

Stężenie kwasu askorbinowego u pacjentek w ciąży powikłanej cukrzycą typu 1

The concentration of ascorbic acid in pregnancy complicated by diabetes type 1

Dr n. med. Ireneusz Brzozowski¹,
dr n. med. Artur Wdowiak²,
dr hab. n. med. Iwona Bojar³

¹ Centrum Medyczne Luxmed Sp. z o.o.

² Pracownia Technik Diagnostycznych,
Wydział Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

³ Zakład Problemów Zdrowotnych
Wiekii Podeszłego, Instytut Medycyny
Wsi w Lublinie, Polska

Streszczenie

Narastający stres oksydacyjny, na jaki narażona jest ciężarna i płód, odpowiedzialny jest za wystąpienie takich powikłań, jak obumarcie wewnątrzmaciczne czy też wady powstałe w okresie organogenezy. W funkcjonowaniu układu antyoksydacyjnego ważną rolę odgrywa kwas askorbinowy.

Celem pracy była ocena stężenia kwasu askorbinowego w osoczu kobiet ciężarnych z ciążą powikłaną cukrzycą typu 1, ciążą fizjologiczną i kobiet niebędących w ciąży oraz w tkance łożysk kobiet ciężarnych z ciążą powikłaną cukrzycą typu 1 i ciążą fizjologiczną.

Materiał do badań stanowiła krew i tkanka łożyska 50 ciężarnych kobiet leczonych z powodu cukrzycy typu 1. Jako dwie grupy kontrolne wybrano do badań

**European Journal
of Medical Technologies**
2014; 3(4): 53-59

Copyright © 2014 by ISASDMT
All rights reserved
www.medical-technologies.eu
Published online 12.11.2014

Adres do korespondencji:

Iwona Bojar
Zakład Problemów
Zdrowotnych Wiekii
Podeszłego
Instytutu Medycyny
Wsi w Lublinie
ul. Jaczewskiego 2
20-090 Lublin

Słowa kluczowe:

ciąża, cukrzyca typu 1,
kwas askorbinowy,
stres oksydacyjny

50 ciężarnych kobiet bez cukrzycy oraz 30 kobiet niebędących w ciąży. Stężenie kwasu L-askorbinowego w osoczu krwi oraz tkance łożysk oznaczano kolorymetrycznie przy użyciu odczynnika fosforowolframowego, stosując zmodyfikowaną metodę Kyaw.

Stężenie kwasu L-askorbinowego w osoczu krwi ciężarnych zdrowych, jak i ciężarnych obciążonych cukrzycą typu 1 było istotnie niższe niż w grupie kobiet niebędących w ciąży ($p < 0,05$). Z kolei w tkance łożysk stężenie kwasu L-askorbinowego było wyższe w grupie ciężarnych zdrowych niż w grupie ciężarnych obciążonych cukrzycą typu 1 ($p < 0,05$).

Stężenie kwasu askorbinowego ulega obniżeniu zarówno w osoczu, jak i tkance łożyska z ciąży powikłanej cukrzycą.

Abstract

A diabetes complicating pregnancy has been a serious medical and social problem for years. An oxidative stress that a pregnant woman and fetus are exposed to is responsible for complications, including stillbirths and organogenesis defects. An ascorbic acid plays an important role in the functioning of an antioxidant system.

The objective of the thesis was to determine a concentration of ascorbic acid in plasma and placental tissue of pregnant women with diabetes type I, normal pregnancy and women not pregnant. A blood and placental tissue of 50 pregnant women treated for diabetes type I were examined. 50 pregnant women with no diabetes and 30 unpregnant women were selected as a controls group. A concentration of L-ascorbic acid in blood plasma and placental tissue were determined with colorimetry.

A concentration of L-ascorbic acid in blood plasma of pregnant women, with diabetes as well as without it, was significantly lower than among unpregnant women ($p < 0,05$). In case of placental tissue, a concentration of L-ascorbic acid was higher among pregnant women without diabetes than among women with diabetes ($p < 0,05$).

