

UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA DE BOTUCATU

*Vitamina E no plasma de recém-nascidos de pré-  
termo de muito baixo peso no primeiro mês de  
vida. Relação com a vitamina E recebida.*

Marina Wey

Botucatu - SP  
2008

Marina Wey

*Vitamina E no plasma de recém-nascidos de pré-  
termo de muito baixo peso no primeiro mês de  
vida. Relação com a vitamina E recebida.*

*Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Pediatria para obtenção do título de Doutor.*

Faculdade de Medicina de Botucatu  
Universidade Estadual Paulista

**Botucatu - SP  
2008**

**Marina Wey**

*Vitamina E no plasma de recém-nascidos de pré-  
termo de muito baixo peso no primeiro mês de  
vida. Relação com a vitamina E recebida*

*Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Pediatria para obtenção do título de Doutor.*

**Orientadora: Profa. Dra. Cleide Enoir Petean Trindade**

**Faculdade de Medicina de Botucatu  
Universidade Estadual Paulista**

**Botucatu - SP  
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO  
DA INFORMAÇÃO  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
*Bibliotecária responsável: Selma Maria de Jesus*

Wey, Marina.

Vitamina E no plasma de recém-nascidos de pré-termo de muito baixo peso no primeiro mês de vida. Relação com a vitamina E recebida / Marina Wey. – Botucatu : [s.n.], 2008.

Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2008.

Orientadora: Cleide Enoir Petean Trindade

Assunto CAPES: 40101088

1. Recém-nascidos - Nutrição    2. Recém nascidos - Peso baixo  
CDD 618.39

Palavras chave: Lipídios; Muito baixo peso ; Pré-termo; Prematuro;  
Vitamina E; Recém-nascido; Tocoferol

O TRABALHO CIENTÍFICO ENSINA AO HOMEM  
O AMOR E O RESPEITO PELA VERDADE,  
NÃO COMO DIFÍCIL E CANSATIVA TAREFA,  
MAS COMO FORMA DE TRADUZIR O RESPEITO AO PRÓXIMO.

(OTTO WEY NETTO)

**Aos meus pais,**

**Otto e Isabel,**

pelo exemplo de vida que deram, sempre nos ensinando a superar as dificuldades com serenidade, ética e sobretudo fraternidade.

Ao

**Gunther,**

pelo seu apoio, carinho e principalmente pela sua paciência ajudando-me a superar todas minhas angústias, sempre a meu lado.

À ilustre e mestra, professora e doutora

*Cleide Enoir Petean Trindade*

protagonista de uma vida brilhante e competente que, no final de grandiosa jornada, sobra-lhe tempo e disposição para garimpar novos desafios em favor das ciências médicas.

## AGRADECIMENTOS

À minha irmã, Marta Wey Vieira, pelo seu carinho e apoio nos momentos mais angustiantes, sempre com doçura e serenidade, incentivou-me e apoiou-me, tanto no campo pessoal como profissional.

Aos meus irmãos, João Carlos Wey e Afonso Celso Wey, minhas cunhadas Márcia P. Wey e Cristina Pássaro, e meus sobrinhos por todo apoio e entusiasmo.

Às minhas queridas tias Rudecinda Crespo, Lenita F Sampaio e Martina C Barreiros, pelo exemplo de pessoas e profissionais, cada uma em sua área, sempre atualizadas fizeram desabrochar em mim o interesse científico.

Ao meu primo Rodrigo Crespo Barreiros, pelo apoio e incentivo dado durante a realização deste trabalho.

Ao meu primo Luiz, pelas observações sempre sensatas e pertinentes.

À grande amiga e colega Celeste Gómez Sardinha, que sempre esteve do meu lado, nos momentos mais difíceis nunca deixando de dar uma palavra de conforto e estímulo.

Ao Prof. Dr. Antero F. M. Miranda, por sua colaboração na coordenação das pesquisas com o HPLC.

À grande amiga e colaboradora desta pesquisa, Sra. Neusa Maria Ferreira, auxiliar acadêmica do Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da UNESP, por sua participação nas pesquisas com HPLC desta tese.

A Cilmary Kurokawa por sua enorme colaboração nas pesquisas com o HPLC através do Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da UNESP.

À colega Grasiela Bossolan, por sua preciosa colaboração na metodologia do HPLC e nas coletas das amostras de sangue em Botucatu.

Ao colega Antonio Rugolo Junior, por sua participação nesta pesquisa, junto com os demais colegas do berçário e UTI neonatal do Hospital das Clínicas de Botucatu.

Ao Prof. Dr. Neil Ferreira Novo por sua assessoria nas análises estatísticas referentes á vitamina E deste trabalho.

Ao professor e colega José Eduardo G. B.de Miranda, pelo apoio e incentivo dado durante toda minha vida profissional e em especial nesta jornada.

Aos professores de Pediatria da Disciplina de Pediatria da Pontifícia Universidade Católica de Sorocaba - por todo apoio e incentivo.

Aos colegas plantonistas e residentes da Disciplina de Pediatria da Faculdade de Medicina de Sorocaba – PUCSP e da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, pela preciosa colaboração nesta pesquisa.

A todos os funcionários do Centro Obstétrico e Berçário do Hospital Regional de Sorocaba e Hospital das Clínicas de Botucatu, por seu apoio nas coletas de sangues das mães e dos recém-nascidos.

Aos funcionários do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu (Adriana, Maria do Carmo, Fabiano e Paulo), grandes e carinhosos amigos conquistados nessa longa jornada em Botucatu. Muito obrigada pelo carinho de vocês.

Aos funcionários da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, pelo carinho e colaboração durante toda a pós graduação em Botucatu.

Ao Dr. Edson Shitara, coordenador do Laboratório do Hospital da Unimed de Sorocaba e Dr. Basílio Cassar, diretor clínico do Hospital da Unimed de Sorocaba, durante o período de coleta do material, por permitirem que montasse meu “QG” nesse hospital e desse modo pudesse armazenar com segurança todas as amostras, antes de transferir-las para Botucatu.

Aos funcionários do laboratório do Hospital da Unimed de Sorocaba, que aceitaram dividir comigo seu espaço durante a realização deste trabalho.

Aos colegas plantonistas das UTI, do CHS e da Unimed, que compreenderam minha ansiedade e auxiliaram nas coberturas dos plantões.

À Ana Elisa Molleta por seu trabalho na formatação desta tese.

Aos colegas e funcionários do Centro de Saúde da Vila Santana, por seu apoio durante o transcorrer desta pesquisa.

Às amigas, Edna, Regiane e Penha, pela dedicação e carinho durante todos esses anos de trabalho conjunto.

Aos pais dos recém-nascidos, por sua compreensão, autorizando a participação de seus filhos nesta pesquisa.

A todos os recém-nascidos que participaram do projeto.

A Deus, nosso grande Pai.

## ABREVIATURAS E SIGLAS

$\bar{X}$	média
%	porcentagem
$\alpha$ -T	alfa-tocoferol
$\alpha$ -TTP	proteína transportadora de alfa-tocoferol
$\beta$ -T	beta-tocoferol
$\gamma$ -T	delta-tocoferol
$\delta$ -T	gama-tocoferol
$\mu$ l	microlitro
$\mu$ m	micrômetro
$\mu$ mol	micromol
“g”	giros
AIG	adequado para a idade gestacional
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUFS	escala de unidade integral de absorção
C	carbono
cal	calorias
CH <sub>3</sub>	radical metil
CHOL	colesterol
CHS	Conjunto Hospitalar de Sorocaba
cm	centímetro
CPAP	pressão positiva contínua em vias aéreas
d	dia
d,l alfatocoferol	dextrógiro, levógiro alfatocoferol
DBP	displasia broncopulmonar
dl	decilitro

<b>DNA</b>	ácido desoxirribonucléico
<b>dv</b>	dias de vida
<b>FCMS</b>	Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba
<b>FMB</b>	Faculdade de Medicina de Botucatu
<b>g</b>	grama
<b>GIG</b>	grande para a idade gestacional
<b>H</b>	hidrogênio
<b>HC</b>	Hospital das Clínicas
<b>HDL</b>	lipoproteína de alta densidade
<b>HPIV</b>	hemorragia peri-intraventricular
<b>HPLC</b>	cromatografia líquida de alta resolução
<b>Kcal</b>	quilocaloria
<b>kg</b>	quilograma
<b>l</b>	litro
<b>LDL</b>	lipoproteína de baixa densidade
<b>MBP</b>	muito baixo peso
<b>Md</b>	mediana
<b>mg</b>	miligrama
<b>Min</b>	valor mínimo
<b>ml</b>	mililitro
<b>mm</b>	milímetro
<b>mmol</b>	milimol
<b>N</b>	número amostral
<b>nm</b>	nanômetro
<b>NPP</b>	nutrição parenteral prolongada
<b>O<sub>2</sub></b>	oxigênio
<b>°C</b>	graus Celsius

<b>OH•</b>	radical hidroxidrila
<b>P</b>	nível de significância
<b>PC</b>	perímetro cefálico
<b>PIG</b>	pequeno para a idade gestacional
<b>PT-VLBW</b>	prematureo muito baixo peso
<b>PUCSP</b>	Pontifícia Universidade Católica de São Paulo
<b>PUFA</b>	ácidos graxos poliinsaturados
<b>Q<sub>1</sub></b>	1º quartil
<b>Q<sub>3</sub></b>	3º quartil
<b>RN</b>	recém-nascido
<b>ROP</b>	retinopatia da prematuridade
<b>ROS</b>	substâncias reativas de oxigênio
<b>rs</b>	coeficiente de correlação de spearman
<b>S</b>	desvio padrão
<b>TCL</b>	triglicérides de cadeia longa
<b>TCM</b>	triglicérides de cadeia média
<b>TGL</b>	triglicérides
<b>UI</b>	Unidade Internacional
<b>UNESP</b>	Universidade Estadual Paulista
<b>UTI</b>	Unidade de Terapia Intensiva
<b>Vit E</b>	Vitamina E
<b>VLDL</b>	lipoproteína de muito baixa densidade

## FIGURAS, QUADROS E TABELAS

<b>Figura 1</b>	Fórmula Orgânica da Vitamina E .....	20
<b>Figura 2</b>	Peroxidação da Vitamina E .....	20
<b>Figura 3</b>	Comparação entre as medianas de vitamina E plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ) em mães e em cordão de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso.....	55
<b>Figura 4</b>	Comparação entre as medianas de vitamina E plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ) no cordão, com 14 e 28 dias de vida em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso. ....	56
<b>Figura 5</b>	Comparação entre as medianas da vitamina E total (parenteral e enteral) ( $\text{mg/kg/d}$ ) recebida pelos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso no período de 1 a 14 dias e de 15 a 28 dias de vida .....	58
<b>Quadro 1</b>	Composição dos leites utilizados (por 100 ml).....	43
<b>Quadro 2</b>	Média de recuperação de acetato de tocoferol nas amostras analisadas.....	46
<b>Tabela 1</b>	Características gerais. Mediana ( $M_d$ ), 1º ( $Q_1$ ) e 3º ( $Q_3$ ) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão ( $s$ ) da amostra estudada.....	53
<b>Tabela 2</b>	Análise da vitamina E plasmática em $\mu\text{mol/l}$ . Mediana ( $M_d$ ), 1º ( $Q_1$ ) e 3º ( $Q_3$ ) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão ( $S$ ), das mães e do cordão.....	55

<b>Tabela 3</b>	Análise da vitamina E plasmática em $\mu\text{mol/l}$ . Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S), do cordão, 14º e 28º dias de vida.....	56
<b>Tabela 4</b>	Vitamina E total (parenteral e enteral) recebida, parenteral recebida e enteral recebida, em mg/kg/dia. Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S), de um a catorze dias e de quinze a vinte e oito dias.....	58
<b>Tabela 5</b>	Vitamina E total (parenteral e enteral) recebida, parenteral recebida, e enteral recebida em mg/kg/d. Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S), por períodos. ....	60
<b>Tabela 6</b>	Correlação entre as quantidades de vitamina E recebidas (mg/kg/dia) no período de 1 a 14 dias e no período de 15 a 28 dias com a vitamina E plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ) no 14º e 28º dia (valor de rs e nível de significância).....	61
<b>Tabela 7</b>	– Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) das frações lipídicas em mmol/l no cordão, 14º e 28º dias de vida. ....	62
<b>Tabela 8</b>	Comparação das frações lipídicas em relação ao tempo nos momentos estudados: cordão, 14º e 28º dias de vida. Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) da vitamina E em $\mu\text{mol/l}$ e a fração lipídica em mmol/l. ....	63

<b>Tabela 9</b>	Correlação entre a fração lipídica em mmol/l com a vitamina E plasmática em $\mu\text{mol/l}$ no cordão, 14 <sup>o</sup> e 28 <sup>o</sup> dias de vida (valor de rs e nível de significância). ....	64
<b>Tabela 10</b>	Mediana (Md), 1 <sup>o</sup> (Q1) e 3 <sup>o</sup> (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) da razão entre a vitamina E plasmática e a fração lipídica ( $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ) no cordão, 14 <sup>o</sup> e 28 <sup>o</sup> dia de vida. ....	65
<b>Tabela 11</b>	Comparação das razões vitamina E / frações lipídicas em relação ao tempo nos momentos estudados. Mediana (Md), 1 <sup>o</sup> (Q1) e 3 <sup>o</sup> (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) da razão vitamina E/fração lipídica em $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ . ....	67
<b>Tabela 12</b>	Correlação entre a razão vitamina E/ fração lipídica em $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ e a vitamina E plasmática em $\mu\text{mol/l}$ no cordão e 14 <sup>o</sup> dia de vida (valor de rs e nível de significância). ....	68

# SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

ABREVIATURAS E SIGLAS

FIGURAS, QUADROS E TABELAS

<b>1.</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>19</b>
1.1.	Absorção, transporte e distribuição .....	21
1.2.	Vitamina E no recém-nascido.....	22
1.3.	Necessidades fisiológicas de vitamina E do recém-nascido .....	24
1.4.	Níveis plasmáticos de vitamina E .....	25
1.5.	Deficiência e Toxicidade.....	26
1.6.	Vitamina E e doenças dos prematuros.....	27
1.6.1.	Displasia broncopulmonar / doença pulmonar crônica (DBP) .....	27
1.6.2.	Retinopatia da prematuridade (ROP) .....	28
1.6.3.	Anemia da prematuridade .....	29
1.6.4.	Sepse neonatal.....	30
1.6.5.	Hemorragia peri-intraventricular (HPIV) .....	30
1.7.	Considerações sobre a importância do tema .....	31
<b>2.</b>	<b>Objetivos</b> .....	<b>34</b>
2.1.	Geral.....	34
2.2.	Específicos .....	34

<b>3.</b>	<b>Casuística e Método.....</b>	<b>36</b>
3.1.	Descrição do estudo .....	36
3.2.	Sujeitos.....	36
3.3.	Critérios de inclusão dos recém-nascidos .....	37
3.4.	Critérios de exclusão dos recém-nascidos .....	37
3.5.	Delineamento do estudo.....	38
3.6.	Variáveis clínicas neonatais estudadas.....	39
3.7.	Aspectos nutricionais neonatais analisados .....	40
3.8.	Determinação da vitamina E no plasma .....	44
3.8.1.	Coleta da amostra .....	44
3.8.2.	Preparo da amostra e descrição do método de dosagem .....	45
3.8.3.	Recuperação da amostra .....	45
3.9.	Método bioquímico – parâmetros utilizados para a cromatografia líquida de alta resolução (ARNAUD e colaboradores, 1991).....	46
3.9.1.	Curva padrão.....	47
3.9.2.	Reativos .....	48
3.10.	Determinação dos lipídios plasmáticos.....	49
3.11.	Métodos estatísticos .....	49
3.12.	Análise amostral.....	51
<b>4.</b>	<b>Resultados .....</b>	<b>53</b>
4.1.	Características gerais da amostra estudada .....	53
4.2.	Doenças e complicações presentes nos recém-nascidos .....	54

4.3.	Características da amostra estudada segundo a vitamina E.....	55
4.4.	Características da amostra estudada segundo os lipídios .....	62
4.5.	Razão entre vitamina E plasmática e lipídios plasmáticos (Vitamina E / Fração lipídica).....	65
4.6.	Comparação da razão da Vitamina E / fração lipídica no cordão, 14º e 28º dia de vida.....	66
<b>5.</b>	<b>Discussão .....</b>	<b>70</b>
5.1.	Casuística e método.....	70
5.2.	Método de dosagem da vitamina E .....	71
5.3.	Discussão dos resultados .....	71
5.3.1.	Importância da vitamina E .....	71
5.3.2.	Níveis plasmáticos de vitamina E e vitamina E recebida.....	73
5.3.2.1.	Mãe e cordão .....	73
5.3.2.2.	Suplementação de vitamina E .....	75
5.3.3.	Importância dos lipídios.....	82
<b>6.</b>	<b>Considerações Finais .....</b>	<b>90</b>
<b>7.</b>	<b>Conclusão .....</b>	<b>93</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>96</b>
	<b>ABSTRACT.....</b>	<b>101</b>
	<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>105</b>
	<b>Anexos .....</b>	<b>115</b>

# INTRODUÇÃO

---

## 1. Introdução

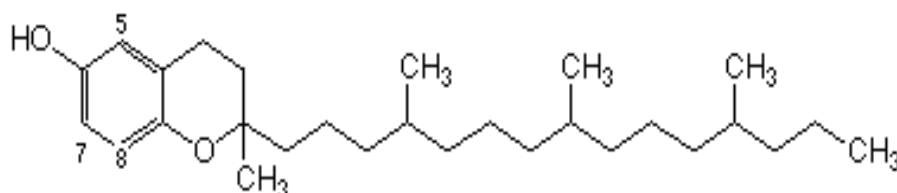
A vitamina E é formada por um grupo de oito tocoferóis, biologicamente ativos, que derivam do 6-chromanol e diferem em relação ao número e posição da substituição do grupamento metil no anel benzeno (Figura 1). Destes, o alfa-tocoferol, é o mais ativo e corresponde a 90% da vitamina E presente nos tecidos humanos (DREVON, 1991; ACUFF et al., 1998). Enquanto o d-estereoisômero é a forma que existe naturalmente, as formas farmacológicas mais freqüentemente utilizadas contêm tanto o d como o l-estereoisômero, que são formas com menor atividade (75% de atividade).

Outras formas da vitamina E, importantes na nutrição infantil são as formas beta e delta-tocoferol encontradas no óleo de soja, inclusive nas emulsões lipídicas utilizadas em nutrição parenteral e que correspondem, respectivamente, a 33% e 10% da atividade do alfa-tocoferol (GROSS, 1993).

Uma vez extraída, a fórmula alcoólica natural do alfa-tocoferol tem limitada duração devido sua interação com o oxigênio. Desse modo, as formas derivadas da vitamina E são esterificadas na forma de acetato e succinato. Como cada uma dessas formas de vitamina E tem diferentes atividades biológicas, os preparados foram feitos em unidades internacionais (UI), onde 1 UI equivale a 1 mg de d, l-acetato de alfa-tocoferol (GROSS, 1993).

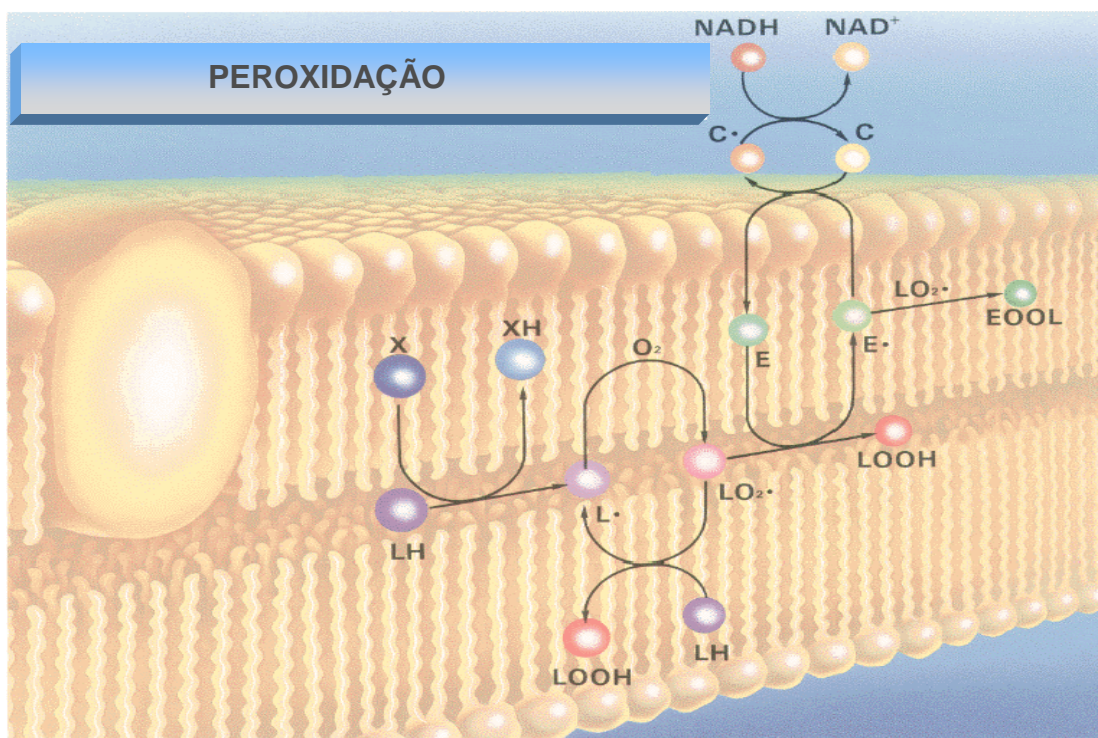
A vitamina E está amplamente presente em todos os tecidos do organismo, onde exerce função fisiológica como antioxidante e “limpadora”

(*scavenger*) de radicais livres. Age por inibição da peroxidação natural dos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), presentes nas camadas lipídicas das membranas das células impedindo a formação desses radicais, dificultando a morte celular causada pelo estresse oxidativo (LARYEA et al., 1989).



Posição do Radical Metil	Abreviações
5, 7, 8	$\alpha$ - tocoferol ( $\alpha$ - T)
5, 8	$\beta$ - tocoferol ( $\beta$ - T)
7, 8	$\delta$ - tocoferol ( $\delta$ - T)
8	$\gamma$ - tocoferol ( $\gamma$ - T)

**Figura 1** – Fórmula Orgânica da Vitamina E (modificada de Bjørneboe et al., 1990).



**Figura 2** – Peroxidação da Vitamina E (<http://www.eisai.co.jp/evita/kiso4.html>)

A peroxidação inicia-se quando um átomo de hidrogênio “escapa” de uma dupla ligação de um dos carbonos, provocando o aparecimento de uma situação intermediária, altamente favorável à reação com o oxigênio livre. O radical de lipídio livre formado interage com outros PUFA, criando um lipídio-hidroxiperoxi estável e mais radical de lipídio livre, gerando uma reação em cadeia.

A vitamina E age como “quebradora” da cadeia oxidante, devido sua capacidade de substituir o oxigênio nessa reação, estabilizando a reação do hidrogênio do radical de lipídio livre (MURRAY et al., 1999). Nesse processo de inibição da peroxidação lipídica, o alfa-tocoferol é transformado em alfa-tocoferil quinona, excretada pela urina como malondialdeído, pentano e etano.

As principais fontes de vitamina E da dieta são os grãos, as farinhas e as gorduras vegetais, sendo os óleos de girassol, de milho e de soja os mais ricos nessa vitamina; enquanto os óleos de oliva e coco contêm vitamina E em quantidade média (MURRAY et al., 1999).

## **1.1. Absorção, transporte e distribuição**

### **a. Absorção**

A absorção intestinal dos lipídios e das vitaminas lipossolúveis depende da função pancreática, da secreção biliar e da formação e penetração das micelas pela membrana intestinal. A absorção do  $\alpha$ -tocoferol ocorre por difusão passiva do lúmen do intestino delgado para o enterócito, mas seu transporte dentro da célula epitelial é desconhecido (BJØRNEBOE et al., 1990). O local de maior absorção de  $\alpha$ -tocoferol localiza-se entre o terço superior e o terço médio do intestino delgado (BJØRNEBOE et al., 1990). Dados sugerem que triglicérides de cadeia média aumentam o processo de absorção, enquanto

que o ácido retinóico e ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, podem reduzir sua absorção (BJØRNEBOE et al., 1990).

### **b. Transporte**

O alfa-tocoferol é transportado pelo sangue ligado a lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (BJØRNEBOE et al., 1990). No fígado, o transporte é realizado através da proteína transportadora do alfa-tocoferol ( $\alpha$ -TTP), que é uma proteína citosólica, se expressa mais fortemente que nos outros órgãos, e que foi localizada no cromossomo 8 (8q13.1-13.3) (ARITA et al., 1995; ACUFF et al., 1998).

