

УДК616.127-005.8:616.153.478.6-008.61:577.164.17:546.23

ПОКАЗАТЕЛИ ФОЛАТ-ГОМОЦИСТЕИНОВОГО МЕТАБОЛИЗМА И ЭЛЕМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ С ПЕРЕНЕСЕННЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА

А.В. Пырочкин¹, А.Г. Мойсеенок²

¹ – УО «Гродненский государственный медицинский университет»

² – Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, г. Гродно

Проведено исследование уровней гомоцистеина, фолата, аскорбиновой кислоты, микроэлемента антиоксидантной защиты селена в плазме крови больных, перенесших инфаркт миокарда. У обследованных больных можно констатировать сочетание гипергомоцистеинемии с дефицитом фолата и гипоселенемии на фоне сниженной концентрации аскорбиновой кислоты, что является чрезвычайно неблагоприятным фактором возникновения ИБС, развития инфаркта миокарда, отягощающим качество жизни больных и предрасполагающим к осложнениям течения заболевания.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, фолиевая кислота, селен, аскорбиновая кислота, антиоксиданты, инфаркт миокарда.

The levels of total plasma homocysteine, folate, ascorbic acid and microelement of antioxidant protection selenium were measured in patients with myocardial infarction. The assessed patients show the low level of folic acid, combined with moderate hyperhomocysteinemia and extremely low level of plasma selenium together with ascorbic acid deficiency. It is associated with increased risk of the progressing of coronary artery disease and the development of myocardial infarction.

Key words: hyperhomocysteinemia, folic acid, selenium, antioxidants, myocardial infarction.

Введение

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смертности и ранней инвалидизации населения Республики Беларусь.

Среди модифицируемых факторов риска сердечно-сосудистой патологии, ее тромбоэмболических осложнений в последние годы исключительное место занимает гипергомоцистеинемия (ГГЦ) [5, 6]. ГГЦ предопределяет широкий круг нарушений: повреждение сосудов, ослабление когнитивных функций, психиатрические и неврологические осложнения, врожденные пороки развития плода, осложнения беременности и неопластические процессы. Предполагаемыми основными патогенетическими механизмами являются оксидативное повреждение эндотелия сосудов, подавление выработки эндотелийзависимого релаксирующего фактора (ЭЗРФ) оксида азота (NO) [20], повышение уровня асимметричного диметиларгинина (АДМА) и ухудшение процесса метилирования нуклеиновых кислот [12], пролиферация гладкой мускулатуры сосудистой стенки [18], содействие активации и агрегации тромбоцитов [14] и нарушение нормального прокоагулянтно-антикоагулянтного баланса, приводящего к тромбозу [16].

Помимо генетически детерминированных причин, обуславливающих дефект (полиморфизм) ферментов метаболизма гомоцистеина (ГЦ), к его увеличению в плазме крови приводят эссенциальные факторы. Среди них дефицит фолиевой кислоты (ФК), витаминов В₆ и В₁₂, участвующих в своих

коферментных формах в процессе метаболизма ГЦ и, тем самым, поддерживающих нормальный уровень гомоцистеинемии. Комитет по питанию Американской ассоциации кардиологов недавно рекомендовал рассматривать в качестве нормальных значений для лиц с повышенным риском преждевременного развития сердечно-сосудистых заболеваний уровни ГЦ в плазме крови не выше 10 мкмоль/л [10]. При повышении уровня ГЦ до 14 мкмоль/л рекомендуется проведение первичной профилактики, а при уровне 11 мкмоль/л и наличии сердечно-сосудистой патологии – вторичной профилактики [19].

На данный момент все еще до конца неясна первопричина ГГЦ (недостаточность В₁₂-зависимой метионинсинтетазы или бетаин-гомоцистеинметил-трансферазы, а также В₆-зависимых путей утилизации ГЦ в цистеин) [4, 17]. При этом основным модулирующим гомоцистеинемии фактором остается пищевой фолат, превращение которого в субстрат метионинсинтетазы – метилентетрагидрофолат, чрезвычайно сильно подвержено полиморфизму. Этот полиморфизм, ассоциированный с ТТ-генотипом метилен-тетра-гидро-фолат-редуктазы (МТГФР), является одной из безусловных причин, порождающих ГГЦ [21].

