

ROZPRAWA DOKTORSKA

„Stężenie kwasu foliowego i homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej w zależności od wybranych czynników środowiskowych”

Aneta Mielnik

Promotor pracy: dr hab. n med. prof. UM Elżbieta Pac – Kożuchowska

Promotor pomocniczy: dr n med. Elżbieta Cipora

STRESZCZENIE

Wstęp. Zdrowie determinują czynniki endogenne i egzogenne. Zarówno jedne, jak i drugie działają na człowieka niezależnie i z różnym nasileniem. Obecnie przyjmuje się, że żywienie należy do najważniejszych czynników środowiskowych wpływających na zdrowie człowieka, a zachowania antyzdrowotne mogą mieć swoje bliskie lub odległe konsekwencje. Wyniki wielu badań z ostatnich lat potwierdzają, że pierwszym ważnym okresem w życiu człowieka jest okres życia wewnątrzmacicznego. Styl życia jaki prowadzi kobieta w tym okresie w istotny sposób wpływa na przebieg ciąży, porodu i położu, a także na stan zdrowia dziecka po urodzeniu i w kolejnych latach jego życia

Szczególne znaczenie w prawidłowym procesie rozwoju płodu ma kwas foliowy oraz witaminy z grupy B. Ich stężenie zapewnia między innymi prawidłową syntezę DNA, erytropoezę oraz rozwój układu nerwowego. Kwas foliowy jest kofaktorem enzymów biosyntezy DNA i RNA, bierze udział w syntezie metioniny, aktywnie uczestniczy w przemianie histydyny, reguluje wzrost i funkcjonowanie oraz podział komórek, zapewnia prawidłową erytropoezę, posiada właściwości antykarcenogenne. Bierze również udział w przemianach homocysteiny. Właściwy poziom tego folianu jest ważnym determinantem w zapobieganiu powstawania wad cewy nerwowej oraz niedokrwistości megaloblastycznej spowodowanej wydłużonym dojrzewaniem krwinek czerwonych w szpiku kostnym.

Homocysteina jako aminokwas siarkowy, związana jest z metabolizmem witamin z grupy B oraz bierze udział w przemianach biochemicznych metioniny i cysteiny. Stężenie homocysteiny zależy od wielu czynników takich jak: uwarunkowania genetyczne, wiek, płeć, żywienie, stosowanie używek oraz sprawności wątroby i nerek. Stężenie homocysteiny wzrasta przy niedoborze kwasu foliowego.

Ważym wskaźnikiem niedoboru kwasu foliowego jest określenie stężenia homocysteiny w osoczu krwi. Hiperhomocysteinemia to zaburzenie, które jest niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy, a podwyższony poziom homocysteiny stwierdza się u osób z rozpoznaną chorobą wieńcową serca. Wysokie stężenie homocysteiny może zaburzać procesy fizjologiczne komórek i być przyczyną wielu innych poważnych chorób układu sercowo-naczyniowego, nerwowego, nowotworów, a także patologii ciąży i niektórych wad wrodzonych.

Wyniki prowadzonych badań wskazują, że kobiety w okresie prokreacyjnym nie zawsze odżywiają się prawidłowo i często nie przyjmują witamin zgodnie z aktualnymi rekomendacjami.

Założenia i cel pracy. Celem pracy była ocena stężenia kwasu foliowego i homocysteiny w krwi pępowinowej noworodków po urodzeniu w zależności od wybranych czynników. Ważną składową badań stanowiła również weryfikacja oraz analiza czynników środowiskowych dotycząca sposobu odżywiania się kobiet w okresie ciąży oraz suplementacji witaminowej w okresie przed i postkonceptyjnym.

W pracy przyjęto następującą hipotezę badawczą – w badanej populacji ciężarnych kobiet stężenie kwasu foliowego i homocysteiny zależą od wielu czynników środowiskowych, a przede wszystkim od żywienia kobiet. Sposób żywienia niezgodny z obowiązującymi zaleceniami, może zwiększać ryzyko nieprawidłowego przebiegu ciąży oraz rozwoju płodu, co może rzutować na stan zdrowia dziecka po urodzeniu oraz w okresie późniejszym.