### **c. Distribuição hepática do alfa-tocoferol**

O fígado é composto por diferentes tipos de células. As células parenquimatosas são maiores que as não parenquimatosas e representam 85-90% da massa hepática total. A porção não parenquimatosa é formada por três grupos de células: estelares, células de Kupffer e células endoteliais. O alfa-tocoferol tem sua captação preferencialmente na porção parenquimatosa (cerca de 75%). O principal produto da oxidação do alfa-tocoferol no fígado é a alfa-tocoferil-quinona. Esse produto é posteriormente desoxidado em hidroquinona, que ao se conjugar com o ácido glucurônico é excretado pela bile ou degradado nos rins e eliminado na forma de ácido alfa-tocoferônico pela urina (BJØRNEBOE et al., 1990; GROSS, 1993).

## **1.2. Vitamina E no recém-nascido**

A maneira pela qual se dá a passagem da vitamina E pela placenta ainda é desconhecida. Vários estudos foram realizados, observando-se os níveis de vitamina E na mãe, no cordão e na vilosidade placentária (MARTINEZ et al., 1981; CHEN et al., 1996; QANUNGO et al., 1999).

Concluíram que a placenta funciona como uma barreira à passagem da vitamina E da mãe para o feto, sendo que essa barreira não ocorre na entrada da vitamina E na placenta, mas sim, no transporte placentário dessa vitamina para o feto.

Cerca de 90% da vitamina E localiza-se no tecido adiposo, porém como nos recém-nascidos prematuros esses tecidos são escassos, conseqüentemente são menores as reservas de vitamina E. Além disso, essas reservas são de difícil determinação. Assim, as baixas concentrações de vitamina E encontradas nos tecidos fetais, aumentam no final da gestação, em decorrência do aumento do tecido adiposo (TRINDADE, 2007).

Também ficou estabelecido que existe relação direta entre os níveis de vitamina E fetal (cerca de 50% do valor materno) (BÖHLES, 1997), e os de lipídios totais do plasma, visto que esses são mais elevados na mãe do que no feto (MARTINEZ et al., 1981; CHEN et al., 1996; VIANA et al., 1999).

A concentração plasmática de vitamina E materna encontra-se ao redor de 0,7mg/dl (15,56  $\mu\text{mol/l}$ ) e no cordão de 0,2mg/dl (4,44  $\mu\text{mol/l}$ ). No primeiro dia de vida são relatados valores plasmáticos de  $0,44 \pm 0,20$  mg/dl ( $9,78 \pm 4,44$   $\mu\text{mol/l}$ ) (BÖHLES, 1997); entretanto, a concentração plasmática de vitamina E se altera de acordo com a quantidade de lipídios plasmáticos, devido sua associação às lipoproteínas. Em adultos tem-se adotado o uso da razão vitamina E / lipídios totais para determinarem-se os níveis de vitamina E. Uma vez que essa razão se mantém constante, Zoeren-Grobbe e colaboradores (1997) consideram ser possível utilizá-la também no período neonatal. Assim, a forma de se determinar a quantidade de vitamina E seria através da razão entre a vitamina E / fração lipídica, com valores da razão alfa-tocoferol/ lipídios totais, inferiores a 0,8 mg/g, indicativos de deficiência de vitamina E (TRINDADE, 2007).

Portanto, os baixos níveis de alfa-tocoferol do recém-nascido não representariam uma deficiência dessa vitamina, e sim menor concentração de lipídios no recém-nascido (KARP & ROBERTSON, 1986; MACIAS & SCHWEIGERT, 2001; BARROS et al., 2002; FORD et al., 2006). Esse conceito baseia-se na comparação entre a razão da vitamina E e a fração lipídica do adulto e do recém-nascido manter-se constante (ZOEREN-GROBEN et al., 1997; FORD et al., 2006).

### **1.3. Necessidades fisiológicas de vitamina E do recém-nascido**

A concentração da vitamina E no colostro e no leite humano das mães do prematuro é duas vezes mais elevada do que nas mães do recém-nascido a termo. Durante a primeira semana de vida o leite materno apresenta 1,9 UI / 100 Kcal correspondendo à razão vitamina E / PUFA de 2,0 mg/g. Com o decorrer das semanas essas quantidades diminuem, chegando a 0,9 UI/ 100 Kcal e 0,9 mg/g respectivamente (GROSS, 1993; TRINDADE, 2007). Entretanto, autores consideram que para prematuros, antes de atingir a nutrição enteral plena, doses de vitamina E são necessárias por via parenteral, sendo consideradas as doses de 2,8 a 3,5 UI/kg/dia para manter níveis plasmáticos de vitamina E de 1 a 2 mg/dl. Para prematuros as fórmulas são suplementadas com 4,0 a 6,3 UI / 100 Kcal com a relação vitamina E / PUFA de 3,83 a 3,98. Tendo em vista essa grande discordância e variabilidade de valores e com o objetivo de minimizar os riscos de toxicidade, em especial nos recém-nascidos prematuros, em 2002, um grupo de pesquisadores em painel realizado pela American Society for Nutritional Sciences recomendou para prematuros, o uso de 2 a 8 mg / 100 Kcal, sendo que a razão vitamina E / PUFA deve ser superior a 1,5 mg/g (KLEIN, 2000; TRINDADE, 2007).

A American Society for Clinical Nutrition recomenda a dose de 7 UI/kg/dia para os recém-nascidos a termo (BRION et al., 2004).

Grande número de estudiosos tem atuado nessa linha de pesquisa, sem contudo chegar-se a um consenso sobre as reais necessidades da vitamina E em especial para os prematuros. A mesma situação ocorre em relação aos níveis plasmáticos da vitamina E nos prematuros.

#### **1.4. Níveis plasmáticos de vitamina E**

Muitos autores têm estudado a vitamina E plasmática, não havendo ainda um consenso sobre sua real concentração. Assim Martinez e colaboradores (1981), encontram para recém-nascidos a termo com peso entre 2500 e 4300 gramas valores médios no cordão de  $13,46 \pm 8,8 \mu\text{mol/l}$ . Em 1996, Chen e colaboradores, estudando recém-nascidos a termo com média de peso de  $3298 \pm 409$  gramas, encontraram valores de vitamina E plasmática no cordão  $7,7 \mu\text{mol/l}$ . Em revisão sistematizada realizada por Thibeault (2000), foram observados valores para recém-nascidos a termo  $4,9 \mu\text{mol/l}$  e recém-nascidos prematuros  $4,6 \mu\text{mol/l}$ , não especificando se são valores de cordão ou não.

Em recém-nascidos prematuros também é grande a diversidade de trabalhos realizados, sem contudo haver uma padronização de valores. Schwalbe e colaboradores (1992) em trabalho realizado em quinze recém-nascidos, com média de peso de  $1190 \pm 214$  gramas e idade gestacional de  $30 \pm 3$  semanas, encontraram valores médios de  $7,5 \pm 3,78 \mu\text{mol/l}$  com duas a três horas de vida. Wu e Chou (2001) estudando trinta e cinco recém-nascidos prematuros, com idade gestacional que variou de 28 a 34 semanas e peso de 940 – 1980 gramas, encontraram valores médios no cordão de  $3,9 \pm 2,0 \mu\text{mol/l}$ .

Em pesquisa ainda não publicada, realizada por Wey e colaboradores, na Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, apresentada como tese de mestrado, em fevereiro de 2003, encontrou-se concentrações mais baixas de vitamina E no sangue do cordão, de recém-nascidos de pré-termo de muito baixo-peso, porém com menor peso (média  $1194 \pm 254$  gramas em Botucatu e  $1190 \pm 221$  gramas Sorocaba) e menor idade gestacional (média  $29 \pm 2,3$  semanas em Botucatu e  $30 \pm 3$  semanas em Sorocaba), quando comparadas às observadas na literatura. Os valores encontrados foram: mediana  $3,56 \mu\text{mol/l}$  nos recém-nascidos de Botucatu e  $1,48 \mu\text{mol/l}$  nos recém-nascidos de Sorocaba (WEY, 2003).

### **1.5. Deficiência e Toxicidade**

Tendo em vista a grande dificuldade em estabelecerem-se quais os valores plasmáticos dessa vitamina nos recém-nascidos prematuros, torna-se importante determinar os limites a partir dos quais a concentração de vitamina E plasmática é deficiente ou tóxica.

Estudos demonstraram a deficiência de vitamina E entre recém-nascidos de muito baixo peso, criticamente enfermos. Klein (2002) relata como valores mínimos para recém-nascidos de pré-termo, no cordão o valor de  $11,60 \mu\text{mol/l}$ , sendo que valores inferiores a esse são considerados deficiência de vitamina E.

Também tem sido detectado alto índice de toxicidade, relacionado com doses excessivas de vitamina E ministradas (BRION et al., 2007). A toxicidade da vitamina E pode estar relacionada à forma química, dose, via de administração, ou no caso da via parenteral com a velocidade de infusão, ou ainda com a combinação de vários desses fatores (BRION et al., 2004).

Em adultos o quadro clínico de toxicidade caracteriza-se por:

- a. Maior facilidade de infecções devido à menor atividade leucocitária;
- b. Aumento do risco de hemorragias, devido à diminuição dos fatores dependentes da vitamina K;
- c. Diminuição da síntese de prostaglandinas e da agregação plaquetária.

Em lactentes, devido às padronizações das fórmulas lácteas, é mais difícil a ocorrência de toxicidade.

Entretanto, em recém-nascidos, em especial nos prematuros de muito baixo peso, tem sido relatada a ocorrência de enterocolite necrosante, insuficiência hepática, trombocitopenia e insuficiência renal (BRION et al., 2007).

## **1.6. Vitamina E e doenças dos prematuros**

Os recém-nascidos prematuros expostos à oxigenoterapia apresentam riscos de desenvolver doença pulmonar crônica e retinopatia da prematuridade, sendo ambas importantes causas de morbidade neonatal (CHAN et al., 1999).

A susceptibilidade de recém-nascidos de pré-termo ao estresse oxidativo tem sido atribuída, pelo menos parcialmente, à ausência ou deficiência de mecanismos de defesa antioxidante (CHAN et al., 1999). Devido à atividade antioxidante do tocoferol, tentou-se estabelecer uma concreta relação entre sua ação e a agressão provocada pelo oxigênio nos prematuros.

### **1.6.1. Displasia broncopulmonar / doença pulmonar crônica (DBP)**

A patogenia da doença pulmonar crônica / DBP é multifatorial, tendo sido identificados vários fatores de risco pré e pós-natais, como prematuridade,

corioamnionite, infecção sistêmica, ressuscitação inadequada, altas concentrações de oxigênio inspirado, barotrauma, volutrauma e ventilação mecânica. Esses mecanismos agredem os tecidos devido aos efeitos tóxicos do oxigênio e pela liberação de mediadores pró-inflamatórios e radicais livres nas vias aéreas e tecido pulmonar imaturos (TRINDADE & RUGOLO, 2007).

A ministração de alta concentração de oxigênio para prematuros é um mecanismo importante de geração de substâncias reativas de oxigênio (ROS) que agredem o DNA, proteínas e lipídios. A vitamina E, como um elemento antioxidante, inibindo a peroxidação dos lipídios, poderia constituir-se em fator protetor contra a displasia broncopulmonar. Estudos em recém-nascidos com síndrome de desconforto respiratório mostraram efeitos protetores da vitamina E e do selênio na prevenção da DBP. (SAUGSTAD, 2003; SAUGSTAD, 2005; SHOJI & KOLETZKO, 2007) Entretanto revisão sistematizada sobre suplementação de vitamina E concluiu que essa não afetou o risco de DBP, a evolução clínica e/ou radiológica da doença (BRION et al., 2007).

### **1.6.2. Retinopatia da prematuridade (ROP)**

O fator causal da retinopatia não é somente o uso abusivo do oxigênio, mas principalmente a própria prematuridade. A retinopatia da prematuridade apresenta um espectro de distúrbios patológicos interferindo no curso normal do desenvolvimento da vascularização da retina, a qual somente se completa por volta de 44 semanas pós-concepção. Vários fatores etiológicos contribuem para o desenvolvimento da ROP, a maioria dos quais se relaciona com a agressão por radicais livres, com a baixa defesa antioxidante, a imaturidade e a oxigenação arterial da retina. Propôs-se que radicais livres de oxigênio afetam a circulação da

retina. A insuficiente síntese de agentes vasoconstritores e o aumento da produção de vasodilatadores pelo endotélio dos vasos coroidais expõem a vasculatura da retina à hiperoxia ao nascimento, com subsequente vaso-constricção e vaso-obliteração, via apoptose celular, provavelmente induzida pelo radical peroxinitrito (TRINDADE & RUGOLO, 2007). Estudos têm focalizado os antioxidantes: selênio e vitamina E como estratégias para a possível prevenção e melhoria do prognóstico da ROP (BÖHLES, 1997). Entretanto, análise sistematizada de ensaios clínicos randomizados mostrou que altas doses de vitamina E somente reduziram a incidência de formas graves de retinopatia e cegueira, porém causaram aumento na sepse (BRION et al., 2007).

### **1.6.3. Anemia da prematuridade**

Gross e Melhorn em 1972, detectaram a ocorrência de grau anormal de hemólise associado à deficiência de vitamina E, e diminuição da hemólise e discreto aumento dos níveis de hemoglobina com a suplementação de 25 UI/dia de acetato de  $\alpha$ - tocoferol. Além disso, ocorre piora da anemia hemolítica associada à deficiência de vitamina E, quando usado ferro ou fórmulas alimentares com ferro (PATHAK et al., 2003).

Em estudo de metanálise, constatou-se melhora significativa dos níveis de hemoglobina, hematócrito e reticulócitos associada ao uso de vitamina E (BRION et al., 2007).

A eritropoetina é o fator primordial para a eritropoese tanto no feto quanto no recém-nascido. Embora tenha sido demonstrado que a eritropoetina recombinante humana é capaz de estimular a eritropoese, o impacto sobre a necessidade de transfusão sangüínea tem sido variável. Para evitar o aparecimento

de anemia hipocrômica com o uso de eritropoetina, altas doses de ferro foram empregadas juntamente com a eritropoetina. Entretanto, o ferro não ligado à proteína, ferro iônico, pode atuar como catalisador na auto-oxidação de ácidos graxos poliinsaturados, componentes essenciais das membranas dos glóbulos, contribuindo para a hemólise e a anemia. A suplementação de vitamina E na dose de 50 UI/dia não melhorou a resposta de prematuros à eritropoetina e ao ferro (PATHAK et al., 2003).

#### **1.6.4. Sepses neonatal**

O aparecimento de sepses neonatal associa-se ao uso de doses elevadas de vitamina E por tempo superior a uma semana. Bell (1987) descreve em adultos, maior facilidade de infecções, devido à menor atividade leucocitária provocada pelas altas doses de vitamina E.

Em recém-nascidos, metanálise realizada por Brion e colaboradores (2007) mostrou aumento significativo na associação entre sepses neonatal e vitamina E, em especial em prematuros de muito baixo peso, tratados por mais de uma semana, com doses intravenosas superiores a 30 UI/kg/dia e que apresentaram níveis séricos de tocoferol superiores a 3,5mg/dl (81,27mmol/l).

#### **1.6.5. Hemorragia peri-intraventricular (HPIV)**

O cérebro é especialmente suscetível ao estresse oxidativo envolvido nos mecanismos de hipoxia-isquemia e de reperfusão-hiperoxia. Essa vulnerabilidade é consequência de vários fatores como: presença de tecido nervoso com membranas ricas em ácidos graxos poliinsaturados, um sistema nervoso imaturo e rico em ferro, além de inadequada capacidade de bloquear a cadeia oxidante em virtude de baixa

atividade de enzimas com função antioxidante, características de prematuros de muito baixo peso. Como resultado há acúmulo de peróxido de hidrogênio que na presença de ferro livre produz o radical hidroxidrila ( $\text{OH}\bullet$ ), um radical livre, altamente citotóxico. Durante a reperfusão cerebral, a sobrecarga com ferro iônico devido à baixa concentração de proteínas “ligadoras” do ferro e de proteínas com ação de ferro-oxidase observada em prematuros de muito baixo peso pode induzir à peroxidação lipídica de células do endotélio cerebral, em reação catalisada pelo ferro, resultando em lesão cerebral e hemorragia peri-intraventricular (TRINDADE & RUGOLO, 2007).

Vários estudos (PHELPS, 1988; GREER & ZACHMAN, 1998) têm relatado a importância da vitamina E na patogenia da HPIV, sem, contudo chegar-se a uma conclusão. A metanálise realizada em 2007 por Brion e colaboradores, concluiu que o efeito da vitamina E sobre a HPIV é heterogêneo. Nos recém-nascidos de baixo peso, não houve alteração significativa entre o surgimento da HPIV e o uso da vitamina E. Todavia, entre os recém-nascidos de muito baixo peso, embora não tenha havido diminuição nos casos, houve melhora no prognóstico dos casos de HPIV (GREER & ZACHMAN, 1998; BRION et al., 2007).

### **1.7. Considerações sobre a importância do tema**

Face as discordâncias existentes na literatura, quanto à ministração de vitamina E, para prematuros de muito baixo peso e devido à importância que a vitamina E apresenta, por sua ação antioxidante, com atuação nos processos fisiológicos, de manutenção da integridade dos tecidos, e dando continuidade à linha de pesquisa por nós iniciada, com a dissertação de mestrado (onde estudamos a vitamina E na mãe e no cordão de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso),

é que nos propusemos a estudar os níveis plasmáticos de vitamina E em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, no período neonatal, e a possível influência da vitamina E ministrada com a nutrição/suplementação a esses recém-nascidos. Além disso, durante o decorrer da pesquisa, observamos o importante papel desempenhado pelos lipídios no metabolismo da vitamina E, fato esse determinante para que incluíssemos sua participação no presente estudo.

A vitamina E é formada por um grupo de oito tocoferóis, biologicamente ativos, que derivam do 6-chromanol e diferem em relação ao número e posição da substituição do grupamento metil no anel benzeno (Figura 1). Destes, o alfa-tocoferol, é o mais ativo e corresponde a 90% da vitamina E presente nos tecidos humanos (DREVON, 1991; ACUFF et al., 1998). Enquanto o d-estereoisômero é a forma que existe naturalmente, as formas farmacológicas mais freqüentemente utilizadas contêm tanto o d como o l estereoisômero, que são formas com menor atividade (75% de atividade).

Outras formas da vitamina E, importantes na nutrição infantil são as formas beta e delta-tocoferol encontradas no óleo de soja, inclusive nas emulsões lipídicas utilizadas em nutrição parenteral e que correspondem, respectivamente, a 33% e 10% da atividade do alfa-tocoferol (GROSS, 1993).

Uma vez extraída, a fórmula alcoólica natural do alfa-tocoferol tem limitada duração devido sua interação com o oxigênio. Desse modo, as formas derivadas da vitamina E são esterificadas na forma de acetato e succinato. Como cada uma dessas formas de vitamina E tem diferentes atividades biológicas, os preparados foram feitos em unidades internacionais (UI), onde 1 UI equivale a 1 mg de d, l acetato de alfa-tocoferol (GROSS, 1993).

OBJETIVOS

---

## **2. Objetivos**

### **2.1. Geral**

Avaliar os níveis plasmáticos de vitamina E em recém-nascidos de pré-termo de muito baixo peso, no período neonatal.

### **2.2. Específicos**

Determinar em recém-nascidos de pré-termo de muito baixo peso, no período neonatal:

- As concentrações plasmáticas de vitamina E.
- A relação entre as concentrações plasmáticas de vitamina E e a oferta total de vitamina E (parenteral e enteral).
- A relação entre as concentrações plasmáticas de vitamina E e as frações lipídicas (colesterol, triglicérides, HDL, VLDL, LDL).

## CASUÍSTICA E MÉTODO

---

### **3. Casuística e Método**

#### **3.1. Descrição do estudo**

Estudo observacional, prospectivo, longitudinal, foi realizado nos Serviços de Neonatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP e do Conjunto Hospitalar de Sorocaba anexo à Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba pertencente à Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, Campus de Sorocaba.

O estudo foi realizado após a aprovação do protocolo, pelos Comitês de Ética em Pesquisa das Faculdades de Medicina de Botucatu – UNESP (Anexo 1) e de Sorocaba – PUC/SP (Anexo 2).

Foram analisados os níveis de vitamina E, durante os primeiros vinte e oito dias de vida, no plasma de recém-nascidos prematuros, cujo peso de nascimento, era inferior a 1500 gramas, no período de março de 2000 a maio de 2001.

#### **3.2. Sujeitos**

Foram estudados 28 recém-nascidos, sendo 18 procedentes de Botucatu e 10 de Sorocaba. Os recém-nascidos foram selecionados, no momento do parto, quando a idade gestacional era inferior a 37 semanas e apresentavam peso de nascimento menor do que 1500 g. As amostras de Botucatu e Sorocaba mostraram-se homogêneas tanto nos níveis plasmáticos de vitamina E (Anexo 3) quanto nas variáveis clínicas (Anexo 3).

Em todos os casos as amostras de sangue foram coletadas pela pesquisadora ou por outro membro das equipes dos berçários, previamente treinados na coleta. Esta ocorreu após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 4).

### **3.3. Critérios de inclusão dos recém-nascidos**

- Idade gestacional inferior a 37 semanas.
- Nascimento único de conceito, com peso de nascimento maior ou igual a 500 g e menor que 1500 g. O peso foi aferido na sala de parto, em balança eletrônica digital da marca Filizola®, modelo BIP BABY, com intervalo de cinco gramas.
- Ausência de malformações maiores e/ou síndrome cromossômica, segundo o critério de Chung e Myriantopoulos (1987).
- Ausência de sinais clínicos e/ou sorologia materna, sugestivos de infecção congênita.
- Coleta, imediatamente após o nascimento, de amostras de sangue materno e do cordão umbilical.
- Coleta de amostras de sangue dos recém-nascidos com catorze e com vinte e oito dias de vida.

### **3.4. Critérios de exclusão dos recém-nascidos**

- Recém-nascidos graves em que houve impossibilidade de coleta do sangue.
- Recém-nascidos em que não foram possíveis as coletas de sangue nos momentos pré-determinados. Exceção para a determinação dos lipídios,

desde que o volume de sangue coletado não foi suficiente em todos os recém-nascidos e em todos os momentos analisados.

### **3.5. Delineamento do estudo**

Participaram do estudo mães e recém-nascidos provenientes de dois serviços distintos: Berçário do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP – e Berçário do Conjunto Hospitalar de Sorocaba, ligado à Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba – PUCSP nos quais se avaliou:

- a. Concentrações plasmáticas de vitamina E e de lipídios plasmáticos. Em cada um dos serviços coletamos sangue de mães e de recém-nascidos para determinação das concentrações plasmáticas de vitamina E e de frações lipídicas (colesterol, triglicérides e lipoproteínas – HDL, VLDL e LDL), nos momentos, a saber:
  - Mãe: imediatamente após o parto;
  - Cordão umbilical: imediatamente após dequitação da placenta;
  - Recém-nascido: no 14<sup>o</sup> e no 28<sup>o</sup> dias de vida.

A coleta das amostras em serviços diferentes foi necessária para ampliar a casuística, uma vez que pelo delineamento do estudo, era necessária a presença do pesquisador ou um membro da equipe, com treinamento adequado para a coleta de sangue tanto na sala de parto como nos momentos pré-determinados, o que dificultou a obtenção das amostras necessárias.

- b. Análise da quantidade de vitamina E total recebida (parenteral e enteral) por quilograma peso por dia em dois períodos: do 1º ao 14º dia e do 15º ao 28º dia.
- c. Variáveis clínicas maternas e neonatais.

### **3.6. Variáveis clínicas neonatais estudadas**

Em protocolo previamente elaborado, foram tabuladas as variáveis de investigação, obtidas por meio de informações retiradas dos prontuários maternos e dos recém-nascidos, e completadas por entrevista com as mães (Anexo 5).

- a. Idade Gestacional – em semanas. A estimativa da idade gestacional baseou-se na idade calculada pela data da última menstruação, pela regra de Naegele (DELASCIO & GUARIENTO, 1994). Em casos de dúvida, ou desconhecimento dessa data, foi realizada a confirmação pela ultra-sonografia intra-uterina ou pelo método de New Ballard (BALLARD et al., 1991) nos recém-nascidos com 24 horas de vida, sem sedação.
- b. Peso e adequação para idade gestacional – foram incluídos no estudo recém-nascidos de muito baixo-peso (MBP), ou seja, aqueles com peso menor que 1500 g ao nascimento. Para avaliar a adequação do peso à idade gestacional foi utilizada a curva de crescimento fetal de Alexander (ALEXANDER et al., 1996), sendo os recém-nascidos classificados em pequenos para a idade gestacional (PIG) quando na curva estavam abaixo do percentil 10, adequados para a idade gestacional (AIG) quando entre os percentis 10 e 90 da curva, e grandes para a idade gestacional (GIG), quando acima do percentil 90 da curva.

Também foram analisados os pesos dos recém-nascidos nos 7º, 14º, 21º e 28º dias de vida (Anexo 6).