Однако назначение витамина может стимулировать связанную с ним биохимическую реакцию только в том случае, если ее активность снижена из-за недостатка этого витамина, и не может интенсифицировать ее свыше предела, определяемого концентрацией соответствующего белка-апофер-

мента, синтез которого не зависит от поступления витамина, а регулируется контрольными, в том числе генетическими, механизмами самого организма [7].

Существует немало доказательств патогенетического влияния ГЦ и ФК на функциональное состояние эндотелия. Так, 5-метилтетрагидрофолат, активная циркулирующая форма ФК в крови, напрямую улучшает функцию эндотелия сосудов и снижает продукцию супероксида [8]. Описано также, что ГЦ непосредственно реагирует с ЭЗРФ, воздействуя на биосинтез NO-синтазы и глутатиопероксидазы с образованием S-нитрозогомоцистеина [4]. Продукты аутоокисления последнего, как и самого ГЦ, активно реагируют со свободными радикалами, инициируя каскад перекисного окисления липидов. Предполагается, что гиперкоагуляционное состояние, характерное для ГГЦ, является прямым следствием оксидативного стресса, инициированного ГЦ. Патологический механизм включает свободнорадикальный процесс, который может быть увеличен или уменьшен за счет окислительного стресса, благодаря регулированию в диете таких антиоксидантов как α - и β -каротиноидов, β -криптоксантина, ликопина, лютеин/зеаксантина, ретинола, α - и γ -токоферолов, аскорбиновой кислоты и других веществ, обладающих антиоксидантными свойствами. Важнейшим протектором описанного хода событий является селено-протеин P (Se-Pt P)- фактор, продуцируемый клетками эндотелия. Следует также заметить, что витамины-антиоксиданты осуществляют свои функции не изолированно, а в качестве взаимосвязанных и взаимозависимых участников сложной системы антиоксидантной защиты организма. В этой системе каждый из антиоксидантов занимает свое место и выполняет свою функцию наряду с ферментами, инактивирующими активные формы кислорода (супероксиддисмутаза, каталаза) и репарирующими нанесенные повреждения (глутатионпероксидаза и др.) Недостаток любого компонента неизбежно будет нарушать работу этой сложной системы [1, 2]. Se-Pt P, как и вышеупомянутая глутатионпероксидаза(зы), равно как и тиоредоксинредуктазы, являются селено-цистеин-содержащими белками, синтез которых детерминруется поступлением в организм микроэлемента селена [3,11].

Таким образом, в риске развития, а также в патогенезе дисфункции эндотелия, возникновении ИБС и инфаркта миокарда (ИМ), могут быть взаимосвязаны разбалансировка фолат-гомоцистеинового метаболизма, что особенно убедительно показано в работе Voutilainen [22], а также звеньев антиоксидантной защиты, в том числе, гипоселенемия. Существование последней вполне вероятно у населения Беларуси, проживающего в селеновой провинции и получающего пищу, обедненную данным микроэлементом [1, 2].

Материалы и методы

В настоящей работе осуществлено исследова-

ние уровней ГЦ, ФК, аскорбиновой кислоты и селена в плазме крови больных, перенесших ИМ.

Обследовано 20 практически здоровых лиц в возрасте от 38 до 54 лет (средний возраст $44 \pm 0,68$ лет), а также 70 больных, перенесших ИМ (средний возраст $50,5 \pm 0,64$ года). У 2-х больных перенесен мелкоочаговый ИМ (без зубца Q), у 68 – крупноочаговый (с зубцом Q). 45% – локализация в передней стенке левого желудочка, 55% – задняя локализация ИМ. У 45% ИМ развивался внезапно, без предшествующей клиники стенокардии. 76% из обследованных больных страдают артериальной гипертензией I-II степени по классификации, принятой в Республике Беларусь в 2006 г.

