

ХИПЕРХОМОЦИСТЕИНЕМИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ХРОНИЧНИ БЪБРЕЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Д-р Емил Андреев

*Клиника по нефрология, Катедра по вътрешни болести,
МБАЛ "Александровска", МУ, София*

Аминокиселината хомоцистеин (Hcy) е открита и описана през 1932 г. от Butz и du Vigneard. През 1962 г. Carson и Neil откриват високи концентрации на Hcy в урината на деца с умствена изостаналост. Малко по-късно, след 1969 г., Kilmer McCully създава "Хомоцистеиновата теория за съдовото увреждане". Според нея повишените плазмени нива на хомоцистеин увреждат артериалната стена по формата на артериосклероза и атеросклероза. Отлагането на холестерол е вторично явление.

Хомоцистеинът (Hcy) е сулфурирана аминокиселина. Hcy се образува от есенциалната аминокиселина метионин, когато последната отдава метилова група в реакциите на метилиране (фиг. 1). От своя страна Hcy се реметира до метионин. В метаболитния път на трансулфурирането на Hcy се синтезира цистеин. От химическите формули се виждат малките различия между споменатите аминокиселини и цистеина (6):

- $\text{COOHCHNH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ - Hcy
- $\text{COOHCHNH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ - метионин (Met)
- $\text{COOHCHNH}_3\text{CH}_2\text{SH}$ - цистеин (Cys)

Характерно за Hcy е (6):

- аминокиселината има вътреклетъчен метаболизъм
- плазмените нива на Hcy обикновено са около 5-15 $\mu\text{mol/l}$
- при мъжете са по-високи с около 1 $\mu\text{mol/l}$
- Hcy е белтъчно свързан до 70-80 % от Hcy
- останалата част е смес от непротеиново свързани количества, свободна редуцирана форма (<1%) и Hcy-Hcy и цистеин-Hcy дисулфиди
- използваните лабораторни методи изследват общ Hcy в плазмата или серума
- като аминокиселина, уринарният клирънс на Hcy е минимален
- хомоцистеиновите концентрации нарастват леко с възрастта

Според Alessandra Perna (12) индивидуалното ниво на Hcy определя хомоцистеинемията като:

Hcy < 8 $\mu\text{mol/l}$ – ниско ниво
Hcy 8-12 $\mu\text{mol/l}$ - нормално ниво
хиперхомоцистеинемия:
12-16 $\mu\text{mol/l}$ – лека
16- 30 $\mu\text{mol/l}$ – умерена
30-100 $\mu\text{mol/l}$ – средна
Hcy >100 $\mu\text{mol/l}$ – тежка

