

Análisis de la concentración de retinol sérico en lactantes con y sin diabetes *mellitus* gestacional atendidas en una maternidad pública de la ciudad de Natal, Estado de Rio Grande do Norte, Brasil

Análise da concentração de retinol sérico em lactantes com e sem diabetes *mellitus* gestacional atendidas em uma maternidade pública da cidade de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil

Analysis of serum retinol levels in nursing mothers with and without gestational diabetes *mellitus* attended in a public maternity hospital in Natal, Rio Grande do Norte State, Brazil

Penha Patrícia Cabral Ribeiro

Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil

Roberto Dimenstein

Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil

Larissa Queiroz de Lira

Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil

RESUMEN

La vitamina A es esencial en todas las etapas de la vida, siendo todavía más importante durante la gestación y la lactación. Individuos con diabetes *mellitus* han sido considerados como un grupo en riesgo de presentar deficiencia de varios micronutrientes y compuestos relacionados, como las vitaminas A, E y C. En consecuencia, mujeres con diabetes *mellitus* gestacional (DMG) también han sido señaladas como un grupo en riesgo de presentar niveles reducidos de vitamina A. Este estudio tuvo como objetivo comparar el retinol en el suero de lactantes no diabéticas y con DMG atendidas en la Maternidad Escuela Januário Cicco, en la ciudad de Natal. Fueron colectadas muestras de suero de 85 parturientes, de las cuales 16 eran portadoras de DMG. El retinol en el suero fue cuantificado por cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE). Los resultados fueron expresados en promedio y desvío estándar, hallándose una diferencia significativa entre los grupos con y sin DMG, que presentaron concentraciones de $33,1 \pm 12,5 \mu\text{g/dL}$ y $41,2 \pm 11,1 \mu\text{g/dL}$, respectivamente. Aunque no se haya elucidado el mecanismo responsable por las alteraciones en los niveles de vitamina A en la presencia del diabetes, se sabe que el metabolismo del retinol está fisiológicamente asociado a la función de las células- β y, por eso, en condiciones de anormalidad en la secreción de insulina, podrán haber alteraciones en las concentraciones de RBP sérica y, por consiguiente, de retinol. Esos resultados alertan para la necesidad del monitoreo de esa vitamina durante la gestación, principalmente en la gestación acompañada por diabetes *mellitus*, con el fin de prevenir la instalación de otras complicaciones patológicas para la madre y para su lactante.

Palabras clave: Vitamina A; Diabetes Gestacional; Deficiencia de Vitamina A; Insulina.

Correspondencia / Correspondencia / Correspondence:

Roberto Dimenstein

Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Av. Senador Salgado Filho, nº3000. Bairro: Lagoa Nova

CEP: 59072-970 Natal, Rio Grande do Norte, Brasil

Tel.: +55 (84) 3215-3416 ramal 205/Fax: +55(84)32119208

E-mail: rdimenstein@gmail.com

Traducido por / Traduzido por / Translated by:

Lota Moncada

INTRODUCCIÓN

Todos los retinoides que presentan estructura cíclica de β-ionona pueden ser denominados de vitamina A. Son ellos: retinol (alcohol), retinol o retinaldehído (aldehído), retinil éster (éster) y ácido retinoico (ácido) ¹.

La vitamina A es esencial para la visión, para el crecimiento y la diferenciación celular y para la inmunidad ^{2,3}, además de actuar en la síntesis de las glicoproteínas ^{1,2} y en la reproducción ^{2,3}. Esta vitamina se encuentra en alimentos de origen animal bajo la forma de vitamina preformada. Algunos alimentos de origen vegetal poseen en su constitución precursores de vitamina A, los carotenoides ^{4,5}.

Los retinil ésteres deben ser hidrolizados en el intestino, liberando ácidos grasos libres y retinol. Este último es reesterificado e incorporado a los quilomicrones. Posteriormente, el retinol llega al hígado y es almacenado en las células estrelladas. Para que haya movilización del retinol para otros tejidos, es necesaria su conexión con la proteína ligadora de retinol (RBP) ¹.

