

KAMIL HOZYASZ¹, MAGDALENA CHEŁCHOWSKA², ZBIGNIEW SUROWIEC³

Stężenia cholesterolu i retinolu u kobiet, które urodziły dziecko z izolowanym rozszczepem podniebienia – doniesienie wstępne

Cholesterol and Retinol Levels in Women, Who Gave Birth to a Child with Isolated Cleft Palate – Preliminary Study

¹ Klinika Pediatrii Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie

² Zakład Biochemii Klinicznej Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie

³ Klinika Chirurgii Dzieci i Młodzieży Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie

Streszczenie

Wprowadzenie. Dzieci z rozszczepami twarzoczaszki wymagają wielospecjalistycznej opieki, która w istotny sposób wpływa na ich życie. Opublikowano wyniki badań wskazujących na istnienie związku między zwiększonym spożyciem produktów o dużej zawartości cholesterolu i tłuszczów nasyconych przez matkę a zmniejszeniem się ryzyka urodzenia dziecka z rozszczepem podniebienia. Rozpuszczalny w tłuszczu retinol (witamina A) ma dobrze udokumentowany związek z palatogenezą. Przypuszczalnie u niektórych osób może występować zwiększona wrażliwość na względnie małe stężenia witaminy A, skutkująca teratogenezą.

Cel pracy. Ocena stężenia cholesterolu i retinolu (witaminy A) w osoczu krwi matek dzieci z rozszczepami podniebienia.

Materiał i metody. Badaniem pilotażowym objęto 12 zdrowych matek dzieci z izolowanym rozszczepem podniebienia i 15 kobiet, które urodziły zdrowe dzieci. Stężenia retinolu oznaczano metodą wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej.

Wyniki. Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między średnimi stężeniami cholesterolu całkowitego ($188,8 \pm 33,5$ mg/dl vs $185,4 \pm 28,65$ mg/dl) oraz retinolu ($1,97 \pm 0,69$ μ mol/l vs $1,89 \pm 0,60$ μ mol/l) u matek dzieci z wadą i kobiet z grupy kontrolnej. U żadnej z uczestniczek badania stężenie retinolu nie było mniejsze od dolnej granicy normy przyjętej dla osób dorosłych ($0,8$ μ mol/l < N < $2,8$ μ mol/l), a u trzech matek zdrowych dzieci stężenia tej witaminy były > $2,8$ μ mol/l.

Wnioski. Wybór witamin do profilaktycznego stosowania przez kobiety planujące macierzyństwo powinny poprzedzać wnikliwe analizy biochemicznych wykładników stanu odżywienia matek dzieci z wadami wrodzonymi. Niezbędne są dalsze badania poświęcone zależności między stężeniem retinolu u matki a ryzykiem urodzenia dziecka z rozszczepem podniebienia (*Dent. Med. Probl.* 2005, 42, 2, 299–302).

Słowa kluczowe: rozszczep podniebienia, retinol, cholesterol.

Abstract

Background. Children with orofacial clefts undergo multidisciplinary treatment with considerable disruption to their lives. Recently, it has been reported that higher preconceptional dietary intake of cholesterol and saturated fat are significantly associated with a decreased risk of giving birth to a child with isolated cleft palate. Both excessively high and low levels of fat-soluble vitamin A (retinol) induce craniofacial anomalies. Hypothetically, there may be genetic predisposition to the teratogenic effects of even mild maternal retinol deficiency during pregnancy.

Objectives. To investigate plasma cholesterol and retinol levels in mothers of children with cleft palate.

Material and Methods. 12 healthy mothers of children with isolated cleft palate and 15 control women who gave birth to children without birth defects were studied. Levels of retinol in fasting plasma samples were determined by high performance liquid chromatography.

