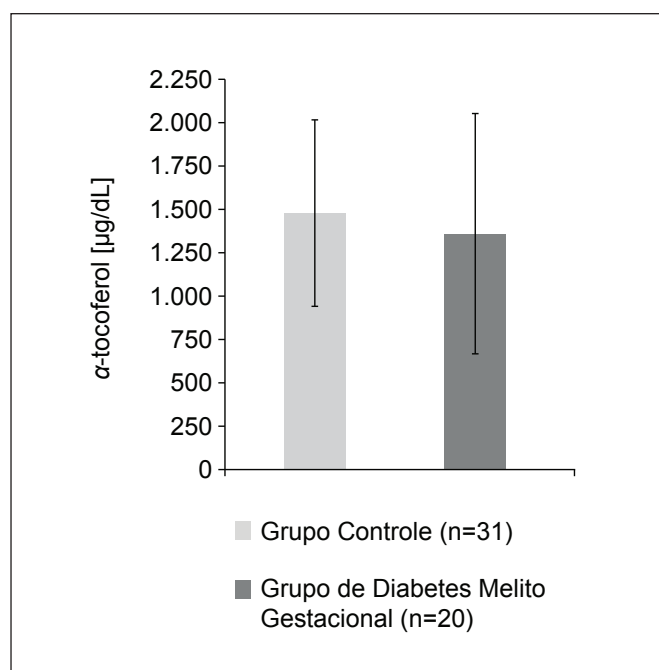
bioquímico do soro é aceitável<sup>(13)</sup>, não havendo deficiência relacionada ao diabetes. Quanto ao colostro, verificou-se que tanto o Grupo Controle quanto o Grupo de Diabetes Melito Gestacional atendem ao requerimento nutricional do bebê, considerando-se que o volume estimado da ingestão do colostro é de  $500\text{mL/dia}$ <sup>(16)</sup>, sendo o resultado comparado diretamente com o valor de referência do *Institute of Medicine* do ano 2000<sup>(17)</sup> para a ingestão do nutriente ( $4\text{mg/dia}$ ).

A partir dos resultados, observou-se que o soro das mulheres com DMG apresentou maior concentração de  $\alpha$ -tocoferol do que o de mães saudáveis. Porém, Grissa *et al*<sup>(18)</sup> e Peuchant *et al*<sup>(19)</sup>, em estudo realizado com gestantes, relataram um decréscimo das concentrações de vitamina E no soro de mães diabéticas, quando comparado ao soro das mães saudáveis. Suhail *et al*<sup>(20)</sup> também verificaram decréscimo dessa concentração sérica em relação ao grupo controle. Entretanto, tais autores realizaram a coleta no momento do parto, diferentemente deste estudo, em que se realizaram as coletas das amostras no primeiro dia pós-parto.