Durante la gestación, las necesidades de vitamina A son más importantes ⁶, ya que tal vitamina es fundamental para establecer la salud de la madre y del bebé. Varios factores influyen en las concentraciones séricas de retinol, como por ejemplo: edad, sexo y estacionalidad ⁷.

La diabetes mellitus (DM), un grupo heterogéneo de trastornos metabólicos que presentan en común la hiperglucemia ⁸, parece influir en los niveles séricos de retinol ^{7,9,10}.

La gestación implica en algunas alteraciones fisiológicas que interfieren en el metabolismo de los nutrientes, entre los cuales los carbohidratos, de forma que esta condición naturalmente predispone a la resistencia a la insulina. Tales alteraciones pueden culminar en diabetes mellitus gestacional (DMG) ^{11,12,13}. La DMG es un cuadro de intolerancia a la glucosa que se inicia, o es reconocido, durante la gestación ¹². Gestantes que presenten esta intolerancia pueden ser consideradas como grupo de riesgo para deficiencia de vitamina A ¹⁴. Existen evidencias de que ocurra secreción anormal de RBP en condiciones de baja concentración de insulina ¹⁵.

La resistencia a la insulina durante la gestación puede ser resultado de una combinación del aumento de la adiposidad materna, de la ingesta de calorías y de los efectos de la disminución de la sensibilidad a la insulina ^{8,12,16}. Este cuadro de resistencia sirve para poner nutrientes a disposición especialmente para el feto, permitiendo simultáneamente la acumulación de tejido adiposo materno ¹⁶. Como después del parto existe una rápida disminución de la resistencia a la insulina, se sugiere que la mayor contribución sea a partir de las hormonas placentarias ¹².

Bajos niveles de vitamina A en el organismo pueden aumentar el riesgo de diarreas, infecciones respiratorias, problemas visuales y mortalidad ¹⁷. Así siendo, la carencia de vitamina A puede culminar en mayores riesgos de morbilidad y mortalidad del binomio madre/hijo ¹⁸. Este

estudio tuvo como objetivo comparar el retinol en el suero de lactantes con y sin diabetes mellitus gestacional, atendidas en la Maternidad Escuela Januário Cicco, en Natal, Estado de Rio Grande do Norte.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio, de tipo transversal, se realizó en la Maternidad Escuela Januário Cicco, considerado hospital de referencia terciaria del SUS (Sistema Único de Salud), y contó con la participación de 85 parturientes. Este muestreo se obtuvo por conveniencia, en el período de marzo a noviembre de 2010, y se dividió en dos grupos: el grupo prueba, compuesto por 16 parturientes con DMG, y el grupo control, constituido por 69 puérperas no diabéticas. Fueron excluidas del estudio: las mujeres con patologías asociadas (neoplasias; enfermedades del trato gastrointestinal, hepáticas e infecciosas; sífilis; VIH positivo); concepto de mala formación; mujeres que hicieron uso de suplementos vitamínicos conteniendo vitamina A durante la gestación y las que, en el caso de las diabéticas, no hicieran uso de insulina. Las madres tampoco deberían haber parido antes de 12 horas del momento de la colecta de sangre. Las mujeres diagnosticadas como diabéticas fueron sometidas a la dieta estándar para diabetes, por la División de Nutrición y Dietética de la maternidad.

Los datos del prenatal e informaciones sobre el parto se colectaron en el prontuario de cada parturiente. Las madres autorizaron su participación en el estudio firmando el término de consentimiento aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Federal de Rio Grande do Norte (protocolo N.º. 325/09).

El cuerpo de enfermería del hospital colectó 5 mL de sangre de las madres participantes luego de ayuno nocturno de, al menos, 8 horas. Estas muestras fueron colectadas en tubos de polipropileno previamente lavados con hexano, para eliminar todo vestigio de grasa y envueltos en papel aluminio, con la finalidad de evitar la degradación de la vitamina A por la acción de la luz.