Sformułowano następujące pytania badawcze:

1. Jakie jest stężenie kwasu foliowego i homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej?
2. Czy istnieje korelacja pomiędzy wiekiem matki, stanem cywilnym, wykształceniem, wykonywanym zawodem, miejscem zamieszkania, warunkami materialnymi, sposobem żywienia, a stężeniem kwasu foliowego i homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej?
3. Jakie są stężenia kwasu foliowego i homocysteiny w zależności od suplementacji (przed ciążą i w czasie ciąży)?
4. Czy istnieje korelacja pomiędzy masą urodzeniową i płcią noworodka, a stężeniami kwasu foliowego i homocysteiny?
5. Jaka jest masa ciała noworodka w korelacji z zachowaniami zdrowotnymi matek?
6. Jakie były źródła pozyskiwania informacji na temat zalecanego sposobu odżywiania się przez kobiety w ciąży?

Materiał i metody badań. Badania przeprowadzono od marca do sierpnia 2014 r. u noworodków oraz ich matek rodzących w Oddziale Położniczo-Ginekologicznym Samodzielnego Publicznego Zespołu Opieki Zdrowotnej w Sanoku. Badania rozpoczęto po uzyskaniu

zgody dyrektora Samodzielnego Publicznego Zespołu Opieki Zdrowotnej w Sanoku, ordynatora oddziału Położniczo-Ginekologicznego oraz pozytywnej opinii Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie na realizowany projekt badań (numer *KE-0254/66/2014*).

Grupę matek stanowiło 88 zdrowych kobiet, po porodzie odbytym siłami natury w wieku od 18 do 43 lat. W badanej grupie najwięcej było kobiet zamężnych, pochodzących ze środowiska wiejskiego oraz małych miast od 31 tys. do 50 tys. mieszkańców, posiadających wykształcenie średnie lub wyższe oraz oceniające swoje warunki socjoekonomiczne jako dobre. Noworodki głównie pochodziły z ciąż donoszonych, urodzone w terminie w stanie dobrym z prawidłową urodzeniową masą ciała. Wszystkie urodzone dzieci z obecnej ciąży były zdrowe i nieobciążone wadami wrodzonymi.

Kryteria decydujące o włączeniu do grupy badanej stanowiło: uzyskanie świadomej i dobrowolnej zgody pacjentki na udział w badaniu, dobry stan zdrowia, odbycie porodu siłami natury, uczestnictwo we wszystkich etapach badania, kompletność uzyskanych danych oraz należna jakość próbek krwi pępowinowej możliwa do wykonania laboratoryjnych analiz biochemicznych. Kryteria wyłączenia z badań to: nieprawidłowy przebieg ciąży oraz występujące choroby układowe matki, brak świadomej i dobrowolnej zgody pacjentki na udział w badaniu, odstąpienie pacjentki od przynajmniej jednego etapu badań, odbycie porodu cięciem cesarskim oraz hemoliza pobranej krwi pępowinowej uniemożliwiająca wykonanie badań laboratoryjnych.

Do badań pobierano krew pępowinową (mieszana tętniczo-żylną) za zgodą matki, bezpośrednio po porodzie i odpepnieniu noworodka, przed urodzeniem łożyska z zaklemowanego fragmentu pępowiny. Oznaczenia wykonano w Laboratorium Naukowym przy III Katedrze Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Pobrana krew pępowinowa posłużyła do wykonania oznaczenia dwóch parametrów: kwasu foliowego oraz homocysteiny (Hcy) z wykorzystaniem komercyjnych zestawów odczynników.

Narzędziem badawczym niniejszej pracy doktorskiej był autorski kwestionariusz ankiety. Kwestionariusz zawierał 43 pytania zarówno zamknięte jak i otwarte. Ankieta obejmowała pytania dotyczące podstawowych danych antropometrycznych (tj. masa i wysokość ciała matki przed ciążą, masa ciała matki przed porodem, BMI matki przed ciążą, urodzeniowa masa ciała dziecka) oraz socjoekonomicznych (tj. wiek, stan cywilny, wykształcenie, warunki materialne, miejsce zamieszkania, aktywność zawodowa). W kwestionariuszu zamieszczono zarówno podstawowe pytania dotyczące przeszłości położniczej i sytuacji zdrowotnej (liczby ciąż i porodów, przebiegu ciąży, występowania chorób przewlekłych, stanu zdrowia dzieci po

urodzeniu) jak również obecnej ciąży i stanu noworodka (długość trwania i przebieg ciąży, ocena Apgar noworodka po porodzie).

