

НАЛИЧИЕ ПИКА ГОМОЦИСТЕИНА НА АМИНОГРАММАХ ПЛАЗМЫ КРОВИ И МОЧИ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ПАТОЛОГИЙ

Светлана ГАРАЕВА, Галина РЕДКОЗУБОВА, Галина ПОСТОЛАТИ, Владимир ГОРДИЙЧУК

*Центр метрологии и аналитических методов исследования АН Молдовы
NGO „Acasă”*

În articol sunt descrise particularitățile metabolismului homocisteinei și mecanismele influenței lui asupra sistemului cardiovascular.

Sunt raportate rezultatele cercetării metabolismului azotat la bolnavi cu patologii cardiovasculare diferite. S-a constatat un conținut înalt al homocisteinei și o disbalanță între alți aminoacizi.

Pe acest temei și al rezultatelor proprii, dar și analizând datele din literatură, autorii ajung la concluzia că hiperhomocisteinemia sporește riscul dezvoltării precoce a aterosclerozei. Conținutul homocisteinei în sânge servește la diagnosticarea patologiilor cardiovasculare.

In the paper the homocysteine metabolism peculiarities are elucidated and the mechanisms of its unhealthy influence at heart-vessel system are revealed.

There are adduced the results of research of nitrogen metabolism products in blood and urine of patients with different pathologies of heart-vessel system. It is revealed the high level of homocysteine, so as typical peculiarities of free amino acid specters, in blood and urine at such patients.

In virtue of own and literary data the authors do conclusion, that hyperhomocysteinaemia increases the risk of arteriosclerosis early development. The level of homocysteine in blood and urine has diagnostically importance for these pathologies revealing

Одной из важнейших целей развития медицинской науки всегда была необходимость своевременного выявления и профилактики нарушений нормального функционирования организма человека. Современная медицина имеет на вооружении большой спектр биохимических методов исследования, что повышает вероятность обнаружения факторов риска, приводящих к различным патологиям еще до их клинического проявления. Очень информативным методом является исследование азотистого обмена, выявляющее нарушения нормальной концентрации свободных аминокислот в физиологических жидкостях, главным образом в крови и моче.

Патологии сердечно-сосудистой системы остаются основной причиной заболеваемости и смертности людей во всем мире. В связи с этим поиск факторов риска, идентификация которых позволила бы влиять на уровень смертности от этих заболеваний, является очень актуальной. Одним из таких факторов в последнее время рассматривают гомоцистеин в крови, поскольку известно, что гомоцистеин может способствовать окислению липопротеидов, нарушению функции эндотелия, пролиферации гладкомышечных клеток сосудов, активации тромбоцитов и коагуляционного каскада [7]. Поэтому в последние годы изучению гомоцистеина, выявлению нормальных концентраций его в крови и влиянию на развитие различных патологий организма уделяется большое внимание [5, 6].

Гомоцистеин не является структурным элементом белков и поэтому не поступает в организм с пищей. В физиологических условиях единственным источником гомоцистеина в организме является метионин, одна из 10 незаменимых аминокислот. Деградация гомоцистеина может идти по двум путям. Во-первых, из гомоцистеина в дальнейшем может образоваться цистин, который является заменимой серосодержащей аминокислотой, входит в структуру белков и играет важную роль в их структурировании. Гомоцистеин конденсируется с серином в реакции, катализируемой пиридоксаль-фосфатзависимым ферментом цистатионин-β-синтазой с последующим расщеплением цистатионина с помощью цистатионин-γ-лиазы, также пиридоксальфосфатзависимой [10]. Во-вторых, гомоцистеин в организме в нормальных условиях способен также превращаться обратно в метионин. Кофакторами ферментов, осуществляющих эти превращения, являются витамины, самые важные из которых – фолиевая кислота и витамины В₆, В₁₂ и В₁ [4].