Образцы крови обследованных лиц стабилизировали ЭДТА и после получения плазмы крови замораживали при -70°C . Общий ГЦ плазмы определяли SBD-F-реагентом (ammonium-7-fluorobenzo-2-oxa-1,3-diazole-4-sulfonate) и сепарацией на высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с небольшими модификациями [10]. Точность определения между сериями ($n=6$) составляла 5,5%, а среднее смещение было 4% в программе контроля качества [14]. Содержание ФК в плазме определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА), используя QuantaPhase II kit (Bio-Rad, Hercules, CA). Селен плазмы определяли методом электротермической атомной абсорбционной спектрофотометрии на приборе Perkin-Elmer 600. К 25 мкл плазмы добавлялось 125 мкл восстановительного раствора. 4 мкл раствора, содержащего 0,79 ммоль Pd/л, и 15 мкл разведенного образца вводились в графитовую трубку. Метод стандартизировался вторичной сывороткой [11,15]. Для определения восстановленной формы аскорбиновой кислоты использовали ВЭЖХ.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Биохимические показатели в плазме больных ИМ

| Показатель | Здоровые лица | Больные инфарктом миокарда |
|----------------------------|------------------|----------------------------|
| Гомоцистеин, мкмоль/л | $7,98 \pm 0,38$ | $12,8 \pm 0,386^*$ |
| Фолат, ммоль/л | $19,3 \pm 3,8$ | $8,9 \pm 0,46^*$ |
| Аскорбиновая кислота, мг/л | $4,30 \pm 0,699$ | $3,2 \pm 0,367^*$ |
| Селен, мкмоль/л | $66,1 \pm 2,55$ | $58,2 \pm 1,44^*$ |
| Число обследованных | 20 | 70 |

* - достоверное отличие ($p < 0,05$) по отношению к соответствующему контролю.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что уровень ГЦ у больных, перенесших ИМ, достоверно выше, чем у здоровых лиц ($p < 0,05$), в то время как уровень фолатина крови меньше в 2 раза. Обращает на себя внимание, что, как у группы обследованных больных, так и в контрольной группе, выявлен чрезвычайно низкий уровень селенемии. В качестве критериев обеспеченности селеном приняты следующие значения содержания селена в сыворотке крови: 120-130 мкг/л – оптимальная обеспеченность; 90-120 мкг/л – субоптимальная обеспеченность; 70-90 мкг/л – легкая форма недостаточности; менее 70 мкг/л – глубо-

кая недостаточность [17]. Выявлена достоверно более низкая концентрация селена (58,2 против 66,1 мкг/л, $p < 0,05$) в анализируемой группе пациентов, что совместно с недостаточностью аскорбиновой кислоты служит патогенетической основой развития окислительного стресса, поскольку снижает антиоксидантный потенциал. Проведенный математический анализ показал, что в группе больных появляется высокодостоверная ($p < 0,01$) положительная корреляция между содержанием селена и витамина С (табл. 1).

Роль диетических факторов в предупреждении ИБС и ее осложнений достаточно хорошо известна [22]. Доминирующую роль, по всей вероятности, занимает потребление ФК, а также некоторых функционально связанных витаминов, призванных обеспечить оптимальное соотношение в метаболическом факторе риска ИБС, ИМ: фолатин > гомоцистеин [22]. Это предполагает возможность модулирования эффектов ГГЦ другими метаболическими факторами риска сердечно-сосудистой патологии, как, например, АДМА, причастным к механизмам возникновения эндотелиальной дисфункции [22]. Еще более значимым фактором коррекции последней может быть и является биосинтез и поступление в просвет сосуда Se-Pt P, специфическими функциями которого определены как протекция эндотелиальных клеток к действию продуктов свободно-радикального окисления, так и транспорт селено-цистеина в клеточные структуры, подверженные окислительному стрессу. Известно также, что Se-Pt P является антагонистом пероксинитрита, задерживает провоспалительную активность, поражение ДНК, нитрацию тирозиновых остатков белков, активацию процессов ПОЛ [11]. На важность функции Se-Pt P указывает и его высокий уровень в плазме крови, достигающий $5,3 \pm 0,9$ мкг/л [9].

Можно полагать, что в условиях Беларуси существенную роль в первичной и вторичной профилактике ИБС, ИМ могут играть критические алиментарные факторы – ФК (фолат) и селен, а, точнее, сочетанное и сбалансированное их поступление с диетой лицам, подверженным риску сердечно-сосудистой патологии.

Выводы

У обследованных больных можно констатировать сочетание ГГЦ с дефицитом фолатов и гипоселенемии на фоне сниженной концентрации аскорбиновой кислоты, что является чрезвычайно неблагоприятным фактором возникновения ИБС, развития ИМ, отягощающим качество жизни больных и предрасполагающим к осложнениям течения заболевания.

