

STĘŻENIE HOMOCYSTEINY W OSOCZU A WYBRANE ZWYCZAJE ŻYWIENIOWE MŁODYCH ZDROWYCH MĘŻCZYŹN

PLASMA HOMOCYSTEINE LEVEL AND SELECTED DIETARY HABITS IN YOUNG HEALTHY MEN

Anna Czajkowska¹, Grażyna Lutosławska², Krzysztof Mazurek³, Jadwiga Ambroszkiewicz⁴,

¹ Zakład Fizjologii, Akademia Wychowania Fizycznego w Warszawie

² Zakład Biochemii, Akademia Wychowania Fizycznego w Warszawie

³ Zakład Medycyny Sportowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Warszawie

⁴ Zakład Badań Przesiewowych, Instytut Matki i Dziecka w Warszawie

Słowa kluczowe: homocysteina, spożycie białka, spożycie metioniny

Key words: homocysteine, protein intake, methionine intake

STRESZCZENIE

Metabolizm Hcy zależy od wielu czynników, takich jak spożycie kwasu foliowego oraz witamin B₆ i B₁₂. Liczne badania dotyczą zależności między spożyciem metioniny lub diety wysokobiałkowej a stężeniem homocysteiny. Wyniki tych prac nie są jednoznaczne, stwierdzono bowiem zarówno wzrost jak i brak zmian stężenia Hcy w odpowiedzi na zmiany spożycia wymienionych składników. Celem niniejszych badań było poszukiwanie zależności między stężeniem homocysteiny we krwi a sposobem żywienia, głównie spożyciem białka, metioniny oraz witaminy B₆ u mężczyzn. W badaniach wzięło udział 65 zdrowych młodych mężczyzn. Ich zwyczaje żywieniowe oceniano na podstawie 4 wywiadów dotyczących spożycia w czasie 2 dni w tygodniu i 2 dni wolnych od zajęć (sobota i niedziela). Spożycie białka, metioniny oraz witaminy B₆ szacowano wykorzystując program komputerowy FOOD 2. Oznaczenia stężeń homocysteiny w osoczu wykonano metodą immunologicznej polaryzacji fluorescencyjnej (FPIA) stosując gotowe zestawy firmy Abbott (USA). Stwierdzono, że stężenie homocysteiny w osoczu było istotnie i ujemnie skorelowane jedynie z procentem energii pochodzącej z białka ($r = -0,372$, $p = 0,003$) oraz z w gęstością pokarmową metioniny ($r = -0,319$, $p = 0,02$). Nie wykazano natomiast korelacji między stężeniem Hcy w osoczu a spożyciem witaminy B₆ w dziennych racjach pokarmowych i jej gęstością, a także między stężeniem homocysteiny a spożyciem tłuszczów i węglowodanów. Wyższa wartość współczynnika korelacji między stężeniem homocysteiny a spożyciem białka niż między spożyciem metioniny sugeruje, że również obecne w białkach witaminy przyczyniają się do obniżenia stężenia homocysteiny w osoczu.

ABSTRACT

Elevated plasma homocysteine level is recognized as independent risk factor for cardiovascular disease (CVD). Homocysteine metabolism in the body is precisely regulated by many factors including dietary habits as folic acid, vitamin B₆ and B₁₂ daily intakes. Data concerning the relationship between methionine daily intake and plasma homocysteine concentrations are contradictory indicating increased or decreased plasma homocysteine levels in response to high protein or high methionine daily intakes. This study aimed at the evaluation of the relationship between habitual dietary habits of young, healthy men and plasma homocysteine levels. A total of 65 healthy students volunteered to participate in the study. Their dietary habits were assessed from 4 dietary records concerning daily food intake during two week days and weekend. Macronutrient, methionine and vitamin B₆ intakes were calculated using FOOD 2 computer program purchased from Institute of Food and Nutrition in Warsaw. Blood was drawn from antecubital vein after overnight fast. Plasma homocysteine concentration was determined by fluorescence polarization immunoassay using commercial kits from Abbott (USA). It has been demonstrated that plasma homocysteine levels were significantly and inversely correlated with daily total protein intake ($r = -0,372$, $p = 0,003$) and to lesser extent with methionine nutritional density ($r = -0,319$, $p = 0,02$). There were no correlation between daily vitamin B₆ intake and plasma homocysteine concentration. Assuming our results it could be postulated that habitual daily intake of protein and consequently methionine has a beneficial effect on plasma homocysteine levels in young healthy men. In addition, it seems feasible that protein effect on plasma homocysteine is due to methionine and protein-originated vitamins action.