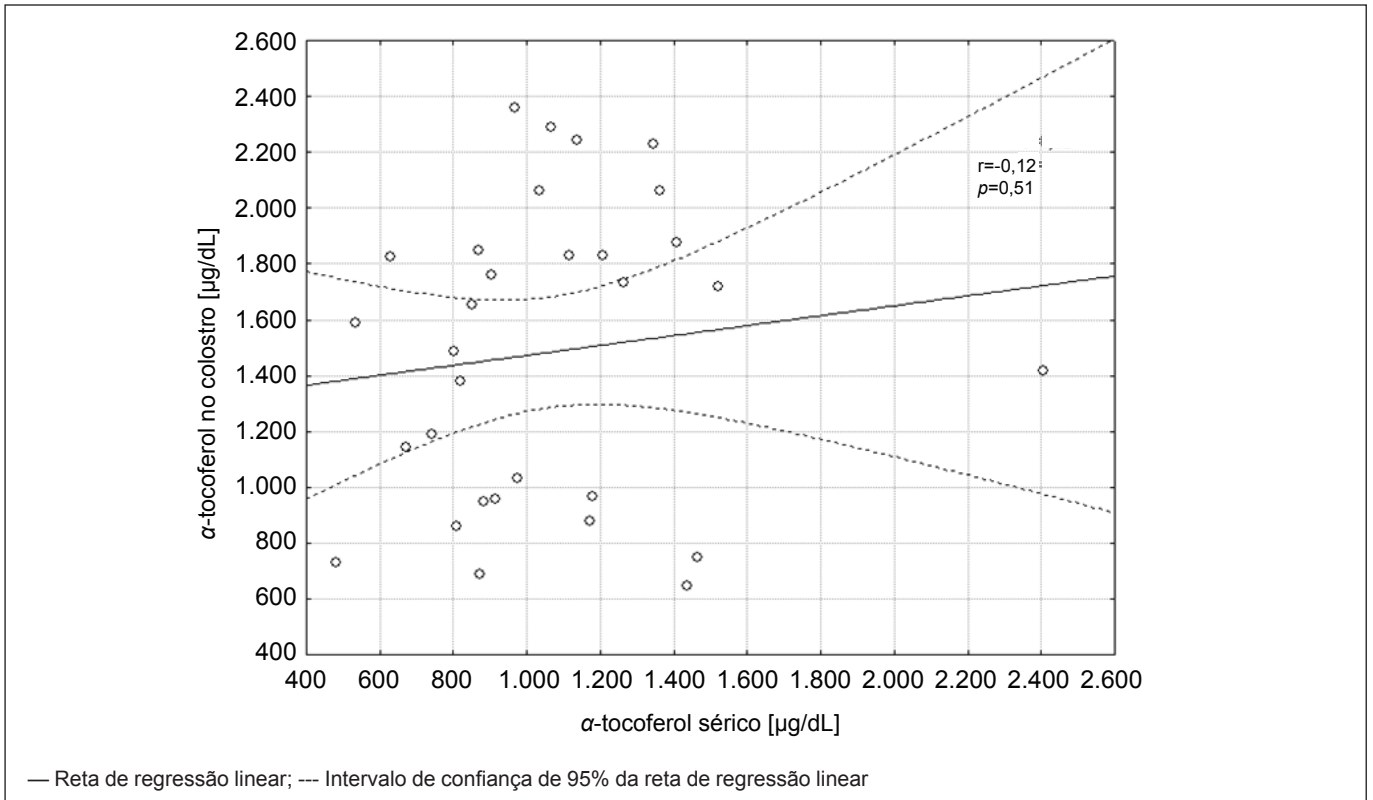
Em estudos realizados por Lammi-Keefe *et al*<sup>(21)</sup> e Dey *et al*<sup>(22)</sup>, não houve diferença significativa entre a quantidade de tocoferol no soro do grupo diabético e do grupo saudável. O estudo de Lammi-Keefe *et al*<sup>(21)</sup> foi o primeiro realizado com lactantes com diabetes melito insulino-dependentes e seu respectivo grupo controle, composto por lactantes