A concentration of ascorbic acid is lower in a plasma and placental tissue of diabetes complicated pregnancies.

Key words:

pregnancy, diabetes type I, ascorbic acid, oxidative stress

Wstęp

Ciąża powikłana cukrzycą od wielu lat stanowi bardzo ważny problem medyczny, a także społeczny [1-4]. Pomimo wielu lat badań nie udało się dotychczas jednoznacznie określić przyczyn zaburzeń (uszkodzeń) powstających w źle wyrównanej metabolicznie cukrzycy [3]. Narastający stres oksydacyjny, na jaki narażona jest ciężarna i płód, odpowiedzialny jest za wystąpienie takich powikłań, jak obumarcie wewnątrzmaciczne czy

też wady powstałe w okresie organogenezy. W funkcjonowaniu układu antyoksydacyjnego ważną rolę odgrywa kwas askorbinowy [4, 5].

Kwas L-askorbinowy posiada właściwości redukujące i jest istotny w wielu procesach metabolicznych w ustroju. Jest on kofaktorem w reakcjach hydrosylacji zachodzących podczas biosyntezy kolagenu [4]. Silne właściwości redukujące kwasu askorbinowego decydują o jego właściwościach antyoksydacyjnych, wyrażających się w reaktywności wobec

anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\bullet-}$), nadtlenu wodoru (H_2O_2), rodnika wodorotlenowego ($\bullet OH$), rodników nadtlenkowych i tlenu singletowego [6]. Powszechnie jest uważany za najważniejszy przeciwutleniacz płynów pozakomórkowych. Aktywność kwasu askorbinowego oceniana jest na 6-14% całkowitej aktywności antyoksydacyjnej osocza. W płynach biologicznych występuje w formie zdysocjonowanej jako anion askorbinianowy [7,8]. W reakcjach z reaktywnymi formami tlenu (RFT) askorbinian może w wyniku redukcji jednoelektronowej tworzyć niereaktywny rodnik askorbylowy bądź ulegać redukcji dwuelektronowej, co prowadzi do powstania dehydroaskorbinianu. Jest on stosunkowo nietrwały i łatwo ulega hydrolizie do diketogulonianu. Może on również zostać ponownie zredukowany do askorbinianu przez enzymy utleniające NADPH, w niektórych tkankach także przez glutation [8]. W warunkach stresu oksydacyjnego kwas askorbinowy jest najszybciej zużywanym antyutleniaczem osocza. Wpływa też pozytywnie na zawartość glutationu w komórce i w ten sposób potęguje swoje działanie antyutleniające. Odgrywa on także istotną rolę w procesie regeneracji α -tokoferolu z rodnika tokoferylowego, który powstaje podczas hamowania peroksydacji lipidów przez witaminę E. Należy jednak wspomnieć o doniesieniach mówiących o niekorzystnym, bo prooksydacyjnym działaniu kwasu askorbinowego. Okazało się, że w obecności wysokiego stężenia jonów metali przejściowych kwas askorbinowy może wywierać efekt prooksydacyjny z gwałtowną inicjacją peroksydacji lipidów [9-11].

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężenia kwasu askorbinowego w osoczu kobiet ciężarnych z ciążą powikłaną cukrzycą typu 1, ciążą fizjologiczną i kobiet niebędących w ciąży oraz tkance łożysk kobiet ciężarnych z ciążą powikłaną cukrzycą typu 1 i ciążą fizjologiczną.

Materiał i metody

Badaną grupę stanowiło 50 kobiet ciężarnych z rozpoznaną cukrzycą typu 1 (CC). Do grup kontrolnych

zakwalifikowano 50 ciężarnych kobiet bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej (CZ) oraz 30 kobiet niebędących w ciąży (GK).

