

Vybrané rizikové faktory aterosklerózy a kojení

Rajdl D.¹, Racek J.¹, Steinerová A.², Stožický F.³, Trefil L.¹, Korotvička M.², Rokyta Z.⁴

¹Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN Plzeň

²Merdin, a. s., Plzeň

³Dětská klinika LF UK a FN Plzeň

⁴Gynekologicko–porodnická klinika LF UK a FN Plzeň

SOUHRN

Cíl studie: Rozvoj aterosklerotických změn začíná již v časném postnatálním období a pravděpodobně je ovlivněn stravou. Naším cílem bylo zmapovat vývoj vybraných rizikových faktorů aterosklerózy u dětí v závislosti na kojení.

Typ studie: Prospektivní, observační studie.

Materiál a metoda: Do studie bylo zařazeno 47 párů matka + dítě, které byly sledovány do 6. měsíce života dítěte (vzorky žilní krve matky byly odebrány před a po porodu a po 3 a 6 měsících, dále jsme získali vzorek pupečnickové krve dítěte ihned po narození a vzorky žilní krve ve 3. a v 6. měsíci po porodu). Změřili jsme sérovou koncentraci celkového cholesterolu (TC), HDL cholesterolu (HDL), triacylglycerolů (TG), apolipoproteinu AI (apoA), apolipoproteinu B (apoB), oxidovaného LDL (oxLDL), protilátek proti oxidovanému LDL (oxLDLAb) a plazmatickou koncentraci látek reagujících s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS) a aktivitu paraoxonázy (PON1). LDL cholesterol byl určen výpočtem podle Planellové.

Výsledky: Ve 3. měsíci života vykazovaly plně kojené děti (oproti nekojeným) vyšší hladiny TC ($p < 0,001$), apoB ($p < 0,001$), LDL ($p < 0,01$), oxLDL ($p < 0,005$), TBARS ($p < 0,001$) a nižší oxLDLAb ($p < 0,001$). Po korekci na LDL (oxLDL/LDL a TBARS/LDL) rozdíly mezi kojenými a nekojenými dětmi ve 3. měsíci v hladinách oxLDL a TBARS nebyly již statisticky významné. V 6. měsíci života měly výhradně kojené děti opět vyšší TC ($p < 0,05$), apoB ($p < 0,05$), LDL ($p < 0,01$) a TBARS ($p < 0,05$), nicméně rozdíl v koncentracích oxLDL ($p = 0,21$) a oxLDLAb ($p = 0,055$) byl již statisticky nesignifikantní. Po korekci TBARS na LDL se nepodařilo prokázat statisticky významný rozdíl mezi kojenými a nekojenými dětmi v 6. měsíci. Ve 3. ani v 6. měsíci jsme neshledali statisticky významné rozdíly v aktivitách PON1 mezi oběma skupinami. Mezi kojenými a nekojenými dětmi byl statisticky významný rozdíl ve změnách ve 3. měsíci (hodnota ve 3. měsíci – hodnota z pupečnickové krve) u TC ($p = 0,001$; vyšší vzestup u kojených), apoB ($p < 0,005$; vyšší vzestup u kojených), oxLDL ($p < 0,005$; vyšší vzestup u kojených) a oxLDLAb ($p < 0,001$; vzestup u nekojených, pokles u kojených).

Závěr: Sledované parametry svědčí pro vyšší zátěž kojených dětí (oproti nekojeným) klasickými lipidovými rizikovými faktory aterosklerózy (celkový cholesterol, LDL cholesterol). Vyšší koncentrace oxLDL a TBARS u plně kojených dětí jsou způsobeny spíše vyšší nabídkou substrátu (LDL) než zvýšeným oxidačním stresem. Pro kojené děti je charakteristická nízká imunitní odpověď na oxidované LDL.

Klíčová slova: ateroskleróza, LDL, oxidační stres, kojení.