Results. There were no differences between mean plasma total cholesterol (188.8 ± 33.5 mg/dl vs. 185.4 ± 28.65 mg/dl) and retinol (1.97 ± 0.69 μ mol/L vs. 1.89 ± 0.60 μ mol/L) levels in mothers of children with birth

defect comparing to controls. In none of participants retinol concentration was below the laboratory norm for adults ($0.8 \mu\text{mol/l} < N < 2.8 \mu\text{mol/l}$), but the three mothers of healthy children had retinol concentrations above $2.8 \mu\text{mol/l}$. **Conclusions.** The choice of vitamins for intervention trials in women planning pregnancy should be based on prior detailed studies of biochemical indicators of nutritional status in the population of mothers of children with birth defects. Further studies devoted to association between retinol homeostasis in women and risk of having child with cleft palate are needed (*Dent. Med. Probl.* 2005, 42, 2, 299–302).

Key words: cleft palate, retinol, cholesterol.

Rozszczepy podniebienia są jednymi z najczęstszych wad wrodzonych. Na świecie co 2,5 minuty rodzi się dziecko z wadą twarzoczaszki. U licznych chorych, mimo chirurgicznego odtworzenia ciągłości podniebienia, występują zaburzenia czynnościowe w obrębie jamy ustnej [1]. Wydłużony czas oczyszczania się jamy ustnej z treści pokarmowej jest przyczyną zwiększonego powstawania zalegającej skrobi fermentujących cukrów, co skutkuje nasiloną próchnicą zębów [2, 3]. U pacjentów z izolowanymi rozszczepami podniebienia często współistnieje hipodontio-ektopowe wyrzynanie zębów trzonowych, przemieszczenia kłów i zębów przedtrzonowych oraz zniekształcone morfologicznie zęby sieczne [4, 5].

W pracach poświęconych aspektom historycznym występowania rozszczepów twarzoczaszki najczęściej były opisywane dwie populacje: prekolumbijskich Indian, zamieszkujących zachodnią część Ameryki Południowej, oraz Chińczyków. Z Peru pochodzą liczne znaleziska figurek przedstawiających ludzi z wadami twarzoczaszki, a z Chin dzieła poświęcone epidemiologii rozszczepów oraz opisy procedur leczniczych [6]. Trzeba podkreślić, że obie populacje stosowały głównie monodietę roślinną opartą na ziemniakach lub ryżu. W przeważającej części ewolucji człowieka dieta była zróżnicowana i niskokaloryczna, co skutkowało przyjmowaniem pokarmów o dużej objętości. Korzystną cechą takiej diety była duża podaż witamin i mikroelementów [7], których przypuszczalnie brakowało w populacjach na monodietcie ziemniaczanej lub ryżowej. Zarówno polewany ryż, jak i ziemniaki nie są bogate m.in. w β -karoten (prowitamina A) i retinol (witamina A) [8, 9]. Nieurozmaicona dieta oparta na ziemniakach lub ryżu prowadzi do awitaminozy A [9, 10].

W ostatnich dziesięciu latach wyniki licznych badań sugerowały, że przyjmowanie preparatów wielowitaminowych w okresie okołokoncepcyjnym zmniejszało ryzyko występowania rozszczepów [6]. W 2004 r. Krapels et al. [11] przedstawili badania nawyków żywieniowych 182 holenderskich matek dzieci z rozszczepami twarzoczaszki po upływie średnio 14 miesięcy od porodu. W opinii cytowanych autorów wady te korelowały z dietą stosowaną w okresie prekonceptyjnym. Kobiety rodzące dzieci z wadą cechowało m.in. mniejsze spożycie wita-

min i włókniaka, ale nie ziemniaków, w porównaniu z matkami zdrowych dzieci. Ryzyko posiadania potomstwa z izolowanym rozszczepem podniebienia było istotnie statystycznie mniejsze u osób spożywających produkty o zwiększonej ilości cholesterolu i tłuszczów nasyconych. Z witamin rozpuszczalnych w tłuszczu tylko retinol (witamina A) ma dobrze udokumentowany związek z palatogenezą [11].

Celem pilotażowego badania była ocena stężenia cholesterolu i retinolu u polskich matek dzieci z izolowanym rozszczepem podniebienia.