W grupie badanej wszystkie kobiety ciężarne miały rozpoznaną cukrzycę typu 1 przed ciążą. Średni czas trwania choroby w badanej grupie wynosił 8,24 roku (min. 3 lata, maks. 19 lat). Pacjentki badano między 36. a 40. tygodniem ciąży kilka dni przed rozwiązaniem podczas ich pobytu w Klinice Położnictwa i Patologii Ciąży SPSK Nr 1 w Lublinie oraz w Klinice Patologii Ciąży Szpitala Klinicznego im. Księżnej Anny Mazowieckiej w Warszawie. Do badania zakwalifikowano jedynie pacjentki z dobrze wyrównaną cukrzycą, które miały $HbA1C < 6,1\%$, glikemię na czczo w granicach 60-90 mg%, nie występowały u nich incydenty hipoglikemii, miały wyrównaną gospodarkę lipidową oraz ciśnienie tętnicze poniżej 130/80. Dobierając pacjentki do grupy badanej, analizowano ich indeks masy ciała (*body mass index* – BMI) przed ciążą oraz przyrost masy ciała w czasie ciąży. Wszystkie badane miały BMI przed ciążą wyższe niż 18,5 i mniejsze niż 25. Średni przyrost masy w ciąży w badanej grupie wyniósł 13,56 kg (min. 7 kg, maks. 18 kg). Wszystkie badane były leczone intensywną insulinoterapią.

Do grup kontrolnych zakwalifikowano 50 kobiet z ciążą fizjologiczną pomiędzy 36. a 40. tygodniem ciąży oraz 30 kobiet nieciężarnych. Na etapie kwalifikacji do grup kontrolnych kobiety miały wykonany test obciążenia 75 g glukozy, w którym nie stwierdzono odchylenia od normy, oraz miały monitorowane glikemie na czczo. Badane z grup kontrolnych nie miały również zaburzeń gospodarki lipidowej i nadciśnienia tętniczego. BMI przed ciążą kobiet z ciążą fizjologiczną mieściło się w granicach normy (18,5-25), podobnie jak kobiet niebędących w ciąży. Nie kwalifikowano również do grupy kontrolnej kobiet, które przybrały na wadze podczas ciąży ponad 18 kg. Kobiety zakwalifikowane do badania nie przyjmowały aktualnie żadnych preparatów witaminowo-mineralnych.

Materiał do badań stanowiła krew pobrana od kobiet z ciążą powikłaną cukrzycą typu 1, z ciążą fizjologiczną i od kobiet niebędących w ciąży, oraz tkanka łożyska uzyskana po porodzie od tych samych ciężarnych z cukrzycą typu 1 i ciężarnych bez cukrzycy.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Lublinie. Każdorazowo uzyskiwano zgodę pacjentek na pobranie materiału do badań.

Średnia wieku w grupie leczonych ciężarnych z cukrzycą typu 1 wynosiła $26,8 \pm 4,6$ roku, a w grupach kontrolnych odpowiednio $27,3 \pm 6,1$ roku dla ciężarnych z ciążą fizjologiczną oraz $27,8 \pm 5,3$ dla kobiet niebędących w ciąży.

Stężenie kwasu L-askorbinowego we krwi i nasączu łożysk oznaczano kolorymetrycznie przy użyciu odczynnika fosforowolframowego, stosując zmodyfikowaną metodę Kyaw [12]. Stężenie kwasu askorbinowego wyrażano w $\mu\text{mol/l}$.

Próbki tkanki łożysk (1 g) homogenizowano w 10 ml 0,01 M buforu Tris-HCl o pH 7,4, używając mechanicznego homogenizatora typu MPW-120 firmy Med. Instruments Polska. Uzyskany homogenat poddawano wirowaniu przez 15 min, przy obrotach 10 000/min przy użyciu wirówki MPW-312 firmy Med. Instruments Polska. Uzyskany w ten sposób nasącz służył do oznaczenia stężenia kwasu L-askorbinowego.