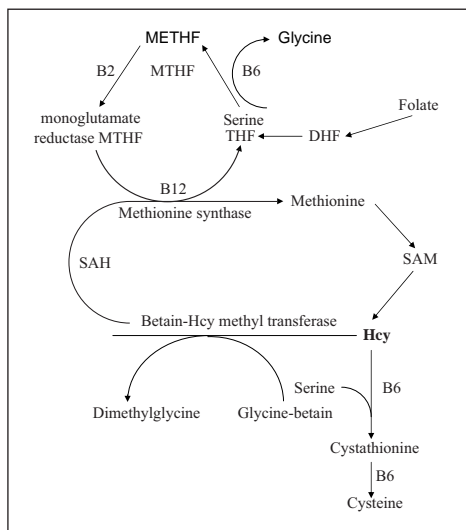
ХОМОЦИСТЕИН И КАРДИО-ВАСКУЛАРЕН РИСК

Редица кръстосани и ретроспективни проучвания в периода 1975-1997 г. показват позитивната връзка между високите плазмените нива на хомоцистеина и сърдечно-съдови те заболявания. В един мета-анализ от 1995 г. с данни от 27 обсервационни студии с около 4000 участници хиперхомоцистеинемията е асоциирана с повишен риск за фатално и нефатално атеросклеротично увреждане на коронарните OR 1,7 (95% CI 1,5-1,9), мозъчните OR 2,5 (CI 2,0-3,0)) и периферните OR 6,8 (95% CI (2,9-15,89) артерии. Допуска се, че повишението на базалните нива на хомоцистеина с 5 $\mu\text{mol/l}$ води до увеличение на риска от коронарна болест с 60% за мъже и с 80% за жени. Това дава основание на авторите да предположат, че редукцията на плазмения хомоцистеин с 5 $\mu\text{mol/l}$ би довела до намаляване на сърдечно-съдовия риск с 1/3, а нормализирането на нивото му би могло да предотврати 1/3 от 50 000 фатални коронарни инциденти годишно в САЩ. Предполага се, че повишението на хомоцистеина с 5 $\mu\text{mol/l}$ води до увеличение на сърдечно-съдовия риск толкова, колкото и повишението на общия холестерол с 0,5 mmol/l (9).

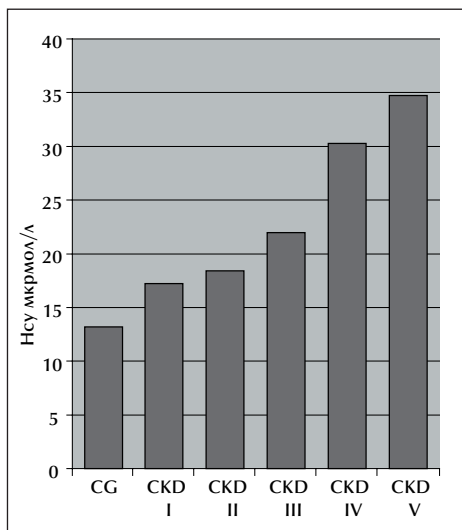
Проспективните проучвания от този период също докладват наличието на положителна връзка между повишените плазмени нива на хомоцистеина и сърдечно-съдовите, мозъчно-съдовите и периферно-съдовите заболявания. Arnesen и сътрудници показват релативен риск за ИБС 1,41 (CI 1,16-1,71) за всяко повишение на базалния хомоцистеин от 4 и липса на прагово ниво, под което тази връзка изчезва (14-16, 18).

Тези резултати не се потвърждават от други проспективни проследявания на големи кохорти. По-скорошен метанализ (Homocysteine Studding Collaboration) определя ролята на Hcy като независим рисков фактор за съдово увреждане, до голяма степен гължащ се на другите "класически" рискови фактори.

Така, резултатите от популационните проучвания на разликите в хомо-



Фиг. 1. Метаболизъм на хомоцистеин (Hcy). DHF-дихидрофолат; THF-тетрахидрофолат; METHF-метилентетрахидрофолат; MTHF-5-метилтетрахидрофолат; SAH-S-аденозилхомоцистеин; SAM-S-аденозилметионин; MTHF reductase-метилентетрахидрофолатредуктаза



Фиг. 2. Средни стойности на Hcy за контролната група (CG) и петте подгрупи на пациентите с CKD

цистеиновите нива и връзката им със съдовия риск подсказват, че хиперхомоцистеинемията може да се разглежда като независим, макар и скромнен, кардиоваскуларен рисков фактор (7).

Сега се приема (след корекция на ефектите на известните фактори), че 25% по-ниски нива на плазмения Нсу се асоциират с:

- 11% по-нисък сърдечно-съдов риск
- 19% мозъчно-съдов риск (7, 12).

В едно проучване в България се посочва, че:

- Комбинацията от висок Нсу и нисък фолат е значим рисков фактор за МИ.
- Пациентите с миокарден инфаркт имат по-високи нива на Нсу и по-ниски нива на фолиева киселина. Тази закономерност е изразена по-силно сред носителите на ТТ677 генотипа на МТНFR (основен ензим във фолатния цикъл) и при възраст под 50 години.
- Високите нива на фолиева киселина имат протективно влияние, независимо от нивата на Нсу (3).