Литература

1. Витамины и ионизирующая радиация (часть I) / А. И. Кондрусев [и др.] // Хим.- фарм. журнал. – 1990. – № 2. – С. 4-12.
2. Витамины и ионизирующая радиация (часть II) / А. И. Кондрусев [и др.] // Хим.- фарм. журнал. – 1990. – № 3. – С. 4-11.

3. Голубкина, Н. А. Селен в медицине и экологии / Н.А. Голубкина [и др.] – Москва: КМК, 2002. – 134 с.
4. Дербенева, С. А. Гомоцистеин как фактор коронарного риска / С. А. Дербенева, А. В. Погожева // Вопросы питания. – 2003. – № 5. – С. 43-48.
5. Роль гомоцистеина в тромбозе и атерогенезе. Возможности и перспективы витаминной коррекции / Сидоренко Г.И. [и др.] // Кардиология. – 2001. – Т. 41, № 3. – С. 56 – 61.
6. Сидоренко, Г. И. Современные технологии профилактической кардиологии, связанные с вопросами питания / Г. И. Сидоренко [и др.] // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2006. – № 2. – С. 13 – 18.
7. Спиричев, В. Б. Биологически активные добавки как дополнительный источник витаминов в питании здорового и больного человека / Здоровоохранение. – 2006. – № 10. – С. 46 – 52.
8. 5-methyltetrahydrofolate rapidly improves endothelial function and decreases superoxide production in human vessels: effects on vascular tetrahydrobiopterin availability and endothelial nitric oxide synthase coupling / С. Antoniadis [et al.] // Circulation. – 2006. – Vol. 114, № 11. – P. 1193 – 1201.
9. Burk, R. F. Selenium requirements and recommendations / Burk, R. F. // Proceedings «Twenty Years of Selenium Fertilization», Helsinki, September 8-9 2005. / Ed. M. Euroala – Helsinki, 2005. P. 36 – 38.
10. Clarke, R. Homocysteine and cardiovascular disease. Overview // J. Cardiovasc. Risk. – 1998. – Vol. 4, № 5. – P. 213 – 215.
11. Direct determination of selenium in human blood serum and plasma by electrothermal atomic absorption spectrometry / P. H. Gardiner [et al.] // J. Trace Elem. Med. Biol. – 1995. – Vol. 9. – P. 74 – 81.
12. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia: role of asymmetric dimethylarginine // M. C. Stuhlinger [et al.] // Circulation. – 2003. – Vol. 108. – P. 933 – 938.
13. External quality assessment of methylmalonic acid and total homocysteine / J. Moller [et al.] // Clin. Chem. – 1999. – Vol. 45, № 9. – P. 1536 – 1542.
14. Homocysteine and hemostasis: pathogenetic mechanisms predisposing to thrombosis / P. Harpel [et al.] // J. Nutr. – 1996. – Vol. 126. – P. 1285 – 1289.
15. Jacobson, B. E. Direct determination of selenium in serum by graphite-furnace atomic absorption spectrometry with deuterium background correction and a reduced palladium modifier: age-specific reference ranges / B. E. Jacobson, G. Lockitch // Clin. Chem. – 1988. – Vol. 34. – P. 709 – 714.
16. Lentz, S. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine / S. Lentz, J. J. Sadler // Clin. Invest. – 1991. – Vol. 88. – P. 1906 – 1914.
17. Pietrzik, K. Vitamins B12, B6 and folate as determinants of homocysteine concentration in the healthy population / K. Pietrzik, A. Brunstrup // Eur. J. Pediat. – 1998. – Vol. 157. – № 2. – P. 135 – 138.
18. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis / J. Tsai [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 1994. – Vol. 91. – P. 6369 – 6373.
19. Recent data are not in conflict with homocysteine as a cardiovascular risk factor / H. Refsum [et al.] // Curr. Opin. Lipidol. – 1998. – Vol. 6, №9. – P. 533 – 539.
20. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans / Kanani P. M. [et al.] // Circulation. – 1999. – Vol. 100. – P. 1161 – 1168.
21. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary disease / Kang S-S. [et al.] // Am. J. Hum. Genet. – 1991. – Vol. 48. – P. 536 – 545.
22. Voutilainen, S. Association of folate and homocysteine with atherosclerosis and the risk of acute coronary events. Epidemiologic evidence: Doctoral Dissertation / Kuopio. – 2000. – 69 p.

Поступила 18.01.08