Analizy statystycznej dokonano przy użyciu programu komputerowego STATISTICA Wersja 6.0 (Stat Soft Polska). Uzyskane wyniki badań scharakteryzowano za pomocą średniej arytmetycznej, mediany, odchylenia standardowego, zakresu zmienności. Do sprawdzenia zgodności rozkładu badanych parametrów z rozkładem normalnym użyto testu W Sharpio-Wilka. Ze względu na brak zgodności rozkładów badanych parametrów z rozkładem normalnym do wykrycia różnic między analizowanymi grupami użyto testu U Manna-Whitneya. Dla porównania więcej niż 2 grup użyto testu ANOVA rang Kruskala-Wallisa. W przypadku istotnych statystycznie różnic przeprowadzono porównania wielokrotne poszczególnych grup. Do zbadania istnienia zależności między badanymi parametrami użyto testu współczynnika korelacji rang Spearmana dla rozkładów skośnych. Przyjęto 5% błąd wnioskowania i związany z nim poziom istotności $p < 0,05$ wskazujący na istnienie istotnych statystycznie różnic bądź zależności.

Wyniki

Stężenie kwasu L-askorbinowego w osoczu krwi ciężarnych zdrowych (CZ), jak i ciężarnych obciążonych cukrzycą typu 1 (CC) było istotnie niższe ($p < 0,001$) niż w grupie kobiet niebędących w ciąży (GK) (tabela 1, rycina 1).

W tkance łożysk stężenie kwasu L-askorbinowego było wyższe w grupie ciężarnych zdrowych (CZ) niż w grupie ciężarnych obciążonych cukrzycą typu 1 (CC). Różnice te były istotne statystycznie przy $p < 0,001$ (ryc. 2).

Dyskusja

Bardzo ważnym elementem układu antyoksydacyjnego są antyoksydanty drobnocząsteczkowe. Wśród nich najistotniejszym jest kwas askorbinowy.

Kwas askorbinowy należy do najsilniejszych przeciwutleniaczy fazy wodnej. Wraz z koenzymem Q i glutationem ochrania on mitochondria przed uszkodzeniami oksydacyjnymi. Jego silne właściwości redukujące decydują o jego własnościach antyoksydacyjnych [13-15].

Kwas askorbinowy ma pozytywny wpływ na system odpornościowy człowieka, ponieważ ochrania on błony komórkowe fagocytów przed następstwami stresu oksydacyjnego i stymuluje aktywność fagocytarną oraz syntezę przeciwciał i interferonu. Ma duże znaczenie w sytuacjach stresowych [2]. Szczególnie interesujące są obserwacje znaczenia kwasu askorbinowego w przebiegu ciąży u pacjentek z cukrzycą [14,15]. Przeprowadzone wielośrodkowe badania wykazały istotny wpływ układu insulina-glukoza na metabolizm kwasu askorbinowego, chociaż nie stwierdzono ścisłej zależności między kwasem askorbinowym a metabolizmem glukozy [16,17].

Wysokie tkankowe stężenia kwasu askorbinowego związane są z jego aktywnym, kontrolowanym przez insulinę transportem z osocza [9-11]. Z tego też powodu niedobór insuliny zaburza ten proces i prowadzi do obniżenia tkankowych stężeń kwasu askorbinowego. Ponadto wysokie stężenia glukozy we krwi zwiększają jego utratę z moczem.