МЕХАНИЗМИ НА АТЕРОГЕННИЯ ЕФЕКТ НА НСУ

Интересът към ефектите на Нсу спрямо патологията на съдовата стена води до създаване на редица експериментални модели на хиперхомоцистеинемия. При опитни животни с генетични и диетични подходи се създават “хиперхомоцистеинови” условия и се наблюдават промените в съдовите структури. Изследват се ефектите на високите концентрации на Нсу при експериментални модели като клетъчни култури, изолирани съдови структури.

Като механизми за атерогенния ефект на Нсу се разглеждат:

Акцелерирана атеросклероза – при апоЕ-дефицитни миши линии, повече при висок Нсу.

Намалена ендотелзависима вазорелаксация, следствие на: намалена бионаличност на NO; продукция на свободни радикали - супероксид, пероксинитрит; повишени нива на ADMA (асиметричен диметил-аргинин), \downarrow DDAH (ензим, разграждащ ADMA); стрес на ендотелния ретикулум; стимулация на NF- κ B и производство на проинфламаторни цитокини и адхезивни молекули (19).

In vivo се изследват ефектите на хомоцистеин и ендотелната функция/дисфункция при деца с дефицит на цистатионин-бета-синтетаза (среден Нсу 63 μ mol/l за групата) и се установяват нарушения в поток-медирираната вазодилатация (FMD).

При възрастни с лека хиперхомоцистеинемия (Нсу 19,2 μ mol/l) също се установяват нарушения във FMD (11).

Предполаганите биохимични механизми, чрез които Нсу осъществява своите “токсични” ефекти: оксидация - формиране на ROS, оксидация на LDL; хипометилиране – повишените нива на АДО-Нсу предизвикват забавяне на метилирането; хомоцистеинизиране на протеини; нитрозиране - S-нитрозо-Нсу (разгледани подробно от Perna A, (13)).

ХРОНИЧНИ БЪБРЕЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

В световен мащаб към 2005 г. има около 2 000 000 пациенти на диализа и с бъбречна трансплантация. При други 300 000 000 е установена намалена скорост на гломерулна филтрация (СГФ) <60 ml/min (17). В ежедневната практика тези пациенти демонстрират предимно артериална хипертония, сърдечносъдова и мозъчносъдова симптоматика, лек анемичен синдром, а не разгърнатата уремична симптоматика.

След 2002 г. се възприе концепция за хроничните бъбречни заболявания (ХБЗ)

(chronic kidney diseases - CKD) (5), а именно:

Състоянието на ХБЗ (СКД) се приема при наличието на бъбречно увреждане с продължителност повече от 3 месеца и/или СГФ < 60 ml/min, изчислена по формулата на Cockcroft-Gault

$$\text{СГФ} = [(140 - \text{В}) \cdot \text{ТМ}] / 0,814 \cdot \text{Сг} ,$$

за женски пол: $\times 0,85$

В- възраст в години, ТМ- телесна маса кг., Сг- креатинин $\mu\text{mol/l}$

Степени	СГФ (ml/min)
I.	> 90
II.	60-89
III.	30-59
IV.	15-29
V.	< 15 (5)

Според Adrian Covic (in "CKD end early anemia treatment" – oral presentation on 7th BANTAO Congress, Ohrid 08-11.09.2005) 10 % от популацията е в състояние на СКД, като от тях в петгодишна перспектива само 1,5% ще започнат диалзно лечение, а други 28% ще починат от съдови заболявания.

Хроничната бъбречна недостатъчност се придружава от хиперхомоцистемия при 70 до 100 % при пациентите на диализа, в различна степен в преддиализните стадии (СГФ<90 ml/min), намира се и при бъбречно трансплантирани.