Adres do korespondencji: Anna Czajkowska, Zakład Fizjologii, Akademia Wychowania Fizycznego, 00-968 Warszawa, ul. Marymoncka 34; tel. 022 834 04 31, e-mail: aniaczajkowska @wp.pl

WSTĘP

Homocysteina (Hcy) jest aminokwasem zawierającym grupę sulfhydrylową, powstającym głównie w wątrobie, ale także w nerkach i trzustce, w procesie demetylacji dostarczanej z pożywieniem metioniny. Powstająca na tej drodze Hcy ulega albo transmetylacji do metioniny lub transsulfurylacji do cystationiny, ale także przenika do krwi [14].

Procesy transmetylacji i transsulfurylacji są precyzyjnie regulowane, a aktywność katalizujących je enzymów jest w znacznym stopniu zależna od sposobu żywienia. Syntaza β -cystationiny katalizująca proces transsulfurylacji jest zależna od witaminy B₆, natomiast syntaza metioniny oraz metylotransferaza betaina-homocysteina uczestniczące w procesie transmetylacji są zależne odpowiednio od witaminy B₁₂ i kwasu foliowego. Liczne dane z piśmiennictwa wskazują, że niedobór wymienionych witamin w diecie przyczynia się do wzrostu stężenia homocysteiny we krwi [8, 10, 15, 16].

Fizjologiczne stężenia Hcy we krwi osób, u których nie stwierdza się niedoborów witaminy B₆ i kwasu foliowego, zależą od wieku i płci. Obserwuje się wyższe jej wartości u chłopców i mężczyzn w porównaniu z dziewczętami i kobietami a także u osób starszych (w wieku 60 lat) w porównaniu z młodymi (12-19 lat) [20]. W cytowanych badaniach ustalono, że prawidłowe stężenie homocysteiny we krwi mężczyzn nie przekracza 11,4 $\mu\text{mol/L}$, natomiast u kobiet - 10,4 $\mu\text{mol/L}$.

Dane z piśmiennictwa sugerują, że zaburzenia w metabolizmie homocysteiny i wzrost jej stężenia we krwi (hyperhomocystemia) jest czynnikiem ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego, a szczególnie choroby niedokrwiennej serca, zakrzepicy żył głębokich, zatoru tętnicy płucnej i udaru mózgu [1, 19, 23]. Z tego powodu czynniki wpływające na stężenie homocysteiny we krwi są przedmiotem licznych badań.

Nie do końca wyjaśniony jest wpływ podaży metioniny w diecie na stężenie homocysteiny w osoczu. *Bellamy* i wsp. [4] wykazali, że wysokie dawki metioniny (p.o. 0,1 g/kg, dwukrotnie w odstępie tygodnia) powodowały prawie trzykrotny wzrost stężenia homocysteiny we krwi. Natomiast *Ward* i wsp. [24] oraz *Haulrik* i wsp. [13] stwierdzili, że ani suplementacja diety metioniną ani dieta wysokobiałkowa nie wpływa na stężenie homocysteiny we krwi. Jednocześnie *Rousseau* i wsp. [18] porównując stężenia homocysteiny we krwi mężczyzn o istotnie różnym spożyciu białka, a tym samym metioniny, zauważyli, że wraz ze wzrostem spożycia metioniny stężenie homocysteiny we krwi ulegało statystycznie istotnemu obniżeniu (z 11,4 $\mu\text{mol/L}$ przy spożyciu metioniny 1,9 g/dzień do 9,2 $\mu\text{mol/L}$ przy spożyciu metioniny 2,9 g/dzień). Należy jednak zaznaczyć, że w cytowanych badaniach uczestniczyło

jedynie 18 mężczyzn, stąd autorzy ostrożnie wnioskuje o odwrotnej zależności między spożyciem metioniny a stężeniem homocysteiny w osoczu.

