

# 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

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

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

---

## 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  $33,1 \pm 12,5$  µg/dL e  $41,2 \pm 11,1$  µg/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.

---

### Correspondência / Correspondence / Correspondencia:

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

## INTRODUÇÃO

Todos os retinoides que apresentam estrutura cíclica de  $\beta$ -ionona podem ser denominados de vitamina A. São eles: retinol (álcool), retinal ou retinaldeído (aldeído), éster de retinila (éster) e ácido retinoico (ácido)<sup>1</sup>.

A vitamina A é essencial para a visão, para o crescimento e diferenciação celular e para a imunidade<sup>2,3</sup>, além de atuar na síntese de glicoproteínas<sup>1,2</sup> e na reprodução<sup>2,3</sup>. Esta vitamina é encontrada em alimentos de origem animal na forma de vitamina pré-formada. Alguns alimentos de origem vegetal possuem em sua constituição precursores de vitamina A, os carotenoides<sup>4,5</sup>.

Os ésteres de retinila devem ser hidrolisados no intestino, liberando ácidos graxos livres e retinol. Este último é reesterificado e incorporado aos quilomícrons. Posteriormente, o retinol chega ao fígado e é armazenado nas células estreladas. Para que haja mobilização do retinol para outros tecidos, faz-se necessária a ligação deste com a proteína ligadora de retinol (RBP)<sup>1</sup>.

Durante a gestação, as necessidades de vitamina A são maiores<sup>6</sup>, pois tal vitamina é fundamental para o estabelecimento da saúde da mãe e do bebê. Vários fatores influenciam as concentrações séricas de retinol, como por exemplo: idade, sexo e sazonalidade<sup>7</sup>.

O diabetes *mellitus* (DM), grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia<sup>8</sup>, parece afetar os níveis séricos de retinol<sup>7,9,10</sup>.

A gestação implica em algumas alterações fisiológicas que interferem no metabolismo de nutrientes, dentre os quais os carboidratos, de forma que esta condição naturalmente predispõe à resistência à insulina. Tais alterações podem culminar em diabetes *mellitus* gestacional (DMG)<sup>11,12,13</sup>. O DMG é um quadro de intolerância à glicose que se inicia ou é reconhecido na gestação<sup>12</sup>. Gestantes que apresentam esta intolerância podem ser consideradas grupo de risco para deficiência de vitamina A<sup>14</sup>. Existem evidências de que ocorra secreção anormal de RBP em condições de baixa concentração de insulina<sup>15</sup>.

A resistência à insulina durante a gestação pode ser resultado de uma combinação do aumento da adiposidade materna, da ingestão calórica e dos efeitos de diminuição da sensibilidade à insulina<sup>8,12,16</sup>. Este quadro de resistência serve para disponibilizar nutrientes preferencialmente para o feto, permitindo simultaneamente o acúmulo de tecido adiposo materno<sup>16</sup>. Como após o parto ocorre uma rápida diminuição da resistência à insulina, sugere-se que a maior contribuição seja a partir dos hormônios placentários<sup>12</sup>.

Baixos níveis de vitamina A no organismo podem aumentar o risco da ocorrência de diarreias, infecções respiratórias, problemas visuais e mortalidade<sup>17</sup>. Sendo assim, a carência de vitamina A pode culminar em maiores riscos de morbimortalidade do binômio mãe/filho<sup>18</sup>. Este

estudo teve como objetivo comparar o retinol no soro de lactantes com e sem diabetes *mellitus* gestacional, atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco, em Natal, Estado do Rio Grande do Norte.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo, do tipo transversal, foi realizado na Maternidade Escola Januário Cicco, considerado hospital de referência terciária do SUS, e contou com a participação de 85 parturientes. Esta amostragem foi obtida por conveniência, no período de março a novembro de 2010, e foi dividida em dois grupos: grupo teste, composto por 16 parturientes com DMG, e grupo controle, constituído por 69 puérperas não diabéticas. Foram excluídos do estudo: as mulheres com patologias associadas (neoplasias; doenças do trato gastrointestinal, hepáticas e infecciosas; sífilis; HIV positivo); conceito com má-formação; mulheres que fizeram uso de suplementos vitamínicos contendo vitamina A durante a gestação e as que, no caso das diabéticas, não fizessem uso de insulina. Essas mães também não poderiam ter parido antes de 12 h do momento da coleta do sangue. As mulheres diagnosticadas como diabéticas foram submetidas à dieta padrão para diabetes, pela Divisão de Nutrição e Dietética da maternidade.

Os dados do pré-natal e informações sobre o parto foram coletados no prontuário de cada parturiente. As mães autorizaram sua participação no estudo por meio da assinatura de termo de consentimento aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (protocolo n° 325/09).

O corpo de enfermagem do hospital coletou 5 mL de sangue das mães participantes após jejum noturno de pelo menos 8 h. Estas amostras foram coletadas em tubos de polipropileno previamente lavados com hexano, para eliminar qualquer vestígio de gordura, e envoltos com papel alumínio, a fim de evitar a degradação da vitamina A pela ação da luz.

O sangue obtido foi levado ao Laboratório de Pesquisa em Bioquímica da Nutrição, localizado no Departamento de Bioquímica do Centro de Biociências (UFRN). As amostras foram centrifugadas por 10 min para posterior separação e remoção das alíquotas de soro.

As amostras de soro foram extraídas segundo Giuliano et al<sup>19</sup>. Foi utilizado como reagente extrativo o hexano (Merck), adicionando 2 mL. Após cada adição de hexano, as amostras foram agitadas durante 1 min, centrifugadas a 4000 rpm por 10 mins e a camada hexânica removida para outro tubo. Este processo foi realizado por três vezes.