La sangre obtenida fue llevada al Laboratorio de Investigación en Bioquímica de la Nutrición, localizado en el Departamento de Bioquímica del Centro de Biociencias (UFRN). Las muestras fueron centrifugadas por 10 minutos para posterior separación y remoción de las partes de suero.

Las muestras de suero fueron extraídas conforme las indicaciones de Giuliano et al ¹⁹. Como agente extractivo fue utilizado el hexano (Merck), adicionando 2 mL. Luego de cada adición de hexano, las muestras fueron agitadas durante 1 minuto, centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos y la fracción hexánica removida para otro tubo. Este proceso fue realizado por tres veces.

De esta fracción hexánica, 50% fue sometida a atmósfera de nitrógeno en baño María a 45° C. Se utilizaron 500 µL etanol (Merck), en grado de pureza para la cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE), con el objetivo de resuspender los extractos. Posteriormente, las muestras fueron agitadas durante 1 minuto. La

concentración de retinol en suero fue expresada en $\mu\text{g}/\text{dL}$. La deficiencia de vitamina A materna fue definida cuando se encontraron concentraciones en suero menores a $20 \mu\text{g}/\text{dL}$ ²⁰.

La concentración de retinol se determinó por la cromatografía líquida de alta eficiencia (CLAE) utilizando un cromatógrafo LC-10 AD Shimadzu, acoplado a un detector SPD-10 A Shimadzu UV-VIS y un integrador Chromatopac C-R6A Shimadzu. La corrida cromatográfica fue realizada en la columna Shimpack CLC-ODS(M) 4,6 mm x 25 cm.; fase móvil a metanol 100% y flujo de 1,0 mL/min. La identificación y la cuantificación del retinol en las muestras se estableció por comparación con el tiempo de retención y el área del respectivo estándar. El coeficiente de extinción específico (E 1%, 1 cm. = 1850) confirmó la concentración del estándar en etanol absoluto con un largo de onda de 325 nm²¹.

Los valores de retinol fueron expresados en promedio y desvío estándar. Para analizar las diferencias entre los promedios de los datos numéricos, se utilizó la prueba t de Student. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

La concentración promedio de retinol encontrada en el suero de las mujeres con diabetes fue de $33,1 \pm 12,5 \mu\text{g}/\text{dL}$, considerada adecuada en relación a los valores de referencia. Para las mujeres sin diabetes la concentración promedio de retinol en suero fue de $41,2 \pm 11,1 \mu\text{g}/\text{dL}$, también considerada adecuada. Hubo una diferencia significativa entre los niveles de retinol de los grupos estudiados ($p = 0,012$), de forma que las diabéticas presentaron una menor concentración de retinol sérico, cuando comparadas con las parturientes sin diabetes.

Ninguna de las parturientes sin DMG presentó un nivel de retinol menor que $20 \mu\text{g}/\text{dL}$; sin embargo, un 18,75% de las púérperas con diabetes presentó deficiencia de vitamina A.

DISCUSIÓN

Son pocos los estudios que relacionan la concentración de retinol sérico a la DMG. Basu et al²² sugieren que la reducción de los niveles de retinol en pacientes con DM ocurre debido a la disminución de la movilización de retinol del hígado o debido a una menor reserva hepática de esta vitamina. Esos autores también encontraron una diferencia significativa entre el retinol sérico de pacientes con y sin DM, además de observar que los niveles de RBP son menores en los pacientes diabéticos.

El estado nutricional de individuos con DM también puede contribuir para niveles reducidos de RBP¹⁰. Mujeres obesas presentan una mayor susceptibilidad a desarrollar DMG²³ y, consecuentemente, a presentar menores niveles

séricos de retinol. En este estudio, 43,75% de las parturientes con DMG presentaron obesidad y, aun considerando el pequeño número en valores absolutos, los resultados demuestran una mayor proporción de las obesas en relación a las no obesas. Este hecho ocurrió en apenas 7,25% de las púérperas sin diabetes.