- c. Perímetro cefálico – medido logo após o nascimento, com fita métrica inelástica, com escala em centímetros.
- d. Comprimento – medido logo após o nascimento, com antropômetro de madeira, com escala em centímetros.
- e. Gênero – feminino e masculino.
- f. Boletim de Apgar – determinado no primeiro e quinto minuto de vida, sendo classificado como: 0 – 1 – 2: depressão neonatal grave; 3 - 4: depressão neonatal moderada; 5 – 6 – 7: depressão neonatal leve e no quinto minuto < 6: depressão neonatal moderada a grave; e ≥ 7: boa vitalidade.
- g. Tempo de internação na UTI neonatal - dias transcorridos desde a internação na unidade de terapia intensiva até sua alta para a ala de cuidados intermediários, ou até o óbito. Em algumas ocasiões esse tempo foi superior ao analisado no estudo em questão, definido como 28 dias de vida.

### **3.7. Aspectos nutricionais neonatais analisados**

As condutas clínicas para os recém-nascidos foram definidas e orientadas pelas equipes médicas das UTI Neonatais do HC-FMB UNESP e do CHS-FCMS PUCSP, segundo as padronizações adotadas nos serviços.

Neste estudo foram avaliadas diariamente as ofertas hídrica, calórica, protéica e de vitamina E, tanto parenteral como por via enteral.

**a. Nutrição Parenteral** – indicada nos serviços para todos recém-nascidos com peso inferior a 1000 g e para aqueles nos quais a alimentação pela via enteral está contra indicada ou quando a dieta não for suficiente para suprir as necessidades energéticas e protéicas (menos que 75% das necessidades diárias). A nutrição parenteral é iniciada tão logo ocorra a estabilização hemodinâmica do paciente, geralmente no 2º dia de vida. No primeiro dia de vida os pacientes recebem solução intravenosa de glicose e cálcio.

A oferta dos nutrientes ocorreu da seguinte forma:

- *Carboidratos* (glicose): a velocidade de infusão inicial variou entre 3 e 4 mg/kg/min nos recém-nascidos com peso inferior a 1000 g, aumentando-se diariamente a velocidade de infusão da glicose, desde que a glicose sangüínea não fosse superior a 150 mg/dl.
- *Proteínas*: oferta iniciada no primeiro dia de nutrição parenteral, com 1 g/kg/d nos recém-nascidos com peso menor que 1000 g e aumento de 0,5 a 1 g/kg/dia até atingir 3,0 a 3,5 g/kg/dia. Nos maiores iniciou-se com 1 a 1,5 g/kg/dia aumentando 1 g/kg/dia até atingir 3,0 g/kg/dia.
- *Lipídios*: início no segundo dia de nutrição parenteral, com 0,5 g/kg/dia aumentando 0,5 g/kg/dia até atingir 2,5 a 3,0 g/kg/dia nos menores de 1000 g. Nos maiores, o início ocorreu no primeiro dia de nutrição parenteral, em uma dose de 1g/kg/dia, com aumentos de 0,5 g/kg/dia até 3,0 g/kg/dia, em Botucatu. Em Sorocaba não houve diferença no uso de lipídios entre os recém-nascidos menores e maiores que 1000 gramas. Nos dois serviços foi utilizada solução de lipídio a 20% com TCM/TCL.

- *Vitamina E*: utilizou-se o Polivit A® a partir do primeiro dia de nutrição parenteral, na dose de 4 ml/kg que corresponde a 2,8 UI/kg de vitamina E para os recém-nascidos em Botucatu e 4 ml/dia (2,8 UI), independente do peso para os recém-nascidos em Sorocaba, infundida sempre com a solução de lipídios.

Também em Botucatu, a nutrição parenteral foi preparada na farmácia do HC-FMB UNESP, sob fluxo laminar, adicionando-se todos os constituintes e subdividida em 2 frascos, os quais foram infundidos em 12 horas cada, com equipo opaco e sempre protegidos da luz. Em Sorocaba, foi preparada em farmácia terceirizada, com as técnicas de preparo autorizadas pela ANVISA, sendo todos os ingredientes colocados em um único frasco infundido em 24 horas com a mesma técnica. Para o cálculo da vitamina E recebida, empregou-se a vitamina E em mg considerando que 1 UI de vitamina E corresponde a 1 mg (GROSS,1993; NADAL, 2006).

**b. Nutrição Enteral** – iniciada assim que o recém-nascido apresentasse estabilidade hemodinâmica e respiratória, sem apnéia, alteração neurológica ou outra evidência de asfixia (quadro clínico da síndrome da encefalopatia hipóxico-isquêmica e/ou Apgar de 5º minuto < 6), com ruídos hidroaéreos presentes, sem distensão abdominal ou gastrointestinais. A rotina alimentar dos serviços para prematuros com menos de 1000 g é iniciar a nutrição trófica com oferta de 10 ml/kg/dia de leite materno, assim que possível, na primeira semana de vida, e para os maiores de 1000 g, iniciar a nutrição enteral precoce com oferta de 10 a 20 ml/kg/dia de leite materno a cada 3 a 4 horas, nas primeiras 48 horas de vida.

**c. Ingesta de Vitamina E** – calculada em Unidades Internacionais/kg/dia (UI/kg/dia) e transformada em mg/kg/dia no período do nascimento ao sétimo dia; do oitavo ao décimo quarto dia; do décimo quinto ao vigésimo primeiro e do vigésimo segundo ao vigésimo oitavo dias de vida, considerando a média da somatória da ingesta no período por quilo por dia. Também se analisou pelo período correspondente ao primeiro - décimo quarto dia e do décimo quinto ao vigésimo oitavo dia. Foram feitas análises separadas da oferta enteral e parenteral e posteriormente sua somatória. Por via enteral, o cálculo foi baseado no volume e no tipo de leite ofertado. Nos dois serviços é rotina o uso de leite materno com suplementos nutricionais e na sua falta, o uso de fórmulas lácteas para prematuros. Também foi calculada a ingesta diária por via parenteral e a total por quilograma de peso.

<b>Tipo de Leite</b>	<b>Calorias (cal/100ml)</b>	<b>Gorduras (g/100ml)</b>	<b>Vitamina E (UI/100ml)</b>
<b>Leite Materno</b>	70	4,0	0,4
<b>Leite Materno + FM 85</b>	85	3,8	2,8
<b>Pré-Nan®14,3%</b>	70	2,9	1,8
<b>Pré-Nan®16,3%</b>	80	3,4	2,0

**Quadro 1** – Composição dos leites utilizados (por 100 ml)

**d. Suplementação vitamínica:** iniciada a partir da segunda semana de vida nos recém-nascidos que não estavam recebendo nutrição parenteral. O suplemento vitamínico utilizado em Botucatu foi o AD Til® na dose de 2 gotas ao dia (vitamina A 5000 unidades e vitamina D 400 UI/dia). Vitamina E, manipulada na farmácia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu da UNESP, em frascos de 60 ml, com tocoferol 5 mg/gota, dado na dose de 25 UI por dia foi ministrado após a segunda

semana de vida em oito pacientes que receberam eritropoetina (Anexo 3). Em Sorocaba foi adotado o uso de Protovit® gotas (0,18 UI/gota de vitamina E) no total de 2,16UI /dia a partir do 15º dia de vida.

### **3.8. Determinação da vitamina E no plasma**

#### **3.8.1. Coleta da amostra**

- a. Mães:** amostras correspondendo a 1,0 ml de sangue foram obtidas por punção de veia periférica, logo após o nascimento.
- b. Cordão umbilical:** coletou-se 2,0 ml de sangue da veia umbilical a aproximadamente 2,0 cm da inserção da placenta, imediatamente após a dequitação.
- c. Recém-nascido:** coletou-se aproximadamente 1,0 ml de sangue por punção de veia periférica, no 14º e no 28º dia.

Todas as amostras foram coletadas em ambiente com pouca luz, imediatamente colocadas em tubos de Eppendorf, heparinizados, envoltos em papel alumínio, e foram centrifugadas a 1880 “g” durante 4 minutos, em ambiente com pouca luz. O plasma era então pipetado e colocado em tubos de Eppendorf, protegidos por papel alumínio. Após passar em nitrogênio gasoso, os tubos eram fechados e imediatamente congelados em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  e transportados em geladeiras de isopor com gelo, e armazenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, para posterior dosagem. Todo preparo do material empregado na coleta das amostras nos dois serviços, foi efetuado pelo Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

### **3.8.2. Preparo da amostra e descrição do método de dosagem.**

O método utilizado foi o de Arnaud e colaboradores (1991), modificado em Rugolo (2001). Foi utilizada uma alíquota de 250 µl de plasma na qual se adicionaram 250µl de etanol, que continham 75 µmol/l de acetato de tocoferol. A solução foi homogeneizada em um agitador de tubo, modelo AT 56 da marca Phoenix® por 5 minutos. As vitaminas foram extraídas em 500µl de hexano e homogeneizadas durante 10 minutos. Após a centrifugação a 1880 'g' por 5 minutos, foi retirado todo o primeiro sobrenadante; lavou-se este tubo por 2 vezes consecutivas com hexano, retirando-se assim todo o sobrenadante que continha a vitamina. Este foi transferido para um tubo seco, e evaporado no SPEED VAC SC 110® - marca Savant® por 40 minutos. No momento das determinações da vitamina E e do acetato de tocoferol, as amostras foram reconstituídas com uma mistura da solução de 250 µl utilizada na fase móvel, colocadas no banho de ultra-som por 20 minutos, e filtradas em membranas Durapore® (Milli-Q) de 0,45µm e após, injetadas no HPLC. O "looping" utilizado no HPLC por este método foi de 100µl e comprimento de onda de 280nm. Todo procedimento foi executado em sala escura, com iluminação por lâmpada amarela Repelux®.

### **3.8.3. Recuperação da amostra**

Utilizou-se o acetato de tocoferol como padrão interno da amostra para quantificar a recuperação do método durante a extração da amostra. O acetato de tocoferol é considerado um bom padrão interno porque não é encontrado normalmente no sangue e, portanto sua adição à amostra e determinação posterior, permite saber o quanto se perdeu dessa substância e por correspondência, o quanto foi

perdido de vitamina E da amostra. Sabendo-se a porcentagem do acetato de tocoferol recuperado, faz-se a correção da vitamina E.

A cada tubo de coleta acrescentaram-se 75 $\mu$ mol/l de acetato de alfa-tocoferol, que não está presente no sangue e, portanto presumiu-se que sua perda seja semelhante à da vitamina E.

No quadro 2 observa-se a média de recuperação de acetato de tocoferol nas amostras analisadas.

Acetato de tocoferol ( $\mu$ mol/l)	Média de Acetato de tocoferol recuperado da amostra ( $\mu$ mol/l)	Porcentagem média de recuperação do Acetato de tocoferol (%)
75	68,80	91,75

**Quadro 2** – Média de recuperação de acetato de tocoferol nas amostras analisadas.

### 3.9. Método bioquímico – parâmetros utilizados para a cromatografia líquida de alta resolução (ARNAUD e colaboradores, 1991)

O sistema de Cromatografia Líquida de Alta Resolução (HPLC) compreende um módulo, Modelo VARIAN® 9012, onde se localiza a bomba de injeção, que é responsável por manter uma velocidade de fluxo do solvente através da coluna. Acoplado a esse sistema existe um transdutor de pressão, que tem função de monitorar a pressão do sistema até a coluna. Além disso, existe o sistema de injeção da amostra, necessário para a introdução da amostra na coluna. O “looping” utilizado nesse sistema de injeção corresponde a 100 $\mu$ l. A fase móvel utilizada corresponde à mistura de 70% de acetoneitrila, de 20% de diclorometano e 10% de metanol para o volume total de 100 ml.

A coluna utilizada corresponde a uma coluna C18 para HPLC da marca VARIAN®. Seu diâmetro é de 4,6mm e seu comprimento de 25cm. O diâmetro de suas partículas é de 5µm, sendo especialmente designada para a separação de vitaminas. O fluxo utilizado foi de 1,2 ml/minuto.

Utilizou-se para detectar a eluição dos solutos, o detector UV, Modelo VARIAN 9050®, com comprimento de onda de 280nm. A sensibilidade do detector foi de 0,005 A.U.F.S. (detecção de alfa-tocoferol e acetato de alfa-tocoferol a 280nm). Para processar estes resultados foram utilizados amplificadores e controles eletrônicos que convertem a resposta do detector num sinal de saída para o integrador e o registrador de dados. Foi utilizado o programa *L. C. Star Workstation* previamente preparado pela VARIAN®, para realizar esta conversão.

A montagem do método e a execução da pesquisa foram efetuadas no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

### **3.9.1. Curva padrão**

Para a quantificação da amostra foram usadas curvas padrão externas com calibração linear. Para a vitamina E (alfa-tocoferol) e o acetato de alfa-tocoferol, que é o padrão interno, foram utilizados 4 pontos para cada curva, com 3 repetições para cada ponto.

A calibração de cada curva padrão foi realizada automaticamente pelo programa *L. C. Star Workstation* e os resultados foram baseados no cálculo do coeficiente de correlação (R<sup>2</sup>) para a vitamina E foi 0,994 e para o acetato de tocoferol foi 0,999.

A cada dia em que foram passadas as amostras, também foi realizada uma verificação da curva padrão. Esta verificação foi realizada diariamente quando se injetavam todos os padrões em quantidades previamente conhecidas, e programava-se o aparelho para quantificar estes valores e a porcentagem de desvio em relação à curva padrão. O desvio máximo permitido para cada verificação realizada foi de 15%, conforme recomendação do fabricante.

### **3.9.2. Reativos**

Foram utilizados reativos grau HPLC da MALLINCKRODT ChromAR®HPLC para a fase móvel. Para a curva padrão, utilizaram-se reativos *Sigma Chemical Company®*.

Os padrões correspondem à seguinte identificação:

- Vitamina E - alfa-Tocoferol – sigma (T3251) grau HPLC;
- Acetato de alfa-Tocoferol – Fluka (95250) grau HPLC

Para o preparo de cada ponto da curva padrão, foram utilizadas diluições a partir de uma solução estoque. A solução estoque de vitamina E continha  $110,3 \times 10^3 \mu\text{mol/l}$ . Paralelamente foi preparada uma solução A contendo  $441,2 \mu\text{mol/l}$ . A partir dessa solução A foram preparados 4 pontos da curva padrão, correspondendo respectivamente a  $10,60 \mu\text{mol/l}$ ,  $21,20 \mu\text{mol/l}$ ,  $42,29 \mu\text{mol/l}$  e  $84,59 \mu\text{mol/l}$ .

A solução estoque de acetato de tocoferol continha  $15 \text{ nmol/l}$ . A partir desta solução foram preparados 4 pontos da curva padrão, correspondendo respectivamente a  $4,75 \mu\text{mol/l}$ ,  $9,50 \mu\text{mol/l}$ ,  $19,01 \mu\text{mol/l}$ ,  $38,02 \mu\text{mol/l}$ .

### **3.10. Determinação dos lipídios plasmáticos**

#### **Método**

Pela impossibilidade de obter amostras de sangue suficientes para determinar os lipídios seqüencialmente em todos os recém-nascidos, analisamos os lipídios em 11 amostras do cordão, 10 amostras do 14º dia de vida e 6 amostras do 28º dia de vida.

#### **Determinação dos lipídios**

Para determinação dos lipídios foi utilizado o aparelho DIMENSION® RXL da Behring®, sendo o colesterol dosado pelo método Cholesterol Flex®, os triglicérides dosados pelo método Tryglicerides Flex®, o HDL pela automação HDL Cholesterol Flex®. O VLDL foi calculado a partir dos triglicérides (20% dos triglicérides), enquanto o LDL foi calculado pela Equação de Friedewald [LDL = colesterol – (HDL + 1/5 Triglicérides)].

### **3.11. Métodos estatísticos**

As variáveis numéricas serão apresentadas como mediana e quartis e / ou média e desvio – padrão e as categóricas como porcentagem.

Foram analisadas e comparadas as amostras provenientes de mães e recém-nascidos da Faculdade de Medicina de Botucatu e mães e recém-nascidos da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba, pelo teste não paramétrico de Mann Whitney, a fim de verificar se as amostras eram homogêneas (SIEGEL & CASTELLAN, 2006) (Anexo 3).

A comparação entre as variáveis quantitativas: idade materna, número de gestações, número de consultas de pré-natal, idade gestacional, boletim de Apgar,

peso de nascimento, comprimento do recém-nascido, perímetro cefálico, tempo de nutrição parenteral e de internação em UTI e vitamina E no cordão e nos recém-nascidos entre os dois serviços, foi realizada, considerando-se o procedimento não paramétrico de Mann - Whitney (SIEGEL & CASTELLAN, 2006) (Anexo 3).

Para a análise dos resultados foram utilizados testes não paramétricos, levando-se em consideração a variabilidade das medidas realizadas.

Foram aplicados os seguintes testes:

- a. Teste de Wilcoxon (SIEGEL & CASTELLAN, 2006) com o objetivo de comparar as mães e respectivos cordões em relação à vitamina E plasmática
- b. Análise de variância de Friedman (SIEGEL & CASTELLAN, 2006) com a finalidade de comparar os valores de vitamina E do cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia. A mesma análise foi aplicada para comparar os valores da vitamina E total recebida nos períodos do 1<sup>o</sup> ao 7<sup>o</sup> dia, do 8<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup> dia, do 15<sup>o</sup> ao 21<sup>o</sup> dia e do 22<sup>o</sup> ao 28<sup>o</sup> dia.
- c. Teste de Kruskal-Wallis (SIEGEL & CASTELLAN, 2006) com o objetivo de comparar a vitamina E parenteral recebida pelo recém-nascido nos períodos 1<sup>o</sup> ao 14<sup>o</sup> dia e do 15<sup>o</sup> ao 28<sup>o</sup> dia. O mesmo teste foi aplicado para a vitamina E recebida por via enteral nos mesmos períodos.
- d. Coeficiente de correlação de Spearman (SIEGEL & CASTELLAN, 2006), para estudar as correlações entre as quantidades de vitamina E recebidas e a vitamina E plasmática no 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia; para as correlações das frações lipídicas e a vitamina E plasmática nos momentos analisados; para as correlações das razões vitamina E / frações lipídicas e a vitamina E plasmática nos momentos analisados.

Foi utilizado o programa de informática BioStat 2.0 para Windows, para as análises estatísticas das vitaminas.

Para a análise das frações lipídicas e das razões vitamina E / fração lipídica no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia, foi ajustado um modelo no tempo, levando-se em conta a dependência entre as observações nos três momentos. Esse ajuste, também levou em conta, um modelo linear generalizado no tempo, supondo uma distribuição Gama para as observações (distribuição assimétrica) e o efeito tempo considerado como aleatório. As comparações entre os tempos foram feitas através da opção DIFF da PROC GENMOD do programa SAS for Windows versão 9.1.

Em todos os testes foi considerado o nível de significância de 5% ou o P de 0,05.

### **3.12. Análise amostral**

Com base no estudo de Zoeren- Grobber e colaboradores (1997), que mostrou que os valores médios de vitamina E, aumentam cerca de cinquenta por cento entre o nascimento e catorze dias de vida, e que variam trinta por cento, do décimo quarto ao vigésimo oitavo dia, com desvio padrão de 0,4, poder do teste de 80% e o erro alfa de 5%, foi calculado o número mínimo de amostras de 24 pacientes

## RESULTADOS

---

## 4. Resultados

### 4.1. Características gerais da amostra estudada

As características gerais dos vinte e oito recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, incluindo a análise dos dados maternos referentes ao estudo, estão apresentadas a seguir em tabelas e/ou figuras.

Na Tabela 1 são apresentadas as características gerais das mães e dos recém-nascidos.

**Tabela 1** – Características gerais. Mediana (Md), 1º (Q<sub>1</sub>) e 3º (Q<sub>3</sub>) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (s) da amostra estudada.

Variáveis (N=28)	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
Idade materna (anos)	26 (21; 33)	27 ± 7
Gestações anteriores	1 (1; 3)	2 ± 1
Consultas de pré-natal	5 (5; 7)	6 ± 3
Idade gestacional (semanas)	30 (28; 31)	29,6 ± 2,4
Peso ao nascer (g)	1250 (1087; 1360)	1194 ± 205
Apgar 1 min	5 (3; 7)	4,8 ± 2,5
Apgar 5 min	7 (7; 9)	7,5 ± 1,9
Comprimento (cm)	39 (36; 40)	37,9 ± 2,6
Perímetro cefálico (PC)	27,5 (26,4; 28)	27,2 ± 1,8
Tempo de NPP (dias)	11 (10; 21)	14,16 ± 7,8
Tempo de UTI (dias)	14 (6,7; 25,7)	14,0 ± 9,9

## 4.2. Doenças e complicações presentes nos recém-nascidos

Por se tratarem de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, houve associação com algumas doenças no transcorrer da pesquisa (Anexos 3 e 6). Catorze recém-nascidos desenvolveram síndrome do desconforto respiratório (50%) assim distribuídos: quatro recém-nascidos apresentaram síndrome do desconforto respiratório grau I (14,28%), quatro tiveram grau dois (14,28%), dois grau III (7,14%) e quatro grau IV (14,28%). Desses todos, quatro (28,57%) receberam duas doses de surfactante e seis (42,85%) deles apenas uma dose, sendo que os demais (28,58%) não receberam qualquer dose.

Quanto à oxigenoterapia, vinte e um dos recém-nascidos (75%) foram submetidos a algum tipo de uso (CPAP e/ou ventilação mecânica), por tempo variável (desde 1 dia até 28 dias ou mais).

A hemorragia peri-intraventricular foi diagnosticada em onze recém-nascidos (39,28%), sendo sete de grau I (25%), três de grau III (10,7%) e um de grau IV (3,58%).

Houve onze casos (39,28%) de persistência do canal arterial diagnosticados, sendo que um necessitou correção cirúrgica (3,28%).

A doença pulmonar crônica do recém-nascido (displasia bronco-pulmonar) foi diagnosticada em nove recém-nascidos (32,14%).

Em três (10,70%) houve aparecimento de hipertensão pulmonar, e dezenove (67,85%) evoluíram com quadro de sepse neonatal.

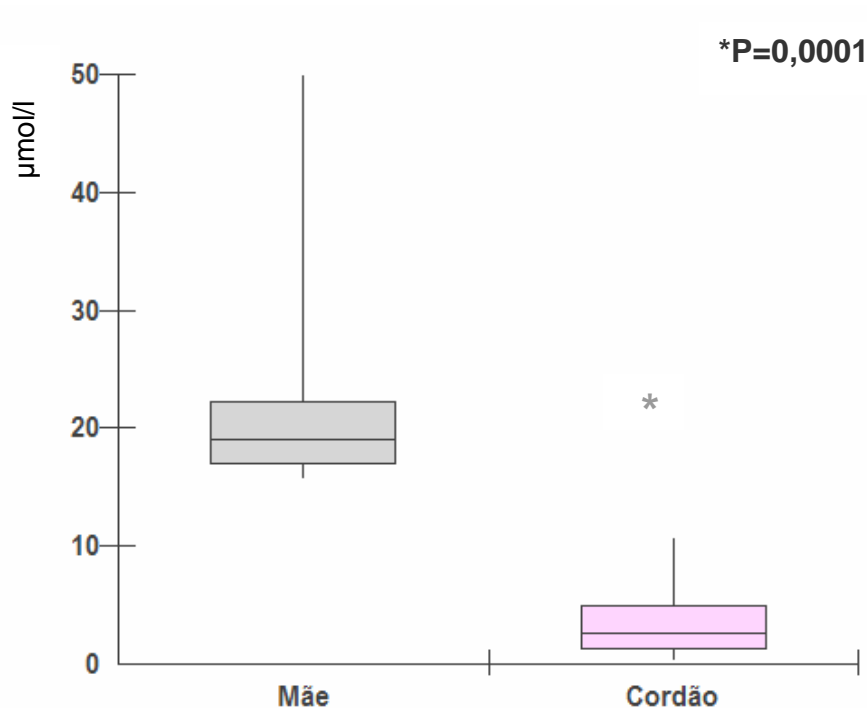
### 4.3. Características da amostra estudada segundo a vitamina E

Ao analisar a vitamina E plasmática em  $\mu\text{mol/l}$ , nas mães e no cordão de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, observou-se que as concentrações foram significativamente maiores nas mães que no cordão ( $P = 0,0001$ ) (Tabela 2 e Figura 3).

**Tabela 2** – Análise da vitamina E plasmática em  $\mu\text{mol/l}$ . Mediana (Md), 1° (Q1) e 3° (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S), das mães e do cordão.