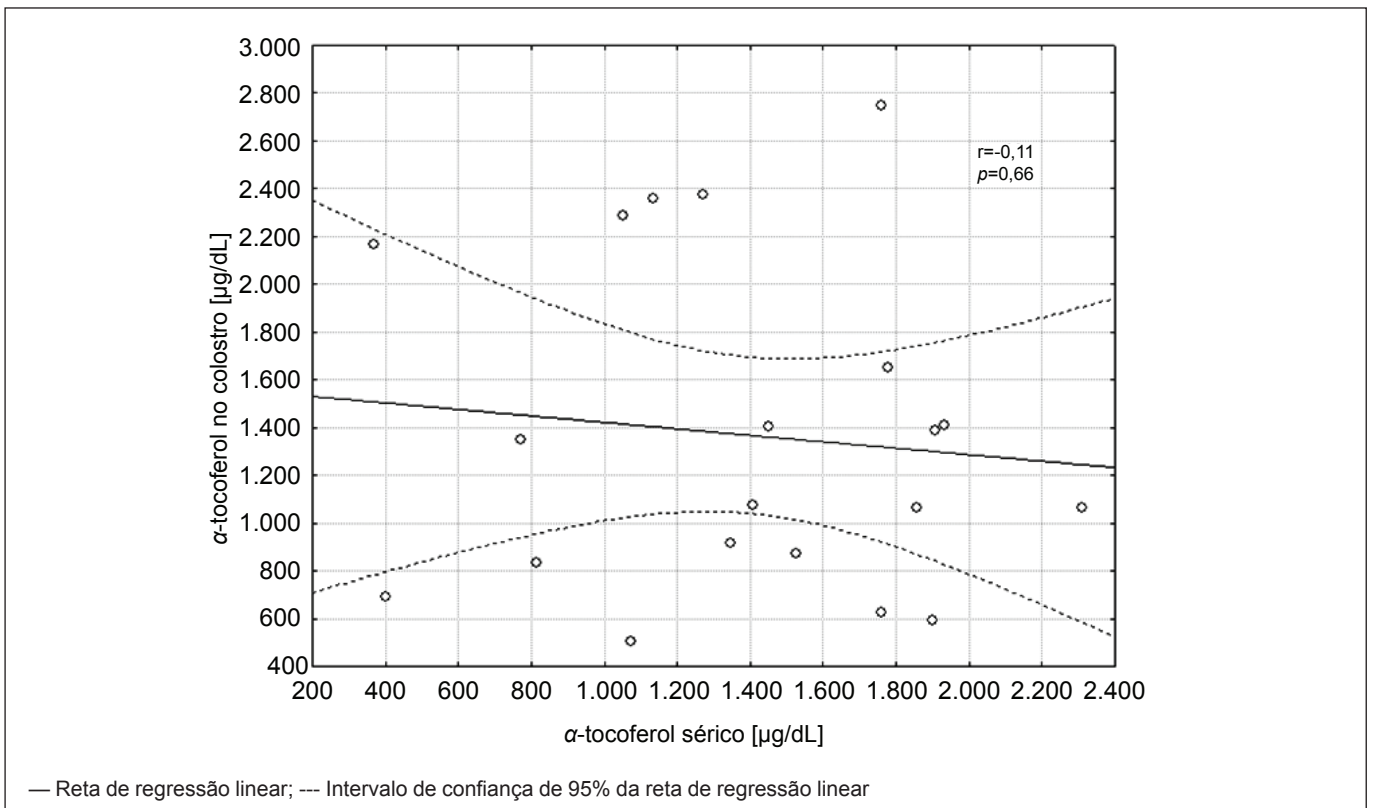
**Figura 1** - Concentração de  $\alpha$ -tocoferol no soro de lactantes do Grupo Controle e do Grupo de Diabetes Melito Gestacional



**Figura 2** - Concentração de  $\alpha$ -tocoferol no colostro de lactantes do Grupo Controle e do Grupo de Diabetes Melito Gestacional



**Figura 3** - Correlação entre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no soro e no colostro de lactantes do Grupo Controle



**Figura 4** - Correlação entre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no soro e no colostro de lactantes do Grupo de Diabetes Melito Gestacional

sem nenhum tipo de doença. O segundo estudo foi realizado na Índia e analisou o tocoferol em gestantes diagnosticadas com diabetes gestacional. Entretanto, outro estudo realizado na Índia por Santra *et al*<sup>(23)</sup> encontrou maior quantidade de vitamina E no soro de mulheres com DMG, em comparação ao grupo controle, corroborando o resultado obtido nesta pesquisa. A quantidade de vitamina E sofreu ainda aumento gradual após quatro semanas, mediante nova coleta.

A concentração sérica aumentada de  $\alpha$ -tocoferol pode estar relacionada às alterações metabólicas que ocorrem no organismo materno devido ao DMG. No final da gestação, pressupõe-se redução na secreção de insulina, levando a uma resposta hormonal que faz os tecidos dependentes de insulina metabolizarem os lipídeos em vez dos carboidratos, iniciando um processo de lipólise<sup>(24-26)</sup>, que culmina em maior liberação de ácidos graxos livres na circulação<sup>(27)</sup>. Uma vez que o principal meio de estocagem de  $\alpha$ -tocoferol no organismo é o tecido adiposo<sup>(28)</sup>, essa vitamina pode sofrer influência do aumento da lipólise, fazendo com que gestantes diabéticas apresentem concentrações elevadas de tocoferol sérico.

Há evidências de que o aumento do estresse oxidativo pode aumentar a atividade de antioxidantes enzimáticos em animais, como uma condição adaptativa do organismo. De Angelis *et al* verificaram que ratos diabéticos tiveram aumento de 92% na atividade da catalase e de 27% da glutathione S-transferase em músculos, em comparação ao grupo controle. Conforme a vitamina E atua como antioxidante, é oxidada e transformada em radical livre (tocoferil), necessitando, assim, de um sistema de regeneração que permita a recuperação de sua função antioxidante. Para isso, outros antioxidantes atuam removendo o radical livre da molécula do tocoferol, como o ácido ascórbico, a enzima glutathione-reduzida e a Coenzima Q10<sup>(29,30)</sup>. Giannubilo *et al*<sup>(31)</sup> verificaram concentração plasmática significativamente maior da coenzima Q10 no final da gestação (36–40 semanas) em pacientes com DMG, quando comparadas ao grupo controle. Para explicar essa diferença, os autores sugerem haver um mecanismo compensatório em resposta ao estresse oxidativo associado à hiperglicemia e à resistência à insulina em pacientes com DMG.