W związku z wyżej wymienionymi wątpliwościami podjęto badania, których celem było poszukiwanie zależności pomiędzy stężeniem homocysteiny we krwi a sposobem żywienia, w tym spożyciem białka, metioniny i witaminy B₆ u młodych mężczyzn.

MATERIAŁ I METODY

Rekrutację uczestników przeprowadzono zamieszczając ogłoszenia w domach akademickich, a także przekazując informacje o badaniach przez zajęcia. Do udziału w badaniach zgłosiło się 65 studentów. Żaden z uczestników nie zgłaszał problemów zdrowotnych i nie stosował regularnie preparatów witaminowo-mineralnych. Wszyscy uczestnicy zostali poinformowani o przebiegu badań i wyrazili pisemną zgodę na swój w nich udział. Przebieg badań uzyskał akceptację Komisji Etyki w Akademii Wychowania Fizycznego w Warszawie.

U wszystkich uczestników wykonano pomiary masy i wysokości ciała i obliczono wskaźnik masy ciała (BMI), a także przeprowadzono 4 wywiady żywieniowe dotyczące spożycia w czasie 2 dni tygodnia i 2 dni wolnych od zajęć (sobota i niedziela). Wywiady przeprowadzał przeszkolony ankieter, wykorzystując Album Produktów i Potraw opracowany w Instytucie Żywności i Żywienia w Warszawie [22]. Spożycie wskazanych przez uczestników produktów i potraw wyrażano w gramach, nadawano im odpowiednie kody, a uzyskane dane opracowywano z zastosowaniem programu komputerowego FOOD 2 zakupionego w Instytucie Żywności i Żywienia w Warszawie.

Krew do badań pobierano z zastosowaniem jednorazowych igieł i strzykawek, rano, na czczo do plastikowych probówek zawierających heparynę litową. W celu uzyskania osocza krew wirowano (10 min. 4000 obr./min., 4°C), a uzyskane osocze przechowywano w temp. -70°C) aż do chwili wykonania oznaczeń. Stężenie homocysteiny oznaczano metodą polaryzacji fluoroscencyjnej (FPIA) z zastosowaniem gotowych zestawów firmy Abbot (USA) i aparatu IMX. Wewnątrz- i między-seryjny współczynnik zmienności (CV) nie przekraczał 5,2%.

Rozkład uzyskanych wyników oceniano z zastosowaniem testu *W Shapiro-Wilka*. Ponieważ rozkład stężenia homocysteiny nie spełniał warunku normalności poszukując zależności między tym parametrem a innymi zmiennymi obliczano współczynnik korelacji rang *Spearmana*. Wyniki przedstawiono jako średnie \pm SD. Jako istotną przyjęto wartość $p < 0,05$. Wszystkie

obliczenia wykonano z zastosowaniem programu Statistica v.7.1 (StatSoft, USA).

WYNIKI I DYSKUSJA

Procent energii pochodzącej z białka, tłuszczów i węglowodanów w dziennych racjach pokarmowych u badanych studentów był zbliżony do wykazanego przez innych autorów u młodzieży w wieku 13-15 lat oraz u studentów [3, 5] (Tab. 1). Warto także podkreślić, że zwyczaje żywieniowe studentów uczestniczących w niniejszych badaniach odzwierciedlają typowe polskie nawyki żywieniowe - nadmierne spożycie białka i tłuszczów, a niedostateczne węglowodanów [12, 17]

Tabela 1. Charakterystyka antropometryczna, spożycie energii, białka, tłuszczów, węglowodanów, metioniny i witaminy B₆ oraz stężenie homocysteiny w osoczu u młodych mężczyzn (średnie ± SD).