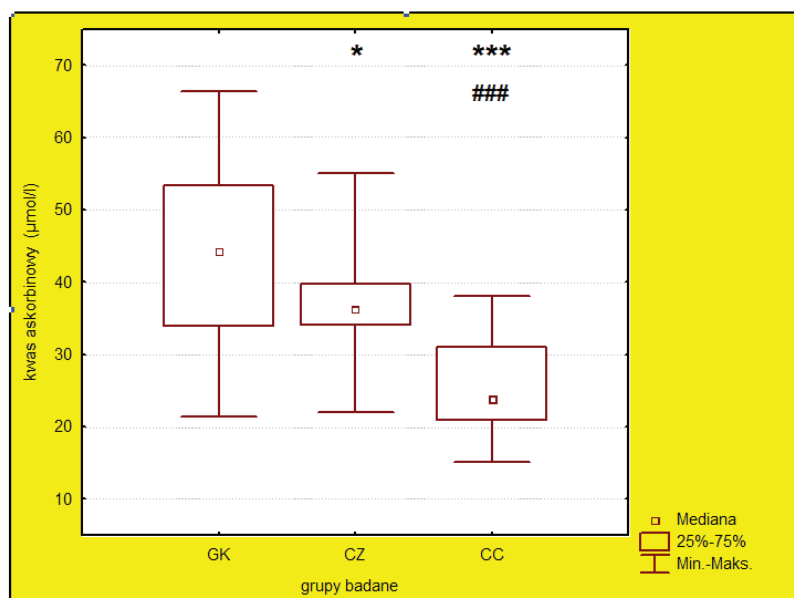
Tabela 1.

Stężenie kwasu L-askorbinowego w osoczu oraz tkance łożysk

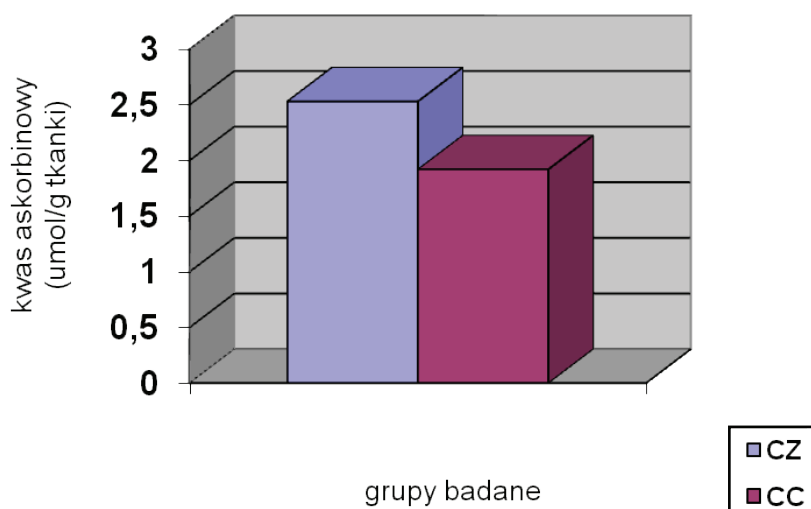
STĘŻENIE KWASU L-ASKORBINOWEGO W OSOCZU ORAZ ŁOŻYSKACH				
Tkanka	Wartość	Grupy badane		
		GK	CZ	CC
		n=30	n=50	n=50
Osocze ($\mu\text{mol/l}$)	Średnia \pm SD	44,22 \pm 11,5	37 \pm 6,96	25,26 \pm 6,39
Łożysko ($\mu\text{mol/g}$ tkanki)	Średnia \pm SD	-	2,53 \pm 0,47	1,92 \pm 0,42

Ryc. 1.

Zmiany stężenia kwasu askorbinowego w osoczu krwi badanych ciężarnych zdrowych (CZ) oraz obciążonych cukrzycą typu 1 (CC)

* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ – różnica istotna statystycznie w porównaniu z grupą kobiet niebędących w ciąży
$p < 0,001$ – różnica istotna statystycznie między grupą CZ a CC**Ryc. 2.**

Stężenie kwasu askorbinowego w tkance łożysk z ciąży fizjologicznych (CZ) oraz obciążonych cukrzycą typu 1 (CC)

** $p < 0,001$ – różnica istotna statystycznie między badanymi grupami

Podobieństwo strukturalne między glukozą a kwasem askorbinowym oraz fakt, że może on powstawać z glukozy, zainteresowały badaczy rolą i znaczeniem kwasu askorbinowego u chorych na cukrzycę [16].