N=28	MÃE	CORDÃO
Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	19,07 (16,95; 22,25)	2,66* (1,30; 4,89)
$\bar{X} \pm S$	21,93 $\pm$ 8,23	3,44 $\pm$ 2,75

Análise estatística: teste de Wilcoxon: \* ( $P=0,0001$ )  
Fator de correção de mg/dl para  $\mu\text{mol/l} = 23,22$



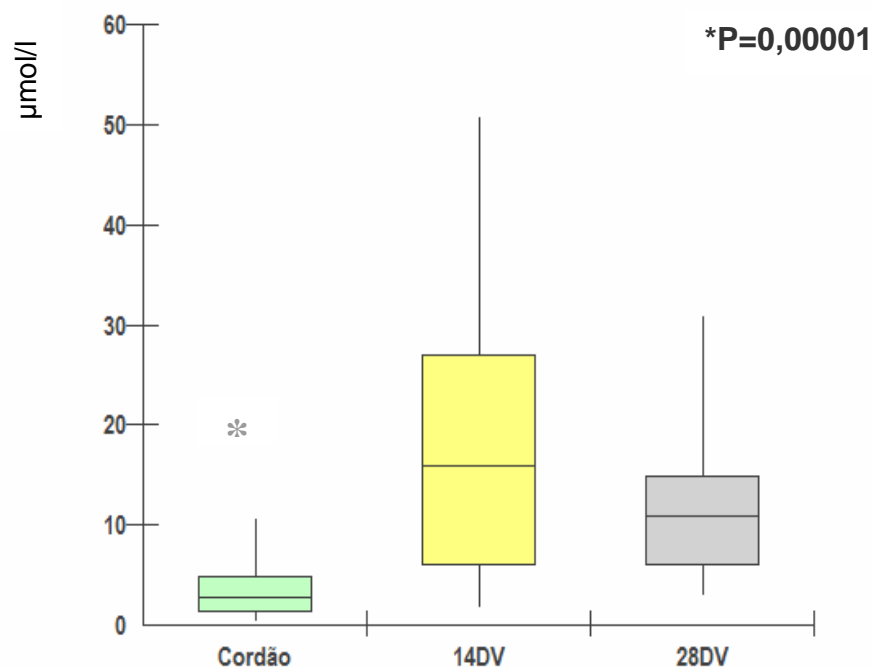
**Figura 3** – Comparação entre as medianas de vitamina E plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ) em mães e em cordão de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso.

A análise da vitamina E plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ) de recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia de vida mostrou diferença significativa entre a vitamina E do cordão e 14<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,00001$ ) e a vitamina E do cordão e do 28<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,00001$ ), sendo menor no cordão em ambos. Não houve diferença significativa entre a vitamina E do 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia de vida (Tabela 3 e Figura 4).

**Tabela 3** – Análise da vitamina E plasmática em  $\mu\text{mol/l}$ . Mediana (Md), 1<sup>o</sup> (Q1) e 3<sup>o</sup> (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S), do cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias de vida.

N=28	CORDÃO	14 <sup>o</sup> dia de vida	28 <sup>o</sup> dia de vida
Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	2,66 <sup>a</sup> (1,30; 4,89)	15,98 <sup>b</sup> (6,03; 26,93)	10,81 <sup>b</sup> (5,98; 14,92)
$\bar{X} \pm S$	3,44 $\pm$ 2,75	18,36 $\pm$ 13,98	12,04 $\pm$ 7,13

Análise estatística: teste de Friedman: a<b ( $P=0,00001$ )  
Fator de correção de mg/dl para  $\mu\text{mol/l} = 23,22$



**Figura 4** – Comparação entre as medianas de vitamina E plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ) no cordão, com 14 e 28 dias de vida em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso.

A fim de observar o comportamento da vitamina E recebida pelos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, durante os primeiros vinte e oito dias de vida, e determinar sua influência na vitamina E plasmática, analisou-se a vitamina E total (parenteral e enteral) recebida, em mg por quilograma de peso por dia. Analisou-se também em separado, a vitamina E recebida por via parenteral e por via enteral, por quilograma de peso por dia. Essas análises foram realizadas em períodos: do primeiro ao décimo quarto dia, e do décimo quinto ao vigésimo oitavo dia (Tabela 4).

Houve diferença significativa, entre a vitamina E total recebida, em mg por quilograma de peso por dia, nos períodos divididos entre o 1º e 14º dias de vida e 15º e 28º dias de vida (Tabela 4), sendo maior no segundo período ( $P = 0,00001$ ).

Por via parenteral em mg por quilograma de peso por dia, nos períodos de um a catorze dias e de quinze a vinte e oito dias, a análise demonstrou, que não houve diferença significativa ( $P = 0,2031$ ) (Tabela 4).

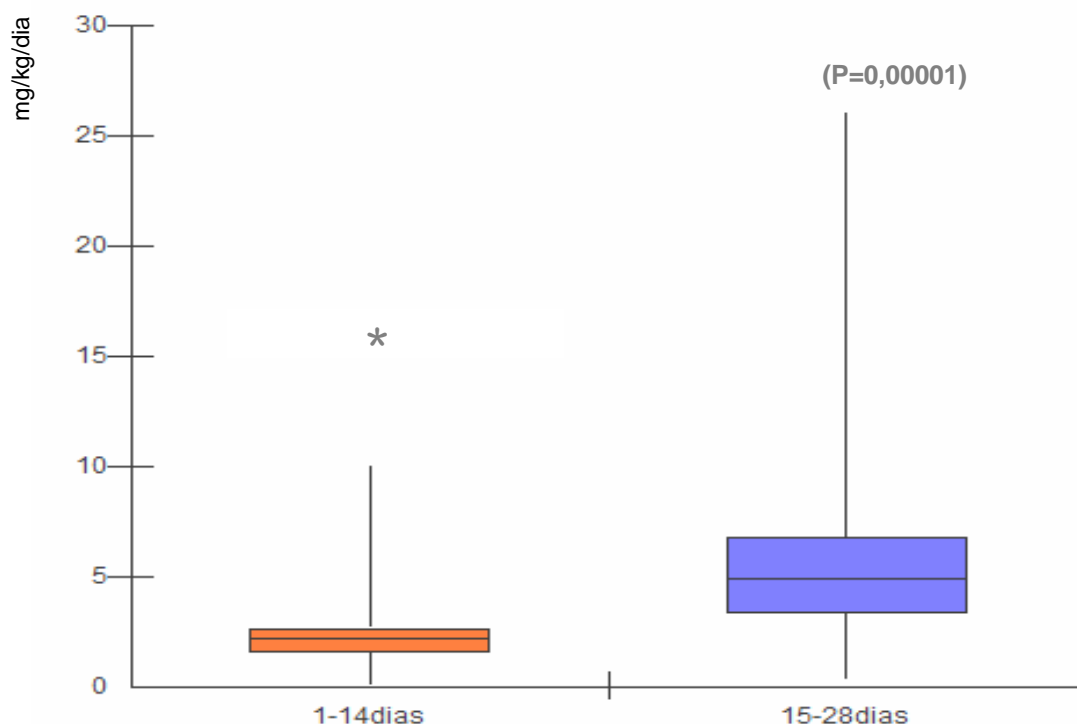
Por via enteral em mg por quilograma de peso por dia, nos períodos de um a catorze dias e de quinze a vinte e oito dias, observou-se diferença significativa ( $P=0,00001$ ), sendo menor no período de um a catorze dias em relação ao período de quinze a vinte e oito dias (Tabela 4).

**Tabela 4** – Vitamina E total (parenteral e enteral) recebida, parenteral recebida e enteral recebida, em mg/kg/dia. Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S), de um a catorze dias e de quinze a vinte e oito dias

N=23	Vit E tota recebida (mg/kg/dia)		Vit E parenteral recebida (mg/kg/dia)		Vit E enteral recebida (mg/kg/dia)	
	1º - 14º dias	15º - 28º dias	1º - 14º dias	15º - 28º dias	1º - 14º dias	15º - 28º dias
Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	2,20* (1,63; 2,64)	4,87 (3,38; 6,78)	1,77 (1,54; 2,15)	2,77 (2,12; 2,88)	1,39* (0,57; 2,17)	3,82 (3,11; 5,54)
$\bar{X} \pm S$	2,42 ± 1,94	6,94 ± 6,20	1,75 ± 0,65	2,22 ± 1,19	1,82 ± 2,42	4,72 ± 3,82
Valores de P	*(P = 0,00001)		n.S		*(P = 0,00001)	

Análise estatística: Teste de Mann Whitney

A figura 5 mostra a representação gráfica das medianas e quartis da vitamina E total recebida do 1º ao 14º dia de vida e do 15º ao 28º dias de vida em mg por quilograma de peso por dia.



**Figura 5** – Comparação entre as medianas da vitamina E total (parenteral e enteral) (mg/kg/d) recebida pelos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso no período de 1 a 14 dias e de 15 a 28 dias de vida

Para melhor evidenciar a quantidade recebida, cada um dos dois períodos foi dividido em semanas, o que resultou na análise da vitamina E recebida nas quatro primeiras semanas. A análise da vitamina E total recebida, parenteral e enteral, por quilograma por dia, foi realizada de um a sete dias; de oito a catorze dias; de quinze a vinte e um dias e de vinte e dois a vinte e oito dias de vida e os resultados encontram-se na Tabela 5. Em cinco recém-nascidos não foi possível encontrar os dados referentes à nutrição, e, portanto a casuística se resumirá a 23 casos. Dentre os vinte e três recém-nascidos, onze (47,8%) não receberam nutrição parenteral e doze (52,2%) receberam, sendo que dez receberam do 1º ao 7º dia, nove do 8º ao 14º dia, quatro do 15º ao 21º dia e três do 22º ao 28º dia.

Em mg/kg/dia, a análise dos dados da vitamina E total recebida demonstrou que houve diferença significativa ( $P=0,00001$ ), de um a sete dias em relação aos períodos referentes ao 8º até 14º dia, 15º a 21º dia e 22º a 28º dia, sendo menor do 1º ao 7º dia em relação aos demais (Tabela 5). Não houve diferença significativa entre os demais períodos analisados (Tabela 5).

Na análise da vitamina E recebida por via parenteral por quilograma de peso por dia, não houve diferença significativa entre os períodos ( $P = 0,1489$ ) (Tabela 5).

Na análise da vitamina E recebida por via enteral, em mg/kg/d, houve diferença significativa ( $P = 0,00001$ ) entre os períodos, sendo o primeiro período (1º ao 7º dia) menor em relação aos demais períodos e o período do 8º ao 14º dias, menor em relação ao período do 15º ao 21º dias e do 22º até o 28º dias de vida. Não houve diferença significativa na análise dos demais períodos (Tabela 5).

**Tabela 5** – Vitamina E total (parenteral e enteral) recebida, parenteral recebida, e enteral recebida em mg/kg/d. Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S), por períodos.

		Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Teste estatístico
Vit E total recebida (mg/kg/dia)	1º - 7º dia (N=23)	1,43 A (0,77; 1,82)	1,36 ± 0,80	*P=0,00001 A < B,C,D
	8º - 14º dia (N=23)	3,35 B (2,90; 4,08)	3,99 ± 4,12	
	15º - 21º dia (N=23)	4,42 C (3,38; 6,30)	5,33 ± 4,12	
	22º - 28º dia (N=23)	4,87 D (3,85; 6,16)	7,49 ± 6,46	
Vit E parenteral recebida (mg/kg/dia)	1º - 7º dia (N=10)	1,71 (1,20; 1,98)	1,75 ± 0,66	† P=0,0864
	8º - 14º dia (N=9)	2,80 (1,90; 2,80)	2,40 ± 0,91	
	15º - 21º dia (N=4)	1,93 (1,04; 2,85)	1,97 ± 1,09	
	22º - 28º dia (N=3)	2,91 (2,85; 3,73)	3,42 ± 0,98	
Vit E enteral recebida (mg/kg/dia)	1º - 7º dia (N=20)	0,55 A (0,17; 0,89)	0,69 ± 0,66	† P=0,00001 A < B, C, D; B < C, D
	8º - 14º dia (N=22)	2,79 B (0,97; 3,74)	3,18 ± 4,46	
	15º - 21º dia (N=23)	3,86 C (3,37; 5,69)	4,90 ± 4,23	
	22º - 28º dia (N=23)	3,98 D (3,39; 5,97)	7,04 ± 6,71	

Teste estatístico: \*Teste de Friedman; † Teste de Kruskal-Wallis

Quando se faz a correlação da vitamina E total (parenteral e enteral) e separadamente parenteral e enteral, recebida pelos recém-nascidos de muito baixo peso no período de 1 a 14 dias e no período de 15 a 28 dias de vida, com a vitamina E plasmática do 14º e 28º dias respectivamente, não se observou correlação significativa entre as vitaminas E recebidas nos períodos e a vitamina E plasmática (Tabela 6).

**Tabela 6** – Correlação entre as quantidades de vitamina E recebidas (mg/kg/dia) no período de 1 a 14 dias e no período de 15 a 28 dias com a vitamina E plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ) no 14º e 28º dia (valor de rs e nível de significância).

	N=23	Vitamina E 14º dia de vida	Vitamina E 28º dia de vida
Vitamina E total recebida em mg/kg/dia	1º-14º dias	rs = -0,33 P = 0,1150	rs = 0,22 P = 0,9180
	15º-28º dias	Sem significado prático	rs = -0,21 P = 0,3167
Vitamina recebida VO em mg/kg/dia	1º-14º dias	rs = -0,02 P = 0,9109	rs = -0,10 P = 0,6279
	15º-28º dias	Sem significado prático	rs = -0,10 P = 0,6279
Vitamina recebida EV em mg/kg/dia	1º-14º dias	rs = -0,29 P = 0,1690	rs = -0,15 P = 0,4743
	15º-28º dias	Sem significado prático	rs = 0,08 P = 0,7142

Análise estatística Correlação de Spearman

#### 4.4. Características da amostra estudada segundo os lipídios

Considerando a importância da relação entre lipídios e vitamina E, frações lipídicas serão apresentadas na Tabela 7 e as razões entre a vitamina E / fração lipídica, estarão apresentadas na Tabela 9.

**Tabela 7** – Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) das frações lipídicas em mmol/l no cordão, 14º e 28º dias de vida.

	Cordão (N=11)		14º dia de vida (N=10)		28º dia de vida (N=6)	
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
CHOL	1,84 (1,13; 3,24)	2,57 ± 2,38	2,40 (2,09; 3,60)	2,74 ± 1,46	3,11 (2,07; 3,30)	2,63 ± 1,16
TGL	0,53 (0,44; 0,71)	0,73 ± 0,62	0,78 (0,56; 1,20)	0,89 ± 0,42	0,93 (0,79; 1,10)	1,11 ± 0,56
HDL	0,62 (0,41; 0,76)	0,78 ± 0,64	0,89 (0,84; 1,04)	0,91 ± 0,52	1,00 (0,41; 1,57)	0,98 ± 0,74
VLDL	0,24 (0,21; 0,33)	0,34 ± 0,30	0,36 (0,26; 0,55)	0,41 ± 0,19	0,43 (0,36; 0,26)	0,51 ± 0,26
LDL	1,00 (0,35; 1,68)	1,45 ± 1,78	1,02 (0,75; 1,94)	1,42 ± 1,09	1,11 (1,02; 1,44)	1,14 ± 0,51

Fator de correção para o CHOL: 1 mg/dl= 0,0259mmol/l; Fator de correção para o HDL: 1 mg/dl= 0,0259mmol/l; Fator de correção para o TGL: 1 mg/dl= 0,0113mmol/l; Fator de correção para o VLDL: 1 mg/dl= 0,0259mmol/l; Fator de correção para o LDL: 1 mg/dl= 0,0259mmol/l

Para a comparação das frações lipídicas em relação ao tempo, para os momentos estudados, utilizou-se a opção DIFF da PROC GENMOD do SAS for Windows versão 9.1, agrupando-se todas as amostras. Não se observou diferença significativa em relação às frações lipídicas quando se compararam os valores do cordão e 14º dia de vida, do cordão e 28º dia de vida e do 14º ao 28º dia de vida (Tabela 8).

**Tabela 8** – Comparação das frações lipídicas em relação ao tempo nos momentos estudados: cordão, 14º e 28º dias de vida. Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) da vitamina E em  $\mu\text{mol/l}$  e a fração lipídica em  $\text{mmol/l}$ .

(N=27)	Md (1º Q; 3º Q)	$\bar{X} \pm S$	Cordão vs. 14º dia	Cordão vs. 28º dia	14º dia vs. 28º dia
CHOL	2,27 (1,27; 8,23)	2,64 $\pm$ 1,78	P = 0,8264	P = 0,9433	P = 0,8300
TGL	0,72 (0,50; 1,13)	0,87 $\pm$ 0,53	P = 0,5037	P = 0,2365	P = 0,3946
HDL	0,82 (0,40; 1,30)	0,87 $\pm$ 0,60	P = 0,5555	P = 0,3296	P = 0,7690
VLDL	0,51 (0,23; 0,33)	0,39 $\pm$ 0,25	P = 0,5595	P = 0,2601	P = 0,3709
LDL	1,06 (0,60; 1,76)	1,36 $\pm$ 1,30	P = 0,9630	P = 0,4645	P = 0,8995

Teste estatístico pelo: GENMOD

Quando se efetuou a correlação entre a vitamina E no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias de vida com as frações lipídicas em cada momento, somente observaram-se correlações significantes positivas entre o colesterol ( $r_s = 0,68$  e  $P = 0,0208$ ), o HDL ( $r_s = 0,71$  e  $P = 0,0133$ ) e o LDL ( $r_s = 0,60$  e  $P = 0,0509$ ), do cordão e a vitamina E do cordão (Tabela 9). Nas demais correlações, não se observaram significâncias (Tabela 9).

**Tabela 9** – Correlação entre a fração lipídica em mmol/l com a vitamina E plasmática em  $\mu\text{mol/l}$  no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias de vida (valor de  $r_s$  e nível de significância).

Fração Lipídica \ Vitamina E	Vitamina E no cordão (N=11)	Vitamina E no 14 <sup>o</sup> dia (N=10)	Vitamina E no 28 <sup>o</sup> dia (N=6)
CHOL	$r_s = 0,68$ $P = 0,0208^*$	$r_s = 0,006$ $P = 0,9867$	$r_s = 0,08$ $P = 0,8717$
TGL	$r_s = 0,41$ $P = 0,2048$	$r_s = -0,05$ $P = 0,8810$	$r_s = -0,54$ $P = 0,2656$
HDL	$r_s = 0,71$ $P = 0,0133^*$	$r_s = 0,20$ $P = 0,5784$	$r_s = 0,25$ $P = 0,6228$
VLDL	$r_s = 0,41$ $P = 0,2048$	$r_s = -0,05$ $P = 0,2048$	$r_s = -0,54$ $P = 0,2656$
LDL	$r_s = 0,60$ $P = 0,0509^*$	$r_s = 0,22$ $P = 0,5334$	$r_s = 0,02$ $P = 0,9572$

Teste estatístico: Correlação de Spearman

#### 4.5. Razão entre vitamina E plasmática e lipídios plasmáticos (Vitamina E / Fração lipídica)

As características das razões vitamina E / fração lipídica em cada momento analisado (cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia de vida) expressas em  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ , estão representadas na Tabela 10.

**Tabela 10** – Mediana (Md), 1<sup>o</sup> (Q1) e 3<sup>o</sup> (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) da razão entre a vitamina E plasmática e a fração lipídica ( $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ) no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia de vida.

	Cordão (N=11)		14 <sup>o</sup> dia de vida (N=10)		28 <sup>o</sup> dia de vida (N=6)	
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
Vit E/ CHOL	1,36 (1,28; 2,08)	1,84 ± 0,95	11,83 (3,69; 13,01)	10,77 ± 7,85	2,50 (1,62; 7,14)	7,14 ± 9,94
Vit E/ TGL	5,10 (3,21; 8,89)	6,19 ± 4,03	32,05 (11,86; 47,18)	31,96 ± 23,61	4,29 (2,78; 9,39)	13,59 ± 13,51
Vit E/ HDL	6,03 (3,71; 6,82)	11,01 ± 18,46	30,44 (11,37; 51,49)	43,69 ± 47,41	11,84 (5,17; 67,94)	70,12 ± 144,41
Vit E/ VLDL	11,09 (7,14; 19,18)	13,49 ± 8,80	70,99 (26,46; 104,00)	70,67 ± 52,39	15,61 (7,95; 29,49)	29,76 ± 30,22
Vit E / LDL	2,87 (2,32; 6,59)	5,76 ± 5,83	22,09 (8,12; 36,44)	(24,02 ± 18,14)	5,54 (3,69; 17,19)	17,25 ± 23,52

#### **4.6. Comparação da razão da Vitamina E / fração lipídica no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia de vida**

Através da utilização da opção DIFF do PROC GENMOD do SAS for Windows versão 9.1, agrupou-se todas as amostras. Foram analisadas as razões vitamina E / fração lipídica das amostras agrupadas em relação ao tempo nos momentos analisados (cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia). Os resultados obtidos dessa análise estão apresentados na tabela 11.

Observou-se que houve diferença significativa em relação à razão vitamina E / colesterol quando se compararam os valores do cordão e 14<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,0001$ ) e do cordão e 28<sup>o</sup> dia de vida ( $0,0010$ ). Não se observou diferença significativa na comparação dos valores do 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,5469$ ) (Tabela 11). Em relação à razão vitamina E / triglicérides, houve diferença significativa entre cordão e 14<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,0001$ ) e cordão e 28<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,0382$ ). Não houve diferença significativa entre as razões vitamina E / frações lipídicas do 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,1348$ ) (Tabela 11).

Em relação à razão vitamina E / HDL, houve diferença significativa ( $P = 0,0206$ ) entre cordão e 28<sup>o</sup> dia de vida. Nas demais análises desta razão não houve diferença significativa (cordão vs. 14<sup>o</sup> dia de vida  $P = 0,1374$  e 14<sup>o</sup> dia vs. 28<sup>o</sup> dia de vida  $P = 0,5612$ ) (Tabela 11). Na análise da razão vitamina E / VLDL, houve diferença significativa entre os dados do cordão e 14<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,0001$ ) e do cordão e 28<sup>o</sup> dia de vida ( $0,00374$ ). Não houve diferença significativa em relação aos dados analisados dessa razão, entre o 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias de vida ( $P = 0,1336$ ) (Tabela 11). Com relação à razão vitamina E / LDL houve diferença significativa na análise dos dados do cordão e 14<sup>o</sup> dia de vida ( $P = 0,0100$ ).

Entre os dados do cordão e 28º dia de vida  $P = 0,0699$  e do 14º e 28º dias de vida  $P = 0,5982$ , portanto, não houve diferença significativa (Tabela 11).

**Tabela 11** – Comparação das razões vitamina E / frações lipídicas em relação ao tempo nos momentos estudados. Mediana (Md), 1º (Q1) e 3º (Q3) quartis, média ( $\bar{X}$ ) e desvios padrão (S) da razão vitamina E/fração lipídica em  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ .

(N=27)	Md (1º Q; 3º Q)	$\bar{X} \pm S$	Cordão vs. 14º dia	Cordão vs. 28º dia	14º dia vs. 28º dia
VitE / CHOL	2,72 (1,48; 11,82)	6,32 $\pm$ 7,55	$P = 0,0001$	$P = 0,0010$	$P = 0,5469$
VitE/ TGL	8,76 (4,20; 25,04)	17,37 $\pm$ 19,35	$P = 0,0001$	$P = 0,0382$	$P = 0,1348$
VitE/ HDL	9,61 (4,50; 32,73)	36,25 $\pm$ 75,99	$P = 0,1354$	$P = 0,0206$	$P = 0,5612$
VitE/ VLDL	18,98 (8,79; 55,23)	38,28 $\pm$ 42,88	$P = 0,0001$	$P = 0,0374$	$P = 0,1336$
VitE /LDL	5,60 (3,04; 22,74)	15,07 $\pm$ 17,38	$P = 0,0100$	$P = 0,0699$	$P = 0,5982$

Teste estatístico pelo: GENMOD

Quando se fez a correlação entre a vitamina E plasmática do cordão, 14º e 28º dias de vida e a razão vitamina E / fração lipídica desses momentos estudados, foram observadas correlações significantes, positivas, em relação à vitamina E do cordão e as razões vitamina E / triglicérides ( $r_s = 0,77$  e  $P = 0,053$ ) e vitamina E / VLDL ( $r_s = 0,77$  e  $P = 0,053$ ) (Tabela 12). Não houve significância nas demais correlações da vitamina E do cordão e as razões vitamina E / fração lipídica do cordão (Tabela 12).

As correlações da vitamina E do 14º dia de vida e as razões vitamina E / fração lipídica, demonstraram correlação significativa positiva entre vitamina E / triglicérides ( $r_s = 0,75$  e  $P = 0,0133$ ) e vitamina E / VLDL ( $r_s = 0,75$  e  $P = 0,0133$ ) (Tabela 12). As demais correlações da vitamina E no 14º dia de vida e razões vitamina E / fração lipídica no 14º dia de vida, não demonstraram correlação significativa (Tabela 12).