SUMMARY

Rajdl D., Racek J., Steinerová A., Stožický F., Trefil L., Korotvička M., Rokyta Z.: Selected Risk Factors of Atherosclerosis and Breast Feeding

Objective: Development of atherosclerotic changes starts in the early postnatal life and is influenced by nutrition. We aimed to map the development of selected risk factors of atherosclerosis in infants with regard to breast feeding.

Design: Prospective, observational study.

Material and Method: We enrolled 47 mother + infant pairs that were followed until the infant's 6th postnatal month (samples before and after the delivery, from umbilical cord, 3 and 6 months after the labor). We determined the levels of total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL), triglycerides (TG), apolipoprotein AI (apoA), apolipoprotein B (apoB), oxidized LDL (oxLDL), antibodies against oxidized LDL, thiobarbituric acid reacting substances (TBARS) and activity of paraoxonase (PON1). LDL cholesterol (LDL) was calculated according to Planell.

Results: In the 3rd month fully breast fed infants (vs. formula fed infants) showed higher levels of TC ($P < 0.001$), apoB ($P < 0.001$), LDL ($P < 0.01$), oxLDL ($P < 0.005$), TBARS ($P < 0.001$) and lower titers of oxLDLAb ($P < 0.001$). Differences between breast and formula fed infants in the 3rd month were not statistically significant after a correction for LDL (oxLDL/LDL and TBARS/LDL). In the 6th month the fully breast fed infants had higher TC ($P < 0.05$), apoB ($P < 0.05$), LDL ($P < 0.01$) and TBARS ($P < 0.05$), however the difference in concentrations of oxLDL ($P = 0.21$) and oxLDLAb ($P = 0.055$) was not statistically significant any more. TBARS levels of the breast fed infants after the correction for LDL was not statistically different from formula fed infants in the 6th postnatal month. Neither in the 3rd nor in the 6th postnatal month we found any statistically significant difference in PON1 activities between both groups. There was a statistically significant difference between the breast and formula fed infants in changes in the 3rd month (value in the 3rd month – value at birth) in u TC ($P = 0.001$; higher increase in breast fed), apoB ($P < 0.005$; higher increase in breast fed), oxLDL ($P < 0.005$; higher increase in breast fed) and oxLDLAb ($P < 0.001$; increase in formula fed, decrease in breast fed).

Conclusions: Our data suggest that the breast fed (vs. formula fed) infants have a burden of classical lipid risk factors of atherosclerosis (TC, LDL). Higher concentrations of oxLDL and TBARS in the breast fed infants are probably caused by better supply of substrate (LDL) than by enhanced oxidative stress in the breast fed infants. The breast fed infants are characterized by a low immune response to oxidatively modified LDL.

Key words: atherosclerosis, LDL, oxidative stress, breast feeding.

Úvod

Komplikace aterosklerózy patří k nejčastějším příčinám morbidity a mortality v rozvinutých zemích. Počáteční známky rozvoje aterosklerotického plátu (pěnové buňky, lipidové proužky) lze v arteriální stěně nalézt už u kojenců (1). Kojení je obecně považováno za zdraví prospěšné, zdůrazňují se zejména protektivní účinky proti infekčním a alergickým chorobám a předpokládá se příznivý vliv na vývoj mozkových funkcí (2, 3, 4). V poslední době se množí důkazy, že kojení by mohlo mít příznivé účinky na některé rizikové faktory aterosklerózy (celkový cholesterol, triacylglyceroly, index tělesné hmotnosti, inzulinorezistence – 10). Vzhledem k tomu, že v současné době nejrozšířenější teorie vzniku aterosklerotického plátu přičítá klíčovou úlohu modifikaci (oxidaci) LDL-částic (LDL) a následné monocyto-makrofágové reakci organismu na tuto změnu (5), zaměřili jsme se v naší práci na sledování vývoje oxidačně modifikovaných LDL (oxLDL) a protilátek proti nim v prvních 6 měsících života u plně kojenných a u nekojených dětí.

Materiál a metody

Do studie jsme zařadili 47 matek a jejich dětí, podrobnosti jsou uvedeny v tabulce 1.