Material i metody

Grupę badaną stanowiło 12 zdrowych matek dzieci z izolowanym rozszczepem podniebienia, do grupy kontrolnej natomiast zakwalifikowano 15 zdrowych kobiet, które urodziły dziecko bez wad wrodzonych. Krew do badań pobierano nie wcześniej niż po 12 miesiącach oraz nie później niż po 48 miesiącach od porodu, kiedy to, w świetle danych z piśmiennictwa [11, 12], probantki przypuszczalnie pozostawały na diecie podobnej do stosowanej w okresie prekonceptyjnym. Krew pobierano z żyły łokciowej do probówek heparynizowanych 12 godzin po posiłku. Krwinki od osocza oddzielano natychmiast po pobraniu przez wirowanie w 2000 rpm (4°C , 10 min). Zamrożone w temperaturze -20°C próbki osocza przechowywano do czasu wykonania oznaczeń witamin (maksymalnie 2 tygodnie). Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Instytucie Matki i Dziecka.

Osoczowe stężenia retinolu oznaczano metodą wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej z detektorem promieniowania ultrafioletowego [13], a stężenia całkowite cholesterolu i jego frakcji HDL metodą enzymatyczną (BíoMerieux, Francja) z użyciem analizatora biochemicznego Cobas Mira (Roche, Szwajcaria).

W analizie statystycznej wyników wykorzystano test *t*-Studenta. Za istotne statystycznie uznano różnice na poziomie ufności $p \leq 0,05$.

Wyniki

Stężenia retinolu i cholesterolu w osoczu oraz stosunku retinolu do całkowitego stężenia cholesterolu u matek dzieci z rozszczepem podniebienia

Tabela 1. Stężenia retinolu i cholesterolu w osoczu krwi u matek dzieci z izolowanym rozszczepem podniebienia**Table 1.** Plasma retinol and cholesterol levels in mothers of children with isolated cleft palate

Grupa matek (Group of mothers)	Retinol (Retinol) μmol/l	Cholesterol całkowity (Total cholesterol) mg/dl	HDL-cholesterol (HDL-cholesterol) mg/dl	Stosunek retinol/ /cholesterol całkowity (Ratio of retinol to total cholesterol) μmol/mmol
Dzieci zdrowe (Healthy children)	1,97 ± 0,69 (n = 15)	188,8 ± 33,5 (n = 9)	60,7 ± 12,6 (n = 8)	0,45 ± 0,13 (n = 9)
Dzieci z rozszczepem podniebienia (Children with cleft palate)	1,89 ± 0,60 (n = 12)	185,4 ± 28,6 (n = 9)	59,6 ± 8,5 (n = 9)	0,41 ± 0,12 (n = 9)

nie różniły się istotnie statystycznie od występujących w grupie kontrolnej. U żadnej z uczestniczek badania nie stwierdzono hipowitaminozy A (stężenie < 0,8 μmol/l [14]). Największe stężenie retinolu u matek dzieci z wadą wynosiło 2,8 μmol/l, a u kobiet z grupy kontrolnej – 3,5 μmol/l.

Omówienie

Cholesterol jest niezbędny do prawidłowej embriogenezy [15–17]. Niedobór witaminy A i doświadczalna hipercholesterolemia w czasie ciąży wywołują rozszczepy podniebienia [18–20]. Nasiloną endogenną syntezę cholesterolu, która towarzyszy ograniczonej podaży w diecie, może przypuszczalnie powodować w organizmie zwiększenie stężenia jego prekursorów o embriotoksycznym działaniu [17].

W latach 30. XX w. dużym zainteresowaniem cieszyły się badania dotyczące wpływu hipowitaminozy A na rozród [21]. Hale [22, 23] stwierdził, że niedobory retinolu u ssaków wiążą się z malformacjami w obrębie narządu wzroku oraz rozszczepami twarzoczaszki. Obecnie wiadomo, że zarówno niedobór, jak i nadmiar witaminy A zaburza embriogenezę [11, 24].