Ocena wiedzy żywieniowej badanych kobiet ciężarnych oraz sposobu ich żywienia przeprowadzona została na podstawie kwestionariusza wywiadu i dotyczyła m.in. preferencji w zakresie częstości i rodzaju spożywanych posiłków z poszczególnych grup żywnościowych, rodzaju i ilości wypijanych płynów, dokonanych zmian dietetycznych, stosowania używek, suplementacji diety preparatami witaminowo-mineralnymi w okresie okołoporodowym oraz rezygnacji z niektórych produktów niezalecanych w ciąży. W ankiecie znalazły się również pytania o palenie tytoniu w tym częstość i ilość wypalanych papierosów.

Uzyskane wyniki badań zostały poddane analizie statystycznej. Parametry analizowanych wartości mierzone w skali nominalnej scharakteryzowano na podstawie licznosci (n) i odsetka (%). Dla cech ilościowych obliczono: zakres wartości (Min., Max.), średnią arytmetyczną (M), medianę (Me), odchylenie standardowe (SD), przedział ufności (95% CI). Do oceny rozkładu analizowanych parametrów zastosowano test Kołmogorowa-Smirnowa. Ze względu na skośny rozkład badanych mierzalnych parametrów, bądź niejednorodność wariacji zastosowano testy nieparametryczne oceniające istotność różnic między analizowanymi grupami. W pracy wykorzystano następujące testy statystyczne: chi kwadrat, Kołmogorowa-Smirnowa, t-Studenta, równości rozkładów U Manna-Whitney'a, współczynnik korelacji Spearmana. Jako kryterium istotności przyjęto $p < 0,05$ wskazujące na obecność istotnych statystycznie zależności bądź różnic (w pracy przyjęto 5% ryzyka błędu wnioskowania). Do obliczeń wykorzystano następujące programy: arkusz kalkulacyjny EXCEL 2007 (Microsoft), STATISTICA 10 (StatSoft, Inc.)

Wyniki badań. Kobiety wprowadzały modyfikację diety najczęściej będąc w pierwszej oraz drugiej ciąży, a ciężarne, które deklarowały zmianę sposobu żywienia określiły, że ich dieta zmieniła się zarówno pod względem jakościowym i ilościowym (56,8%), tylko ilościowym (14,8%) lub tylko jakościowym (9,1%). Matki wyeliminowały ze swojej diety niektóre produkty żywnościowe mając na uwadze swój stan zdrowia oraz dobro dziecka (42%), a pozostałe 58% nic w tej kwestii nie zrobiły. Dobrym zwyczajem było to, że kobiety nie korzystały z placówek zbiorowego żywienia oraz restauracji typu „fast food”, w większości przygotowywały posiłki w domu, a najczęściej stosowaną techniką kulinarną było gotowanie, zdecydowanie rzadziej pieczenie i smażenie.

Na podstawie dokonanej analizy można wnioskować, że pomimo modyfikacji sposobu żywienia w okresie prokreacyjnym, nie zawsze zmiany te były korzystne zarówno dla zdrowia matki, jak i rozwoju płodu. Badane ciężarne w większości stosowały dietę tradycyjną

(72,7%), ale dość duża grupa kobiet (27,3%) preferowała ograniczenia dietetyczne w zakresie wybranych składników pokarmowych. Stosowały one diety niskotłuszczowe (10,2%), wysokobiałkowe (9,1%), cukrzycowe (5,1%) oraz wegetariańskie (2,3%). Żadna z kobiet nie stosowała diety wegańskiej. Stosowanie tego rodzaju diet wynikało zarówno z wcześniejszych przyzwyczajzeń, jak również ze zmiany sposobu żywienia w związku z ciążą. Najczęstsze błędy żywieniowe ciężarnych dotyczyły niskiego spożycia produktów zbożowych, mleka i jego przetworów, ryb oraz dojadania przekąsek pomiędzy głównymi posiłkami w tym często słodczy. Kobiety preferowały pieczywo pszenne, z produktów mięsnych drób i wieprzowinę oraz często piły kawę i mocną herbatę.

Oceniając stan odżywienia kobiet stwierdzono, że masa ciała przed ciążą wyniosła średnio $60,88 \pm 10,85$ kg, a wskaźnik wagowo-wzrostowy BMI $22,64 \pm 3,75$ kg/m², co wskazuje na wartość prawidłową u większości badanych kobiet (68,2%). Kobiety, u których rozpoznano nieprawidłową masę ciała posiadały częściej nadwagę, niż niedowagę. Przyrost masy ciała w ciąży w grupie badanych kobiet wyniósł średnio 13,32 kg.