Nas correlações da vitamina E do 28º dia de vida e as razões vitamina E / fração lipídica, houve correlação significativa positiva entre vitamina E / triglicérides ( $r_s = 0,82$  e  $P = 0,0415$ ), vitamina E / VLDL ( $r_s = 0,82$  e  $P = 0,0415$ ) e vitamina E / LDL ( $r_s = 0,94$  e  $P = 0,048$ ) (Tabela 12). Nas demais correlações da vitamina E no 28º dia de vida e razões vitamina E / fração lipídica no 28º dia de vida, não houve correlação significativa (Tabela 12).

**Tabela 12** – Correlação entre a razão vitamina E/ fração lipídica em  $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  e a vitamina E plasmática em  $\mu\text{mol}/\text{l}$  no cordão e 14º dia de vida (valor de  $r_s$  e nível de significância).

Razão Vit E / fração lipídica	Vitamina E	Vitamina E no cordão (N=11)	Vitamina E no 14º dia (N=10)	Vitamina E no 28º dia (N=6)
Vit E / CHOL		$r_s = 0,19$ $P = 0,5637$	$r_s = 0,66$ $P = 0,0375^*$	$r_s = 0,77$ $P = 0,0723$
Vit E / TGL		$r_s = 0,77$ $P = 0,0053^*$	$r_s = 0,75$ $P = 0,0133^*$	$r_s = 0,82$ $P = 0,0415^*$
Vit E / HDL		$r_s = 0,12$ $P = 0,7092$	$r_s = 0,46$ $P = 0,1739$	$r_s = 0,7143$ $P = 0,1107$
Vit E / VLDL		$r_s = 0,77$ $P = 0,0053^*$	$r_s = 0,74$ $P = 0,0133^*$	$r_s = 0,82$ $P = 0,0415^*$
Vit E / LDL		$r_s = 0,07$ $P = 0,8317$	$r_s = 0,66$ $P = 0,0983$	$r_s = 0,94$ $P = 0,0048^*$

Teste estatístico: Correlação de Spearman

DISCUSSÃO

---

## **5. Discussão**

### **5.1. Casuística e método**

Foram coletadas amostras em duas instituições universitárias diferentes. As amostras das duas populações foram reunidas após análise estatística mostrando que não houve diferença significativa quando se determinou a vitamina E nas amostras de Botucatu e de Sorocaba no 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias de vida. Análise semelhante foi realizada em relação à vitamina E do cordão nas duas populações. Embora tenha ocorrido diferença significativa nas amostras do cordão (Anexo 3), como apresentavam comportamento semelhante, isto é, as concentrações da vitamina E nessas amostras, tanto nos recém-nascidos de Botucatu como nos recém-nascidos de Sorocaba foram menores que na mãe, no 14<sup>o</sup> e no 28<sup>o</sup> dias, essas amostras foram reunidas para obter-se casuística maior e, conseqüentemente, chegar-se a resultados mais conclusivos.

O material de coleta de amostras nessas entidades foi preparado no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, e as dosagens laboratoriais foram realizadas simultaneamente com amostras escolhidas ao acaso.

## **5.2. Método de dosagem da vitamina E**

O método utilizado para a dosagem da vitamina E foi a Cromatografia Líquida de Alta Resolução, o mais empregado, visto que é sensível para amostras com baixas concentrações e pequenos volumes de sangue (ARNAUD et al., 1991).

Cuidados foram efetuados a fim de diminuir a degradação da vitamina pela luz, bem como reduzir a possibilidade que diferenças na coleta do material, pudessem interferir nos resultados. Assim, imediatamente após a dequitação, a placenta era coberta com campo cirúrgico escuro e a coleta do sangue de veia da placenta era efetuada, tanto quanto possível, em ambiente com pouca luz (CELARDO et al., 1989; GANIÈRE-MONTEIL et al., 1994). No décimo quarto e vigésimo oitavo dias de vida, as amostras foram colhidas em ambiente com pouca luz, e o frasco rapidamente protegido com papel alumínio. Após passar em nitrogênio gasoso, os tubos foram fechados, e imediatamente congelados em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  e transportados em geladeiras de isopor com gelo, e armazenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, para posterior dosagem.

## **5.3. Discussão dos resultados**

### **5.3.1. Importância da vitamina E**

A vitamina E tem sido fonte de preocupação para neonatologistas e pesquisadores em metabolismo e fisiologia neonatal.

Os recém-nascidos prematuros expostos à oxigenoterapia apresentam maiores riscos de doenças relacionadas com a prematuridade e que são importantes causas de morbidade e mortalidade neonatal. Vários fatores têm sido levantados por

contribuírem na origem dessas doenças, desde a baixa idade gestacional até a produção de radicais livres. A susceptibilidade de recém-nascidos de pré-termo ao estresse oxidativo tem sido atribuída, pelo menos parcialmente, à ausência ou deficiência de mecanismos de defesa antioxidante (CHAN et al., 1999).

A vitamina E é considerada como importante 'limpadora' (*scavenger*) dos radicais livres. É parte integrante das membranas celulares, onde exerce a função de prevenção na peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados (BÖHLES,1997). O aumento da vitamina E produz melhora na resposta imune, e na agregação plaquetária, devido à inibição da atividade da cicloxigenase plaquetária além de diminuir a produção de tromboxane (MEYDANI et al.,1997).

Em 1938, Widenbauer, pela primeira vez administra óleo de germe de trigo para alimentar dezessete prematuros com ganho de peso deficiente, e onze deles apresentam recuperação nutricional; essa recuperação do peso foi atribuída à vitamina E (BELL, 1987). Desde então muito se tem estudado sobre a vitamina E, sem, contudo, chegar-se a um consenso quanto às necessidades, em especial nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso.

A vitamina E, apesar de ter sido descoberta na década de 1920, e por ter ocorrido um período onde seu emprego em recém-nascidos foi desencorajado, devido à associação errônea com o óbito de prematuros, ainda é motivo de discussão quanto aos indicadores a serem empregados para definir níveis adequados no plasma de prematuros, e quanto á evolução plasmática das concentrações e necessidades de suplementação. Porém seu uso vem ganhando espaço entre os neonatologistas, por sua ação antioxidante, em especial em recém-nascidos prematuros (TRINDADE & RUGOLO, 2007).

Nesta pesquisa, com vinte e oito recém-nascidos, a média da idade gestacional foi de  $29,4 \pm 2,4$  semanas e média de peso de  $1194 \pm 205$  gramas o que caracteriza uma população cuja imaturidade deve determinar comportamento diferente da vitamina E plasmática em relação a recém-nascidos a termo e mesmo a pré-termo com maior idade gestacional. A população caracterizou-se por apresentar no primeiro minuto de vida Apgar menor ou igual a 5 em cinquenta por cento dos recém-nascidos. Apesar de uma depressão leve no primeiro minuto ocorreu adequada recuperação no quinto minuto. Nessa população, vinte e um prematuros foram submetidos à oxigenoterapia por tempo variável e foram freqüentes as doenças e complicações relacionadas com a prematuridade, tais como displasia broncopulmonar (50%) e a hemorragia peri-intraventricular (39,28%). Embora na etiopatogenia dessas doenças a atuação de radicais livres produzidos pela hiperoxia e pela inflamação sejam fatores importantes, supõe-se que a vitamina E, por sua atuação como antioxidante, deva ter algum papel na prevenção ou mesmo na terapêutica dessas doenças. Entretanto, quase não há referência sobre interferência dessas patologias nos níveis plasmáticos de vitamina E. Huijbers e colaboradores (1986) demonstraram que recém-nascidos prematuros com síndrome do desconforto respiratório, apresentam níveis mais baixos de vitamina E.

### **5.3.2. Níveis plasmáticos de vitamina E e vitamina E recebida**

#### **5.3.2.1. Mãe e cordão**

Observou-se que as concentrações plasmáticas nas mães, cuja mediana foi  $19,07 \mu\text{mol/l}$  foram superiores aos níveis de cordão,  $2,66 \mu\text{mol/l}$ .

Vários estudos relatam níveis da vitamina E em mães e cordão. Thibeault, em revisão sistematizada (2000), relata valores para as mães de 11,60  $\mu\text{mol/l}$  a 46,40  $\mu\text{mol/l}$  e para prematuros no cordão 4,6  $\mu\text{mol/l}$ ; Wu e Chou (2001) em uma população de quinze recém-nascidos cuja idade gestacional variou de 28 a 34 semanas e o peso de 940 a 1980 gramas, determinaram a média materna de  $26,93 \pm 11,91 \mu\text{mol/l}$  e nos recém-nascidos  $3,9 \pm 2,0 \mu\text{mol/l}$ . Entre nós, Barros e colaboradores (2002) determinaram em uma população cuja idade gestacional variou de 36 a 42 semanas e o peso de 2130 a 4210 gramas, a mediana entre os prematuros de 4,64  $\mu\text{mol/l}$  e entre os recém-nascidos a termo 5,8  $\mu\text{mol/l}$ . Nesse trabalho não foram determinados os valores maternos.

Esta observação já havia sido referida na literatura nos trabalhos de Martinez e colaboradores (1981), Haga e colaboradores (1982), Abbasi e colaboradores (1990), Bortolotti e colaboradores (1993), Böhles (1997), Acuff e colaboradores (1998), e também por Bolisetty e colaboradores (2002), por nós em 2002 (apresentado em nossa dissertação de mestrado) e Brion e colaboradores em 2004. Explica-se devido à placenta exercer um mecanismo de barreira à passagem da vitamina E (MARTINEZ et al., 1981). Permanece desconhecido até o momento, o mecanismo que regula a passagem placentária de vitamina E (BRIGELIUS-FLOHÉ et al., 2002; BRION et al., 2007).

É intrigante o fato de que os níveis de vitamina E no sangue da unidade feto-placentária (cordão) sejam significativamente mais baixos do que os níveis maternos, situação observada tanto nesta pesquisa como em referências da literatura, e inferiores aos do recém-nascido no período pós-natal. Hipótese aventada para explicar essa diferença refere-se ao baixo conteúdo de tecido adiposo do feto e do recém-nascido prematuro ao qual

estaria vinculada a vitamina E (KLEIN, 2002). Mais de 90% do *pool* de alfa-tocoferol encontra-se na gordura do tecido adiposo. Recém-nascidos de pré-termo com limitado tecido adiposo apresentariam quantidades limitadas de vitamina E (KLEIN, 2002). Os níveis são baixos e esses recém-nascidos poderiam ser considerados como em risco de apresentar deficiência de vitamina E (níveis inferiores a 11,60  $\mu\text{mol/l}$ ). Entretanto, autores consideram que os níveis expressos como a razão entre a vitamina E / lipídio total são semelhantes entre recém-nascidos e adultos (KLEIN, 2002) e que essa razão seria o melhor indicador do conteúdo de vitamina E. Essa hipótese pode explicar o comportamento no feto, porém não explica o rápido aumento nos níveis de vitamina E que ocorre nas duas primeiras semanas pós-natais, observados nesta pesquisa, bem como na literatura (ZOEREN-GROBBEN et al., 1997). Como especulação, sugerimos que os baixos níveis na unidade feto-placentária possam estar relacionados com a relativa hipoxemia fetal e menor necessidade de vitamina E para atuar como mecanismo antioxidante.

Também se propôs avaliar de forma seqüencial a vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, com observações no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias. Assim, encontrou-se valores menores no cordão (mediana 2,66  $\mu\text{mol/l}$ ) que no décimo quarto dia (mediana de 15,98  $\mu\text{mol/l}$ ) e no vigésimo oitavo dia (mediana de 10,81  $\mu\text{mol/l}$ ) e valores semelhantes no décimo quarto e no vigésimo oitavo dia.

### **5.3.2.2. Suplementação de vitamina E**

Existem poucos estudos com análise seqüencial da vitamina E na literatura em prematuros de muito baixo peso (DELVIN et al., 2005). Zoeren-Grobben e

colaboradores (1997) referem os valores da vitamina E no cordão (9  $\mu\text{mol/l}$ ), 3<sup>o</sup> dia (9  $\mu\text{mol/l}$ ), 7<sup>o</sup> dia (14  $\mu\text{mol/l}$ ) e 14<sup>o</sup> dia de vida (29  $\mu\text{mol/l}$ ). Nessa pesquisa observa-se nítido aumento no 7<sup>o</sup> dia. Anteriormente Moyer, em 1950, havia observado o comportamento da vitamina E nos primeiros seis meses de vida nos recém-nascidos de pré-termo. Encontrou valores médios no cordão de  $0,22 \pm 0,13\text{mg/dl}$  ( $5,10 \pm 3,01$   $\mu\text{mol/l}$ ); com um dia de vida, média de  $0,23 \pm 0,15\text{mg/dl}$  ( $5,11 \pm 3,48$   $\mu\text{mol/l}$ ); com dois meses de idade,  $0,26 \pm 0,16\text{mg/dl}$  ( $6,03 \pm 3,71$   $\mu\text{mol/l}$ ) e com seis meses, média de  $0,50 \pm 0,12\text{mg/dl}$  ( $11,61 \pm 2,78$   $\mu\text{mol/l}$ ). Delvin e colaboradores (2005), em prematuros, com idade gestacional média de 33,5 semanas, referem como valores ao nascimento e aos 90 dias de idade pós-natal para recém-nascidos alimentados com leite materno ou com fórmula especial para prematuros, ambos recebendo suplementação de vitamina E na dose de 5 UI/dia, valores respectivamente de 9,5  $\mu\text{mol/l}$  para 23,3  $\mu\text{mol/l}$  e de 8,4  $\mu\text{mol/l}$  para 22,7  $\mu\text{mol/l}$ . Gross (1993) para prematuros com pesos menores de 1500 gramas e alimentados com leite de pré-termo, leite humano maduro e fórmula para pré-termo, suplementados com 4,1 mg/dl de vitamina E, cita as seguintes concentrações com 1 dia e com 6 semanas, transformados de mg/dl para  $\mu\text{mol/l}$  respectivamente para cada tempo e grupo: (11,61 – 41,79); (9,28 – 32,04); (14,39 – 26,70). Os resultados foram inferiores quando as dietas foram suplementadas com 2 mg de ferro.

Embora a comparação com trabalhos da literatura implique em analisar casuísticas diferentes quanto à idade gestacional, tipo de nutrição, suplementação de vitamina E, e principalmente a gravidade dos casos, pode-se concluir que as concentrações de vitamina E, principalmente as encontradas aos 14 e 28 dias de vida, apresentam-se com níveis médios baixos em relação à literatura, não se conseguindo melhorar aos 28 dias os níveis observados aos 14 dias. Os recém-

nascidos dessa casuística apresentavam idades gestacionais e pesos inferiores aos dos trabalhos citados e número de patologias não referidas nas pesquisas citadas. Na pesquisa de Zoeren-Grobbe e colaboradores (1997) a idade gestacional média foi de 33,3 semanas, o peso de nascimento de 1925 g e os recém-nascidos foram considerados saudáveis.

Para melhor entender esse processo procurou-se saber como foi o comportamento da vitamina E plasmática em função da vitamina E recebida, desde que a vitamina E passa a ser ofertada após o nascimento por via enteral e/ou parenteral. Nessa etapa, a vitamina E efetivamente recebida estará na dependência da quantidade ofertada, do tipo de leite empregado, da absorção intestinal e dos estoques existentes de vitamina E e de lipídios.

Avaliou-se a quantidade de vitamina E total recebida e também separadamente a quantidade por via parenteral e enteral, e a possível influência na vitamina E plasmática. A mediana por kg/peso/dia ofertada no período de 1 – 14 dias foi de 2,20 mg/kg/dia e significativamente menor do que no segundo período (15 – 28 dias) que correspondeu a 4,87 mg/kg/dia. Tanto no primeiro como no segundo períodos predominou a alimentação enteral e dessa, a quantidade de vitamina E total recebida na primeira semana, 1,43 mg/kg/dia, foi significativamente menor em relação às demais semanas. Doze recém-nascidos (52%) receberam nutrição parenteral, e ocorreu em maior número do 1º ao 7º dia (dez recém-nascidos) e do 8º ao 14º dia (nove recém-nascidos). Entretanto a mediana da vitamina E recebida por via parenteral em mg/kg/dia em cada momento, não diferiu do ponto de vista estatístico. O pouco recebimento de vitamina E por via parenteral ocorreu por uma questão de protocolo no qual devem receber nutrição parenteral, como rotina, os recém-nascidos cujo peso ao nascimento é inferior a 1000 g.

A quantidade total ofertada pareceu adequada uma vez que as recomendações são variadas. Assim o Comitê sobre Nutrição da Academia Americana de Pediatria (KLEINMAAN,1998) recomendou que a ingestão de vitamina E exceda 1,1 UI / 100 Kcal. O limite superior tolerável para prematuros de 1500 g foi definido como 21 mg de alfa-tocoferol / dia e para prematuros de 1000 g o equivalente a 14 mg de alfa-tocoferol / dia (KLEIN, 2002). O painel de Especialistas da American Society for Nutritional Sciences para definir os requerimentos de nutrientes para fórmulas de prematuros, cujas recomendações foram reunidas por Klein (2002), considera que prematuros de muito baixo peso alimentados com leite da própria mãe ou com fórmulas para pré-termo, na base de 120 Kcal/kg/dia, adquirem níveis adequados de vitamina E sem necessitar de suplementação. Essa deve ser ministrada para prematuros em parenteral até que a alimentação enteral se estabeleça. Na parenteral, dose diária de 2,8 a 3,5 mg de acetato de alfa-tocoferol mantém concentrações plasmáticas adequadas de 1 – 2 mg / 100ml (GREENE et al., 1988; KLEIN, 2002). O painel de Especialistas recomenda que o mínimo de vitamina E contido em fórmulas deva ser de 2 mg de alfa-tocoferol / 100 Kcal e o máximo de 8 mg/100 Kcal e a razão vitamina E / PUFA deve exceder 1,5mg/g.

Como rotina, os prematuros receberam nutrição enteral mínima com leite materno nos primeiros dias, leite materno / leite de banco com suplementos nutricionais contendo 2,8 UI / 100 ml e fórmula para pré-termo fornecendo 1,8 ou 2,0 UI / 100 ml dependendo da concentração empregada. Oito prematuros receberam 25 unidades de vitamina E / dia após a segunda semana, associada à eritropoetina para tratamento da anemia. Entretanto não houve nesse grupo diferença significativa quando comparados os níveis plasmáticos antes e após a vitamina E. Dez prematuros receberam cinco unidades ao dia de multivitamínico, rotina em um dos serviços. As correlações entre o total ingerido

por kg/dia por prematuro nos dois períodos e seus níveis plasmáticos no décimo quarto e vigésimo oitavo dias não foram significantes. Não houve interferência dos pesquisadores na conduta definida pela equipe médica responsável pelos recém-nascidos.

Delvin e colaboradores (2005) compararam prematuros com idade gestacional média de 33,5 semanas, divididos em dois grupos segundo o tipo de leite: materno ou fórmula para pré-termo contendo 2 mg/dl de vitamina E, e semelhante à utilizada nesta pesquisa. Suplementaram ambos os grupos com 5 mg de acetato de tocoferol desde o dia de inclusão no estudo até 90 dias de idade pós-natal. Observaram que os valores, baixos ao nascimento ( $9,5 \pm 3,2$  e  $8,4 \pm 3,3$   $\mu\text{mol/l}$ ) aumentaram igualmente atingindo valores de termo, respectivamente para leite materno e fórmula, 23,3  $\mu\text{mol/l}$  e 22,7  $\mu\text{mol/l}$ . Os autores consideram que o tipo de nutrição não afetou as concentrações plasmáticas de vitamina E, e que suplementação de vitamina E, em níveis fisiológicos por período de três meses, aumenta os níveis de vitamina E. Os autores não excluem o efeito da maturidade proporcionado pelo tempo de vida pós-natal (DELVIN et al., 2005). Em pesquisa anterior, Delvin e colaboradores (2000) empregaram o mesmo modelo para recém-nascido a termo, suplementados com vitamina E, e comparados a controles com placebo. Não há referência ao tipo de nutrição. Aos três meses houve aumento da vitamina E plasmática em ambos os grupos, porém mais significativamente no grupo suplementado falando favoravelmente a favor da suplementação.

Muito se tem discutido sobre a necessidade da suplementação da vitamina E como suplementação fisiológica, em especial nos recém-nascidos de pré-termo, na suposição de que esses apresentem deficiência de vitamina E no período pós-natal. Essa suplementação é feita freqüentemente com doses baixas e com componentes de compostos multivitamínicos.

Doses mais elevadas têm sido empregadas na suposição de que doses farmacológicas possam atuar como antioxidante na prevenção ou na terapêutica de doenças do prematuro, como a displasia broncopulmonar, a retinopatia da prematuridade e a hemorragia peri-intraventricular. Entretanto, o emprego de nutrientes e enzimas com função antioxidante não tem apresentado os resultados esperados (TRINDADE & RUGOLO, 2007) e doses excessivas podem apresentar efeitos colaterais indesejáveis.

Já foram sugeridas doses desde 5 UI até 25 UI por dia ou mesmo até 50 UI por dia (JOHNSON, 1998). Porém o que se observa na literatura é que não existe consenso sobre a necessidade de suplementar recém-nascidos prematuros recebendo nutrição adequada e qual a dose ideal para esse grupo de recém-nascidos, considerando-se como limite a dose que eleva os níveis plasmáticos a 3,5mg/dl (BRION et al, 2007).

Na presente pesquisa, considerando-se a oferta de vitamina E ministrada adequada às necessidades dos prematuros segundo a literatura, principalmente a partir do oitavo dia, podemos supor que o aumento na ingestão de vitamina E tenha papel no aumento apresentado pela vitamina E do plasma, detectado no décimo quarto dia em relação aos níveis do cordão e mantendo níveis estáveis até o vigésimo oitavo dia. Entretanto, na literatura observa-se aumento já no sétimo dia quando os níveis são superiores aos do cordão (ZOEREN-GROBBEN et al., 1997). Dison e colaboradores (1993), Luukkainein e colaboradores (1999) e Falciglia e colaboradores (2003), observaram que no cordão a vitamina E se apresenta mais baixa, e que provavelmente, a partir do terceiro dia de vida, conforme relatam esses autores, comece a aumentar devido ocorrer melhora na oferta dessa vitamina e dos lipídios pela nutrição, tanto parenteral quanto enteral. Entretanto não podemos

descartar a possibilidade desse aumento estar relacionado com a diminuição dos mecanismos intrínsecos dos recém-nascidos prematuros como, diminuição dos fatores formadores de radicais livres e melhora da maturidade.

Também na presente pesquisa, no segundo período, mesmo recebendo quantidades maiores de vitamina E pela nutrição, associadas em alguns casos com suplementação, não foi possível evidenciar aumento nos níveis plasmáticos de vitamina E, no sentido de se igualarem à literatura. Em valores absolutos, os níveis no vigésimo oitavo dia são baixos, no limite de serem considerados insuficientes (média 12,04  $\mu\text{mol/l}$  e mediana de 10,81  $\mu\text{mol/l}$ ).

Análise dos fatores que possam ter interferido nos níveis de vitamina E no segundo período é bastante complexa. Desde já se pode considerar que embora a oferta de vitamina E estivesse dentro do preconizado na literatura, não foi suficiente para elevar os níveis aos vinte e oito dias acima do nível indicado como insuficiência de vitamina E (11,6  $\mu\text{mol/l}$ ).

Esse grupo de recém-nascidos, estava em fase de recuperar o peso a vitamina E ofertada não foi suficiente para repor os estoques e manter os níveis sangüíneos. Também esses recém-nascidos, que eram de muito baixo peso e baixa idade gestacional, apresentaram em sua maioria, complicações, com permanência na UTI por 14 dias em média, e necessidade de nutrição parenteral em média por 14,16 dias. Apresentaram hemorragia peri-intraventricular onze recém-nascidos, sendo que em quatro recém-nascidos hemorragias graus III e IV, e displasia broncopulmonar em nove recém-nascidos.

Esta avaliação leva à conclusão que em um grupo com essas características, a oferta de vitamina E deve ser aumentada. Dadas as dificuldades

em oferecê-la junto com a nutrição, a alternativa seria suplementar de forma padronizada, com doses maiores do que as fisiológicas e provavelmente com controles dos níveis plasmáticos.

Brion e colaboradores (2007) reuniram em metanálise vinte e cinco pesquisas clínicas, randomizadas e controladas para definir os efeitos da suplementação da vitamina E. Dessas, a suplementação ocorreu desde as primeiras quarenta e oito horas pós-natais em 20 estudos e após as quarenta e oito horas em 5 estudos. A suplementação foi igual ou inferior a 30 UI/kg/dia em 15 estudos e maior em 9 estudos. A dose total de vitamina E no grupo controle foi de até 10 mg/100 Kcal em 22 estudos e maior do que 10 mg / 100 Kcal em 3 estudos. Os autores concluíram que a suplementação em níveis farmacológicos reduz a gravidade de retinopatia e cegueira. Entretanto em doses de vitamina E superiores a 30 UI/kg/dia e níveis plasmáticos superiores a 3,5 mg/dl (81,27  $\mu$ mol/l, fator de correção 23,22), associaram-se a episódios de sepse. Concluem que doses elevadas devem ser contra-indicadas.