Повишението на Нсу при ХБН не е следствие на намалено елиминиране с урината. Аминокиселината има минимален уринарен клирънс. Филтрираните количества в гломерулите подлежат на реабсорбция в бъбречните тубули. Хиперхомоцистемията при бъбречна недостатъчност е съпроводена от повишение на нивата на S-агенозилхомоцистеин, S-агенозилметионин, цистатионин и е проява на цялостно нарушен метионин-хомоцистеинов метаболизъм. Нарушени са както реметилирането, така и транссулфурирането. Като причина се дискутират загуба на функционираща бъбречна маса и метаболитна функция на бъбрека, както и екстраренални механизми - нарушения на обмяната на Нсу в тъканите, следствие на уремичната среда.

При изследване на нивата на Нсу при пациенти с ХБЗ (СКД) в преддиализен стадий, след разпределение в подгрупи според насоките на NKF и K/DOQI, установихме:

- СКД I (n-22) средна стойност на Нсу=17,21±9,74 $\mu\text{mol/l}$
- СКД II (n-27) Нсу=18,40±7,42 $\mu\text{mol/l}$
- СКД III (n-53) Нсу=21,96±9,51 $\mu\text{mol/l}$
- СКД IV (n-32) Нсу=30,29±9,49 $\mu\text{mol/l}$
- СКД V (n-23) Нсу=34,72±14,54 $\mu\text{mol/l}$

Средните стойности на Нсу за контролната група от 81 здрави лица е Нсу=13,17±5,11 $\mu\text{mol/l}$ (фиг. 2).

Статистически значима разлика в средните Нсу нива спрямо контролна група се установява дори при пациентите с СКД I ($p < 0,05$). Лабораторните изследвания са извършени в лабораторията за изследване на хормони и туморни маркери на ЦКЛ, МУ, София. За определяне на нивата на общия плазмен Нсу е използван е флуоресцентен поларизационен имуноанализ, а V_{12} и фолиева киселина са определени посредством Chemiluminescence ACS:180 Bayer assays.

За пациенти със СКД в преддиализен стадий е характерно още:

- добър фолатен статус Fol ($x=17,32\pm11,68 \text{ nmol/l}$) в сравнение с Fol ($x=20,39\pm9,03$

pmol/l) за контролната група ($p > 0,1$);

- ниско ниво на V_{12} за изследваната група бъбречноболни ($x=247,24 \pm 167,65$ pmol/l), сравнено с това на контролите ($x=304,78 \pm 128,91$ pmol/l), ($p < 0,01$);
- при 63 от общо 157 от пациентите $V_{12} < 200$ pmol/l - нисък V_{12} статус, а при 26 $V_{12} < 140$ pmol/l - V_{12} дефицит (според дефиницията на Dharmarajan) (8);
- Hcy добре корелира с плазмения креатинин ($r=0,53$);
- Hcy корелира умерено негативно с индивидуалните стойности на V_{12} ($r=-0,36$) и с Fol ($r=-0,14$).

При пациенти на периодично хемодиализно лечение ($n=30$) установихме (1):

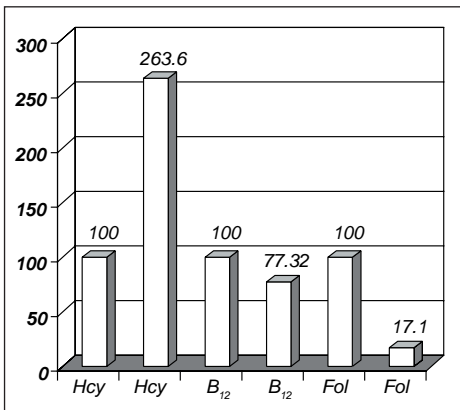
- повишени нива на Hcy > 16 $\mu\text{mol/l}$ при всички пациенти;
- средната стойност на Hcy $36,62 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 10,1$) за групата е значимо по-висока от тази на контролната група от 70 здрави лица $-13,22 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 5,19$), $p < 0.001$;
- при диализираните пациенти се установиха по-ниски нива на V_{12} - 240.3 pmol/l ($SD \pm 132,0$) срещу $304,78$ pmol/l ($SD \pm 128,91$) за контролната група, $p < 0.001$;
- изненадващо ниско е нивото на Fol на диализираните - $3,44$ pmol/l ($SD \pm 3,14$), сравнено със средното ниво на Fol на контролната група - 20.39 pmol/l ($SD \pm 9,03$), $p < 0.001$ (фиг. 3).