Además del hecho de que la obesidad contribuye al aumento de la resistencia a la insulina, es importante en la gestación raciocinar en una perspectiva longitudinal, pues es en el tercer trimestre que esa resistencia insulínica se manifiesta, con reducción aproximada de 50% en la sensibilidad a la insulina, y es en ese período en el que hay mayor necesidad de esa hormona^{12,13}. En los Estados Unidos, se estima que 8% de las más de 4 millones de gestaciones estén asociadas a diabetes y, de estas, 88% tienen DMG, lo que significa que no consiguen compensar adecuadamente la resistencia a la insulina¹⁶.

Los análisis realizados en este trabajo fueron oriundos de muestras obtenidas en seguida al parto y, considerando la rápida reducción de la resistencia a la insulina, ellas reflejan el período final de la gestación.

Existen controversias con relación al efecto de la insulina en los niveles de retinol del plasma. Según Granada et al⁹, pacientes diabéticos insulino-dependientes, al usar esta hormona, tienden, a largo plazo, a controlar la enfermedad, pero esta administración no afecta el estado nutricional de vitamina A. Así, por más que los sujetos participantes del estudio hicieran uso de insulina, esta no influiría en el nivel sérico de retinol. No obstante, Lu et al²⁴ y Tuitoek et al²⁵ afirman que luego al tratamiento con insulina ocurre disponibilidad de la vitamina A presente en las reservas hepáticas. Este trabajo abordó factores hasta el momento poco estudiados con relación a la asociación de retinol e insulina, generando nuevas posibilidades de investigación de temas relacionados.

CONCLUSIÓN

Aunque el pequeño número de muestras no permita un cierre de relevancia clínica, los resultados señalan una tendencia a menor concentración de retinol sérico en las parturientes con diabetes mellitus gestacional.

Considerando que esta patología puede ser un factor de riesgo para desarrollar deficiencia de Vitamina A y culminar con mayores riesgos de morbilidad y mortalidad para el binomio madre/hijo¹⁸, es necesario un abordaje de mayor amplitud que lleve en cuenta el monitoreo de insulina, de la proteína transportadora de retinol y de la vitamina A durante la gestación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al CNPq, por el apoyo financiero y a la Maternidad Escuela Januário Cicco por el permiso para la realización del presente estudio.

Análise da concentração de retinol sérico em lactantes com e sem diabetes mellitus gestacional atendidas em uma maternidade pública da cidade de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, Brasil

RESUMO

A vitamina A é essencial em todos os estágios da vida, sendo ainda mais importante durante a gestação e a lactação. Indivíduos com diabetes *mellitus* têm sido considerados como um grupo em risco de apresentar deficiência em vários micronutrientes e compostos relacionados, como as vitaminas A, E e C. Em concordância, mulheres com diabetes *mellitus* gestacional (DMG) também têm sido apontadas como um grupo em risco de apresentar níveis reduzidos de vitamina A. Este estudo teve como objetivo comparar o retinol no soro de lactantes não diabéticas e com DMG atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco, na cidade de Natal. Foram coletadas amostras de soro de 85 parturientes, das quais 16 eram portadoras de DMG. O retinol no soro foi quantificado por meio da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os resultados foram expressos em média e desvio padrão, sendo encontrada diferença significativa entre os grupos com e sem DMG, que apresentaram concentrações de $33,1 \pm 12,5 \mu\text{g/dL}$ e $41,2 \pm 11,1 \mu\text{g/dL}$, respectivamente. Embora não se tenha elucidado o mecanismo responsável pelas alterações nos níveis de vitamina A na presença do diabetes, sabe-se que o metabolismo do retinol está fisiologicamente associado à função das células- β e, por isso, em condições de anormalidade na secreção de insulina, poderá haver alterações nas concentrações de RBP sérica e, por conseguinte, de retinol. Esses resultados alertam para a necessidade do monitoramento dessa vitamina durante a gestação, principalmente na gestação acompanhada por diabetes *mellitus*, a fim de prevenir a instalação de outras complicações patológicas para a mãe e para o seu lactente.