Гомоцистеин обладает выраженным токсическим действием на клетку [6]. Для защиты клетки от повреждающего действия гомоцистеина существуют специальные механизмы выведения его из клетки в кровь, однако в случае избытка гомоцистеина в организме он начинает накапливаться в крови, и основным местом повреждающего действия этой аминокислоты становится внутренняя поверхность сосудов [15, 16]. Поскольку для превращения избытка гомоцистеина в метионин нужны высокие концентрации активной формы фолиевой кислоты, снижение активности фермента, обеспечивающего превращение фолиевой кислоты в ее активную форму, считают одной из важнейших причин накопления гомоцистеина в организме [2].

В течение жизни уровень гомоцистеина в крови постепенно повышается. До периода полового созревания его уровень у мальчиков и девочек примерно одинаков. В период полового созревания уровень гомоцистеина повышается на 30-40%. У мальчиков это повышение более выражено. У взрослых содержание гомоцистеина повышается в два раза, у мужчин он остается по-прежнему выше, чем у женщин. С возрастом концентрация гомоцистеина постепенно возрастает, причем у женщин скорость этого нарастания выше, чем у мужчин. Постепенное нарастание уровня гомоцистеина с возрастом некоторые исследователи объясняют снижением функции почек. Во время беременности в норме уровень гомоцистеина имеет тенденцию к снижению. Считается, что это благоприятствует плацентарному кровообращению [5]. Гомоцистеинемия диагностируется при содержании гомоцистеина в крови свыше 15 мкмоль/л. При концентрации гомоцистеина в плазме крови 15-30 мкмоль/л степень гипергомоцистеинемии считают умеренной, 30-100 мкмоль/л – средней, более 100 мкмоль/л – тяжелой.

Самыми частыми причинами повышения уровня гомоцистеина являются витаминдефицитные состояния [10-13.] К числу факторов, вызывающих повышение уровня гомоцистеина, следует отнести недоедание или нерациональное питание, при котором создается дефицит витаминов. Этому может способствовать также нарушение нормального всасывания и усвоения витаминов (чаще всего цианокобаламина) при патологиях ЖКТ, в частности, при хроническом гастрите, протекающих часто бессимптомно и ведущих к гипергомоцистеинемии.

Предполагается, что к гипергомоцистеинемии предрасположены курящие. Потребление больших количеств кофе также является одним из самых мощных факторов, этому способствующих. У лиц, выпивающих более 6 чашек кофе в день, уровень гомоцистеина на 20-25% выше, чем у не пьющих кофе [8]. Потребление небольших количеств алкоголя может снижать уровень гомоцистеина в крови, но большие количества спиртного способствуют его росту.

Еще одним фактором, способствующим повышению концентрации гомоцистеина, являются некоторые сопутствующие заболевания. Наиболее важные из них – нарушения функции почек, системная красная волчанка, а также рак молочной железы, яичников, поджелудочной железы [14]. Заболевания щитовидной железы, сахарный диабет, псориаз и лейкозы также могут способствовать значительному росту уровня гомоцистеина в крови [6].

Одним из наиболее важных факторов гипергомоцистеинемии является наследственная предрасположенность [2]. Наиболее изученным является дефект фермента, обеспечивающего превращение в активную форму фолиевой кислоты, которая является коферментом в реакции метилирования гомоцистеина и превращения его в метионин. Это нарушение не позволяет снизить концентрацию гомоцистеина в крови [13].

Гомоцистеинемия наряду с систолическим артериальным давлением и уровнем С-реактивного белка может являться важным фактором риска ишемической болезни сердца, стенокардии; патологии сосудов мозга, тромбоза нижних конечностей и т.д. [5]. Так, повышенный уровень гомоцистеина приводит к повреждению и активации эндотелиальных клеток, выстилающих внутреннюю поверхность сосудов, что значительно повышает риск развития тромбозов [15]. В литературе появилось много работ о влиянии гомоцистеина на интиму [6, 7-9, 14-17], вследствие чего она теряет свою эластичность, становится рыхлой и не способна выполнять нормальные физиологические функции. На поврежденную поверхность сосуда осаждаются холестерин и кальций, образуя атеросклеротическую бляшку и тем самым способствуя развитию атеросклероза, повышению артериального давления и появлению других патологий сердечно-сосудистой системы. Имеются многочисленные сведения о том, что гомоцистеин стимулирует агрегацию тромбоцитов и некоторые факторы свертывания [9, 13, 14], что также способствует образованию тромбов в средних и крупных сосудах жизненно важных органов: в сердце, печени, почках, селезенке, слизистой оболочке желудка, костной системе и сосудах, снабжающих кровью головной мозг.