### **5.3.3. Importância dos lipídios**

Lipoproteínas são meios de transporte, constituídos de núcleo com pouca afinidade por água, contendo ésteres de triglicerol e colesterol, e superfície composta de colesterol, fosfolipídios e apolipoproteínas. Têm diferentes tamanhos, composição química e funções. As lipoproteínas têm sido divididas em quatro classes, segundo sua densidade: quilomícrons (QLM), lipoproteínas de muito-baixa densidade (VLDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL).

O alfa-tocoferol é transportado pelo sangue ligado às lipoproteínas (BJØRNEBOE et al., 1990; ACCUFF et al., 1998), e no fígado, através da proteína transportadora do alfa-tocoferol ( $\alpha$ -TTP), que é uma proteína citosólica e onde se expressa mais fortemente do que em outros órgãos (ACUFF et al., 1998). Essa proteína transportadora foi localizada por Arita e colaboradores (1995) no cromossomo 8 (8q13.1-13.3).

Embora se considere importante monitorizar a vitamina E em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, não há consenso sobre o melhor método a ser utilizado. Provavelmente a concentração de vitamina E nos tecidos seria o melhor parâmetro, entretanto em situação clínica, a concentração no sangue é a medida disponível (ZOEREN-GROBBEN et al., 1997).

Há várias indicações na literatura, de que a relação alfa-tocoferol/ lipídios totais (colesterol + triglicérides + fosfolípidios) é a melhor forma de avaliar-se a adequação dos níveis de vitamina E em adultos e crianças, uma vez que essa razão mantém-se estável da criança até a idade adulta (LARYEA et al., 1989). Porém há poucas pesquisas relacionadas com recém-nascidos, especialmente em prematuros com peso inferior a 1500 g, e essas não permitem conclusões definitivas. Acredita-se que grande parte dessa dificuldade deva-se a diversos fatores: desequilíbrio entre os baixos níveis de vitamina E no cordão, seguido de rápido aumento nas primeiras semanas, sem haver o correspondente aumento na velocidade de incremento dos lipídios plasmáticos (LARYEA et al., 1989); à variação na ingestão de lipídios com a nutrição infantil enteral - parenteral (ZOEREN-GROBBEN et al., 1997); à gravidade das doenças no período neonatal, grande parte relacionadas com o aumento na produção de radicais livres. Além disso, muitas das pesquisas incluem somente recém-nascidos de termo, ou prematuros com maior idade gestacional e peso, ou sem

complicações e sem nutrição parenteral (ZOEREN-GROBBEN et al., 1997; BRION et al., 2007). Portanto, em prematuros de muito baixo peso, essa relação pode não traduzir adequadamente um estado de suficiência / insuficiência de vitamina E no período neonatal. A maioria das pesquisas refere-se à razão com a associação de componentes dos lipídios e raras com apenas um componente (ZOEREN-GROBBEN et al., 1997). Seria interessante definir um componente lipídico que melhor expressasse essa razão vitamina E / fração lipídica para uso clínico, e que permitisse a redução no volume de sangue a ser utilizado para sua avaliação.

Zoeren-Grobben e colaboradores (1997) analisaram a razão vitamina E / lipídios totais de recém-nascidos de pré-termo, com média de peso de nascimento de 1995 g . Nessa pesquisa, a vitamina E foi colhida ao nascimento (cordão ou primeiro dia de vida) e com três, sete, catorze, vinte e um e quarenta e dois dias de vida e foram encontrados valores da razão vitamina E / lipídios totais no cordão menores do que nos demais momentos. Os autores observaram correlação entre a razão vitamina E / colesterol + triglicérides com a razão vitamina E / lipídios totais ( $r > 0,9$ ). Também observaram que a razão vitamina E / colesterol + triglicérides apresentou a melhor sensibilidade. Quando a razão era composta somente por um componente lipídico a correlação era inferior a 0,85. Entre essas, a razão vitamina E / colesterol apresentou alta sensibilidade e especificidade. Observar que os autores analisam as razões, comparando-as com o parâmetro estabelecido como padrão, isto é, a razão vitamina E / lipídio total. Na presente pesquisa observamos que houve correlação significativa entre a vitamina E e a razão vitamina E /triglicérides e vitamina E / VLDL nos três momentos analisados, isto é, recém-nascidos no cordão, 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias pós-natal. Para a razão com o colesterol como lipídio, somente foi significativa no 14<sup>o</sup> dia, para a razão com o LDL somente no 28<sup>o</sup> dia e para o HDL a razão com a vitamina E não foi significativa em

qualquer momento. Consideram que a razão vitamina E / lipídio total é baixa ao nascimento, o que pode indicar deficiência de vitamina E. Outros indicadores foram empregados para determinar o estado da vitamina E, como: teste de hemólise pelo peróxido de hidrogênio, vitamina E do eritrócito, razão vitamina E / PUFA do eritrócito. Os autores concluem que ao nascimento os testes indicam estado marginal de vitamina E, e que, portanto, os prematuros necessitam de suplementação de vitamina E (ZOEREN-GROBBEN et al., 1997).

Kiely e colaboradores em 1999 estudaram apenas mães e recém-nascidos a termo, com média de peso ao nascimento de  $3439 \pm 486$  gramas. Observaram níveis maternos mais elevados da razão alfa-tocoferol/colesterol e alfa-tocoferol/colesterol + triglicérides, em relação aos níveis do cordão. Encontraram na mãe valores de  $4,34 \pm 1$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  para alfa-tocoferol/colesterol e  $3,50 \pm 0,8$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  para alfa-tocoferol/colesterol+triglicérides; e no cordão  $3,41 \pm 0,8$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  para alfa-tocoferol / colesterol e  $2,95 \pm 0,7$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  para alfa-tocoferol / colesterol + triglicérides.

Godel (1989), baseando-se em artigos de Farrell e colaboradores (1985), Desai e colaboradores (1980) e Sokol e colaboradores (1984), havia referido essa relação entre a vitamina E e o colesterol, e também entre a vitamina E e o colesterol mais os triglicérides associados, como determinantes mais precisos dos níveis de vitamina E em recém-nascidos de pré-termo, porém com peso de nascimento de pelo menos 2500 gramas. Encontraram valores no cordão para a razão vitamina E / colesterol  $5,00 \pm 1,26$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$  e para vitamina E / colesterol + triglicérides  $3,60 \pm 0,77$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ . Em seu trabalho os recém-nascidos eram normais, apresentaram Apgar de 5º minuto com média de  $8,8 \pm 0,8$ . Wu e Chou (2001) relatam valores da razão vitamina E / lipídios totais iguais a 0,6 mg / g como valores normais para recém-nascidos prematuros, e considerados valores limites para crianças.

Laryea e colaboradores (1989) avaliaram a razão alfa-tocoferol / lipídios totais no cordão ( $0,7 \pm 0,3$  mg/g; N = 7); em crianças menores de um ano ( $1,6 \pm 0,1$  mg/g; N = 5) e entre um e catorze anos ( $1,8 \pm 0,4$  mg/g; N = 73). Observaram que a razão foi menor no cordão do que em crianças maiores e sugerem que a alteração no alfa-tocoferol do plasma, através dos primeiros anos exceda àquela dos lipídios totais.

Tanaka e colaboradores (1988) avaliando a vitamina E em duas classes de prematuros relataram que em prematuros com pesos menores do que 1000 g, os níveis de vitamina E dos eritrócitos na quarta semana de vida pós-natal eram inferiores ao que consideraram o menor valor de normalidade para eritrócitos, 115  $\mu\text{g/dl}$ , e os baixos níveis mantiveram-se até sete semanas de vida. No plasma, os níveis abaixaram imediatamente após o nascimento e os menores valores ocorreram com duas a três semanas pós-natais. Os níveis no plasma mostraram-se abaixo do limite considerado como normal para o plasma, 450  $\mu\text{g/dl}$ , durante todo o período examinado (12 semanas). Nos prematuros com pesos entre 1000 e 1500 g, nos eritrócitos, embora os níveis se mantivessem acima do valor considerado mínimo (115  $\mu\text{g/dl}$ ) houve queda com duas a quatro semanas e os níveis plasmáticos permaneceram acima de 450  $\mu\text{g/dl}$ . Os autores encontraram correlação significativa entre o tocoferol dos eritrócitos e a razão tocoferol / lipídios totais dos eritrócitos. Os autores consideraram que o comportamento dos prematuros com pesos inferiores a 1000 g seria conseqüente à menor absorção de lipídios e inclusive vitamina E nesses recém-nascidos.

Na presente pesquisa, avaliamos as razões da vitamina E para cada uma das frações lipídicas nos momentos estudados, com exceção do grupo materno. Em virtude do pequeno volume de sangue coletado, as análises não foram realizadas em amostras seqüenciais. A comparação entre as razões vitamina E / frações lipídicas com a literatura fica prejudicada, em virtude de os parâmetros analisados não serem coincidentes.

Os resultados encontrados para vitamina E/colesterol ( $1,84 \pm 0,95$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ) no cordão foram menores aos relatados na literatura ( $5,00 \pm 1,26$   $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ ) (GODEL et al., 1989). Entretanto os recém-nascidos analisados apresentavam menor peso e menor idade gestacional, supondo-se que apresentassem menor tecido adiposo, e, conseqüentemente menor acúmulo de vitamina E. Pode-se, pois especular que tais causas seriam responsáveis pelos baixos valores encontrados, o que poderia indicar insuficiente nível de vitamina E, nessa população, ao nascimento.

A análise da razão vitamina E / frações lipídicas em grupos de recém-nascidos, pertencentes à mesma casuística, porém em momentos isolados e não seqüenciais, mostra valores elevados no 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias em relação ao cordão. Porém, a análise desses resultados apresenta limitações em virtude de problemas metodológicos. Sugere-se que esses valores elevados em relação aos níveis do cordão resultem da diferença entre os níveis de incremento da vitamina E plasmática e o aumento dos lipídios no plasma. É possível que em análise seqüencial, prolongando o tempo de observação, com nutrição mais estável, por via enteral e recém-nascidos ganhando peso adequadamente, seja possível definir um índice que indique o estado de suficiência /insuficiência de vitamina E.

Utilizando a opção DIFF da PROC GENMOD do programa SAS for Windows versão 9.1, compararam-se concentrações das frações lipídicas e das razões vitamina E/fração lipídica quanto ao tempo no conjunto dos recém-nascidos. Observou-se que em relação às frações lipídicas não houve alterações no decorrer do tempo, contrastando com o grande aumento no alfa-tocoferol observado no 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dia em relação ao cordão. Porém quando foram analisadas as razões vitamina E/fração lipídica, entre o cordão e 14<sup>o</sup> dia, observou-se diferença significativa e níveis maiores no

14o dia entre todas as razões vitamina E / fração lipídica analisadas, excetuando-se a razão vitamina E / HDL. Entre o cordão e o 28o dia observou-se diferença significativa entre todas as razões vitamina E/fração lipídica, exceto vitamina E / LDL, com valores no 28o dia superiores ao cordão. Entre o 14o e 28o dias não se observou diferença entre qualquer razão vitamina E/fração lipídica. Conclui-se que para a maioria das frações lipídicas a razão alfa-tocoferol/fração lipídica aumenta a partir do nascimento, estabilizando-se a partir do décimo quarto ao vigésimo oitavo dias pós-natais.

Autores têm analisado, além da razão vitamina E / lipídios totais, as razões vitamina E/colesterol; vitamina E / colesterol + triglicérides; vitamina E / triglicérides e vitamina E / VLDL no plasma (ORTEGA et al., 1998; ORTEGA et al., 1999; FORD et al., 2006). Esses autores têm considerado a razão vitamina E / HDL como um dos parâmetros para quantificar a vitamina E, principalmente em casos que cursam com colestase.

É provável que a razão vitamina E/fração lipídica permaneça constante no plasma após a estabilização dos níveis plasmáticos de vitamina E, o que deve ocorrer a partir da segunda semana pós-natal. Os resultados desta pesquisa sugerem que os menores valores da razão vitamina E / fração lipídica, ocorrem no cordão em relação aos demais momentos, em virtude de significativo aumento da vitamina E plasmática no 14o dia, em relação aos níveis de cordão, não acompanhado de aumento significativo dos lipídios.

Com os dados de que dispomos não foi possível definir uma fração lipídica como sendo referência para a razão alfa-tocoferol / fração lipídica. Somente uma análise com casuística ampliada e avaliação seqüencial, poderia dar uma indicação mais precisa sobre qual razão poderia discriminar prematuros com deficiência de vitamina E.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

## 6. Considerações Finais

A análise dos resultados e das publicações permite concluir que muitas dúvidas relacionadas à vitamina E ainda persistem em prematuros de muito baixo peso.

As diferenças nas concentrações materno-fetais de vitamina E, associadas ao rápido aumento nos primeiros dias pós-natais, é um comportamento diferente do observado com outros microelementos e para o qual não há uma explicação convincente. Nossa hipótese para explicar os baixos níveis de vitamina E em sangue do cordão, refere-se à relativa hipoxemia fetal e menor necessidade de vitamina E para atuar como antioxidante.

A definição do método mais adequado para indicar suficiência ou insuficiência de vitamina E nessa classe de prematuros ainda é controversa. Autores questionam a validade do uso de concentrações plasmáticas baixas de vitamina E para indicar sua deficiência, considerando que na criança maior e em adultos a razão vitamina E/lipídios totais expressaria melhor os níveis de vitamina E. Considerando o maior volume de sangue necessário, o ideal seria determinar uma fração lipídica em substituição a lipídios totais. Com os resultados que obtivemos não foi possível concluir qual o melhor método a ser empregado.

Os prematuros de muito baixo peso apresentaram no vigésimo oitavo dia pós-natal níveis médios de vitamina E plasmática indicativos de deficiência de vitamina E, isto é, inferiores a 11,6  $\mu\text{mol/l}$ . Esses níveis devem estar relacionados com a elevada incidência de doenças nas quais há importante componente de

estresse oxidativo, acompanhado de dificuldades em receber vitamina E através de nutrição adequada.

Concluiu-se que para prematuros de muito baixo peso, principalmente naqueles com doenças, há a necessidade de suplementar vitamina E no período pós-natal. Entretanto a dose a ser ministrada não está perfeitamente definida recomendando-se que não seja superior a 25 mg/kg de peso/dia pela possibilidade de aumentar o risco de sepse neonatal. Há a necessidade de maiores investimentos em pesquisas sobre vitamina E nessa classe de prematuros para que possam manter níveis adequados, considerando a atuação da vitamina E como antioxidante e sua possível ação prevenindo ou reduzindo os efeitos produzidos pelo estresse oxidativo.

CONCLUSÃO

---

## 7. Conclusão

Após as análises da vitamina E plasmática em recém-nascidos prematuros de muito baixo peso, podemos concluir que em nossos casos:

1. A concentração de vitamina E plasmática de veia do cordão (mediana de 2,66  $\mu\text{mol/l}$ ) foi menor do que a concentração plasmática da mãe imediatamente após o parto (mediana de 19,07  $\mu\text{mol/l}$ ).
2. Houve aumento significativo da vitamina E plasmática no 14º dia (15,98  $\mu\text{mol/l}$ ) e no 28º dia (10,81  $\mu\text{mol/l}$ ) em relação aos níveis do cordão. Não houve diferença entre a vitamina E plasmática do 14º dia e do 28º dias de vida.
3. A mediana das concentrações plasmáticas no 28º dia (10,81  $\mu\text{mol/l}$ ) sugere deficiência de vitamina E em relação às concentrações consideradas como limite de normalidade para recém-nascidos (11,6  $\mu\text{mol/l}$ ).
4. Os níveis baixos de vitamina E no plasma, observados no 28º dia de vida pós-natal, sugerem que recém-nascidos de muito baixo peso devam ser suplementados com vitamina E no período neonatal, considerando-se fatores de risco como a imaturidade, elevada presença de morbidade neonatal e dificuldades na nutrição.
5. O aumento na vitamina E recebida a partir do 8º ao 14º dia (mediana de 3,35 mg/kg/dia), do 15º ao 21º dia (mediana 4,42 mg/kg/dia) e do 22º ao 28º dia (mediana 4,87 mg/kg/dia), em

contraposição ao recebido do 1º ao 7º dia (mediana 1,43 mg/kg/dia) pode ter influenciado no aumento da vitamina E plasmática em relação aos níveis do cordão.

6. Não houve diferença significativa entre as concentrações plasmáticas de lipídios no cordão, 14º e 28º dias de vida.
7. A razão alfa-tocoferol / fração lipídica, representadas pelo colesterol, triglicérides, HDL, VLDL e LDL, foi menor no cordão em relação ao 14º dia, exceto para a razão vitamina E / HDL e em relação ao 28º dia, exceto para a razão vitamina E / LDL.
8. As razões vitamina E / frações lipídicas (colesterol, triglicérides, HDL, VLDL e LDL), entre o 14º e 28º dia não apresentaram diferenças significantes.
9. Com os dados disponíveis, não foi possível definir qual a melhor razão vitamina E / fração lipídica para indicar suficiência - insuficiência de vitamina E em prematuros de muito baixo-peso.

RESUMO

---

## RESUMO

Vitamina E no plasma de recém-nascidos de pré-termo de muito baixo peso no primeiro mês de vida. Relação com a vitamina E recebida.

**Introdução:** A vitamina E desempenha importante papel como antioxidante, inibindo a oxidação de ácidos graxos poliinsaturados dos lipídios de membranas celulares, protegendo as células de agressão e lise induzidas por estresse oxidativo. Espécies reativas de oxigênio (ROS) participam da patogenia de doenças neonatais do prematuro tais como a displasia broncopulmonar, hemorragia peri-intraventricular, enterocolite necrosante e retinopatia da prematuridade. Os prematuros de muito baixo peso freqüentemente apresentam níveis baixos de vitamina E no plasma no período neonatal e essa deficiência pode aumentar o risco de toxicidade pelo oxigênio. Embora a vitamina E seja um componente essencial da defesa antioxidante, não há consenso sobre a necessidade de suplementar vitamina E para prematuros de muito baixo peso e sobre qual o melhor método para monitorizar o estado de vitamina E de prematuros, desde que em crianças e em adultos, os níveis de vitamina E dependem da concentração de lipídios no plasma e a razão entre vitamina E / lipídios totais é considerada o indicador mais apropriado para definir o estado de vitamina E.

**Objetivo:** Determinar os níveis plasmáticos de alfa-tocoferol em prematuros de muito baixo peso no primeiro mês de vida e sua relação com a vitamina E recebida.

**Método:** Trata-se de pesquisa observacional, prospectiva e longitudinal em prematuros, com peso ao nascimento menor do que 1500 g, da Unidade Neonatal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP e do Conjunto Hospitalar de Sorocaba, vinculado à Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba - PUC de São Paulo.

Vinte e oito amostras de sangue de mãe e de veia de cordão foram obtidas ao nascimento. Sangue de vinte e oito recém-nascidos foi obtido por punção de veia periférica no 14<sup>o</sup> dia (D<sub>14</sub>) e no 28<sup>o</sup> dia (D<sub>28</sub>) pós-natal. O peso dos recém-nascidos, média  $\pm$  desvio padrão, foi 1194  $\pm$  205g e a idade gestacional, 29,6  $\pm$  2,4 semanas. A estimativa de vitamina E (mg/kg/dia) no leite materno, suplementos nutricionais, fórmulas para pré-termo, nutrição parenteral e vitamina E suplementada, foi calculada em períodos: D<sub>1</sub> - D<sub>14</sub> e D<sub>15</sub> - D<sub>28</sub>. O alfa-tocoferol ( $\mu$ mol/l) foi determinado pelo HPLC (modelo 9012, Varian, detector UV 9050). As frações lipídicas (colesterol, triglicérides e lipoproteínas) (mmol/l) foram obtidas de algumas amostras de recém-nascidos, uma vez que não havia material suficiente em todos os momentos analisados: cordão (N = 11), D<sub>14</sub> (N = 10), D<sub>28</sub> (N = 6) e foram determinadas pelo Berhing Dimension RXL®. A análise estatística referente à vitamina E foi realizada pelos testes de Friedman e de Wilcoxon e pela correlação de Spearman e para a vitamina E recebida pelo teste de Friedman e de Kruskal-Wallis, usando o programa BioStat versão 2.0 para Windows. A análise das frações lipídicas e da razão vitamina E/fração lipídica foi executada considerando um modelo linear generalizado no tempo e na distribuição linear

gama. O contraste entre os tempos foi executado pela opção DIFF do PROC GENMOD pelo programa SAS versão 9.1 para Windows. O nível de significância foi  $P < 0,05$ . A pesquisa foi aprovada pelo comitê de Ética em Pesquisa das duas instituições de origem dos recém-nascidos.

**Resultados:** Tivemos como concentrações plasmáticas do alfa-tocoferol no sangue do cordão, 2,66  $\mu\text{mol/l}$  (mediana), 1,3  $\mu\text{mol/l}$  (quartil  $Q_1$ ) e 4,86  $\mu\text{mol/l}$  (quartil  $Q_3$ ). Esses resultados foram significativamente menores do que no sangue materno, onde encontramos 19,07  $\mu\text{mol/l}$  (mediana), 16,95  $\mu\text{mol/l}$  ( $Q_1$ ) e 22,25  $\mu\text{mol/l}$  ( $Q_3$ ). No seguimento das amostras verificamos no  $D_{14}$ , 15,98  $\mu\text{mol/l}$  (mediana) e 6,03  $\mu\text{mol/l}$  ( $Q_1$ ) e 26,93  $\mu\text{mol/l}$  ( $Q_3$ ) enquanto que no  $D_{28}$ , 10,81  $\mu\text{mol/l}$  (mediana), 5,98  $\mu\text{mol/l}$  ( $Q_1$ ); 14,92  $\mu\text{mol/l}$  ( $Q_3$ ). Houve diferença estatisticamente significativa entre os resultados, com  $P < 0,0001$ . A vitamina E recebida no período  $D_1 - D_{14}$ , foi em mg/kg/d, 2,20 (mediana), 1,63( $Q_1$ ); 2,64( $Q_3$ ) significativamente menor do que no período  $D_{15} - D_{28}$ , 4,87(mediana), 3,38 ( $Q_1$ ); 5,93( $Q_3$ ) em mg/kg/d, ( $P < 0,0001$ ). O menor recebimento foi entre  $D_1$ - $D_7$ , 1,43 (mediana), 0,77( $Q_1$ ); 1,82( $Q_3$ ) mg/kg/d. Não houve diferenças significantes entre as frações lipídicas do cordão,  $D_{14}$  e  $D_{28}$ . As razões vit E / frações lipídicas do cordão foram significativamente menores do que as razões em  $D_{14}$ , exceto para a razão vit E / HDL e em  $D_{28}$ , exceto para vit E / LDL. Não houve diferença significativa entre as demais razões em  $D_{14}$  e  $D_{28}$ .

**Conclusões:** Os níveis plasmáticos de alfa-tocoferol aumentaram do cordão para os 14<sup>o</sup> e 28<sup>o</sup> dias pós-natais, e não apresentaram diferenças entre si. Este aumento provavelmente relaciona-se com a maior oferta de vitamina E após a primeira semana e no período  $D_{14}$ - $D_{28}$ . Embora a oferta nesse período (14<sup>o</sup> ao 28<sup>o</sup> dia), por mg/kg/d, seja considerada adequada, os baixos níveis de tocoferol no

28º dia podem ser considerados como deficientes ( $<11,6 \mu\text{mol/l}$ ) e sugerir a necessidade de suplementação de vit E para prematuros de muito baixo peso, considerando-se a elevada incidência de doenças e as dificuldades em nutri-los. O número insuficiente de amostras de lipídios e o curto período de observação não permitiram concluir sobre a importância da razão vitamina E / fração lipídica como um indicador do estado de vitamina E em prematuros de muito baixo peso.

ABSTRACT

---

## ABSTRACT

Plasma vitamin E levels from very low-birthweight preterm infants in the first month of life. Relationship with vitamin E intake.

**Background:** Vitamin E (Vit E) plays an important role as an antioxidant by inhibiting the oxidation of polyunsaturated fatty acids of cell membrane lipids, thus protecting cells from damage and cell lysis induced by oxidative stress. Reactive oxygen species (ROS) participate in the pathogenesis of neonatal diseases of preterm infants such as bronchopulmonary dysplasia, intraventricular hemorrhage, necrotizing enterocolitis, retinopathy of prematurity. Very low-birthweight preterm infants (PT-VLBW) frequently have low levels of plasma vitamin E in the neonatal period and this deficiency may increase the risk of oxygen toxicity. Although Vit E is an essential component of the antioxidant defenses there is no consensus about Vit E supplementation for PT-VLBW and the best method of monitoring vitamin status of preterm infants since in children and adults vitamin levels depend on plasma lipid concentration and the ratio between Vit E/total lipid is considered the most appropriate to indicate vitamin E status.

**Objective:** To determine plasma levels of alpha-tocopherol in PT-VLBW in the first month of life and its relationship with vitamin E intake.