При пациенти с трансплантиран бъбрек установихме (2):

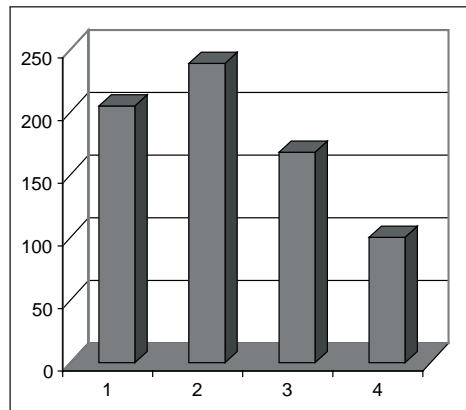
- Hcy - $27,067 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 11,82$) при 31 трансплантирани пациенти е по-високо от това на контролната група от 83 здрави лица $-13,22 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 5,19$) ($p < 0,001$);
- Hcy на група Б $-31,64 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 11,69$) с повишен Cr $> 130 \mu\text{mol/l}$, средна стойност на Cr - $173,25 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 27,17$), е по-високо от това на група А $-22,19 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 10,19$) Cr - $93,66 \mu\text{mol/l}$ ($SD \pm 22,19$); ($p < 0,05$);
- значимо по-ниски са плазмените нива на Fol ($p < 0,001$) и V_{12} ($p < 0,001$) при трансплантираните, сравнено с контролната група (фиг. 4).

ХОМОЦИСТЕИН, ФОЛIEВА КИСЕЛИНА (FOL) И ВИТАМИНИ ОТ ГРУПА В В ОБЩАТА ПОПУЛАЦИЯ И ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СКД

След 1988 г. са проведени редица проучвания, които изследват ефекта на



Фиг. 3. Hcy, B_{12} , фолиева киселина при пациенти на периодично хемодиализно лечение и контролната група в % (100% за контролната група)



Фиг. 4. Схематично представяне на средните стойности на Hcy в % за групите както следва: 1 - трансплантирани, обща група; 2 - трансплантирани, подгрупа Б; 3 - трансплантирани, подгрупа А; 4 - контролна група, стойността е приета за 100%.

фолиевата киселина и витамините V_6 и V_{12} върху хиперхомоцистеинемията.

- Самостоятелното приложение на фолиева киселина в дози 0,5-15,0 mg/d води до около 25%-30 % редукция на базалния хомоцистеин.
- Добавянето на витамин V_{12} (0,5-1,0 mg/d) води до допълнителна редукция между 7 и 16 %.
- V_6 в дози 10-40 mg/d също участва в различни терапевтични схеми.
- През 1996-97 г. в Съединените щати и Канада стартира програма за обогатяване на зърнените храни с фолиева киселина (1,4 mg/kg) с основна цел профилактика на вродените дефекти на невралната тръба.
- Провеждат се проучвания, оценяващи ефекта от евентуалното понижаване на хомоцистеина и кардиоваскуларния риск. Американската кардиологична асоциация препоръчва приложението на специални диети и витаминни добавки (0,4 mg фолиева киселина, 2 mg V_6 и 6 μ g витамин V_{12}) при всички пациенти с хомоцистеин над 10 μ mol/l.