Обнаруженная связь гипергомоцистеинемии с развитием тяжелых сосудистых заболеваний послужила основой предложенной в 1975 году гомоцистеиновой теории атеросклероза, которая основывалась на связи между высокими уровнями гомоцистеина в крови, витаминной недостаточностью и заболеваниями сердца [18].

В лаборатории жидкостной хроматографии ЦМАМИ АН Молдовы налажен метод определения гомоцистеина в крови и в моче и уже имеются некоторые наблюдения, подтверждающиеся литературными данными, об участии этого соединения в патогенезе ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы.

В эксперименте методом жидкостной ионообменной хроматографии был исследован аминокислотный спектр плазмы крови и мочи 20 лиц, страдающих ишемической болезнью сердца (6 человек), стенокардией (3 человека), патологией сосудов мозга (11 человек), с подтвержденным диагнозом. Выборку составили мужчины 40-60 лет, некурящие. Группу сравнения составили 20 здоровых мужчин того же возраста.

Кровь отбирали из локтевой вены самотеком, натощак, до 10 часов утра, не менее 3 мл. Пробу центрифугировали при 6000 об/мин 10 минут и 1 мл надосадочной жидкости количественно перенесли в центрифужную пробирку с добавлением аликвоты 6%-ной сульфосалициловой кислоты. Смесь перемешивали и оставляли в холодильнике на 1 час, а затем снова центрифугировали при вышеуказанных параметрах. Надосадочную жидкость количественно отбирали и отгоняли в роторном испарителе при 45°C. Сухой остаток трижды промывали дистиллированной водой и отгоняли досуха. Затем осадок перерастворяли в 1 мл литиевого стартового буфера pH 2,2. Разделение аминокислот осуществляли на автоматическом анализаторе аминокислот (AAA-339, Чехия) по известному методу [1]. Статистическая обработка полученных результатов произведена согласно рекомендациям [3].

Анализ полученных данных показал, что в группе обследованных больных содержание гомоцистеина в плазме крови было достоверно выше на 70%, чем у здоровых мужчин, и составляло $26,40 \pm 3,96$ мкмоль/100 мл. При этом у них был выявлен в различной степени выраженный дисбаланс серосодержащих свободных аминокислот, во всех случаях сопровождавшийся накоплением их суммарного содержания. Характерным признаком нарушения обмена серосодержащих аминокислот являлось незначительное снижение уровня метионина (на 15%) и таурина (на 22%) с одновременным увеличением концентрации цистеина (на 63%), цистеиновой кислоты (на 70%) и гомоцистеина (на 110%), а также с появлением на хроматограмме пика цистатионина, в норме отсутствующего (таблица и рисунок).

Отмечено также значительное повышение уровня этаноламина у всех обследованных больных (в 2 – 4 раза). Необходимо отметить, что наши исследования выявили устойчивую положительную связь между концентрацией этаноламина в крови и моче обследованных групп и характером обмена серосодержащих аминокислот.

В литературе имеются данные [4], что одним из направлений превращений этаноламина является цепь реакций, приводящих к образованию гомоцистеина. Этанолламин при участии ионов магния с затратой энергии АТФ превращается в фосфоэтанолламин и пройдя несколько этапов образует гомоцистеин. Его накопление связано с недостатком у больных витаминов группы В, являющихся кофакторами реакций распада гомоцистеина.