**Design/Methods:** This was an observational, prospective and longitudinal study with preterm newborn infants, birth weight < 1500 g, from the Neonatal Division of the School of Medicine of Botucatu-UNESP and Hospital associated to School of Medicine of Sorocaba-PUC of Sao Paulo. Twenty-eight maternal and cord vein blood samples were obtained at delivery. Peripheral blood of 28 PT-VLBW (mean  $\pm$  SD; BW  $1194 \pm 205$ ; GA  $29.6 \pm 2.4$  w) were obtained by venipuncture on day 14 (D<sub>14</sub>) and on day 28 (D<sub>28</sub>). The estimated intake of vitamin E (mg/Kg/day) from breast milk, fortifier, formula for preterm infant, parenteral nutrition and vitamin E supplementation was calculated in two periods: D<sub>1</sub>-D<sub>14</sub> and D<sub>15</sub>-D<sub>28</sub>. Alpha-tocopherol ( $\mu\text{mol/l}$ ) was determined by HPLC (model 9012, Varian, UV 9050). Plasma lipid fractions (triglycerides, cholesterol and lipoproteins) (mmol/l) from a subset of samples: cord blood (n = 11), D<sub>14</sub> (n = 10), D<sub>28</sub> (n = 6) were determined by the Behring Dimension RXL®. Statistical analysis for vitamin E concentrations was performed by the ANOVA of Friedman, Wilcoxon and correlation of Spearman and for vitamin intake by Wilcoxon using the BioSTAT version 2.0 for Windows. The analysis of plasma lipid fractions and Vit E/lipid fraction ratios was performed taking into account a linear general model in the time with a gamma distribution. The contrast between each time was performed through the DIFF option from GENMOD procedure by the SAS version 9.1. P < 0.05 was considered statistically significant. The research was approved by the Ethical Committee of both Institutions.

**Results:** The plasma concentrations of alpha-tocopherol (median and percentiles Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>) from cord blood, 2.66 (1.3, 4.89)  $\mu\text{mol/l}$ , were significantly lower than maternal, 19.07 (16.95, 22.25)  $\mu\text{mol/l}$ , and from D<sub>14</sub>, 15.98 (6.03, 26.93)  $\mu\text{mol/l}$  and D<sub>28</sub>, 10.81 (5.98, 14.92)  $\mu\text{mol/l}$ , P < 0.0001. The Vit E intake from D<sub>1</sub>-D<sub>14</sub>, 2.20 (1.63, 2.64) mg/Kg/d, was significantly lower than D<sub>15</sub>-D<sub>28</sub>, 4.87 (3.38, 5.93) mg/Kg/d, P < 0.00001.

The lowest intake was observed from day 1-7, 1.43 (0.77, 1.82) mg/Kg/d. There were no significant differences between lipid fractions from cord blood, D<sub>14</sub> and D<sub>28</sub>. The Vit E/lipid fraction ratios from cord blood were significantly lower than the ratios from D<sub>14</sub>, exception for Vit E / HDL, and D<sub>28</sub>, exception for Vit E / LDL. The Vit E / lipid fraction ratio between D<sub>14</sub> and D<sub>28</sub> were not significantly different.

**Conclusions;** Plasma alpha-tocopherol increased from cord blood up to D<sub>14</sub> and D<sub>28</sub> that were not significantly different. This increase is probably related to higher vitamin E intake after the first week of life and in the period D<sub>14</sub>- D<sub>28</sub>. Although the intake per Kg/weight/d from D<sub>14</sub> to D<sub>28</sub> is adequate, the low plasma tocopherol levels on D<sub>28</sub> may be considered deficient (<11,6 µmol/l) suggesting the need to supplement Vit E for very low-birthweight infants, taking into account the high incidence of diseases and the difficulties in nourishing this class of preterm infants. The insufficient lipid samples and the short period of observation do not permit to conclude about the importance of Vit E / lipid fraction ratios as an indicator of Vit E status in VLBW infants.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

## Referências Bibliográficas

Abbasi S, Ludomirski A, Bhután VK, Weiner S, Jonson L. Maternal and fetal plasma vitamin E to total lipid ratio and fetal BBC antioxidant function during gestational development. *J Am Coll Nutr* 1990; 9:314-9.

Acuff RV, Dunworth LW, Web LW, Lane JR. Transport of deuterium-labeled tocopherols during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1998;67:459-64.

Alexander GR, Himes JH, Kaufman RB, Mor J, Kogan MA United States National Reference for Growth. *Obstet Gynecol* 1996;87:63-8.

Arita M, Sato Y, Miyata A, Tanabe T, Takahashi E, Kayden HJ et. al. Human alpha-tocopherol transfer protein: c DNA cloning, expression and chromosomal localization. *Biochem J* 1995; 306:437-43.

Arnaud J, Fortis I, Blancher S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol and  $\beta$ -tocopherol in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1991; 572:102-16.

Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsmn BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr* 1991; 119:417-23.

Barros MFA, Legar CL, Lira PIC, Lima MC, Carbonneau MA, Descomps B, et al., Cord blood essential fatty acid and alpha-tocopherol in full term newborns in a northeast Brazil area. *Int J Vitam Nutr Res* 2002; 72:155-60.

Bell EF. History of vitamin E in nutrition. *Am J Clin Nutr* 1987; 46:183-6.

Bjørneboe A, Bjørneboe G, Drevon CA. Absorption, Transport and Distribution of Vitamin E. *J Nutr* 1990; 120:233-42.

Bolisetty S, Naidoo D, Lui K, Koh THHG, Watson D, Whitehall J. Antenatal Supplemnttation of antioxidant vitamins to reduce the stress at delivery – a pilot study. *Early Human Development* 2002; 67:47-53.

Bortolotti A, Lucchini G, Barzago MM, Stellari F, Bonati M. Simultaneous determination of retinol,  $\alpha$ -tocopherol and retinyl palmitate in plasma of premature newborns by reverse-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1993; 128 Suppl 2:313-7.

Böhles, H. Antioxidative Vitamins in Prematurely and Maturely Born Infants. *J Nutr Res* 1997; 67:321-8.

Brion LP, Bell EF, Raghuv eer TS, Soghier L. What is the appropriate intravenous dose of vitamin E for very-low-birth-weight infants? *J Perinatol* 2004; 24 Suppl 4:205-7

Brion LP, Bell EF, Raghuv eer TS. Vitamin E supplementation for prevention of morbidity and mortality in preterm infants (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library* 2007; 3. Oxford: Update Software.

Brigelius-Flohé R, Nelly FJ, Salonen JT, Neuzil J, Zingg JM, Azzi A. The European perspective on vitamin E: current knowledge and future research. *Am J Clin Nutr* 2002; 76:703-16.

Celardo A, Bortolotti A, Benfenati E, Bonati M. Measurement of vitamin E in premature infants by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1989; 490:432-8.

Chan DKL, Lim MSF, Choo SHT, Koon-Tan IT. Vitamin E status of infants at birth. *J Perinatol Med* 1999;27:395-8.

Chen HC, Lii CK, Ou CC, Wong YC, Kuo BJ, Liu CH. Plasma vitamins A and E and red blood cell fatty acid profile in newborns and their mothers. *Eur J Clin Nutr* 1996; 50:556-9.

Chung SC, Myriantopoulos NC. Congenital anomalies: mortality and morbidity, burden and classification. *Am J Med Genet* 1987; 27:505-23.

Delascio D, Guariento A. Diagnóstico em obstetrícia. In: *Obstetrícia normal* Briquet. Editora Sarvier. São Paulo; 1994:271-81.

Desai ID, Tavares MLG, Oliveira BSD, Douglas A, Duarte FA, Oliveira JED. Food habit and nutritional status of agricultural migrant workers in Southern Brazil 1980; 33 Suppl 3: 702-14.

Delvin EE, Salle BL, Reygrobellet B, Mellier G, Claris O. Vitamin A and E supplementation in breast-fed newborns. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31:562-5.

Delvin EE; Salle BL; Claris O; Putet G; Hascoet JM; Desnoullez L et al., Oral vitamin A, E and D supplementation of pre-term newborns either breast-fed or formula fed: a 3-month longitudinal study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 40:43-7.

Dison PJ, Lockitch G, Halstead AC, Pendray MR, Macnab A, Wittmann BK. Influence of maternal factors on cord and neonatal plasma nutrient levels. 1993; 10 Suppl 1:30-5.

Drevon CA. Absorption, transport and metabolism of vitamin E. Free Radic Res Commun 1991; 14 Suppl 4:229-46.

Falciglia HS, Johnson JR, Sullivan J, Hall CF, Miller JD, Riechmann GC, et al., Role of antioxidant nutrients and lipid peroxidation in premature infants with respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia. Am J Perinatol 2003; 20 Suppl 2: 97-107.

Farrell PM, Zachman RD, Gutcher GR. Fat-soluble vitamins A, E, and K in the premature infant. In: Tsang, R. Vitamin and mineral requirements in preterm infants. New York: Marcel Dekker, 1985:65-98.

Ford L, Farr J, Morris P, Berg J. The value of measuring serum cholesterol-adjusted vitamin E in routine practice. Ann Clin Biochem 2006; 42 Suppl 2:130-4.

Ganière-Monteil C, Kergueris MF, Pineau A, Blanchard B, Azoulay C, Larousse C. Dosage du retinol et de l'alpha-tocophérol plasmatique par CLHP. Ann Biol Clin 1994; 52:547-53.

Godel JC. Vitamin E status of northern Canadian newborns: relation of vitamin E to blood lipids. Am J Clin Nutr 1989; 50:375-80.

Greer FR, Zachman RD. Neonatal Vitamin Metabolism: Fat Soluble. In: COWETT RM. Principles of Perinatal-Neonatal Metabolism. 2<sup>nd</sup> Ed. New York Springer; 1998; 42:943-75.

Greene H, Hambidge KM, Schanler R, Tsang RC. Guidelines for the use of vitamins, trace elements, calcium, magnesium and phosphorus in infants and children receiving total parenteral nutrition. Am J Clin Nutr 1988; 48:1324-42.

Gross SJ. Vitamin E. In: Tsang RC, Lucas A, Uauy R, Zlotkin S, eds. Nutritional Needs of preterm Infant. Scientific Basis and Practical Guidelines. Baltimore, Md: Williams & Wilkins;1993:101-9.

Haga P, Ek J, Kran S. Plasma tocopherol levels and vitamin E/beta-lipoprotein relationships during pregnancy and cord blood. *Am J Clin Nutr* 1982; 36:1200-4.

Huijbers WAR, Schrijver J, Speek AJ, Deelstra BA, Okken A. Persistent low plasma vitamin E levels in premature surviving respiratory distress syndrome. *Eur J Pediatr* 1986; 145:170-1.

Johnson L. Vitamin E Nutrition in the Fetus and Newborn. In: Polin & Fox. Fetal and Neonatal Physiology. 2<sup>nd</sup> Ed 1998; 35:344-53.

Karp WB, Robertson AF. Vitamin E in neonatology. *Adv Pediatr* 1986;33:127-47.

Kiely M, Cogan PF, Kearney PJ, Morrissey PA. Concentrations of tocopherols and carotenoids in maternal and cord blood plasma. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 711-5.

Klein CJ. Nutrient requirements for preterm infant formula. *J Nutr* 2002; 132:S1395-S1577.

Kleinman RE. Nutritional needs of preterm infants. In: Pediatric Nutrition Handbook. 4<sup>th</sup> ed. 1998:55-87

Laryea MD, Biggemann B, Cieslicki P, Wendel U. Plasma Tocopherol and Tocopherol to Lipid Ratios in a Normal Population of Infants and Children. *J Nutr Res* 1989; 59:269-72.

Luukkainen P, Aejmelaeus R, Alho H, Metsä-Ketelä T, Ikonen SR, Salo MK. Plasma chain-breaking antioxidants in preterm infants with good and poor short-term outcome. *Free Rad Res* 1999; 30:189-97.

Macias C, Schweigert FJ. Changes in the concentration of carotenoides, vitamin A, Alpha-Tocopherol and total lipids in human milk throughout early lactation. *Ann Nutr Metab* 2001; 45:82-85.

Martinez FE, Gonçalves AL, Jorge MD, Desai ID. Vitamin E in placental blood and its interrelationship to maternal and newborn levels of vitamin E. *J Pediatr* 1981;298-300.

Meydani SN, Meydani M, Blumberg JB. Vitamin E Supplementation and In Vivo Immune Response in Healthy Elderly Subjects. *J A M A* 1997; 277:1380-6.

Moyer WT. Vitamin E levels in term and premature newborn infants. *Pediatrics*; 1950; 3:893-6.

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. In: Harper: Bioquímica. 8ª Edição. Atheneu Editora São Paulo 1999:619-22.

Nadal MR. Estudio de la conservación de la leche humana y de los preparados para lactentes. [doutorado] Barcelona (Espanha): Faculdade de Farmácia da Univ. de Barcelona; 2006.

Ortega RM, López-Sobaler AM, Martínez RM, Andrés P, Quintas ME. Influence of smoking on vitamin E status during the third trimester of pregnancy on breast-milk tocopherol concentrations in Spanish women. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:662-7.

Ortega RM, López-Sobaler AM, Andrés P, Martínez RM, Quintas ME, Requejo AM. Maternal vitamin E status during third trimester of pregnancy in spanish women: influence on breast milk vitamin E concentration. *Nutr Res* 1999; 19:25-35.

Pathak ARP, Piscitelli J, Johnson L. Effects of vitamin E supplementation during erythropoietin treatment of anaemia of prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatol* 2003; 88:324-9.

Peroxidação da Vitamina E. disponível na internet no site: <http://www.eisai.co.jp/evita/kiso4.html> acessado em 22/10/2001.

Phelps, DL. Vitamin E and retinopathy of prematurity. In: Silverman W, Flynn J. (editores): *Clinics in Perinatology: Current Controversies in Perinatal care. The Role of Vitamin E Therapy in High-Risk Neonates*. New York: Saunders 1988:955-63.

Qanungo S, Aparna S, Mukherjea M. Antioxidant status and lipid peroxidation in human feto-placental unit. *Clin Chim Acta* 1999; 285:1-12.

Rugolo Jr A. Níveis plasmáticos de vitamina A em recém-nascidos de pré-termo de muito baixo-peso e relação com a displasia broncopulmonar. [doutorado]. Botucatu: Faculdade de Medicina – UNESP;2001.

Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia-oxidative stress and antioxidants. *Semin Neonatol* 2003; 8:39-49.

Saugstad OD. Oxidative stress in newborn a-30-year perspective. *Biol Neonate* 2005; 88:228-36.

Schwalbe P, Büttner P, Elmdfa I. Development of vitamin E status of premature infants after intravenous application of all-rac- $\alpha$ -tocopheryl acetate. *Intern J Vit Nutr Res* 1992; 62:9-14.

Siegel SE, Castellan Jr NJ. Estatística não paramétrica para ciências do comportamento. 2ª edição. Editora Artmed, Porto Alegre 2006:448.

Shoji H, Koletzko B. Oxidative stress and antioxidant protection in the perinatal period. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10:324-8.

Sokol RJ. Vitamin E toxicity. *Pediatrics*. 1984; 74:564-9.

Tanaka H, Mino M, Takenchi T. A nutritional evolution of vitamin E status in very low birth weight infants with respect to changes in plasma and red blood cell tocopherol levels. *J Nutr Sci Vitaminol* 1988; 34:293-307.

Thibeault DW. The precarious antioxidant defenses of the preterm infant. *Am Perinatol* 2000; 17:167-81.

Trindade, CEP. Microelements and vitamins in the nutrition of very low-birth weight preterm infants: A brazilian perspective. *NeoReviews*. 2007; 8 Suppl 12:e522-32.

Trindade CEP, Rugolo LMSS. Free Radicals and neonatal diseases. *NeoReviews* 2007; 8 Suppl12:522-32.

Viana M, Barbas C, Castro M, Herrera E, Bonet B. Alpha-tocopherol concentration in fetal and maternal tissues of pregnant rats supplemented with alpha-tocopherol. *Ann Nutr Metab* 1999; 43:107-12.

WEY M. Níveis plasmáticos de vitamina E em mães e no cordão de recém-nascidos de pré-termo de muito baixo-peso. [dissertação] Botucatu: Faculdade de Medicina–UNESP:2003.

Wu SC, Chou YH. Measurements of serum vitamin E isomers in fullterm and preterm infants. *Chang Gung Med J* 2001;24:793-8.

Zoeren-Grobben D, Lindeman JHN, Houdkamp E, Moison RMW, Wijnen JT, Berger HM. Markers of oxidative stress and antioxidant activity in plasma and erythrocytes in neonatal respiratory distress syndrome. *Acta Pædiatr* 1997; 86:1356-62.

ANEXOS

---

## 1 Comissão de Ética da Faculdade de Medicina de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
CAMPUS DE BOTUCATU  
FACULDADE DE MEDICINA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

BOTUCATU, SP - Rubião Júnior - Cep 18.618-970 - PABX ☎ (014) 821-2121 - RAMAL 2258 - FAX (014) 821-4691 - TELEX 9142107


Botucatu, 13 de setembro 1.999

Of.252/99-CEP

Prezada Senhora,

O Projeto de pesquisa intitulado “Pesquisa de vitamina E em recém nascidos prematuros” de autoria de Marina Wey, orientada por Vossa Senhoria, recebeu do relator parecer favorável, aprovado em reunião deste CEP aos 13 de setembro de 1.999.

Sendo só para o momento, aproveito o ensejo para renovar os protestos de elevada estima e distinta consideração.

  
Prof.ª Dr.ª Marilza Vieira Cunha Rudge  
Presidente do CEP

Ilustríssima Senhora  
Prof.ª Dr.ª Cleide Enoir Petean Traindade  
Departamento de Pediatria da  
Faculdade de Medicina de Botucatu

2 Comissão de Ética da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba



FUNDAÇÃO SÃO PAULO  
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE SÃO PAULO  
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E BIOLÓGICAS  
Pça Dr. José Ermírio de Moraes, 290 Sorocaba - CEP 18030-230  
Tel. (015) 224.4322 - Fax (015) 233.6465 - Cx Postal 33-457-570

Sorocaba, 22 de maio de 2000.


Ilma. Sra.  
Dra. Marina Wey  
Pesquisadora responsável

Ref: APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA

O Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências Médicas e Biológicas de Sorocaba-PUC/SP, informa que aprovou “ad referendum” em 22.05.00.

Projeto de pesquisa: “Pesquisa de Vitamina e em Recém-Nascidos Prematuros” e o Consentimento livre e esclarecido.

Atenciosamente.

  
Prof. Dr. José Augusto Costa  
Presidente do Comitê de Ética  
em Pesquisa  
CCMB - PUC/SP

### 3 Tabelas para análises diversas

**Tabela 1** Vitamina E ( $\mu\text{mol/l}$ ) na mãe em relação à procedência. Número de amostras (N), medianas (Md), 1<sup>o</sup>(Q<sub>1</sub>) e 3<sup>o</sup>(Q<sub>3</sub>) quartis, médias ( $\bar{X}$ ), desvios-padrão (S) e respectivo teste estatístico.

	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
Botucatu (N=18)	17,98 (16,92; 20,41)	19,92±3,59
Sorocaba (N=10)	21,16 (18,67;33,67)	26,69±11,83

Teste estatístico: Mann Whitney (P=0,1082)

**Tabela 2** Vitamina E ( $\mu\text{mol/l}$ ) no cordão em relação à procedência. Número de amostras (N), medianas (Md), 1<sup>o</sup>(Q<sub>1</sub>) e 3<sup>o</sup>(Q<sub>3</sub>) quartis, médias ( $\bar{X}$ ), desvios-padrão (S) e respectivo teste estatístico.

	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
Botucatu (N=18)	4,20 (2,23; 6,36)	4,50±2,86
Sorocaba (N=10)	1,27 (0,95; 2,20)	1,52±0,93

Teste estatístico: Mann Whitney (P=0,0047)

**Tabela 3** Vitamina E ( $\mu\text{mol/l}$ ) no décimo quarto dia de vida em relação à procedência. Número de amostras (N), medianas (Md), 1<sup>o</sup>(Q<sub>1</sub>) e 3<sup>o</sup>(Q<sub>3</sub>) quartis, médias ( $\bar{X}$ ), desvios-padrão (S) e respectivo teste estatístico.

	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
Botucatu (N=18)	20,49 (8,20; 26,62)	20,32±13,23
Sorocaba (N=10)	8,08 (4,90; 23,12)	14,85±15,28

Teste estatístico: Mann Whitney (P=0,2307)

**Tabela 4** Vitamina E ( $\mu\text{mol/l}$ ) no vigésimo oitavo dia de vida em relação à procedência. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) quartis, médias ( $\bar{X}$ ), desvios-padrão (DP) e respectivo teste estatístico.

	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
Botucatu (N=18)	12,56 (6,94; 14,57)	12,97±7,76
Sorocaba (N=10)	8,53 (5,82; 15,32)	10,34±5,83

Teste estatístico: Mann Whitney (P=0,5651)

**Tabela 5** Comparação da concentração de Vitamina E ( $\mu\text{mol/l}$ ) no plasma, em recém nascidos prematuros de muito baixo peso de Botucatu, no 28º dia de vida, que receberam e que não receberam suplementação de vitamina E oral. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) quartis, médias ( $\bar{X}$ ), desvios-padrão (S) e respectivo teste estatístico.

	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$
Receberam (N=6)	10,65 (7,58; 12,81)	11,68±6,72
Não receberam (N=12)	13,87 (6,73; 15,62)	13,63±8,43

Teste estatístico: Mann Whitney (P=0,4824)

**Tabela 6** Comparação das características clínicas das populações de Botucatu e Sorocaba e respectivo teste estatístico.

Característica clínica	Teste estatístico
Nº de gestações	P=0,1372
Consultas de Pré-natal	P=0,2215
Idade Gestacional	P=0,1031
Peso ao nascer	P=0,1503
Comprimento do RN	P=0,2599
Perímetro cefálico	P=0,1082
Apgar de 1º minuto	P=0,6316
Apgar de 5º minuto	P=0,2599

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 7** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem síndrome do desconforto respiratório, no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM SDR (N=14)		SEM SDR (N=14)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
Cordão	2,41 (1,00; 4,63)	3,10±2,32	2,77 (1,49; 4,90)	3,76±3,17	P=0,6459
14º DIA	24,94 (17,52; 28,20)	24,27±12,85	7,33 (5,73; 14,39)	12,45±12,86	P=0,0110
28º DIA	9,68 (5,27; 13,97)	12,09±8,83	13,63 (7,03; 15,52)	11,97±5,24	P=0,8183

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 8** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem uso de terapia de reposição de surfactante (TRS), no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM TRS (N=10)		SEM TRS (N=18)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
CORDÃO	1,77 (0,95; 3,78)	2,67±2,29	3,10 (1,49; 5,15)	3,83±2,94	P=0,2499
14º DIA	24,94 (17,82; 28,61)	23,57±10,90	8,77 (5,73; 20,70)	15,74±14,92	P=0,0615
28º DIA	9,68 (5,27; 12,80)	11,94±8,80	13,63 (6,94; 15,52)	12,08±6,30	P=0,4150

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 9** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem displasia broncopulmonar (DBP) no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM DBP (N=9)		SEM DBP (N=19)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
CORDÃO	2,42 (0,94; 4,12)	3,07±2,32	2,77 (1,43; 5,02)	3,60±2,97	P=0,6403
14º DIA	22,14 (15,56; 29,21)	22,43±11,51	10,90 (5,52; 25,38)	16,43±14,90	P=0,1213
28º DIA	5,96 (4,79; 11,75)	9,94±8,54	13,77 (7,08; 17,00)	13,02±6,37	P=0,0582

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 10** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem necessidade de ventilação mecânica (VM) no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM VM (N=16)		SEM VM (N=12)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
CORDÃO	1,49 (0,97; 3,83)	2,58±2,24	3,74 (2,51; 5,92)	4,56±3,04	P=0,0411
14º DIA	23,03 (9,29; 27,70)	21,30±14,05	8,77 (5,97; 20,26)	14,44±13,45	P=0,1936
28º DIA	10,79 (5,91; 18,28)	13,14±8,36	11,68 (6,96; 14,29)	10,56±5,02	P=0,7452

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 11** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem hemorragia peri-intraventricular (HPIV) no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM HPIV (N=11)		SEM HPIV (N=17)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
CORDÃO	2,77 (1,43; 5,09)	3,75±3,12	2,55 (1,06; 4,28)	3,22±2,55	P=0,7242
14º DIA	5,89 (4,04; 23,03)	14,74±14,01	20,05 (10,09; 27,20)	20,70±13,86	P=0,1046
28º DIA	14,46 (12,45; 18,40)	15,53±7,52	7,18 (5,96; 13,50)	9,77±6,04	P=0,482

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 12** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem persistência do canal arterial (PCA) no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM PCA (N=11)		SEM PCA (N=17)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
CORDÃO	3,74 (2,01; 5,09)	3,67±2,27	2,05 (1,06; 4,28)	3,27±3,07	P=0,4952
14º DIA	16,39 (10,65; 30,56)	21±15,36	10,09 (5,89; 26,84)	16,26±13,05	P=0,3590
28º DIA	11,75 (6,57; 16,20)	12,70±7,43	9,87 (5,99; 14,61)	11,60±7,12	P=0,3590

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 13:** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem sepse no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM SEPSE (N=19)		SEM SEPSE (N=9)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
CORDÃO	2,05 (1,22; 5,09)	3,44±2,92	2,99 (2,42; 4,48)	3,41±2,50	P=0,833
14º DIA	22,14 (5,62; 28,20)	20,72±15,67	10,43 (7,21; 20,05)	13,37±8,07	P=0,4458
28º DIA	11,75 (6,48; 17,00)	13,21±7,56	7,18 (4,79; 28,20)	9,55±5,70	P=0,2579

Teste estatístico: Mann Whitney

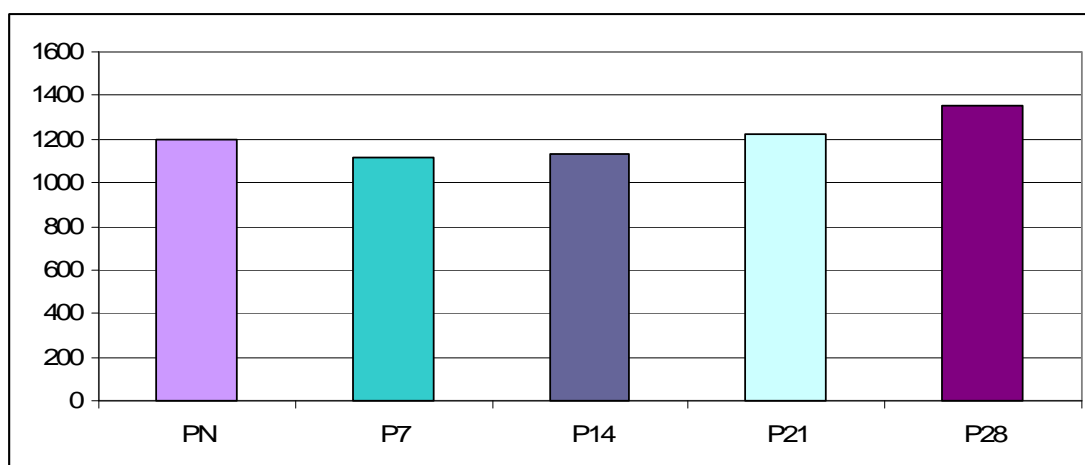
**Tabela 14** Comparação da vitamina E nos recém-nascidos prematuros de muito baixo peso com e sem uso de NPP no período neonatal. Número de amostras (N), medianas (Md), 1º(Q1) e 3º(Q3) e respectivo teste estatístico.