Diante dos estudos expostos e dos resultados obtidos, apesar de poucos artigos publicados, pode-se levantar a hipótese de que o aumento do  $\alpha$ -tocoferol no sangue de mães com DMG se relacione à tentativa de reagir à doença e minimizar os danos causados, na forma de mecanismo de compensação, observado tanto no aumento da lipólise diante

da baixa disponibilidade de energia quanto no aumento da atividade antioxidante diante do estresse oxidativo.

Quanto à concentração de  $\alpha$ -tocoferol no colostro de mães diabéticas, encontraram-se poucos estudos a esse respeito. Apesar da escassez de trabalhos, Lammi-Keefe *et al*<sup>(21)</sup> analisaram a quantidade de vitamina E no leite de diabéticas no sétimo, 14º, 42º e 84º dias de lactação. Em seus resultados, observa-se que a quantidade de tocoferol no colostro, que corresponde à amostragem do sétimo dia, foi maior em comparação ao grupo das mães saudáveis, sendo essa diferença significativa. No mesmo grupo, a concentração vitamínica mostrou-se abaixo do valor de referência adotado pelos autores. Nesse mesmo estudo, também se verificou que as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol para as mães diabéticas diferem das encontradas para o grupo controle, tanto no colostro quanto no soro; porém, em ambos os grupos, não houve correlação significativa entre eles, resultado semelhante ao de pesquisas anteriores, como as de Azeredo e Trugo<sup>(32)</sup>, Dimenstein *et al*<sup>(33)</sup> e Lira *et al*<sup>(34)</sup>. Isso reforça a hipótese de que há um mecanismo diferente de transferência do tocoferol para a glândula mamária a fim de suprir a necessidade do recém-nascido, não havendo dependência quanto à situação sérica materna desse nutriente<sup>(32)</sup>.

Nesse contexto, é essencial a existência desse mecanismo independente, pois o organismo materno deve garantir a transferência da vitamina E para o leite em quantidades suficientes para a formação das reservas do recém-nascido, garantindo a proteção do organismo contra a toxicidade do oxigênio e estimulando o desenvolvimento e a manutenção do sistema imune<sup>(4)</sup>. Além de sua ação como antioxidante ser de extrema importância para o recém-nascido, a vitamina E também desempenha função moduladora na pós-tradução e na transcrição de genes, ação anti-inflamatória e de estabilidade das membranas<sup>(5,35,36)</sup>.

Tanto as parturientes saudáveis quanto aquelas com DMG apresentaram estado nutricional adequado quanto à vitamina E. Apesar disso, a concentração de  $\alpha$ -tocoferol sérico foi significativamente maior no grupo diabético, sendo um fator de proteção contra o estresse oxidativo para essas mulheres. Sugere-se que esse aumento decorra de alterações metabólicas associadas ao DMG, como a lipólise.

Quanto às limitações do estudo, vale lembrar que o poder do teste expressa a probabilidade de se detectar um efeito verdadeiro<sup>(37)</sup>. A probabilidade de um pesquisador cometer um erro do tipo II, em que ele não rejeita a hipótese nula quando ela é falsa para a população, designa-se por erro beta ( $\beta$ )<sup>(38)</sup>.

Para o cálculo amostral deste estudo, utilizou-se poder do teste de 80% e valor do erro beta de 20%. Além disso, incluíram-se algumas mães de recém-nascidos prematuros. Entretanto, alguns trabalhos evidenciam que a idade gestacional não possui influência sobre os níveis de  $\alpha$ -tocoferol no colostro<sup>(39-41)</sup>. Finalmente, destaca-se a falta de avaliação dietética das parturientes incluídas no estudo e o fato de a coleta de leite materno ter sido realizada somente em um período da lactação. De qualquer modo, trabalhos como este, que verificam a associação entre doenças e a concentração de vitaminas no soro e no leite materno, são relevantes para se definirem grupos de riscos para deficiência vitamínica.