Table 1. Study population – breast and formula fed infants

| | Fully breast fed | Formula fed | Total |
|-----------------------|------------------|-------------|------------|
| 3 rd month | 27 infants | 20 infants | 47 infants |
| 6 th month | 9 infants | 32 infants | 41 infants |

Venózní krev jsme odebírali do dvou 4ml zkumavek (první s heparinátém litným, druhá s aktivátorem srážení) matkám před porodem (branka děložní do 3 cm), po porodu placenty, ve 3. a v 6. měsíci a od dětí ihned po porodu (pupečnicková krev), ve 3. a v 6. měsíci po porodu. Všechny vzorky byly zpracovány do 8 hodin od náběru a uloženy při -80°C až do analýzy (ne déle než 2 měsíce od odběru, stabilita analytů úspěšně testována).

Celkový cholesterol (TC), HDL-cholesterol (HDL), triacylglyceroly (TG), apolipoprotein AI a apolipoprotein B byly stanoveny soupravami firmy Roche (Roche Diagnostics, Mannheim, Německo). Hladiny oxidovaného LDL byly určeny soupravou Oxidized LDL ELISA od firmy Mercodia (Mercodia AB, Uppsala, Švédsko), která používá monoklonální protilátku 4E6. Protilátky proti oxidovanému LDL (oxLDLAb) byly stanoveny soupravou od firmy eliTec (eliTec, Raabs an der Thaya, Rakousko), která používá polyklonální protilátky proti Cu^{2+} -oxidovaným LDL. Dále byla stanovována hladina malondialdehydu jako koncentrace látek reagujících s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS) v modifikaci podle Jentzsch (6). Aktivita paraoxonázy (PON1) byla měřena hydrolyzou paraoxonu jako substrátu (7). Koncentrace LDL-cholesterolu byla určena výpočtem podle Planellové:

$$\text{LDL [mmol/l]} = 0,41 \times \text{TC [mmol/l]} - 0,32 \times \text{TG [mmol/l]} + 1,7 \times \text{apoB [g/l]} - 0,27.$$

Statistická analýza byla provedena programem JMP IN (JMP, Version 5.1. SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989–2002). Normálně rozložená data (TC, TG, HDL, LDL, oxLDL, apoA, apoB, PON) byla porovnána analýzou rozptylu, párovým a nepárovým t-testem; nenormálně rozložená data (TBARS, oxLDLAb) byla porovnána Wilcoxonovým a Mannovým-Whitneyovým testem. Hodnota p menší než 0,05 byla považována za statisticky významnou.

Výsledky

Ve 3. měsíci života vykazovaly plně kojenné děti (oproti nekojeným) vyšší hladiny TC ($p < 0,001$), apoB ($p < 0,001$), LDL ($p < 0,01$), oxLDL ($p < 0,005$), TBARS ($p < 0,001$) a nižší oxLDLAb ($p < 0,001$) – obrázek 1.

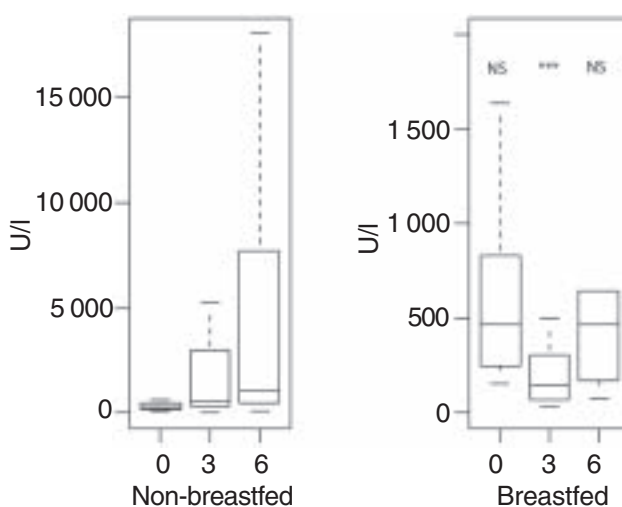


Fig. 1. Development of antibodies against Cu^{2+} -oxidized LDL. NS = non significant, *** = statistically significant difference between breast fed and non-breast fed ($P < 0,001$). Horizontal lines in box-whisker plot are (from the bottom to the top): 10th (minimum), 25th, 50th (median), 75th and 100th (maximum) percentile. Legend to x axis: 0 = values at birth, 3 = values at 3 months, 6 = values at 6 months.