U badanych przez autorów artykułu matek dzieci z rozszczepami podniebienia nie występowała hipocholesterolemia, a średnie stężenie cho-

lesterolu nie różniło się istotnie od stwierdzonego w grupie kontrolnej. Nie stwierdzono także hipowitaminozy A, ani stężenia retinolu przekraczającego górną granicę normy przyjętej dla populacji osób dorosłych w Polsce ($N \leq 2,8 \mu\text{mol/l}$) [14]. W ostatnich latach w piśmiennictwie podkreślano szczególne znaczenie hiperwitaminozy A u matki jako czynnika ryzyka występowania wad wrodzonych, w tym rozszczepów twarzoczaszki [25].

W 2003 r. Lampert et al. [26] wykazali, że w embriogenezie kręgowców ważną rolę odgrywa dostępność aktywnej postaci witaminy A syntezowanej miejscowo z udziałem oksygenazy karotenowej. Przypuszczalnie wrodzona zmniejszona zdolność do miejscowej syntezy lub dokomórkowego transferu retinolu u zarodka, w połączeniu ze stosunkowo małymi (ale mieszczącymi się w granicach normy przyjętej dla ogólnej populacji) stężeniami aktywnej postaci witaminy u matki, może sprzyjać rozwojowi wad wrodzonych u potomstwa [26, 27]. Co interesujące, w naszym pilotażowym badaniu duże (> 2,8 μmol/l) stężenia retinolu stwierdzono tylko u trzech kobiet, które urodziły dziecko bez wad wrodzonych.

Mała liczebność grupy matek dzieci z wadą wrodzoną oraz grupy kontrolnej nie pozwala na wyciągnięcie ostatecznych wniosków niewystępowania dużych stężeń retinolu u matek dzieci z izolowanym rozszczepem podniebienia. Niezbędne jest objęcie analizą większej liczby probantek.

Piśmiennictwo

- [1] BICKNELL S., MCFADDEN L. R., CURRAN J. B.: Frequency of pharyngoplasty after primary repair of cleft palate. J. Canad. Dent. Assoc. 2002, 68, 688–692.
- [2] AHLUWALIA M., BRAILSFORD S. R., TARELLI E., GILBERT S. C., CLARK D. T., BARNARD K., BEIGHTON D.: Dental caries, oral hygiene, and oral clearance in children with craniofacial disorders. J. Dent. Res. 2004, 83, 175–179.
- [3] HEWSON A. R., McNAMARA C. M., FOLEY T. F., SANDY J. R.: Dental experience of cleft affected children in the west of Ireland. Int. Dent. J. 2001, 51, 73–76.
- [4] HELIOVAARA A., RANTA R., RAUTIO J.: Dental abnormalities in permanent dentition in children with submucous cleft palate. Acta Odontol. Scand. 2004, 62, 129–131.
- [5] KARSTEN A., LARSON M.: The relationship between hypodontia in the second premolar region and heredity of cleft, lip and palate in children with isolated cleft palate. Swed. Dent. J. 2004, 28, 47–52.
- [6] HOZYASZ K.: Profilaktyka pierwotna wad rozszczepowych twarzoczaszki. Przegl. Pediatr. 2001, 31, 229–230.