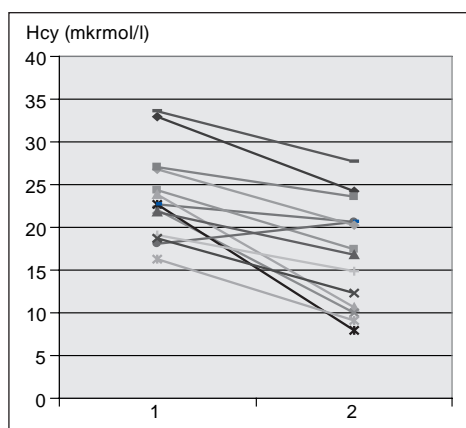
При пациенти с хронични бъбречни заболявания изследвахме ефекта на Neobestin, сублингвална таблетка (комбинация от фолиева киселина, 1 mg, витамин V_6 , 20 mg, витамин V_{12} , 1 mg) (4).

На фиг. 5 са представени индивидуалните стойности на Hcy при 15 пациенти със СКД II-IV стадий преди и след двумесечен прием на Neobestin, 1 т дневно. Общо за групата Hcy се понижава с 28%. Само при един пациент не се отчита ефект.

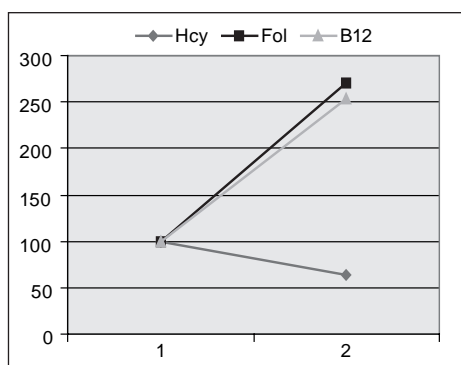
Ефектът на Neobestin върху хиперхомоцистеинемията беше проследен и при гиализни пациенти. Отчете се благоприятен ефект върху нивата на Hcy, които намаляват с около 40%, както и повишаване на нивата на V_{12} и фолиевата киселина. Сублингвалната форма на Neobestin явно създава условия за добра резорбция на витамини от група В (фиг. 6).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

След 1980 г. от повече от 13000 групи от пациенти-контролни индивиди, които допускат патогенетичната роля на леко или умерено повишените Hcy плазмени нива в развитието на оклузивната съдова болест при коронарните, мозъчните и периферните съдове. Hcy се разглежда в по-тесен аспект като маркер на съдовото увреждане. Според други изследвания Hcy предсказва не само сърдечно-



Фиг. 5. Начални резултати от ефекта на Neobestin върху индивидуалните нива на Hcy при пациенти със СКД II-IV стадий.



Фиг. 6. Промени на средните стойности на Hcy, V_{12} и фолиевата киселина в % при 19 пациенти със СКД V (периодично хемодиализно лечение) преди и след двумесечен прием на Neobestin, 2 таблетки дневно (100 % за изходните стойности)

съговата, но и общата смъртност.

Хиперхомоцистеинемията съпътства и редуцията на бъбречната функция. Почти винаги се установява и след започване на диализно лечение, наблюдава се и след бъбречна трансплантация.

През последните 20-30 г. ефектите на Нсу, освен тези върху съговата стена, се изследват и при:

- психоневрологични увреждания, имунни и възпалителни заболявания, както и при усложненията на протичането и изхода на бременността;
- документират се ефектите на редица медикаменти, повлияващи хомоцистеиновата обмяна и нива;
- описват се и множество генетични мутации в ензимите, отговорни за хомоцистеиновия метаболизъм;
- аминокиселината започва да се разглежда дори като чувствителен маркер за функционален дефицит на фолиева киселина и/или витамин В₁₂;
- съставят се терапевтични схеми, включващи витамини от група В и фолиева киселина с цел понижаване на плазмените хомоцистеинови нива (6, 10).

За понижаване на нивата на Нсу при пациенти с хронични бъбречни заболявания се използват фолиева киселина и комбинирани препарати от групата на витамин В. Препаратът Neobestin (фолиева киселина 1 mg, витамин В₆ 20 mg, витамин В₁₂ 1 mg) показва добри резултати при редуцията на Нсу при пациенти с ХБЗ. Същият е подходящ за лечение на хиперхомоцистеинемията и при съдово увредени пациенти - за първична и вторична профилактика, при пациенти с фамилни форми на хиперхомоцистеинемия (геца с периферни съдови тромбози, млади пациенти със сърдечно-съдови или мозъчно-съдови заболявания). Подходящ е при витаминен дефицит.