O DMG não se associou com a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no colostro e não parece ser um fator de risco para a deficiência de vitamina E em recém-nascidos cujas mães possuem

essa doença. As concentrações vitamínicas em ambos os grupos suprem o requerimento diário de vitamina E para bebês. Além disso, as parturientes com DMG possuíam maiores concentrações de  $\alpha$ -tocoferol no soro, o que pode ser um reflexo de alterações fisiológicas e bioquímicas que caracterizam a doença. Novos estudos devem ser realizados a fim de se verificar a influência de outras doenças comuns na gestação sobre as concentrações de  $\alpha$ -tocoferol e outras vitaminas no soro e no leite maternos.

## Agradecimentos

Os autores agradecem à Maternidade Escola Januário Cicco, pela permissão para se realizar o presente estudo, bem como às mães que se propuseram a participar.

## Referências bibliográficas

- Einstein FH, Fishman S, Muzumdar RH, Yang XM, Atzmon G, Barzilai N. Accretion of visceral fat and hepatic insulin resistance in pregnant rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;294:E451-5.
- Surapaneni KM. Oxidant-antioxidant status in gestational diabetes patients. *J Clin Diagn Res* 2007;1:235-8.
- Bettencourt JM. Type 2 diabetes mellitus and antioxidant vitamins (vitamin E, vitamin C and  $\beta$ -carotene) [monograph on the Internet]. Porto: Universidade do Porto; 2010 [cited 2013 Oct 1]. Available from: [http://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54615/3/138435\\_1031TCD31.pdf](http://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54615/3/138435_1031TCD31.pdf)
- Debiec C, Larondelle Y. Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring. *Br J Nutr* 2005;93:153-74.
- Traber MG. Vitamin E. In: Bowman BA, Russel RM, editors. Present knowledge in nutrition. 9<sup>th</sup> ed. Washington DC: ILSI Press; 2006. p. 211-9.
- Vignini A, Alidori A, Montesi L, Raffaelli F, Nanetti L, Bertoli E *et al*. Vitamin E, diabetes and related diseases: an update. *Mediterr J Nutr Metab* 2010;4:3-9.
- Faul F, Erdfelder E, Lang A-G, Buchner A. G\*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* 2007;39:175-91.
- Subcommittee for a Clinical Application Guide, Committee on Nutritional Status During Pregnancy and Lactation, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy of Sciences. Nutrition during pregnancy and lactation: an implementation guide. Washington (DC): National Academy Press; 1992.
- World Health Organization. Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates. Geneva: WHO; 2006.
- Strutz KL, Richardson LJ, Hussey JM. Preconception health trajectories and birth weight in a national prospective cohort. *J Adolesc Health* 2012;51:629-36.
- Ortega RM, López-Sobaler AM, Martínez RM, Andrés P, Quintas ME. Influence of smoking on vitamin E status during the third trimester of pregnancy and on breast-milk tocopherol concentrations in Spanish women. *Am J Clin Nutr* 1998;68:662-7.
- Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and tissue samples. *Am J Clin Nutr* 1992;56:417-26.
- Sauberlich HE. Laboratory tests for the assessment of nutritional status. 2<sup>nd</sup> ed. Boca Raton: CRC Press; 1999.
- Ribani M, Botolli CB, Jardim IC, Melo LF. Validação de métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quim Nova* 2004;27:771-80.
- Ramakrishnan U. Nutrition and low birth weight: from research to practice. *Am J Clin Nutr* 2004;79:17-21.
- Ross JS, Harvey PW. Contribution of breastfeeding to vitamin A nutrition of infants: a simulation model. *Bull World Health Organ* 2003;81:80-6.
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. DRI dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. A Report of the Panel on Dietary Antioxidants and Related Compounds. Washington DC: National Academy Press; 2000.
- Grissa O, Atégbo JM, Yessoufou A, Tabka Z, Miled A, Jerbi M *et al*. Antioxidant status and circulating lipids are altered in human gestational diabetes and macrosomia. *Transl Res* 2007;150:164-71.
- Peuchant E, Brun JL, Rigalleau V, Dubourg L, Thomas MJ, Daniel JY *et al*. Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. *Clin Biochem Rev* 2004;37:293-8.
- Suhail M, Patil S, Khan S, Siddiqui S. Antioxidant vitamins and lipoperoxidation in non-pregnant, pregnant, and gestational diabetic women: erythrocytes osmotic fragility profiles. *J Clin Med Res* 2010;2:266-73.
- Lammi-Keefe CJ, Jonas CR, Ferris AM, Capacchione CM. Vitamin E in plasma and milk of lactating women with insulin-dependent diabetes mellitus. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;20:305-9.
- Dey P, Gupta P, Acharya NK, Rao SN, Ray S, Chakrabarty S *et al*. Antioxidants and lipid peroxidation in gestational diabetes - a preliminary study. *Indian J Physiol Pharmacol* 2008;52:149-56.
- Santra D, Sawhney H, Aggarwal N, Majumdar S, Vasishta K. Lipid peroxidation and vitamin E status in gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol* 2003;29:300-4.
- Andrade OV, Ihara FO, Troster EJ. Metabolic acidosis in childhood: why, when and how to treat. *J Pediatr (Rio J)* 2007;83 (Suppl 2):S11-21.
- Barone B, Rodacki M, Cenci MC, Zajdenverg L, Milech A, Oliveira JE. Cetoacidose diabética em adultos — atualização de uma complicação antiga. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51:1434-47.