Kobiety stosowały suplementy diety wielowitaminowe, jak i jednoskładnikowe. Ocenie poddano zarówno preparaty składające się z wielu witamin i mikroelementów oraz zawierające kwas foliowy, kwasy Omega-3 oraz żelazo. Suplementację witaminowo-mineralną w okresie ciąży stosowała większość kobiet (tj.77%), ale są również i takie, które nie przyjmowały w tym okresie żadnych preparatów (tj.23%). Kobiety rozpoczęły suplementację diety najczęściej od początku trwania ciąży (22,7%) od 2 miesiąca ciąży (20,5%) od 4 miesiąca ciąży (13,6%) i od 3 miesiąca ciąży (10,2%), a pojedyncze po 5 miesiącu ciąży.

Suplementacja diety miała wpływ na stężenie kwasu foliowego i homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej noworodków. Wyższe stężenie kwasu foliowego w surowicy krwi pępowinowej, stwierdzono u noworodków matek przyjmujących w okresie ciąży preparaty witaminowe ($M = 18,30 \pm 9,49$ ng/ml) w porównaniu z noworodkami matek nie stosujących takiej suplementacji ($M = 12,44 \pm 10,29$ ng/ml, $p < 0,05$). Średnie stężenie homocysteiny było wyższe w surowicy krwi pępowinowej noworodków matek nie przyjmujących witamin w okresie okołoporodowym ($M = 9,31 \pm 3,53$ μmol/l) w porównaniu z matkami suplementującymi dietę ($M = 6,97 \pm 2,18$ μmol/l, $p < 0,01$).

Na podstawie badań własnych stwierdzono wiele nieprawidłowości dotyczących przyjmowania preparatów zawierających kwas foliowy oraz czasu rozpoczęcia tej suplementacji. Pomimo tego, że badane kobiety w większości, przyjmowały profilaktycznie preparaty kwasu foliowego (88%) to ponad połowa z nich rozpoczynała suplementację dopiero po zajściu w ciążę (55%), a tylko 33% badanych kobiet jeszcze przed ciążą. Były też takie matki, które

nie przyjmowały kwasu foliowego w ogóle (12%). Kobiety okresie ciąży rozpoczynały najczęściej suplementację diety preparatami farmaceutycznymi od pierwszego, drugiego lub trzeciego miesiąca ciąży.

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej stwierdzono, że stężenie kwasu foliowego we krwi pępowinowej wyniosło średnio $16,97 (\pm 9,92 \text{ ng/ml})$, a stężenie homocysteiny $7,50 (\pm 2,71 \text{ } \mu\text{mol/l})$. Wykazano ujemną, istotną statystycznie korelację pomiędzy stężeniem kwasu foliowego i stężeniem homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej noworodków ($R_s = -0,3174, p < 0,05$). Można więc wnioskować, że stężenie kwasu foliowego i homocysteiny były względem siebie zależne.

Stężenie kwasu foliowego było zależne od długości trwania ciąży. Potwierdza to ujemna istotnie statystyczna korelacja pomiędzy stężeniem kwasu foliowego, a długością trwania ciąży ($R_s = -0,23, p < 0,05$). Stwierdzono wyższe średnie stężenie kwasu foliowego wynoszące $21,45 \pm 8,58 \text{ ng/ml}$ u noworodków urodzonych przed 38 tygodniem ciąży w porównaniu ze stężeniem kwasu foliowego $16,05 \pm 9,98 \text{ ng/ml}$ u noworodków urodzonych z ciąży powyżej 38 tygodnia i różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,05$). Długość trwania ciąży nie miała wpływu na stężenie homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej

Stężenie kwasu foliowego w surowicy krwi pępowinowej natomiast nie było zależne od: wieku matek, masy ich ciała przed ciążą i przed porodem, przyrostu masy ciała w okresie ciąży, kolejności ciąży, wysokości ciała, BMI kobiet przed ciążą oraz od urodzeniowej masy ciała noworodka.

Średnie stężenie kwasu foliowego w surowicy krwi pępowinowej u noworodków płci żeńskiej $19,51 \pm 9,94 \text{ ng/ml}$ było wyższe w porównaniu ze średnim stężeniem u płci męskiej $14,65 \pm 9,43 \text{ ng/ml}$ i różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,05$). Nie wykazano istotnych zależności pomiędzy stężeniem homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej, a płcią noworodka. U dzieci płci męskiej średnie stężenie homocysteiny wyniosło $7,66 \pm 2,86 \text{ } \mu\text{mol/l}$, a u płci żeńskiej $7,33 \pm 2,56 \text{ } \mu\text{mol/l}$ ale różnica ta nie była istotna statystycznie.

