

Vitamin E in human serum and colostrum under fasting and postprandial conditions

Vitamina E no soro e colostro humanos em condições de jejum e pós-prandial

Roberto Dimenstein¹, Ana C. P. Medeiros², Lahyana R. F. Cunha³,
Katherine F. Araújo⁴, Juliana C. O. Dantas⁵, Thamizy M. S. Macedo⁵, Tânia L. M. Stamford⁶

Resumo

Objetivo: Avaliar a concentração de alfa-tocoferol no soro e colostro maternos, seja em condições de jejum ou pós-prandial.

Métodos: Trinta parturientes saudáveis atendidas em uma maternidade pública foram recrutadas para o estudo, e amostras de sangue, colostro em jejum e colostro pós-prandial foram coletadas até 12 horas pós-parto.

Resultados: A concentração sérica de alfa-tocoferol foi de $1.939,8 \pm 766,0$ $\mu\text{g/dL}$. O alfa-tocoferol no colostro em jejum, $1.603,4 \pm 911,0$ $\mu\text{g/dL}$, e após a refeição, $1.515,0 \pm 890,9$ $\mu\text{g/dL}$, não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Houve correlação entre o alfa-tocoferol do colostro na condição de jejum e no pós-prandial ($p < 0,05$), mas não entre o soro e o colostro.

Conclusão: A falta de correlação entre o alfa-tocoferol no plasma e no colostro e a correlação entre o alfa-tocoferol no colostro em jejum e no pós-prandial reforçam a hipótese de um mecanismo de controle na passagem desse micronutriente, independente do aporte dietético.

J Pediatr (Rio J). 2010;86(4):345-348: Alfa-tocoferol, soro, colostro.

Abstract

Objective: To evaluate alpha-tocopherol concentrations in maternal serum and colostrum under fasting and postprandial conditions.

Methods: Thirty healthy childbearing women were recruited in a public maternity hospital, and samples of blood, fasting colostrum, and postprandial colostrum were collected from them up to 12 hours after delivery.

Results: The serum alpha-tocopherol concentration was $1,939.8 \pm 766.0$ $\mu\text{g/dL}$. Alpha-tocopherol levels in fasting colostrum ($1,603.4 \pm 911.0$ $\mu\text{g/dL}$) and in postprandial colostrum ($1,515.0 \pm 890.9$ $\mu\text{g/dL}$) did not demonstrate a statistically significant difference ($p > 0.05$). There was correlation between alpha-tocopherol levels in fasting and postprandial colostrum ($p < 0.05$), but not between serum and colostrum.

Conclusions: The lack of correlation between alpha-tocopherol levels in plasma and in colostrum, and the correlation between alpha-tocopherol concentrations in fasting and postprandial colostrum support the existence of a mechanism that controls the transfer of this nutrient, regardless of dietary intake.

J Pediatr (Rio J). 2010;86(4):345-348: Alpha-tocopherol, serum, colostrum.

Introdução

A vitamina E é um termo genérico utilizado para designar oito compostos naturais, sendo o alfa-tocoferol o que possui maior atividade biológica¹. Estudos epidemiológicos têm indicado um provável envolvimento da deficiência de vitamina E na patogênese da aterosclerose, diabetes e alguns tipos de câncer, bem como na modulação da inflamação e resposta imune².

Durante a gestação, a transferência placentária do alfa-tocoferol é limitada, e o feto apresenta baixa concentração circulante dessa vitamina. Após o parto, o leite é de extrema importância para o abastecimento do alfa-tocoferol ao recém-nascido, pois é essencial na defesa contra a toxicidade do oxigênio e auxilia a estimular o desenvolvimento de seu sistema imunológico¹.

1. Doutor, Bioquímica. Professor adjunto IV, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.
2. Farmacêutica. Mestranda, Curso de Pós-Graduação, Bioquímica, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica, UFRN, Natal, RN.
3. Bióloga, mestranda, Curso de Pós-Graduação, Bioquímica, Centro de Biociências, Departamento de Bioquímica, UFRN, Natal, RN.
4. Nutricionista, Bolsista de apoio técnico, Laboratório de Bioquímica da Nutrição, UFRN, Natal, RN.
5. Acadêmica, Nutrição, UFRN, Natal, RN.
6. Doutora, Nutrição. Professora associada, Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE.

Este trabalho foi desenvolvido no Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN.

Apoio financeiro: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) edital/Chamada: Pós-doutorado Sênior. Processo 151899/2008-8.

Não foram declarados conflitos de interesse associados à publicação deste artigo.