- [7] AMES B. N.: Supplements and tuning up metabolism. *J. Nutr.* 2004, 134, 3164S–3168S.
- [8] FARELL J. J.: Digestion and absorption of nutrients and vitamins. In: *Gastrointestinal and Liver Disease*. Eds.: Feldman M., Friedman L. S., Sleisenger M. H., Saunders 2002.
- [9] YE X., AL-BABILI S., KLOTI A., ZHANG J., LUCCA P., BEYER P., POTRYKUS I.: Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science* 2000, 287, 303–305.
- [10] BLOCH C. E.: Klinische Untersuchungen über Dystrophie und Xerophthalmie bei jungen Kindern. *Jahrbuch Kinderheilkunde* 1919, 89, 409–441.
- [11] KRAPELS I. P. C., VAN ROOIJ I. A. L. M., OCKE M. C., WEST C. E., VAN DER HORST C. M. A. M., STEEGERS-THEUNISSEN R. P. M.: Maternal nutritional status and the risk of orofacial cleft offspring in humans. *J. Nutr.* 2004, 134, 3106–3113.
- [12] DEVINE C. M., BOVE C. F., OLSON C. M.: Continuity and change in women's weight orientations and lifestyle practices through pregnancy and the postpartum period: the influence of life course trajectories and transitional events. *Soc. Sci. Med.* 2000, 50, 567–582.
- [13] DRISKELL W. J., NEESE J. W., BRYANT C. C., BASHOR M. M.: Measurement of vitamin A and vitamin E in human serum by high performance liquid chromatography. *J. Chrom.* 1982, 231, 439–444.
- [14] PRÓSZYŃSKA K., LORENC R. S.: Witaminy A, D, E – znaczenie, zapotrzebowanie, suplementacja, toksyczność. *Medycyna* 2000 1992, 3, 40–43.
- [15] OPITZ J. M., GILBERT-BARNES E., ACKERMAN J., LOWICHK A.: Cholesterol and development: the RSH (“Smith-Lemli-Opitz”) syndrome and related conditions. *Pediatr. Pathol. Mol. Med.* 2002, 21, 153–181.
- [16] JEZELA-STANEK A., KRAJEWSKA-WALASEK M.: Szlak sygnałowy białek Sonic hedgehog. *Pediatr. Pol.* 2003, 78, 221–228.
- [17] ROUX C., WOLF C., MULLIEZ N., GAOUA W., CORMIER V., CHEVY F., CITADELLE D.: Role of cholesterol in embryonic development. *Am. J. Clin. Nutr.* 2000, 71, 1270S–1279S.
- [18] SHIBATA M.: A new potent teratogen in CD rats inducing cleft palate. *J. Toxicol. Sci.* 1993, 18, 171–178.
- [19] URSICK J. A., ISRAELSEN L. D., SHAW D. H.: Cholesterol side-chain degradation and cleft palate development in the rat. *J. Dent. Res.* 1972, 51, 1421–1425.
- [20] BURESH J. J., URBAN T. J.: The teratogenic effect of the steroid nucleus in the rat. *J. Dent. Res.* 1964, 43, 548–554.
- [21] PRZEŹDZIECKA A.: Metabolizm witamin. Część I: witamin A. *Acta Vitaminol. (Wilno)* 1938, 1, (1), 7–25.
- [22] HALE F.: The relation of vitamin A to anophthalmos in pigs. *Am. J. Ophthalmol.* 1935, 18, 1087–1092.
- [23] HALE F.: Pigs born without eyeballs. *J. Heredity* 1933, 24, 105–106.
- [24] ZILE M. H.: Function of vitamin A in vertebrate embryonic development. *J. Nutr.* 2001, 131, 705–708.
- [25] ROTHMAN K. J., MOORE L. L., SINGER M. R., NGUYEN U.S., MANNINO S., MILUNSKY A.: Teratogenicity of high vitamin A intake. *NEJM* 1995, 333, 1369–1373.
- [26] LAMPERT J. M., HOLZSCHUH J., HESSEL S., DRIEVER W., VOGT K., VON LINTIG J.: Provitamin A conversion to retinal via the β , β -carotene-15,15'-oxygenase (bcx) is essential for pattern formation and differentiation during zebrafish embryogenesis. *Development* 2003, 130, 2173–2186.
- [27] HORNBY S. J., WARD S. J., GILBERT C. E.: Eye birth defects in humans may be caused by a recessively-inherited genetic predisposition to the effects of maternal vitamin A deficiency during pregnancy. *Med. Sci. Monit.* 2003, 9, HY23–26.

Adres do korespondencji:

Kamil Hozyasz
Klinika Pediatrii Instytutu Matki i Dziecka
ul. Kasprzaka 17a
00-211 Warszawa,
tel./fax: +48 22 327 70 43
e-mail: khozyasz@alpha.net.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 10.01.2005 r.
Po recenzji: 7.02.2005 r.
Zaakceptowano do druku: 24.02.2005 r.

Received: 10.01.2005
Revised: 7.02.2005
Accepted: 24.02.2005