Литературните и собствените резултати подсказват, че бъбречната функция е мощна детерминанта на хомоцистеиновите плазмени нива. Бъбречната дисфункция още от началните си стадии е свързана с хиперхомоцистеинемия. Високи плазмени нива на Нсу се установяват и при пациенти на хемодиализа, както и при трансплантирани, независимо от функцията на графта.

Началните данни за ефектите на Neobestin върху плазмените нива на Нсу, В₁₂, фолиева киселина са обещаващи. Това дава основание да се продължат изследванията в тази насока и най-вече да се изградят протоколи за суплементация с витамини при пациентите с хронични бъбречни заболявания.

КНИГОПИС

1. Андреев, Е., А. Цончева, Д. Йонова, Л. Камбова, И. Станчев и Б. Киперова. Хиперхомоцистеинемия при несуплементирани пациенти с ХБН на периодично хемодиализно лечение. Нефрол. Хемодиал. Транспл., **9**, 2003, N 1, 36-40.
2. Андреев, Е., Е. Паскалев, А. Цончева и Б. Киперова. Влияние на бъбречната функция върху плазмените нива на аминокиселината хомоцистеин при пациенти с трансплантиран бъбрек. Нефрол. Хемодиал. Транспл., **8**, 2002, N 1-4, 77-80.
3. Кършелова Е. Роля на вариациите в гените за MTHFR и Гликопротеин IIIa при оценка на риска за МИ. Дисертация, София, 2000
4. Andreev E., M. Lubomirova, A. Tzontcheva et al. Effect of Neobestin supplementation on total plasma Homocysteine levels in CKD patients. 7th BANTAO Congress, Ohrid 08-11. 09. 2005
5. Annonimus. K/DOQI clinical practice guidelines for CKD. American Journal of Kidney Diseases 2002, 39, suppl 1
6. Bolander-Gouaille C. In Focus on homocysteine and the Vitamins Involved in its

- Metabolism. Springer Verlag France, second edition , pg 204, 2002
7. Clarke R. Homocysteine-lowering trails for prevention of heart disease and stroke. *Vascular Medicine* , 5, 2005, 215-222
 8. Dharmarajan TS. Vitamin B₁₂ deficiency. 2002, pg 27
 9. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European Concerted Action Project. *JAMA*, 277, 1997, 1775-81.
 10. Michiels J. editor-in chief. Homocysteine, B-Vitamins, and risk of cardiovascular disease. *Seminars in Vascular Medicine*, 5, 2005
 11. Moat S. Homocysteine and Endotelial function in human studies. *Seminars in Vascular Medicine*, 5, 2005, 172-182
 12. Perna A. The mechanisms of homocysteine toxicity in uremia. 7th BANTAO Congress, Ohrid 08-11. 09. 2005
 13. Perna A. et al. Possible mechanisms of homocysteine toxicity. *Kidney Int.* 63, suppl 84, 137-140
 14. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentratio and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet*, 346, 1995, 1395-98.
 15. Refsum E., Bonaa KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaund JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol*, 24, 1995, 704-709.
 16. Stampher MJ, Malinow MR, Willett WC, et al. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 268, 1992, 877-81.
 17. Vanholder R. An update on uremic toxicity- the role of EUtox. 7th BANTAO Congress, Ohrid 08-11. 09. 2005
 18. Wald NJ, Watt HC, Law MR, et al. Homocysteine and ischaemic heart disease: results of a prospective study with implications regrding preventio. *Arch Inter Med*, 158, 1998, 862-867.
 19. Wilson K., Lentz St. Mechanisms of the atherogenic effects of elevated homocysteine in experimental models. *Vascular Medicine* , 5, 2005, 163-171