Palavras-chave: Vitamina A; Diabetes Gestacional; Deficiência de Vitamina A; Insulina.

Analysis of serum retinol levels in nursing mothers with and without gestational diabetes mellitus attended in a public maternity hospital in Natal, Rio Grande do Norte State, Brazil

ABSTRACT

Vitamin A is essential in all stages of life, especially during pregnancy and lactation. Individuals with diabetes *mellitus* have been considered as a group at risk of showing deficiency of micronutrients and related compounds, such as vitamins A, E, and C. Accordingly, women with gestational diabetes *mellitus* (GDM) have also been identified as a group at risk of presenting low levels of vitamin A. This study aimed to compare the serum retinol of nursing women with and without GDM attended at Maternidade Escola Januário Cicco, in Natal, Rio Grande do Norte State, Brazil. Sera from 85 mothers were collected, of which 16 had DMG. The serum retinol was quantified using high performance liquid chromatography. The results were expressed by its mean and standard deviation, which presented significant differences in concentration between groups with and without GDM: the concentration levels were of $33.1 \pm 12.5 \mu\text{g/dL}$ and $41.2 \pm 11.1 \mu\text{g/dL}$, respectively. Although the mechanism responsible for changes in the levels of vitamin A in patients with diabetes has not been elucidated, it is known that the metabolism of retinol is physiologically associated with the β -cell function; consequently, when abnormalities in insulin secretion are observed, there might be changes in the concentration of retinol-binding protein and, therefore, retinol in serum. These results show the importance of monitoring the levels of this vitamin during pregnancy, especially when the mother has diabetes *mellitus*, to prevent other pathological complications in her and the infant.

Keywords: Vitamin A; Diabetes; Gestational; Vitamin A Deficiency; Insulin.



REFERENCIAS

- 1 Yuyama LKO, Marinho HA, Alencar FH, Yonekura L, Cozzolino SMF. Vitamina A (retinol) e Carotenóides. In: Cozzolino SMF, editor. Biodisponibilidade de Nutrientes. Barueri: Manole; 2005. p. 215-57.
- 2 Gallagher ML. Vitaminas. In: Mahan LK, Escott-stump S, editores. Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia. 11. ed. São Paulo: ROCA; 2005. p.72-114.
- 3 Azais-Braesco V, Pascal G. Vitamin A in pregnancy: requirements and safety limits. Am J Clin Nutr. 2000 May;71(5 Suppl):S1325-33.
- 4 Fustinoni AM. Vitamina A no leite materno: influência do estado nutricional de lactantes e da composição do leite [dissertação]. Brasília (BR): Universidade de Brasília; 2008.
- 5 Bellovino D, Apreda M, Gagnoli S, Massimi M, Gaetani S. Vitamin A transport: in vitro models for the study of RBP secretion. Mol Aspects Med. 2003 Dec;24(6):411-20.
- 6 Padovani RM, Amaya-farfán J, Colugnati FAB, Domene SMA. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. Rev Nutr. 2006 nov-dez;19(6):741-60.