Таблица

Сравнительное содержание серосодержащих аминокислот в крови и моче здоровых людей и больных, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями

№	Аминокислота	Кровь (мкмоль/100 мл)		Моча (мг/100мл)	
		здоровые	больные	здоровые	больные
1	цистеиновая кислота	$7,25 \pm 0,87$	$12,32 \pm 1,73^*$	$1,38 \pm 0,15$	$1,59 \pm 0,24$
2	таурин	$101,47 \pm 15,22$	$78,78 \pm 14,18^*$	$6,78 \pm 0,88$	$1,49 \pm 0,27^*$
3	цистеин	$17,86 \pm 1,96$	$29,11 \pm 3,49^*$	$2,49 \pm 0,25$	$4,75 \pm 0,67^*$
4	гомоцистеин	$12,57 \pm 1,63$	$26,40 \pm 3,96^*$	$0,11 \pm 0,01$	$0,42 \pm 0,06^*$
5	метионин	$15,44 \pm 1,54$	$13,12 \pm 1,71$	$0,52 \pm 0,06$	$0,43 \pm 0,05$
6	цистатионин	0,00	$4,56 \pm 0,46$	$0,64 \pm 0,06$	$0,94 \pm 0,09^*$

* Достоверные изменения ($p \leq 0,05$).

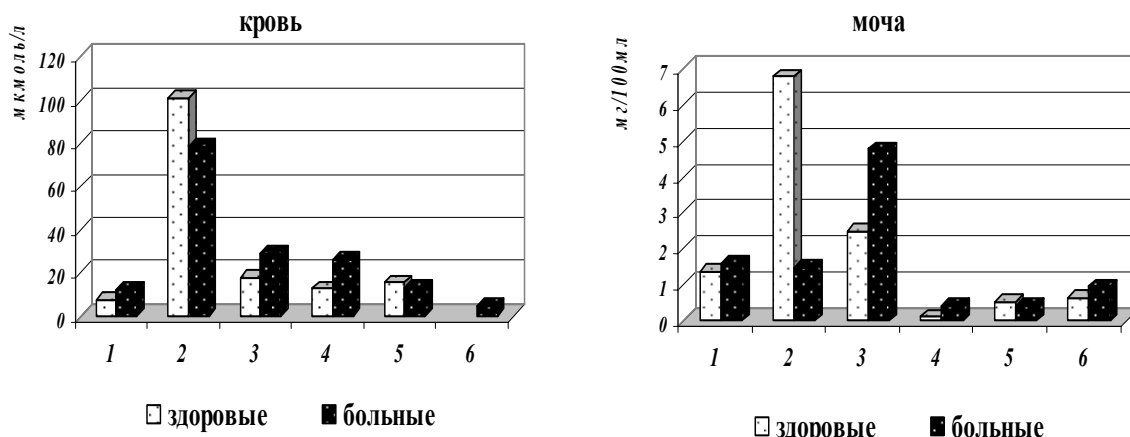


Рис. Сравнительное содержание серосодержащих аминокислот в крови и моче обследованных групп: 1 – цистеиновая кислота; 2 – таурин; 3 – цистеин; 4 – гомоцистеин; 5 – метионин; 6 – цистатионин.

При анализе концентраций свободных аминокислот в моче выявлено, что у больных обследованных групп наблюдалась гомоцистинурия и изменение характера экскреции серосодержащих аминокислот по сравнению с контрольной группой. Так, содержание цистеиновой кислоты было увеличено незначительно, на 16%, цистеина – на 91%, цистатионина – на 47% и наиболее выражен гомоцистеин – 285%. В то же время экскреция таурина и метионина у больных снижена на 78% и 18% соответственно.

Выделение этаноламина у больных практически не изменяется.

Результаты нашего эксперимента подтверждают литературные данные [9, 12, 13] о взаимосвязи между уровнем гомоцистеина в крови и развитием ишемической болезни сердца, стенокардии и атеросклероза сосудов сердца и головного мозга. С другой стороны, ранее было обнаружено наличие связи между повышенной концентрацией в плазме крови гомоцистеина и развитием патологии коронарных артерий только у женщин, у мужчин такую закономерность подтвердить не удалось [8]. Тем не менее, большинством исследований продемонстрировано, что высокое содержание в плазме крови гомоцистеина положительно коррелирует с уровнем заболеваемости, вероятностью осложнений и смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний как среди женщин, так и мужчин, что подтверждается и нашими результатами. Гомоцистеин ускоряет развитие атеросклероза, по крайней мере, с помощью 3 основных эффектов [13]: токсическое действие на эндотелий сосудов, усиление адгезии тромбоцитов, неблагоприятное воздействие на факторы свертывания крови.