Po korekci na LDL (oxLDL/LDL a TBARS/LDL) rozdíly mezi kojennými a nekojenými dětmi ve 3. měsíci v hladinách oxLDL a TBARS již nebyly statisticky významné (obr. 2).

Ve 6. měsíci života měly výhradně kojenné děti opět vyšší TC ($p < 0,05$), apoB ($p < 0,05$), LDL ($p < 0,01$) a TBARS ($p < 0,05$), nicméně rozdíl v koncentracích oxLDL ($p = 0,21$) a oxLDLAb ($p = 0,055$) byl již statisticky nesignifikantní – viz obr. 2. Po korekci TBARS na LDL se nepodařilo prokázat statisticky významný rozdíl mezi kojennými a nekojenými dětmi. Ve 3. ani v 6. měsíci jsme neshledali statisticky významné rozdíly v aktivitách PON1 mezi oběma skupinami. Mezi kojennými a nekojenými dětmi byl statisticky významný rozdíl ve změnách ve 3. měsíci (hodnota ve 3. měsíci – hodnota z pupečnickové krve) u TC ($p = 0,001$; vyšší vzestup u kojenných), apoB ($p < 0,005$; vyšší vzestup u kojenných), oxLDL ($p < 0,005$; vyšší vzestup u kojenných) a oxLDLAb ($p < 0,001$; vzestup u nekojených, pokles u kojenných).

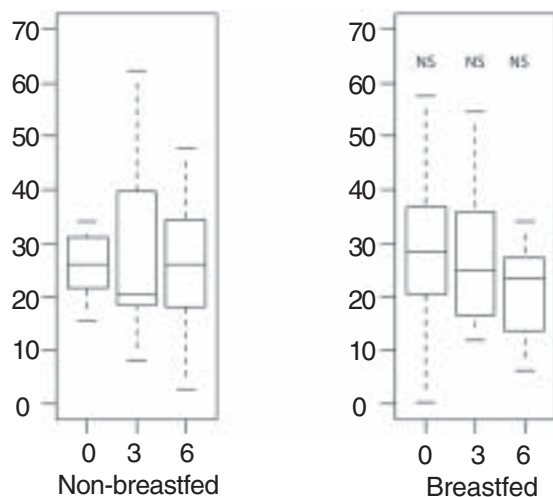


Fig. 2. Development of oxidized LDL levels (corrected for LDL values)

NS = non significant difference between breast fed and non-breast fed. Horizontal lines in box-whisker plot are (from the bottom to the top): 10th (minimum), 25th, 50th (median), 75th and 100th (maximum) percentile. Legend to x axis: 0 = values at birth, 3 = values at 3 months, 6 = values at 6 months.

Diskuse

V této studii jsme sledovali vývoj několika ukazatelů oxidačního stresu a lipidového metabolismu u zdravých dětí do 6. postnatálního měsíce s ohledem na způsob jejich výživy. U kojených dětí jsme zjistili vyšší absolutní hladiny oxLDL a TBARS. Vyšší koncentrace oxLDL byly nalezeny například u pacientů s akutním koronárním syndromem, stabilní ischemickou chorobou srdeční (8, 9) a jsou považovány za rizikový marker aterosklerózy (5). U kojených dětí byly opakovaně prokázány vyšší hladiny celkového i LDL-cholesterolu a nižší endogenní syntéza cholesterolu (10), což je zřejmě následek vysokého obsahu cholesterolu v mateřském mléce (koncentrace asi 5–6krát vyšší než v komerčně dostupných umělých kojeneckých výživách). Vzhledem k tomu, že LDL je v plazmě hlavním substrátem pro oxLDL a TBARS (5), chtěli jsme odlišit, zda zvýšená koncentrace oxLDL a TBARS je odrazem zvýšené nabídky substrátu pro oxidaci (LDL) nebo odrazem oxidačního stresu u kojených dětí. Po korekci na LDL zůstaly rozdíly v koncentracích oxLDL a TBARS mezi oběma skupinami statisticky nevýznamné. Je pravděpodobné, že mateřské mléko poskytuje lepší antioxidační ochranu než umělé kojenecké výživy (11, 12).