- 7 Olmedilla B, Granado F, Gil-martinez E, Blanco I, Rojas-hidalgo E. Reference values for retinol, tocopherol, and main carotenoids in serum of control and insulin-dependent diabetic Spanish subjects. *Clin Chem*. 1997 Jun;43(6 Pt 1):1066-71.
- 8 Franz MJ. Terapia clínica nutricional no diabetes *mellitus* e hipoglicemia de origem não diabética. In: Mahan LK, Escott-stump S. Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia. 11. ed. São Paulo: ROCA; 2005. p. 756-98.
- 9 Granado F, Olmedilla B, Botella F, Simal A, Blanco I. Retinol and alpha-tocopherol in serum of type 1 diabetic patients with intensive insulin therapy: a long term follow-up study. *Nutrition*. 2003 Feb;19(2):128-32.
- 10 Basu TK, Basualdo C. Vitamin A homeostasis and diabetes *mellitus*. *Nutrition*. 1997 Sep;13(9):804-6.
- 11 Montenegro Jr RM, Paccola GMGF, Foss MC, Torquato MTCG, Yano RK, Mauad Filho F, et al. Protocolo de detecção, diagnóstico e tratamento do diabetes *mellitus*, na gravidez. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2000 out-dez;33(4):520-7.
- 12 Buchanan TA, Xiang AH, Kjos SL, Watanabe R. What is gestational diabetes *mellitus*? *Diabetes Care*. 2007 Jul;30 Suppl 2:S105-11.
- 13 Buchanan TA, Xiang AH. Gestational diabetes *mellitus*. *J Clin Invest*. 2005;115(3):485-91.
- 14 Krzyzanowska K, Zemaný L, Krugluger W, Scherthaner GH, Mittermayer F, Schnack C, et al. Serum concentrations of retinol-binding protein 4 in women with and without gestational diabetes. *Diabetologia*. 2008 Jul;51(7):1115-22.
- 15 Lewandowski KC, Stojanovic N, Bienkiewicz M, Tan BK, Prelevic GM, Press M, et al. Elevated concentrations of retinol-binding protein-4 (RBP-4) in gestational diabetes *mellitus*: negative correlation with soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1). *Gynecol Endocrinol*. 2008 Jun;24(6):300-5.
- 16 Golbert A, Campos MAA. Diabetes melito tipo 1 e gestação. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2008 mar;52(2):307-14.
- 17 Ministério da saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Cadernos de Atenção Básica: carências de micronutrientes. Brasília: Ministério da Saúde; 2007.
- 18 Campos LF, Saunders C, Ramalho A, Gomes MM, Accioly E. Níveis de retinol e carotenóides séricos e intercorrências gestacionais em puérperas. *Rev Nutr*. 2008;21(6):623-32.
- 19 Giuliano AR, Neilson EM, Kelly BE, Canfield LM. Simultaneous quantitation and separation of carotenoids and retinol in human milk by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol*. 1992;213:391-9.
- 20 World Health Organization. Indicators for assessing vitamin A deficiency and their application in monitoring and evaluating intervention programmes: micronutrient series. Geneva: WHO; 1996. 66 p.
- 21 Nierenberg DW, Nann SL. A method for determining concentrations of retinol, tocopherol, and five carotenoids in human plasma and simple tissue. *Am J Clin Nutr*. 1992 Aug;56(2):417-26.
- 22 Basu TK, Tze WJ, Leichter J. Serum vitamin A and retinol-binding protein in patients with insulin-dependent diabetes *mellitus*. *Am J Clin Nutr*. 1989 Aug;50(2):329-31.
- 23 Barbour LA, Mccurdy CE, Hernandez TL, Kirwan JP, Catalano PM, Friedman JE. Cellular Mechanisms for Insulin Resistance in Normal Pregnancy and Gestational Diabetes. *Diabetes Care*. 2007 Jul;30 Suppl 2:S112-9.
- 24 Lu J, Dixon WT, Tsin AT, Basu TK. The metabolic availability of vitamin a is decreased at the onset of diabetes in bb rats. *J Nutr*. 2000 Aug;130(8):1958-62.
- 25 Tuitoek PJ, Ziari S, Tsin TC, Rajotte RV, Suh M, Basu TK. Streptozotocin-induced diabetes in rats is associated with impaired metabolic availability of vitamin A. *Br J Nutr*. 1996 Apr;75(4):615-22.

Recebido em / Recibido em / Received : 27/2/2011
Aceito em / Aceito em / Accepted : 4/7/2011