W badaniach własnych stwierdzono obniżenie stężenia kwasu askorbinowego w osoczu kobiet z ciążą fizjologiczną, jak i powikłaną cukrzycą typu 1. Zmiany te były istotne statystycznie w obu przypadkach, jednak bardziej nasilone w przypadku kobiet z ciążą powikłaną cukrzycą. W tkance łożysk z ciąż obciążonych cukrzycą typ I stężenie kwasu askorbinowego było istotnie niższe w porównaniu z tkanką łożysk z ciąż fizjologicznych. Uzyskane w niniejszej pracy wyniki są zgodne z badaniami innych autorów, którzy również obserwowali podobne zmiany stężeń kwasu askorbinowego.

Badania [16] wykazały, że u pacjentów z cukrzycą stężenie kwasu askorbinowego w surowicy krwi jest około 30% niższe niż u osób bez cukrzycy. Z kolei inni badacze [9,10] stwierdzili nasilenie procesów utleniania kwasu askorbinowego u ciężarnych chorych na cukrzycę, czego dowodem było wysokie stężenie kwasu dihydroaskorbinowego. Niektórzy sugerują nawet, że cukrzyca może być wynikiem niedoboru kwasu askorbinowego w organizmie, uważając, że może on chronić przed zaburzeniami tolerancji glukozy. Potwierdzeniem tego wydają się być badania Will i wsp. [11], którzy obserwując zmiany stężenia kwasu askorbinowego u chorych ze świeżo rozpoznaną cukrzycą oraz u osób zdrowych, wykazali istotne, indukowane zaburzeniami glukozy obniżenie jego stężenia. Obniżenie stężenia kwasu askorbinowego w surowicy chorych na cukrzycę może być również wynikiem jego zwiększonego wydalania z moczem. Szlachowska i wsp. [18] wykazali ścisłą zależność między stężeniem glukozy i kwasu askorbinowego w moczu. Stwierdzili również, że podawanie zwierzętom z cukrzycą inhibitorów reduktazy aldozy powodowało normalizację zarówno stężenia kwasu askorbinowego w osoczu, jak i jego wydalania z moczem.

Niższe stężenie kwasu askorbinowego u chorych na cukrzycę może być wynikiem wzrostu stresu oksydacyjnego w przebiegu choroby. Interesującym jest fakt, że chorzy na cukrzycę typu 1, u których występują niskie stężenia insuliny i wysokie glukozy, są

szczególnie predysponowani do rozwoju „miejsceowego szkorbutu” [11].

Wewnątrzkomórkowy niedobór kwasu askorbinowego może być przyczyną zaburzeń metabolizmu komórkowego i wystąpienia powikłań u pacjentów z cukrzycą. Interesująca jest również rola kwasu askorbinowego jako przeciwutleniacza w zapobieganiu reakcjom wolnorodnikowym w cukrzycy. Liczni autorzy wskazują na istotny wpływ wolnych rodników w procesach destrukcji komórek beta wysp trzustki oraz na znaczenie osłabionej obrony antyoksydacyjnej organizmu w rozwoju choroby. Dotychczasowe badania wykazały, że stres oksydacyjny odgrywa istotną rolę w etiopatogenezie powikłań rozwijających się w przebiegu cukrzycy. Nie bez znaczenia jest także wpływ kwasu askorbinowego jako silnego antyoksydanta na poprawę insulinowrażliwości błon komórkowych. Zmniejszając stres oksydacyjny, może on zapobiegać uszkodzeniu komórek beta, przez co odgrywa istotną rolę w profilaktyce cukrzycy. Liczne doniesienia podkreślają również znaczenie kwasu askorbinowego w sekrecji insuliny przez komórki β wysp Langerhansa. Zdaniem niektórych autorów odgrywa on także istotną rolę w leczeniu powikłań cukrzycy, szczególnie tych, w których uczestniczy autooksydacja glukozy i glikacja białek [4,9,10].