Anthropometric characteristics, macronutrient, methionine and vitamin B₆ daily intakes and plasma homocysteine levels in young healthy men (means ± SD).

	Średnia ± SD
Wiek (lata)	20,1 ± 0,7
Masa ciała (kg)	75,9 ± 7,5
Wysokość ciała (cm)	180,5 ± 4,8
BMI	23,2 ± 2,2
Energia (kcal/dzień)	2822 ± 697
Białko (g)	100,4 ± 2,8
Białko (%)	14,6 ± 2,6
Tłuszcze (g)	115,8 ± 34,3
Tłuszcze (%)	36,2 ± 5,8
Węglowodany (g)	363,7 ± 103,3
Węglowodany (%)	49,8 ± 8,5
Metionina (g)	2,3 ± 0,7
Metionina (g/1000 kcal)	0,82 ± 0,17
Witamina B ₆ (mg)	2,1 ± 0,7
Witamina B ₆ (mg/1000 kcal)	0,74 ± 0,17
Homocysteina (μmol/L)	10,1 ± 2,8

W konsekwencji wysokiego spożycia białka w dziennych racjach pokarmowych spożycie metioniny było również wysokie. Biorąc pod uwagę zalecenia dotyczące spożycia metioniny i cysteiny przez osoby dorosłe (0,013 g/kg/doba) oraz średnią masę ciała uczestnicy obecnych badań powinni spożywać dziennie łącznie około 0,987 g obu aminokwasów [6].

Natomiast uzyskane wyniki wskazują, że studenci spożywali w dziennych racjach pokarmowych średnio około 2,3 g samej metioniny, czyli jej spożycie można uznać za wysokie.

Średnia zawartość witaminy B₆ w przeliczeniu na 1 g spożywanego białka u studentów była optymalna i wynosiła 0,021 mg/g [11], a w konsekwencji spożycie tej witaminy w dziennych racjach pokarmowych było

zgodne z zalecanym bezpiecznym poziomem spożycia.

Stężenie homocysteiny w osoczu było istotnie i ujemnie skorelowane jedynie z procentem energii pochodzącej z białka ($r = -0,372$, $p=0,003$) oraz z gęstością pokarmową metioniny ($r = -0,319$, $p=0,02$) (Tab. 2). Nie wykazano natomiast korelacji między stężeniem Hcy w osoczu a spożyciem witaminy B₆ w dziennych racjach pokarmowych i jej gęstością a także między stężeniem homocysteiny a spożyciem tłuszczów i węglowodanów.

Tabela 2. Współczynniki korelacji Spearmana między wybranymi elementami sposobu żywienia a stężeniem homocysteiny w osoczu u młodych, zdrowych mężczyzn.

Spearman rank correlation coefficients between selected dietary habits and plasma homocysteine concentrations.

	r	p
Białko (g)	-0,090	0,469
Białko (%)	-0,372	0,003
Tłuszcze (g)	0,229	0,069
Tłuszcze (%)	0,121	0,340
Węglowodany (g)	0,148	0,240
Węglowodany (%)	0,108	0,395
Metionina (g)	-0,070	0,596
Witamina B ₆ (mg)	0,063	0,618
Metionina (g/1000 kcal)	- 0,319	0,020
Witamina B ₆ (mg/1000 kcal)	- 0,100	0,444

Brak zależności między spożyciem witaminy B₆ a stężeniem Hcy jest potwierdzeniem wyników uzyskanych przez Davisa i wsp. [7], którzy sugerują, że spożycie witaminy B₆ w diecie nie wpływa na syntezę homocysteiny u ludzi.

Natomiast istotna korelacja między stężeniem homocysteiny a gęstością metioniny potwierdza wyniki Rousseau i wsp. [18], którzy sugerowali, że wzrost spożycia tego aminokwasu przyczynia się do obniżenia stężenia Hcy.