Klinický význam protilátek proti oxidovaným LDL (oxLDLAb) je stále nejasný. Důvodem jsou pravděpodobně metodologické nedostatky, interference solubilních imunokomplexů oxLDL + oxLDLAb a nedostatečná standardizace oxLDLAb metodik a z toho plynoucí obtíže při porovnávání výsledků různých výzkumných skupin (13). Na našem pracovišti se ukazatel rizika aterosklerózy zabýváme již delší dobu a rozdíl mezi kojenými a nekojenými dětmi ve 3. měsíci postnatálního života v hladinách oxLDLAb jsme publikovali již dříve (14). Stále není vyřešena otázka, zda oxLDLAb

představují rizikový nebo protektivní faktor aterosklerózy, ale *in vivo* studie provedené na lidech ho prokazují (téměř výhradně) jako rizikový faktor (13, 15). Zvýšené titry oxLDLAb jsou asociované s hladinami metaloproteinázy-9 a pravděpodobně jsou odrazem aktivity makrofágů v tvořícím se aterosklerotickém plátu (5, 15), proto zjištěné vysoké titry oxLDLAb u nekojených dětí mohou svědčit pro potenciálně proaterogenní vliv umělé výživy.

Závěr

Kojené děti ve 3. měsíci života vykazují oproti nekojeným vyšší hladiny celkového cholesterolu, LDL cholesterolu a nižší titry protilátek proti Cu²⁺-oxidovaným LDL. Koncentrace oxidačně modifikovaných LDL a TBARS se po korekci na LDL mezi oběma skupinami statisticky významně neliší.

Tato studie byla podpořena grantem IGA MZ ČR (reg. 3NE/6738–3).