Wnioski

- Stężenie kwasu askorbinowego ulega obniżeniu w osoczu u kobiet w ciąży fizjologicznej oraz obciążonej cukrzycą typu 1.
- W tkance łożyska stężenie kwasu askorbinowego było niższe u kobiet ciężarnych chorujących na cukrzycę typu 1 niż u ciężarnych z ciążą fizjologiczną.

Piśmiennictwo

1. Gajewska M, Gebska-Kuczerowska A, Gorynski P, Wysocki MJ. Analyses of hospitalization of diabetes mellitus patients in Poland by gender, age and place of residence. *Ann Agric Environ Med* 2013; 20(1): 61-67.
2. Dziemidok P, Makara-Studzińska M, Jarosz MJ. Diabetes and depression: a combination of

- civilization and life-style diseases is more than simple problem adding – literaturę review. *Ann Agric Environ Med* 2011; 18(2): 318-322.
3. Hartling L, Dryden DM, Guthrie A i wsp. Benefits and Harms of Treating Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force and the National Institutes of Health Office of Medical Applications of Research. *Ann Intern Med* 2013. doi: 10.7326/0003-4819-159-2-201307160-00661.
 4. Anuszczyńska EL. Witaminy przeciwutleniające – ich znaczenie w profilaktyce i leczeniu różnych schorzeń. *Przew Lek* 2000; 2: 90-95.
 5. Bodzek P, Wielkoszyński T, Zamłyński J i wsp. Ocena stężeń kwasu L-askorbinowego oraz wybranych parametrów gospodarki lipidowej we krwi kobiet ciężarnych z cukrzycą. *Ginekol Pol* 2000; 70(10): 667-671.
 6. Kleszczewska E. Współczesne poglądy na funkcje i właściwości kwasu askorbinowego. *Pol Merk Lek* 2000; 8(45): 155-158.
 7. Mier Cabrera J, Genera-Gracia M, De la Jara-Diaz J i wsp. Effect of vitamins C and E supplementation on peripheral oxidative stress markers and pregnancy rate in woman with endometriosis. *Int J Gynecol Obstet* 2007; 13: 1-10.
 8. Rietjens L, Boersma MG, Haan L i wsp. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environ Toxicol Pharm* 2002; 11: 321-333.
 9. Opoka-Winiarska V. Ocena wpływu witaminy C na stężenia glukozy, fruktozaminy oraz malonylodialdehydu w cukrzycy doświadczalnej wywołanej streptozocyną. *Diabetol Pol* 2000; 7: 185-188.
 10. Opoka-Winiarska V. Zaburzenia metabolizmu i efekty suplementacji witaminy C w przebiegu cukrzycy. *Diabetol Pol* 2000; 7: 208-211.
 11. Will JE, Ford ES, Bowman BA. Serum vitamin C concentrations and diabetes: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 49-52.
 12. Rutkowski M, Grzegorzczak K. Kolorymetryczne oznaczanie stężenia witaminy C w osoczu krwi przy użyciu odczynnika fosforowolframowego – modyfikacja metody Kyaw *Diagn Lab* 1998; 34: 511-520.
 13. Kleszczewska E. Biologiczna rola reakcji kwasu L-askorbinowego z metalami. *Post Hig Med Dośw* 2001; 55(1): 81-94.
 14. Kleszczewska E. Rola kwasu L-askorbinowego w reakcjach wolnorodnikowych. *Post Hig Med Dośw* 2002; 56: 665-669.
 15. Kleszczewska E. Współczesne poglądy na funkcje i właściwości kwasu askorbinowego. *Pol Merk Lek* 2000; 8(45): 155-158.
 16. Kinalska I. Zaburzenia metabolizmu witaminy C w cukrzycy. *Terap* 2002; 5: 287-291.
 17. Kinalska M, Krętowski A. Zaburzenia humoralnego układu immunologicznego w ciąży powikłanej cukrzycą. *Gin Pol* 1999; 70(10): 800-806.
 18. Szelachowska M. Rola stresu oksydacyjnego w procesach chorobowych. *Terap* 2002; 5: 19-22.