Mechanizm odwrotnej zależności między spożyciem metioniny a stężeniem homocysteiny w osoczu nie jest dostatecznie wyjaśniony. U zwierząt doświadczalnych zwiększone spożycie metioniny indukuje aktywność enzymów metabolizujących homocysteinę w wątrobie, co może powodować obniżenie jej stężenia w osoczu [21]. Nie wiadomo jednak, czy taki sam mechanizm występuje u ludzi. Warto jednocześnie zauważyć, że stężenie homocysteiny w osoczu było w większym stopniu zależne od spożycia białka niż od spożycia samej metioniny, co jest zapewne konsekwencją odwrotnej zależności między syntezą homocysteiny a spożyciem witaminy B₁₂, której głównym źródłem jest białko zwierzęce [8]. Ponadto białka pokarmowe są również źródłem kwasu foliowego, którego wyższe

spożycie również powoduje obniżenie stężenia Hcy w osoczu [2].

Biorąc pod uwagę wspomnianą we wstępie rolę homocysteiny jako czynnika ryzyka w wielu stanach chorobowych należy uznać, że umiarkowanie podwyższone spożycie białka w dziennych racjach pokarmowych u młodych mężczyzn uczestniczących w niniejszych badaniach (średnio 1,3 g/kg mc.) mogło przyczynić się do obniżenia stężenia homocysteiny w osoczu, a zaobserwowany efekt był prawdopodobnie konsekwencją zarówno wpływu metioniny jak i witamin, których źródłem są białka pożywienia, na metabolizm homocysteiny.

WNIOSKI

1. Stężenie homocysteiny w osoczu u młodych mężczyzn jest istotnie i ujemnie skorelowane z procentem energii pochodzącej z białka, przy umiarkowanie podwyższonym spożyciu białka w dziennych racjach pokarmowych
2. Stężenie homocysteiny w osoczu jest istotnie i ujemnie skorelowane z gęstością pokarmową metioniny, choć zależność ta jest słabsza niż w przypadku energii pochodzącej z białka
3. Nie wykazano zależności między spożyciem witaminy B₆ w dziennych racjach pokarmowych a stężeniem homocysteiny w osoczu u młodych mężczyzn

Badania finansowane z DS - 108 (działalność statutowa AWF w Warszawie) i I - 39 (prace własne)