Como citar este artigo: Dimenstein R, Medeiros AC, Cunha LR, Araújo KF, Dantas JC, Macedo TM, et al. Vitamin E in human serum and colostrum under fasting and postprandial conditions. *J Pediatr (Rio J)*. 2010;86(4):345-348.

Artigo submetido em 23.07.09, aceito em 11.12.09.

doi:10.2223/JPED.1971

Crianças recém-nascidas, especialmente as prematuras, podem ser vulneráveis a desenvolver sintomas clínicos tais como anemia hemolítica, hemorragia intraventricular e displasia broncopulmonar em consequência da deficiência do alfa-tocoferol³. Uma boa oferta dessa vitamina para os neonatos é crítica, especialmente para aqueles de baixa renda ou cuja amamentação não esteja garantida⁴.

O colostro possui uma alta concentração de alfa-tocoferol, atingindo valores seis a sete vezes maiores quando comparado ao leite maduro⁵; entretanto, o mecanismo de transferência do alfa-tocoferol para a glândula mamária não está completamente entendido.

Existem evidências de que a secreção diária de alfa-tocoferol é limitada em quantidade e independente do volume e teor de gordura do leite produzido⁶. Assim, devido à importância da vitamina E para o desenvolvimento do lactente, nosso objetivo foi investigar a relação entre o alfa-tocoferol do soro e o presente no colostro, bem como avaliar a influência do momento da refeição (jejum e pós-prandial) sobre a concentração dessa vitamina no colostro.

Métodos

O estudo foi do tipo transversal, e a amostragem foi obtida por conveniência, composta por parturientes voluntárias, atendidas na Maternidade Escola Januário Cicco, Natal (RN). O tamanho da amostra foi calculado usando o *software* Statcalc (Epi-Info, versão 3.5.1), considerando uma média de 250 partos por mês, e para um nível de confiança de 95% (IC95%), estimou-se a amostra mínima de 30 sujeitos como representativa da maternidade. O estudo obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal (RN) (Protocolo nº 284/09).

Foram incluídas no estudo, apenas mulheres sem patologias – como diabetes, neoplasias, doenças do trato gastrointestinal e hepáticas, cardiopatias, doenças infecciosas, sífilis e vírus da imunodeficiência humana (*human immunodeficiency virus* – HIV) positivo –, que tiveram partos a termo e conceito único sem má-formação. As mães informaram não ter feito uso de suplementos vitamínicos contendo vitamina E durante a gestação.

As primeiras amostras de sangue foram coletadas em jejum, sempre no período da manhã, seguindo-se da coleta de 2 mL de colostro também em jejum. Nova coleta de colostro ocorreu 3 horas após o desjejum. Dessa forma, foram realizadas duas coletas de colostro por dia de cada paciente. Essas coletas foram realizadas até 12 horas pós-parto. O colostro foi obtido por expressão manual de uma única mama, no início e no final da mamada, para evitar flutuações no teor de gordura.

Foram coletados 3 mL de sangue em jejum e armazenados em tubo de polipropileno protegido da luz. As amostras de leite e sangue foram transportadas sob refrigeração ao laboratório de pesquisa em Bioquímica da Nutrição, Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, UFRN, Natal. As alíquotas de sangue foram centrifugadas por 10 minutos (500 xg) para separação e remoção do

soro. O leite e o soro foram armazenados a -20 °C até o momento das análises.

As amostras de leite e soro foram extraídas segundo adaptação do método de Ortega et al.⁷. Para o colostro e o soro, foram utilizadas alíquotas diferenciadas de 2 e 3 mL da fase hexânica, respectivamente. Os extratos foram redissolvidos em 500 µL de etanol (Merck, São Paulo, Brasil), em grau de pureza para cromatografia líquida de alta eficiência, e aplicados 20 µL no cromatógrafo de marca Shimadzu, com bomba LC-20 AT Shimadzu, acoplado a um Detector SPD-20A Shimadzu UV-VIS e Coluna Shim-Pack CLC-ODS (M) 4,6 mm x 15 cm. Os dados foram processados pelo programa LC Solution (Shimadzu Corporation). Para o colostro, a fase móvel utilizada foi metanol: água (97:3), em sistema isocrático com fluxo de 1,5 mL/minuto e comprimento de onda de 292 nm. Para o soro, a fase móvel foi metanol 100%.

A identificação e quantificação do alfa-tocoferol nas amostras foram estabelecidas por comparação da respectiva área do pico obtido no cromatograma com a área do padrão de alfa-tocoferol (SIGMA, St. Louis, EUA). A concentração do padrão foi confirmada pelo coeficiente de extinção específico para alfa-tocoferol (E 1%, 1 cm = 75,8, a 292 nm) em etanol absoluto (Vetec)⁸.