В целом, анализ собственных и литературных данных позволяет заключить, что наличие гипергомоцистеинемии повышает риск раннего развития атеросклероза и тромбоза коронарных, церебральных и периферических артерий независимо от традиционных факторов риска и является прогностическим маркером этих патологий [15]. Повышение концентрации гомоцистеина в плазме крови до верхней границы нормы в возрасте до 40 лет может не сопровождаться клиническими изменениями [18], и диагностировать гипергомоцистеинемия удастся не во всех случаях, хотя изменения в коронарных и мозговых артериях уже имеют место. В таких случаях показано дополнительное применение теста нагрузкой метионином с параллельной регистрацией уровня гомоцистеина.

Таким образом, уровень гомоцистеина в крови обладает несомненным диагностическим значением в выявлении этих патологий еще до появления клинической признаков, то есть на ранних этапах развития болезни.

Литература:

1. Козаренко Т.Д., Зуев С.Н., Муляр Н.Ф. Ионообменная хроматография аминокислот. - Новосибирск: Наука, 1981. - 160 с.
2. Козлова Т.В. Распространенность гипергомоцистеинемии и ее связь с мутациями в гене метилентетрагидрофолатредуктазы у больных с венозными тромбозами и здоровых лиц // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2006. - №1. - С.32-38.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия. - Москва, 1990. - 187 с.

4. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др. Основы биохимии: В 3-х томах. - Москва: Мир, 1981. - 1878 с.
5. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А. Гипергомоцистеинемия и ее клиническое значение // Лаборатория. - 2002. - №1. - С.3-7.
6. Шевченко О.П., Олефиренко Г.А., Червякова Н.В. Гомоцистеин. - Москва, 2002. - 47 с.
7. Booth G., Wang E. Preventive health care, 2000 update: screening and management of hyperhomocysteinemia for the prevention of coronary artery disease events // CMAJ. - 2000. - V.163. - No1. - P.21-29.
8. Eikelboom J., Lonn E., Genest J. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence // Ann. Intern. Med. - 1999. - V.131. - P.363-375.
9. Folsom A., Nicto F., McGovern P. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine. Related genetic polymorphism and B vitamin. - Circulation, 1998, p.204-210.
10. Grubben M., Boers G., Blom H. Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentration in healthy volunteers: a randomized trial // Am. J. Clin. Nutr. - 1997. - V.71. - No2. - P.480-484.
11. Harpel P., Zhang X., Borth W. Homocysteine and hemostasis: pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis // J. Nutr. - 1996. - V.126. - No4 (Suppl.). - P.1285S-1289S.
12. Harjai K.J. Potential new cardiovascular risk factors: left ventricular hypertrophy, homocysteine, lipoprotein(a), triglycerides, oxidative stress, and fibrinogen // Ann. Intern. Med. - 1999. - V.131. - P.376-386.
13. Hopkins P., Wu L., Wu J. Higher plasma homocysteine and increased susceptibility to adverse effect of low folate in early familial coronary artery disease // Atherosclerosis. - 1995. - V.15. - P.1314-1320.
14. Metzler B., Abia R., Ahmad M. Activation of heat shock transcription factor 1 in atherosclerosis // Am. J. Pathol. - 2003. - V.162. - No5. - P1669-P1676.
15. Mudd S.H., Levy H.L. Disorders of transsulfuration // The metabolic basis of inherited disease. - New-York, 1995, p.1279-1327.
16. Petri M., Roubenoff R., Dallal G. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus // Lancet. - 1996. - V.348. - P.1120-1124.
17. Welch G.N., Loscalzo J. Homocysteine and Atherothrombosis // New Engl. J. Med. - 1998. - V.338. - P.1042-1050.
18. Wilcken D., Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism // J. Clin. Invest. - 1976. - V.57. - P.1079-1082.

Prezentat la 10.12.2007