Literatura

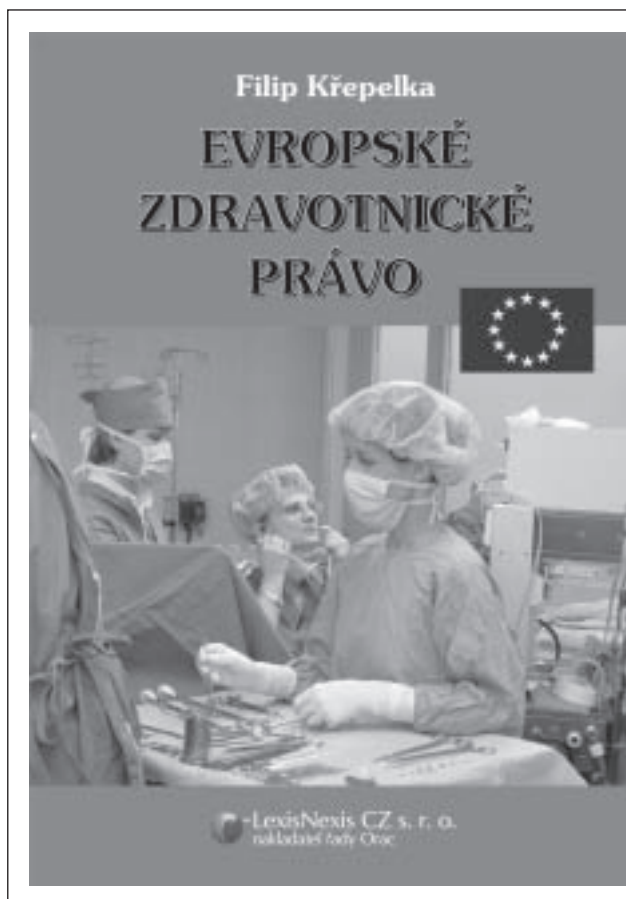
1. **Haust, M. D.** The genesis of atherosclerosis in pediatric age-group. *Pediatr. Pathol.*, 1990, 10, 1–2, p. 253–271.
2. **Campbell, C.** Breast feeding and health in the Western World. *Br. J. Gen. Pract.*, 1996, 46, 411, p. 613–617.
3. **Golding, J., Emmett, P. M., Rogers, I. S.** Does breast feeding have any impact on non-infectious, non-allergic disorders? *Early Hum. Dev.*, 1997, 49, Suppl, p. S131–S142.
4. **Morley, R., Lucas, A.** Nutrition and cognitive development. *Br. Med. Bull.*, 1997, 53, 1, p. 123–134.
5. **Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jürgens, G.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Rad. Biol. Med.*, 1992, 13, 4, p. 341–390.
6. **Jentzsch, A. M., Bachmann, H., Fürst, P., Biesalski, H. K.** Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. *Free Rad. Biol. Med.*, 1996, 20, 2, p. 251–256.
7. **Senti, M., Tomas, M., Marrugat, J., Elosua, R.** Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the nonfatal myocardial infarction risk associated with decreased HDLs. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001, 21, 3, p. 415–420.
8. **Holovoet, P., Vanhaecke, J., Janssens, S., Van de, W.F., Collen, D.** Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation*, 1998, 98, 15, p. 1487–1494.
9. **Weinbrenner, T., Cladellas, M., Isabel Covas, M. et al.** High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 2003, 168, 1, p. 99–106.
10. **Wong, W. W., Hachey, D. L., Insull, W., Opekun, A. R., Klein, P. D.** Effect of dietary cholesterol on cholesterol synthesis in breast-fed and formula-fed infants. *J. Lipid. Res.*, 1993, 34, 8, p. 1403–1411.
11. **Lindmark-Mansson, H., Akeson, B.** Antioxidative factors in milk. *Brit. J. Nutr.*, 2000, 84, Suppl. 1, p. S103–S110.
12. **Friel, J. K., Sean, M. M., Langdon, M., Herzberg, G. R., Buettner, G. R.** Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formula. *Pediatr. Res.*, 2002, 51, 5, p. 612–618.

13. **Virella, G., Lopes-Virella, M. F.** Lipoprotein autoantibodies Measurement and Significance. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2003, 10, 4, p. 499–505.
14. **Steinerova, A., Racek, J., Stozicky, F., Tatzber, F., Lapin, A.** Autoantibodies against oxidized LDL in the first phase of life. Low density lipoproteins. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 1999, 37, 9, p. 913–917.
15. **Kaela, A., Koivu, T. A., Höyhty, M. et al.** Association of serum MMP-9 with autoantibodies against oxidized LDL. *Atherosclerosis*, 2002, 160, 1, p. 161–165.

Studie byla podpořena grantem IGA MZ ČR (reg. 3NE/6738–3).

Do redakce došlo 1. 12. 2004.

Adresa pro korespondenci:
 MUDr. Daniel Rajdl
 Alej Svobody 80
 304 60 Plzeň
 e-mail:rajdl@fnplzen.cz



Filip Křepelka

Evropské zdravotnické právo

Svým obsahem ojedinělá publikace pedagoga PF MU v Brně JUDr. Filipa Křepelky, Ph.D., jejíž význam koresponduje se vstupem ČR do EU, který přináší nemalé právní změny – vedle vnitrostátního práva se začíná uplatňovat nový právní řád nadnárodní. Důležitá je především unifikace norem vývoje, výroby a odbytu léčiv a dalšího zdravotnického materiálu, harmonizace kvalifikace zdravotníků nebo koordinace soustav veřejného financování zdravotní péče o migranty. Kromě právníků zejména zdravotníci, manažeři zdravotnických zařízení či úředníci zdravotnické správy určitě ocení tuto publikaci jako praktickou pomůcku.

edice *Studijní texty Orac*, 136 stran,
 brožovaná, 150 Kč

 LexisNexis CZ s. r. o.
 nakladatel řady Orac