PIŚMIENNICTWO

1. Al-Obaidi M.K., Stubbs P.J., Collinson P., Conroy R., Graham I., Noble M.I.M.: Elevated homocysteine levels are associated with increased ischemic myocardial injury in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2000, 36, 1217-1222.
2. Ashfield-Watt P.A.L., Moat S.J., Doshi S.N., McDowell I.F.W.: Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. What is the link? *Biomed Pharmacother* 2001, 55, 425-433.
3. Augustyniak U., Brzozowska A.: Sposób żywienia młodzieży w Polsce na podstawie piśmiennictwa z ostatnich 10 lat (1990-2000). *Roczn. PZH* 2002, 53, 399-406
4. Bellamy M.F., McDowell I.F., Ramsey M.W., Brownlee M., Bones C., Newcombe R.G., Lewis M.J.: Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation* 1989, 3, 98, 1848-1852.
5. Bujko J., Nitka I., Wunderlich S.: Wskaźnik zdrowego żywienia HEI i studentów SGGW w zależności od warunków socjalno-bytowych. *Żyw. Człow. Metab.* 2006, XXXIII (1), 18-27.
6. Bulhak-Jachymczyk B.: Zapotrzebowanie człowieka na białko W: Normy żywienia człowieka. Fizjologiczne podstawy. PZWL, Warszawa 2001, 115-139.
7. Davis S.R., Scheer J.B., Quinlivan E.P., Coats B.S., Stacpoole P.W., Gregory III J.F.: Dietary vitamin B-6 restriction does not alter rates of homocysteine remethylation or synthesis in healthy young women and men. *Am J Clin Nutr.* 2005, 81, 648-655.
8. De Bree A., Verschuren W.M.M., Kromhout D., Kluijtmans L.A.J., Blom H.J.: Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev.* 2002, 54, 599-618.
9. de Bree A., Verschuren W.M.M., Blom H.J., Kromhout D.: Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in the general population sample. *Am J Epidemiol.* 2001, 154, 150-154.
10. Ganji V., Kafai M.R.: Demographic, health, lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr.* 2003, 77, 826-833.
11. Gertig H., Przysławski.: Bromatologia, PZWL, Warszawa 2006
12. Gilis-Januszewska A., Topór-Mądry R., Pająk A.: Wychowanie i jakość diety u kobiet i mężczyzn w wieku 45-64 lat, mieszkańców Krakowa. *Przegl. Lek.* 2003, 60, 675-681.
13. Haulrik N., Toubro S., Dyerberg J., Stender S., Skov A.R., Astrup A.: Effect of protein and methionine intakes on plasma homocysteine concentrations: a 6-month randomized controlled trial in overweight subject. *Am J Clin Nutr.* 2002, 76, 1202-1206.
14. House J.D., Jacobs R.L., Stead L.M., Brosnan M.E., Brosnan J.T.: Regulation of homocysteine metabolism. *Advan Enzyme Regul.* 1999, 39, 69-91.
15. Jacques P.F., Bostom A.G., Wilson P.W.F., Rich S., Rosenberg I.H., Selhub J.: Determinants of plasma total homocysteine concentrations in the framingham offspring cohort. *Am J Clin Nutr.* 2001, 73, 613-621.
16. Mennen L.I., Potier de Courcy G., Guillard J.C., Ducros V., Bertrains S., Nicolas J.P., Mauriel M., Zarębska M., Favier A., Franchisseur C., Herberg S., Galan P.: Homocysteine, cardiovascular disease risk factors, and habitual diet in French supplementation with antioxidant vitamins and mineral study. *Am J Clin Nutr.* 2002, 76, 1279-1289.
17. Ostrowska L., Czapska D., Karczewski J.: Ocena zawartości białka, tłuszczów i węglowodanów w dziennej racji pokarmowej studentów Akademii Medycznej w Białymstoku z nadwagą i otyłością. *Roczn. PZH* 2001, 52, 247-256.
18. Rousseau A.S., Robin S., Roussel A.M., Ducros V., Margaritis I.: Plasma homocysteine is related to foliate intake but not training status. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2005, 15, 125-133
19. Schnabel R., Lackner K.J., Rupperecht H.J., Espinola-Klein C., Torzewski M., Lubos E., Bickel C., Cambien

- F., Tired L., Munzel T., Blankenberg S.:* Glutathione peroxidase –1 and homocysteine for cardiovascular risk prediction. *Jam Coll Cardiol*, 2005, 45, 1631-1637
20. *Selhub J., Jacques P.F., Rosenberg I.H., Rogers G.R., Bowman B.A., Gunter E.W., Wright J.D., Johnson C.L.:* Serum total homocysteine concentrations on the Third National Health Examination Survey 1991-1994: Population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Ann Intern Med.*, 1999, 131, 331-339
21. *Stolzenberg-Solomon R.Z., Miller III E.R., Maguire M.G., Selhub J., Appel L.J.* Association of dietary protein intake and coffee consumptions on older population. *Am J Clin Nutr* 1999, 69, 467-475.
22. *Szponar L., Wolnicka K., Rychlik K.E.* Album fotografii produktów i potraw. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2000.
23. *Undas A., Brożek J., Jankowski M., Siudak Z., Szczeklik A., Jakubowski H.* Plasma homocysteine affects fibrin clot permeability and resistance to lysis in human subject. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 26, 1397-1404
24. *Ward M., McNulty H., Pentieva K., McPartlin J., Strain J.J., Wier D.G., Scott J.M.:* Fluctuations in dietary methionine intake do not alter plasma homocysteine concentrations in healthy men. *J Nutr* 2000, 130, 2653-2657.

Otrzymano: 8.07.2008

Zaakceptowano do druku: 18.12.2008