A concentração de alfa-tocoferol no soro foi expressa em µg/dL. Para alfa-tocoferol no soro: < 499,6 (nível deficiente), 499,6 a 697,7 (nível baixo) e > 697,7 (nível aceitável)⁹.

Análise estatística

Os valores de alfa-tocoferol foram expressos em média e desvio padrão. Para testar as diferenças entre as médias dos dados numéricos paramétricos, foi utilizado o teste *t* de Student em amostras pareadas. As diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. A associação entre variáveis contínuas (concentração de nutrientes no leite e soro) foi determinada pela análise de correlação de Pearson.

Resultados

Foram coletadas amostras de 30 mulheres e divididas em três grupos: o soro, o colostro em jejum e o colostro pós-prandial.

A concentração média de alfa-tocoferol encontrada no soro das mulheres foi de 1.939,8±766,0 µg/dL, considerada adequada de acordo com os valores de referência. O alfa-tocoferol no colostro em jejum, 1.603,4±911,0 µg/dL, e após a refeição, 1.515,0±890,9 µg/dL, não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p = 0,55$).

Nenhuma correlação foi observada entre o alfa-tocoferol no plasma e no colostro, seja na condição de jejum ou pós-prandial. Entretanto, foi observada uma forte correlação entre o alfa-tocoferol do colostro em jejum e o pós-prandial ($p = 0,001$; $r = 0,596$). Essa situação foi corroborada quando simulamos a correlação entre o grupo de parturientes, ao dividi-las em função da concentração de alfa-tocoferol presente no soro. Quatorze mulheres possuíam concentração sérica de alfa-tocoferol menor que 2.000 µg/dL, e 16

Tabela 1 - Correlação entre o alfa-tocoferol do colostro em jejum e o pós-prandial nos grupos em condições de menor (< 2.000 µg/dL) e maior (> 2.000 µg/dL) concentração média de alfa-tocoferol no soro

Alfa-tocoferol (µg/dL)	Soro	p	r
Grupo < 2.000 µg/dL (n = 14)			
Colostro em jejum <i>versus</i> colostro pós-prandial	1.283,9±448,0	0,017	0,621
Grupo > 2.000 µg/dL (n = 16)			
Colostro em jejum <i>versus</i> colostro pós-prandial	2.513,7±455,8*	0,029	0,544

* Diferença estatisticamente significativa – teste *t* de Student para amostras independentes ($p < 0,0001$).

mulheres, maior que 2.000 µg/dL (Tabela 1). Foi observado que a correlação entre o alfa-tocoferol do colostro em jejum e o pós-prandial era mais forte ($p = 0,017$, $r = 0,621$) no grupo com menor alfa-tocoferol no soro do que no grupo de maior concentração ($p = 0,029$, $r = 0,544$).

Discussão

A idade média das participantes foi de 24 anos, onde 46,3% tiveram parto cesárea, 53,6% tiveram partos normais, e 66,6% possuíam um ou dois filhos.

Os níveis de alfa-tocoferol no soro indicam um bom estado nutricional em vitamina E, refletindo uma alimentação apropriada durante a gestação. Quando a concentração de alfa-tocoferol foi comparada com a de outros estudos, apresentaram médias (1.938,1±766,6 µg/dL) superiores às encontradas em mulheres americanas (1.128,4 µg/dL)¹⁰ e de Cuba (1.029,4 µg/dL)¹¹. Uma explicação para os níveis mais altos de alfa-tocoferol sérico encontrado em nosso estudo pode ser devido ao fato de que a dieta americana contém uma maior proporção de gama tocoferol em relação ao alfa-tocoferol¹².

No colostro, a concentração de alfa-tocoferol no leite do grupo em jejum (1.603,4±911,0 µg/dL) foi semelhante ao encontrado em Cuba¹³ e inferior ao encontrado na Alemanha¹⁴.

Foi observado que o alfa-tocoferol do colostro na condição pós-prandial não foi significativamente diferente da condição em jejum, ou seja, não ocorreu aumento nos níveis de alfa-tocoferol após o desjejum, indicando que a passagem dessa vitamina é limitada⁷, ou a quantidade presente na dieta foi insuficiente para provocar o aumento.

A ausência de correlação entre o alfa-tocoferol do soro e o do colostro, seja em jejum ou no pós-prandial, exclui a existência de mecanismos de transferência passiva durante a passagem da vitamina E da glândula mamária para o leite. Provavelmente, devem existir mecanismos de transporte distintos dessa vitamina para a glândula mamária que independem da concentração plasmática¹⁵. De fato, a redução de quase 10 vezes na concentração do alfa-tocoferol presente no colostro, em comparação aos

níveis presentes no leite de transição e maduro, evidenciam outros mecanismos de transferência¹.