26. Rodacki M, Zajdenverg L, Lima GA, Nunes RC, Milech A, Oliveira JE. Relato de caso: diabetes *flabush* – da cetoacidose ao tratamento não-farmacológico. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51:131-5.
27. Fulop T, Tessier D, Carpentier A. The metabolic syndrome. *Pathol Biol (Paris)* 2006;54:375-86.
28. Herrera E, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem* 2001;57:43-56.
29. De Angelis KL, Cestari IA, Barp J, Dall'ago P, Fernandes TG, de Bittencourt PI *et al.* Oxidative stress in the latissimus dorsi muscle of diabetic rats. *Braz J Med Biol Res* 2000;33:1363-8.
30. Catania AS, Barros CR, Ferreira SR. Vitamins and minerals with antioxidant properties and cardiometabolic risk: controversies and perspectives. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2009;53:550-9.
31. Giannubilo SR, Tiano L, Cecchi S, Principi F, Tranquilli AL, Littarru GP. Plasma coenzyme Q<sub>10</sub> is increased during gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;94:230-5.
32. De Azeredo VB, Trugo NM. Retinol, carotenoids, and tocopherols in the milk of lactating adolescents and relationships with plasma concentrations. *Nutrition* 2008;24:133-9.
33. Dimenstein R, Pires JF, Garcia LR, Lira LQ. Levels of alpha-tocopherol in maternal serum and colostrum of adolescents and adults. *Rev Bras Ginecol Obstetr* 2010;32:267-72.
34. Lira LQ, Lima MS, de Medeiros JM, da Silva IF, Dimenstein R. Correlation of vitamin A nutritional status on alpha-tocopherol in the colostrum of lactating women. *Matern Child Nutr* 2013;9:31-40.
35. Zingg JM, Azzi A. Non-antioxidant activities of vitamin E. *Curr Med Chem* 2004;11:1113-33.
36. Rizzo MR, Abbatecola AM, Barbieri M, Vietri MT, Cioffi M, Grella R *et al.* Evidence for anti-inflammatory effects of combined administration of vitamin E and C in older persons with impaired fasting glucose: impact on insulin action. *J Am Coll Nutr* 2008;27:505-11.
37. Normando D, Almeida MA, Quintão CC. Análise do emprego do cálculo amostral e do erro do método em pesquisas científicas publicadas na literatura ortodôntica nacional e internacional. *Dental Press J Orthod* 2011;16:e1-9.
38. Carneiro AV. Cálculo da dimensão da amostra em estudos clínicos: princípios metodológicos básicos. *Rev Port Cardiol* 2003;22:1513-21.
39. Grilo EC, Lira LQ, Dimenstein R, Ribeiro KD. Influência da prematuridade e do peso ao nascer sobre a concentração de  $\alpha$ -tocoferol no leite colostro. *Rev Paul Pediatr* 2013;31:473-9.
40. Haug M, Laubach C, Burke M, Harzer G. Vitamin E in human milk from mothers of preterm and term infants. *J Pediatr Gastr Nutr* 1987;6:605-9.
41. Zheng MC, Zhang GF, Zhou LS, Guo XG, Quan YF. Alpha-tocopherol concentrations in human milk from mothers of preterm and full-term infants in China. *Biomed Environ Sci* 1993;6:259-64.