Desta camada hexânica, 50% foi submetida a atmosfera de nitrogênio em banho-maria a 45° C. Utilizaram-se 500  $\mu$ L etanol (Merck), em grau de pureza para a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com o intuito de ressuspender os extratos. Posteriormente, tais amostras foram agitadas por 1 min. A concentração de retinol no soro foi expressa em  $\mu$ g/dL. A deficiência de

vitamina A materna foi definida quando encontradas concentrações no soro menores do que 20 µg/dL<sup>20</sup>.

A concentração de retinol foi determinada pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando um cromatógrafo LC-10 AD Shimadzu, acoplado a um detector SPD-10 A Shimadzu UV-VIS e um integrador Chromatopac C-R6A Shimadzu. A corrida cromatográfica foi realizada na coluna Shimpack CLC-ODS(M) 4,6 mm x 25 cm; fase móvel metanol 100% e fluxo de 1,0 mL/min. A identificação e quantificação do retinol nas amostras foram estabelecidas por comparação com o tempo de retenção e a área do respectivo padrão. O coeficiente de extinção específico (E 1%, 1 cm = 1850) confirmou a concentração do padrão em etanol absoluto em comprimento de onda de 325 nm<sup>21</sup>.

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

## RESULTADOS

A concentração média de retinol encontrada no soro das mulheres com diabetes foi de  $33,1 \pm 12,5$  µg/dL, considerada adequada de acordo com os valores de referência. Para as mulheres sem diabetes, a concentração média de retinol no soro foi de  $41,2 \pm 11,1$  µg/dL, também considerada adequada. Houve diferença significativa entre os níveis de retinol dos grupos estudados ( $p = 0,012$ ), de forma que as diabéticas apresentaram uma menor concentração de retinol sérico, quando comparadas com as parturientes sem diabetes.

Nenhuma das parturientes sem DMG apresentou nível de retinol menor que 20 µg/dL; entretanto, 18,75% das puérperas com diabetes apresentaram deficiência de vitamina A.

## DISCUSSÃO

São poucos os estudos que relacionam a concentração de retinol sérico com DMG. Basu et al<sup>22</sup> sugerem que a redução dos níveis de retinol em pacientes com DM ocorre devido à diminuição da mobilização do retinol do fígado ou, ainda, devido a uma menor reserva hepática desta vitamina. Esses autores também encontraram diferença significativa entre o retinol sérico de pacientes com e sem DM, além de observarem que os níveis de RBP são menores nos pacientes diabéticos.

O estado nutricional de indivíduos com DM também pode contribuir para níveis reduzidos de RBP<sup>10</sup>. Mulheres obesas apresentam maior suscetibilidade para o desenvolvimento de DMG<sup>23</sup> e, conseqüentemente, para apresentar menores níveis séricos de retinol. Neste estudo, 43,75% das parturientes com DMG apresentaram

obesidade e, mesmo considerando o pequeno número em valores absolutos, os resultados demonstram uma maior proporção das obesas em relação às não obesas. Tal fato ocorreu apenas em 7,25% das puérperas sem diabetes.

Além do fato da obesidade contribuir para o aumento da resistência à insulina, na gestação é importante raciocinar na perspectiva longitudinal, pois é no terceiro trimestre que essa resistência insulínica se manifesta, com redução aproximada de 50% na sensibilidade à insulina, e é nesse período que há maior necessidade desse hormônio<sup>12,13</sup>. Nos Estados Unidos, estima-se que 8% das mais de 4 milhões de gestações estejam associadas ao diabetes e, destas, 88% têm DMG, o que significa que não conseguem compensar adequadamente a resistência à insulina<sup>16</sup>.

As análises realizadas nesse trabalho foram oriundas de amostras obtidas logo após o parto e, mesmo considerando a rápida redução da resistência à insulina, elas refletem o período final da gestação.

Existem controvérsias quanto ao efeito da insulina nos níveis de retinol do plasma. Segundo Granado et al<sup>9</sup>, pacientes diabéticos insulínica dependentes, ao fazerem uso deste hormônio, a longo prazo tendem a controlar a doença, mas esta administração não afeta o estado nutricional em vitamina A. Dessa forma, por mais que os sujeitos participantes do estudo fizessem uso de insulina, esta não influenciaria no nível sérico de retinol. Entretanto, Lu et al<sup>24</sup> e Tuitoek et al<sup>25</sup> afirmam que, após o tratamento com insulina, ocorre a disponibilização da vitamina A presente nos estoques hepáticos. Esse trabalho abordou fatores até então pouco estudados com relação à associação de retinol e insulina, gerando novas possibilidades de investigação de temas relacionados.

## CONCLUSÃO

Embora o pequeno número de amostras não permita um fechamento de relevância clínica, os resultados apontam uma tendência para menor concentração de retinol sérico nas parturientes com diabetes mellitus gestacional.

Considerando que esta patologia pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de deficiência de Vitamina A e culminar com maiores riscos de morbimortalidade do binômio mãe/filho<sup>18</sup>, faz-se necessária uma abordagem com maior amplitude, levando-se em conta o monitoramento da insulina, da proteína transportadora de retinol e da vitamina A durante a gestação.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq, pelo apoio financeiro e à Maternidade Escola Januário Cicco pela permissão para a realização do presente estudo.

## 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  $\beta$ -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.

## 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

### RESUMEN

La vitamina A es esencial en todos los estadios 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 en 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 Maternidade Escola 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- $\beta$  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.



### REFERÊNCIAS

- 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, Gragnoli 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 / Received / Recibido en: 27/2/2011  
Aceito em / Accepted / Aceito en: 4/7/2011