A correlação significativa entre o alfa-tocoferol do colostro em jejum e o pós-prandial demonstra que, uma vez ultrapassada a barreira de transporte da glândula mamária e sua consequente secreção láctea, não existirá restrição para essa vitamina nos diferentes momentos da alimentação materna. A correlação mais forte encontrada no grupo com menores níveis de alfa-tocoferol séricos são compatíveis com o achado de Jensen et al.⁶, que demonstrou, em vacas, que a secreção do alfa-tocoferol do sangue para o leite segue a cinética de Michaelis-Menten para transporte ativo através de membranas. Assim, diante de níveis séricos de alfa-tocoferol mais baixos, os receptores para lipoproteínas não estão totalmente saturados, e todo alfa-tocoferol que chega aos receptores passa ao leite.

As evidências encontradas em condição pós-prandial apontam para uma limitação no transporte de alfa-tocoferol do soro materno para o colostro, levantando a questão da validade de se suplementar a mãe nesse momento pós-parto como estratégia para melhorar o estado nutricional do recém-nascido.

Agradecimentos

À Maternidade Escola Januário Cicco, por permitir a coleta de amostras biológicas.

Os dados deste artigo fazem parte do projeto de Pós-Doutorado do primeiro autor.

Apoio financeiro: CNPq edital/Chamada: Pós-Doutorado Sênior - Processo 151899/2008-8.

Referências

1. Debier C, Larondelle Y. *Vitamins A and E: metabolism, roles and transfer to offspring*. Br J Nutr. 2005;93:153-74.
2. Azzi A, Ricciarelli R, Zingg JM. *Non-antioxidant molecular functions of alpha-tocopherol (vitamin E)*. FEBS Lett. 2002;519:8-10.
3. Romeu-Nadal M, Morera-Pons S, Castellote AI, López-Sabater MC. *Determination of gamma- and alpha-tocopherols in human milk by a direct high-performance liquid chromatographic method with UV-vis detection and comparison with evaporative light scattering detection*. J Chromatogr A. 2006;1114:132-7.

4. Debier C, Pomeroy PP, Baret PV, Mignolet E, Larondelle Y. Vitamin E status and the dynamics of its transfer between mother and pup during lactation in grey seals (*Halichoerus grypus*). *Can J Zool.* 2002;80:727-37.
5. Kelly FJ, Rodgers W, Handel J, Smith S, Hall MA. Time course of vitamin E repletion in the premature infant. *Br J Nutr.* 1990;63:631-8.
6. Jensen SK, Johannsen AK, Hermansen JE. Quantitative secretion and maximal secretion capacity of retinol, beta-carotene and alpha-tocopherol into cows' milk. *J Dairy Res.* 1999;66:511-22.
7. 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.
8. 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.
9. Morrissey PA, Sheehy PJ. Optimal nutrition: vitamin E. *Proc Nutr Soc.* 1999;58:459-68.
10. Ascherio A, Stampfer M, Colditz GA, Rimm EB, Litin L, Willett WC. Correlations of vitamin A in E intakes with the plasma concentrations of carotenoids and tocopherols among American men and women. *J Nutr.* 1992;122:1792-801.
11. Rodríguez GP, Alonso DP, Sintés GS, Matos CM, Hernandez AC, Enríques YR, et al. Vitaminas antioxidantes en un grupo de embarazadas y recién nacidos durante un año de estudio. *Rev Cubana Aliment Nutr.* 2002;16:85-94.
12. Traber MG. Vitamin E. In *Present Knowledge in Nutrition*. 9th edition. Edited by: Bowman BA, Russell RM. Washington, D.C.: ILSI Press; 2007. p. 211-19.
13. Macias C, Schweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoids, vitamin A, alpha-tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab.* 2001;45:82-5.
14. Schweigert FJ, Bathe K, Chen F, Büscher U, Dudenhausen JW. Effect of the stage of lactation in humans on carotenoid levels in milk, blood plasma and plasma lipoprotein fractions. *Eur J Nutr.* 2004;43:39-44.
15. 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.

Correspondência:

Roberto Dimenstein
Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências,
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Av. Senador Salgado Filho, 3000
CEP 59072-970 - Natal, RN
Tel.: (84) 3215.3416, ramal 205
Fax: (84) 3211.9208
E-mail: robertod@ufrnet.br