Stężenie kwasu foliowego w surowicy krwi pępowinowej było wyższe u noworodków, których matki nie paliły papierosów w okresie ciąży ($M = 17,54 \pm 9,82 \text{ ng/ml}$) w porównaniu z noworodkami matek palących papierosy ($M = 10,34 \pm 9,25 \text{ ng/ml}$) i różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,05$). U noworodków matek, które nie paliły papierosów w okresie ciąży, wykazano dodatnią korelację pomiędzy tygodniem trwania ciąży, a masą urodzeniową dziecka ($R_s = 0,3844, p < 0,05$) oraz dwie ujemne korelacje: pomiędzy stężeniem kwasu foliowego w surowicy krwi pępowinowej i tygodniem trwania ciąży ($R_s = -0,3476, p < 0,05$) oraz stężeniem kwasu foliowego i homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej ($R_s = -0,3240, p < 0,05$).

W związku z często rozbieżnymi wynikami badań oceniającymi stężenie kwasu foliowego oraz homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej u noworodków w zależności od różnych czynników środowiskowych, wydaje się zasadne prowadzenie dalszych badań, na większej grupie pacjentów oraz oceniających inne czynniki. Być może wtedy będzie można odpowiedzieć na pytanie jaka suplementacja witaminami i mikroelementami zapewni prawidłowy rozwój płodu, noworodka oraz dziecka i dorosłego w kolejnych latach życia.

Wnioski

1. Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że dieta większości kobiet w okresie ciąży zmieniła się zarówno pod względem jakościowym jak i ilościowym. Pomimo modyfikacji sposobu żywienia w okresie prokreacyjnym, nie zawsze zmiany te były zgodne z zasadami racjonalnego żywienia opracowanymi dla kobiet w ciąży.
2. Najczęstsze błędy żywieniowe ciężarnych dotyczyły niskiego spożycia produktów zbożowych, mleka i jego przetworów, ryb oraz dojadania przekąsek pomiędzy głównymi posiłkami w tym często słodczy. Kobiety preferowały pieczywo pszenne, z produktów mięsnych drób i wieprzowinę oraz często piły kawę i mocną herbatę.
3. Kobiety w większości stosowały suplementację diety preparatami wielowitaminowymi, w tym i kwasem foliowym, ale przeważnie rozpoczynały ją zbyt późno, najczęściej dopiero w okresie ciąży, co mogło skutkować niskim wysyceniem organizmu matki i płodu witaminami.
4. Wiedza kobiet na temat prawidłowego sposobu odżywiania się w okresie ciąży pochodziła najczęściej ze źródeł internetowych, z książek i czasopism oraz od lekarza ginekologa/położnika.
5. Wyższe stężenie kwasu foliowego w surowicy krwi pępowinowej stwierdzono u noworodków płci żeńskiej, starszych matek, których ciąża trwała krócej, noworodków matek z wykształceniem wyższym, niepracujących, przyjmujących w okresie ciąży preparaty witaminowe oraz niepalących papierosów w okresie ciąży.
6. Stężenie homocysteiny było wyższe w surowicy krwi pępowinowej noworodków matek, które nie przyjmowały suplementów witaminowych, matek młodszych oraz w grupie noworodków matek z wykształceniem podstawowym, zawodowym i niepracujących.
7. Urodzeniowa masa ciała noworodków nie była zależna od stężenia kwasu foliowego i homocysteiny w surowicy krwi pępowinowej. Istotne zależności stwierdzono pomiędzy urodzeniową masą ciała, a: długością trwania ciąży, kolejnością ciąży oraz paleniem tytoniu przez ciężarne.

8. Racjonalne żywienie oraz prawidłowo zbilansowana dieta w okresie ciąży warunkuje prawidłowy rozwój płodu, przebieg ciąży i stan zdrowia matki, a następnie zdrowia dzieci w kolejnych latach życia. Istnieje zatem konieczność uwzględniania w programach opieki perinatalnej tematyki żywieniowej oraz prowadzenia edukacji matek.

Słowa kluczowe: żywienie w ciąży, suplementacja, kwas foliowy, homocysteina, krew pępowinowa