	COM NPP (N=12)		SEM NPP(N=11)		Teste estatístico
	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	Md (Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	$\bar{X} \pm S$	
CORDÃO	1,79 (1,34; 3,87)	2,57±1,88	2,55 (1,02; 6,56)	3,87±3,65	P=0,6666
14º DIA	21,53 (9,34; 27,43)	22,03±15,72	7,45 (5,16; 15,46)	11,46±9,57	P=0,0966
28º DIA	9,68 (5,51; 15,22)	11,80±9,03	13,77 (6,95; 15,22)	11,66±5,26	P=0,4602

Teste estatístico: Mann Whitney

**Tabela 15** Mediana, 1º e 3º quartis, média e desvio padrão dos pesos dos recém-nascidos de pré-termo de muito baixo peso, ao nascimento, com sete, catorze vinte e um e vinte e oito dias de vida.

(N=28)	Peso de nascimento	Peso 7º dia de vida	Peso 14º dia de vida	Peso 21º dia de vida	Peso 28º dia de vida
Md	1250	1174	1166	1232	1412
(Q <sub>1</sub> ; Q <sub>3</sub> )	(1088;1360)	(998; 1257)	(974; 1313)	(1042;1450)	(1143;1596)
$\bar{X} \pm S$	1195±205	1119±206	1136±218	1224±263	1356±295



**Figura 1** Média do peso dos recém-nascidos de pré-termo por semana durante o período neonatal

## 4 Consentimento Livre e Esclarecido



Unesp

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
CAMPUS DE BOTUCATU

**FACULDADE DE MEDICINA**

*Departamento de Pediatria*

BOTUCATU, SP - Rubião Júnior - Cep 18.618-970 - ☎ 820 6274 / 6083

TELEX 0142107 - FAX (014) 822-0421

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome: \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_ RG: \_\_\_\_\_

Eu, \_\_\_\_\_ fui esclarecida pelo responsável pela pesquisa sobre análise de vitamina A e E em recém-nascidos de Baixo-Peso. Fui informada que será colhido sangue da placenta (após a liberação da mesma) e também do recém-nascido. Declaro estar ciente que o recém-nascido vai participar de um estudo e ter lido ou ouvido o presente termo de consentimento, que informa:

- 1) Que este estudo pretende analisar o nível de Vitamina E no sangue da Mãe, do cordão umbilical e de recém-nascidos de partos prematuros, com peso menor que 1500 g, tendo em vista que neste grupo de RN vem sendo relatado menor nível sangüíneo dessas vitaminas e maior risco de doença pulmonar crônica. A literatura vem sugerindo a suplementação de vitaminas e é exatamente isso que pretendemos estudar.
- 2) Que durante o estudo serão colhidas amostras de sangue, aproximadamente no 3º, 14º e 28º dia de vida, e sempre que possível aproveitando uma coleta sangüínea para exames de rotina do serviço.
- 3) Que a autorização da participação da mãe e do RN é voluntária, podendo, livremente não participar, ou retirar seu filho do estudo a qualquer momento, sendo que isso não ocasionará qualquer penalidade ou perda dos benefícios que está recebendo.

\_\_\_\_\_  
Nome da mãe ou responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura

\_\_\_\_\_  
Nome do médico responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura

CRM \_\_\_\_\_

Telefone \_\_\_\_\_

## 5 Protocolo Vitamina E em Prematuros de Muito Baixo Peso

Nº \_\_\_\_\_ RN de \_\_\_\_\_ RG \_\_\_\_\_ DN \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

### I - Dados Maternos:

Idade \_\_\_\_\_ Procedência R U Antecedente obstétrico: G \_\_\_/P\_\_\_/A\_\_\_ Ces. Anterior: \_\_\_

Antecedentes familiares: Nº de pessoas na casa: \_\_\_\_\_ Renda familiar: \_\_\_\_\_

Renda per capita (em salários mínimos): < 0,5 de 0,5 - 1 de 1 - 3 >3

Escolaridade: \_\_\_\_\_

Alimentação: tipo: \_\_\_\_\_ Alimento mais freqüente: \_\_\_\_\_

Doenças Anteriores \_\_\_\_\_

II - Pré-natal: N S I nº de consultas: \_\_\_\_\_

Problemas Gestação \_\_\_\_\_ BR \_\_\_\_\_ h

Corticóides: S / N / I n.o de ciclos: \_\_\_\_\_ Sofri/o fetal: S / N / I

III - Parto: V CES (urgente) CES (eletiva)

IV - Dados RN: DN \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Sexo: M F Apgar \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Reanimação N S \_\_\_\_\_ IG: DUM \_\_\_\_\_ US \_\_\_\_\_

Ballard. \_\_\_\_\_ BSA \_\_\_\_\_ PN \_\_\_\_\_ g E \_\_\_\_\_ cm PC \_\_\_\_\_

PT \_\_\_\_\_ UTI: N S \_\_\_\_\_ h HD inicial: \_\_\_\_\_

Outros diagnósticos \_\_\_\_\_

V - Rx: SDR N S Grau \_\_\_\_\_ TRS N S nº doses \_\_\_\_\_

O2: Halo N S tempo \_\_\_\_\_ FiO2 máx \_\_\_\_\_

CPAPN N S tempo \_\_\_\_\_ FiO2 máx \_\_\_\_\_

VM N S tempo \_\_\_\_\_ FiO2 máx \_\_\_\_\_

HPIV N S grau: \_\_\_\_\_ diagnóstico \_\_\_\_\_

DPC N S

PCA N S Tempo de aparecimento: \_\_\_\_\_

Infecção: N S

VI - Medicamentos: Corticóides pós-natal: N S tempo de uso: \_\_\_\_\_

Restrição hídrica: N S tempo de uso: \_\_\_\_\_

Drogas vasoativas: N S tempo de uso: \_\_\_\_\_

Antibióticoterapia: N S tempo: \_\_\_\_\_

## 6 Dados Maternos e dos Recém-Nascidos

AMOSTRAS	Idade mãe	GESTAÇÕES	Consultas de Pré-Natal	Gênero	Apgar 1 min	Apgar 5 min.	IG D.U.M.	Comprimento	PC.
6	19	1	5	F	5	7	26	31.0	23.0
8	26	1	1	M	1	7	32	40.0	27.5
9	34	6	6	F	4	7	28	40.0	27.0
10	17	1	5	F	3	8	28	35.0	25.0
11	21	1	5	F	9	10	28	37.5	27.5
12	15	1	1	F	8	10	32	42.0	28.5
14	23	1	8	M	6	9	31	39.0	29.0
15	23	1	8	M	3	6	31	41.0	29.5
16	19	1	5	M	6	9	31	38.0	28.0
17	19	1	1	M	5	9	31	39.0	28.5
18	23	1	3	M	3	7	30	37.0	26.5
19	18	2	5	F		2	28	36.0	27.0
21	22	3	11	M	4	7	29	40.0	27.5
22	22	1	11	F	8	10	36	40.5	29.5
23	34	3	3	F	0	3	28	41.0	31.0
24	39	2	5	F	7	9	32	39.0	28.0
26	20	1	11	M	1	8	31	36.0	27.5
27	33	5	3	M	7	9	30	36.5	27.0
64	39	3	5	F	4	7	29	34.0	26.0
70	26	4	5	F	7	8	30	36.0	28.0
74	40	1	15	F	7	9	28	40.0	28.0
75	28	3	5	M	1	6	30	39.0	26.0
78	26	4	7	F	7	8	34	41.0	27.0
79	33	1	8	F	5	7	30	39.0	28.0
80	34	2	7	M	1	6	28	35.0	26.0
81	25	3	5	M	5	7	26	36.0	24.5
83	31	1	6	M	5	7	26	39.0	28.0
84	34	2	5	F	7	8	26	34.5	23.5

## 6 Níveis Plasmáticos da Vitamina E nos momentos e evolução ponderal dos Recém-Nascidos

AMOSTRAS	DIAS DE NPP	DIAS DE UTI	VITAMINA E				PESO				
			MÃE	CORDÃO	14 DV	28 DV	PN	P7	P14	P21	P28
6			17.82	7.44	16.39	4.79	650	540	595	595	755
8	24	7	24.42	1.5	26.84	9.83	1415	1333	1407	1579	1731
9	0	2	17.06	7.83	7.45	6.98	1240	1168	1213	1299	1409
10	24	28	17.31	6.67	50.63	26.25	970	849	888	863	865
11	11	28	15.75	4.75	5.36	14.24	1230	1063	996	1184	1248
12	0	1	16.75	8.73	20.05	14.61	1410	1341	1316	1434	1570
14		9	15.92	2.99	7.21	13.5	1420	1220	1395	1345	1670
15	7	12	15.92	4.28	20.92	3.43	1415	1340	1369	1510	1612
16	11	14	21.49	0.91	25.97	9.54	1275	1254	1307	1590	1590
17	0	15	18.52	1.38	5.89	18.64	1360	1321	1387	1546	1637
18	0	8	27.68	10.55	1.75	14.46	1275	1163	1239	1425	1502
19	11	14	19.63	2.05	22.14	30.81	1220	1210	1112	1142	1200
21	11	25	20.5	4.12	41	13.16	1360	1265	1180	1093	1560
22	0		16.96	5.29	29	6.93	1410	1409	1506	1571	1744
23	0		16.91	5.44	35.16	11.75	1100	1160	1020	1053	1280
24	6	9	18.13	0.59	10.43	4.79	1345	1246	1345	1389	1541
26	12	28	20.12	2.77	23.92	23.89	1105	1000	1055	1053	1330
27	15	2	26.3	3.74	15.56	5.96	1050	915	915	966	1109
64	11	14	15.81	1.53	48.85	9.87	890	839	922	949	1033
70	0	15	28.03	0.33	3.45	15.83	1170	1119	1091	1109	1146
74	0	7	20.78	2.55	10.88	7.18	1430	1318	1281	1529	1756
75	0	15	15.75	0.98	4.64	5.11	1110	1050	956	1009	1134
78	0	1	41.54	1.06	27.2	5.99	1275	1196	1151	1294	1420
79	0	6	49.91	3.21	5.68	13.77	1290	1181	1311	1497	1704
80	20	28	19.61	0.94	29.21	5.76	955	871	862	964	865
81	3	28	35.55	2.42	6.07	2.98	1020	990	979	1075	1191
83	0	3	18.35	0.66	10.09	18.78	1260	1181	1185	1279	1415
84	27	28	21.53	1.48	2.45	18.17	805	781	836	924	961

## 6 Níveis Plasmáticos da Vitamina E recebida (VO e EV)

AMOSTRAS	Vitamina E recebida VOmg/kg/d						Vitamina E recebida EV mg/kg/d					
	1-7dv	8-14dv	15-21dv	22-28dv	1-14dv	15-28dv	1-7dv	8-14dv	15-21dv	22-28dv	1-14dv	15-28dv
6												
8	0.19	2.61	3.39	3.40	1.39	3.24	1.20	2.80	2.80	2.80	1.75	2.68
9	0.77	3.00	3.37	3.38	1.87	3.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10	0.16	0.04	0.07	0.48	0.10	0.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
11	0.15	0.90	3.12	3.59	0.53	3.27	2.53	1.93	0.00	0.00	1.95	0.00
12	2.40	4.19	4.09	3.90	3.32	3.82	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
14												
15	0.18	1.65	7.96	5.80	0.91	6.63	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
16	0.00	1.28	6.69	5.19	0.64	5.94	1.59	2.80	0.00	0.00	1.78	0.00
17	0.01	0.28	7.09	7.05	0.15	6.87	1.20	2.80	0.00	0.00	1.77	0.00
18	0.78	2.98	9.41	6.11	1.85	7.51	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
19	0.05	1.21	3.39	2.74	0.63	2.98	1.99	2.40	0.00	0.00	2.22	0.00
21												
22	1.49	4.28	4.42	3.81	2.84	3.89	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
23												
24	0.26	3.73	5.40	4.87	1.99	4.87	1.97	0.36	0.00	0.00	1.06	0.00
26												
27	0.30	0.71	1.60	2.82	0.51	2.11	1.13	1.99	1.00	0.00	1.48	0.44
64	0.14	1.99	3.86	3.94	1.06	3.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
70	0.83	3.30	1.32	4.17	2.07	2.72	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
74	0.64	0.55	3.48	3.98	0.61	3.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
75	0.49	3.30	6.21	6.13	1.92	5.83	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
78	1.07	3.75	3.94	4.24	2.43	3.92	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
79	1.57	4.31	5.06	5.76	2.86	5.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
80	0.00	0.10	1.00	1.02	0.05	1.07	1.84	3.25	1.06	4.56	2.28	2.87
81	0.62	3.91	5.18	5.82	2.27	5.25	1.02	0.00	0.00	0.00	0.47	0.00
83	1.80	22.08	21.43	21.10	11.94	20.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
84	0.00	0.00	3.37	2.02	0.00	2.63	3.07	3.35	3.03	2.91	2.82	2.91

## 6 Níveis Plasmáticos da Vitamina E total recebida

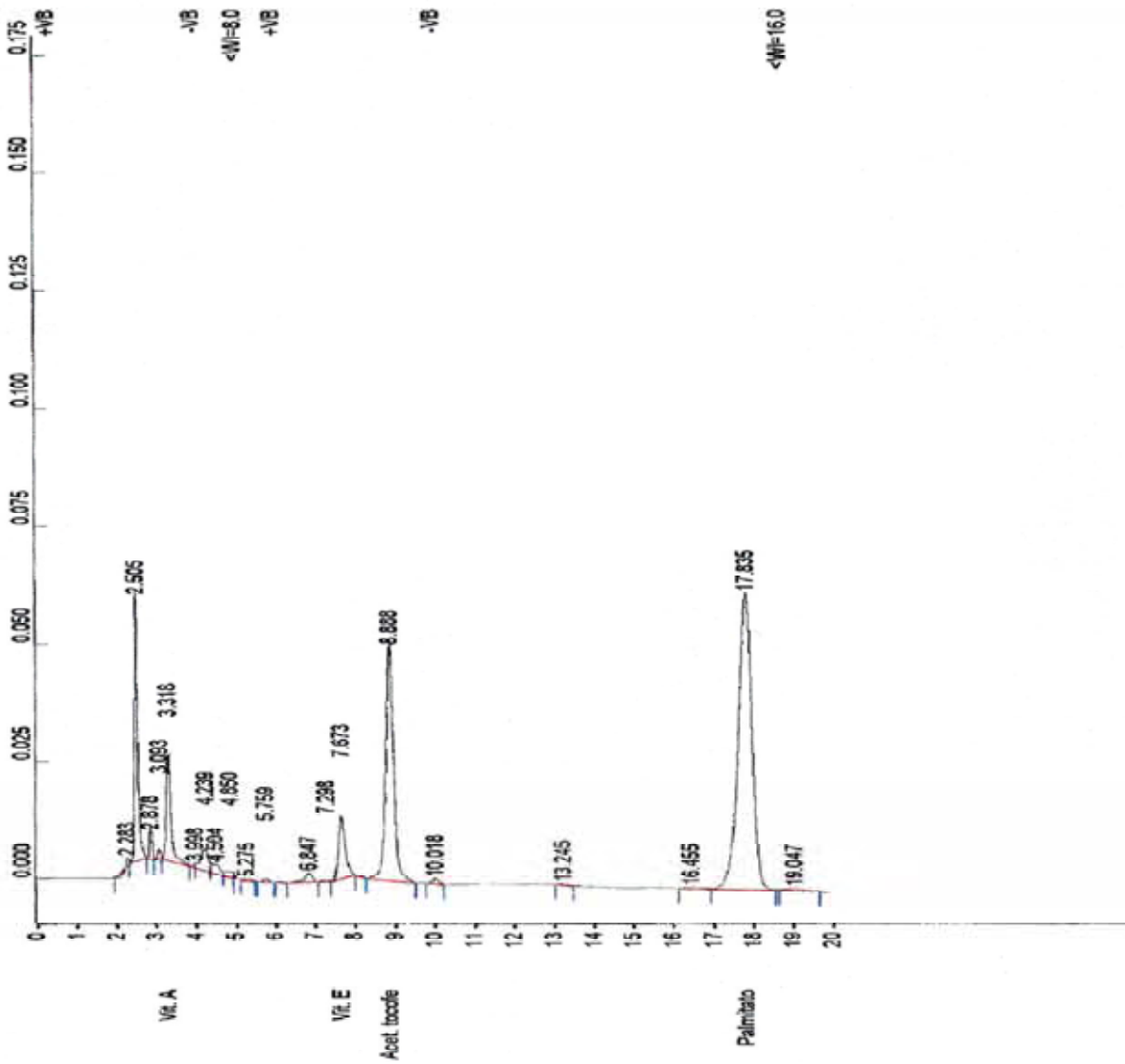
AMOSTRAS	Vitamina E recebida EV total mg/k/d					
	1-7dv	8-14dv	15-21dv	22-28dv	1-14dv	15-28dv
6						
8	1.39	5.41	6.19	6.20	2.73	5.92
9	0.77	3.00	3.37	3.38	1.61	3.24
10	0.16	0.04	0.07	0.48	0.10	0.27
11	2.68	2.83	3.12	3.59	2.27	3.27
12	2.40	4.19	4.09	3.90	5.57	7.64
14						
15	0.18	1.65	7.96	5.80	1.65	13.25
16	1.59	4.08	6.69	5.19	2.30	5.94
17	1.21	3.08	7.09	7.05	1.79	6.87
18	0.78	2.98	9.41	6.11	1.53	7.51
19	2.04	3.61	3.39	2.74	2.70	2.98
21						
22	1.49	4.28	4.42	3.81	2.45	3.89
23						
24	2.23	4.09	5.40	4.87	2.69	4.87
26						
27	1.43	2.70	2.60	2.82	1.70	2.54
64	0.14	1.99	3.86	3.94	0.94	3.75
70	0.83	3.30	1.32	4.17	1.97	2.72
74	0.64	0.55	3.48	3.98	0.44	3.50
75	0.49	3.30	6.21	6.13	1.62	5.83
78	1.07	3.75	3.94	4.24	1.97	3.92
79	1.57	4.31	5.06	5.76	2.20	5.10
80	1.84	3.35	2.06	5.58	2.60	3.94
81	1.63	3.91	5.18	5.82	2.29	5.25
83	1.80	22.08	21.43	21.10	10.00	20.24
84	3.07	3.35	6.40	4.93	2.70	5.54



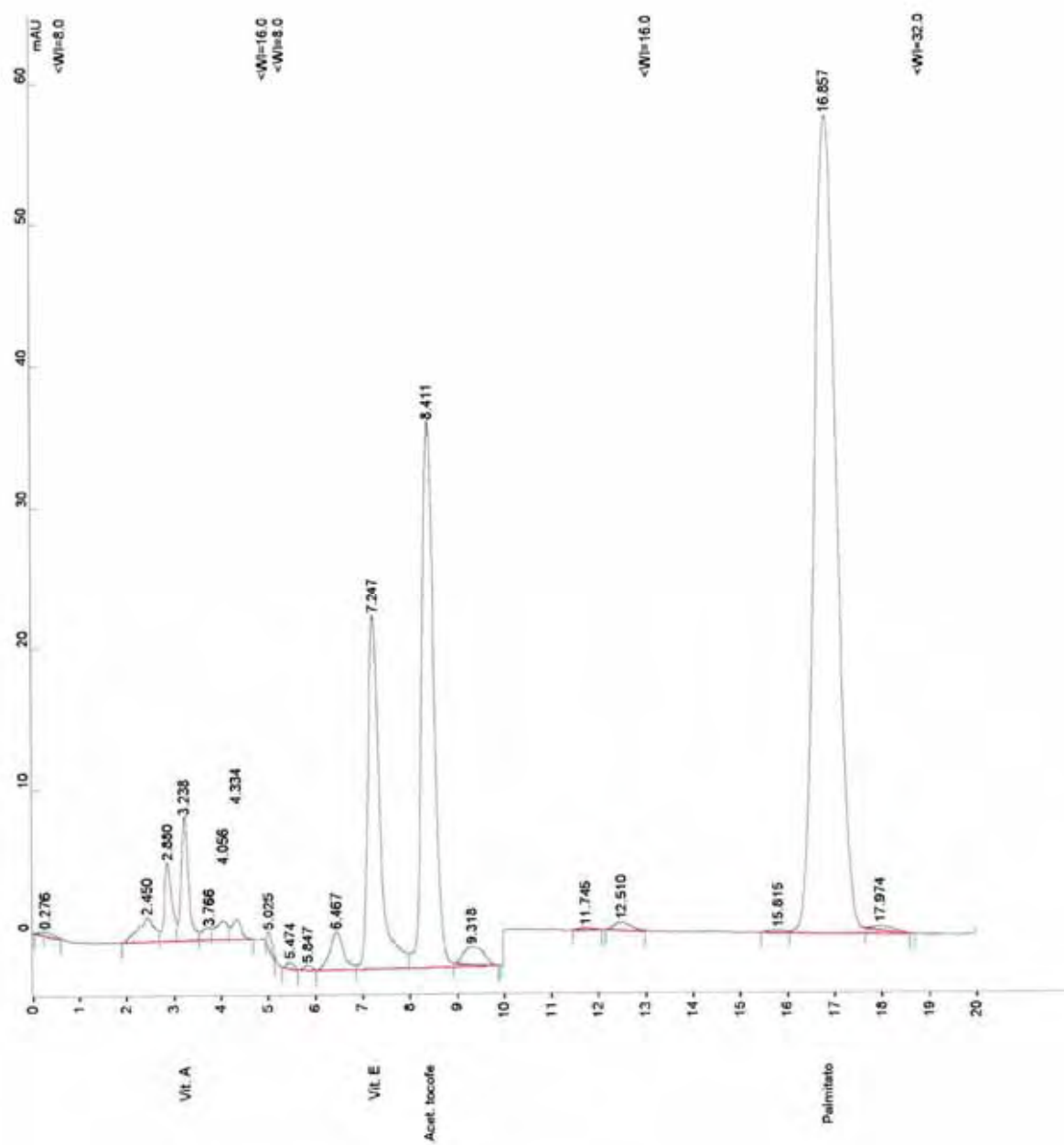


## Cromatogramas

### A - Vitamina E materna



## B – Vitamina E 14º dia de vida



## C – Vitamina E 28º dia de vida

