

Тимошенко О.Г.¹, Калинин А.Л.²

¹ Европейский институт естественнонаучных знаний и дистанционного образования, Дрезден, Германия

² Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

Timoshenko O.¹, Kalinin A.²

¹ European Institute for Natural Sciences and Distance Education, Dresden, Germany

² Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

Состояние ключевых звеньев метаболизма у лиц, придерживающихся вегетарианского стиля питания: особенности нарушения обмена витамина В₁₂ в организме, лабораторные тесты и критерии выявления его дефицита

State of Key Links of Metabolism in Persons Adhering to a Vegetarian Diet: Features of Vitamin B₁₂ Metabolism in the Organism, Laboratory Tests, and Criteria for Identifying its Deficiency

Резюме

Дефицит витамина В₁₂ составляет одну из ключевых проблем нарушений метаболизма среди лиц, придерживающихся вегетарианского стиля питания. В данной статье отражены результаты исследований, показывающие связь диетической недостаточности с изменением лабораторных показателей метаболизма кобаламина в организме. Охарактеризована биодоступность известных добавок, представленных на мировом рынке как источник витамина В₁₂ растительного происхождения, и обоснована несостоятельность применения отдельных из них.

Обращено внимание на отмечаемое при вегетарианстве нарушение обмена витамина В₁₂, проявляющееся, в частности, гипергомоцистеинемией и формированием осложнений со стороны сердечно-сосудистой и других жизненно важных систем организма. На основании результатов выполненного исследования показано, что лабораторная диагностика, отражающая картину метаболических нарушений при потреблении растительной пищи, должна проводиться с обязательным определением главных маркеров дефицита витамина В₁₂, каковыми являются гомоцистеин, голотранскобаламин и метилмалоновая кислота. Показано, что вегетарианский стиль питания приводит к метаболическим изменениям, выражающимся в снижении уровня витамина В₁₂ и повышении концентрации гомоцистеина, наиболее ярко проявляющемся у веганов.

Ключевые слова: вегетарианство, витамин В₁₂, гомоцистеин, гипергомоцистеинемия, голотранскобаламин, метилмалоновая кислота.



Abstract

Vitamin B₁₂ deficiency is one of the key problems of metabolic disorders among those, who adhere to a vegetarian diet. This article reflects the results of studies showing the relationship of dietary deficiency with the changes of laboratory parameters of cobalamin metabolism in the body. The bioavailability of well-known supplements presented on the world market as a source of vitamin B₁₂ of plant origin is characterized, and the inadequacy of the use of some of them is substantiated.

Attention is drawn to the violation of vitamin B₁₂ metabolism observed in vegetarianism, manifested, in particular, by hyperhomocysteinemia and the formation of complications from the cardiovascular and other vital systems of the body. On the base of the results of the study, it was showed that laboratory diagnostics reflecting the picture of metabolic disorders in the consumption of plant foods should be carried out with the obligatory determination of the main markers of vitamin B₁₂ deficiency, which are homocysteine, holotranscobalamin, and methylmalonic acid. It was showed that the vegetarian diet leads to metabolic changes expressed in the decrease of vitamin B₁₂ levels and the increase of homocysteine concentration, which is most pronounced in vegans.

Keywords: vegetarianism, vitamin B₁₂, homocysteine, hyperhomocysteinemia, holotranscobalamin, methylmalonic acid.

Результаты многочисленных исследований показывают, что неправильно составленные вегетарианские диеты, как правило, содержат меньше белков, жиров, витамина B₁₂, рибофлавина, витамина D, кальция, железа, цинка по сравнению со всеядной диетой [1].

Наиболее актуальны среди вегетарианцев вопросы дефицита витамина B₁₂, поскольку таковой является важнейшим участником сложной метаболической цепи, сбои в работе которой вызывают ряд нарушений в обмене метионина. Содержание витамина B₁₂ в организме некоторых вегетарианцев часто оказывается ниже необходимого, поскольку в их рационе не всегда присутствуют надежные источники его поступления в организм [1, 2].

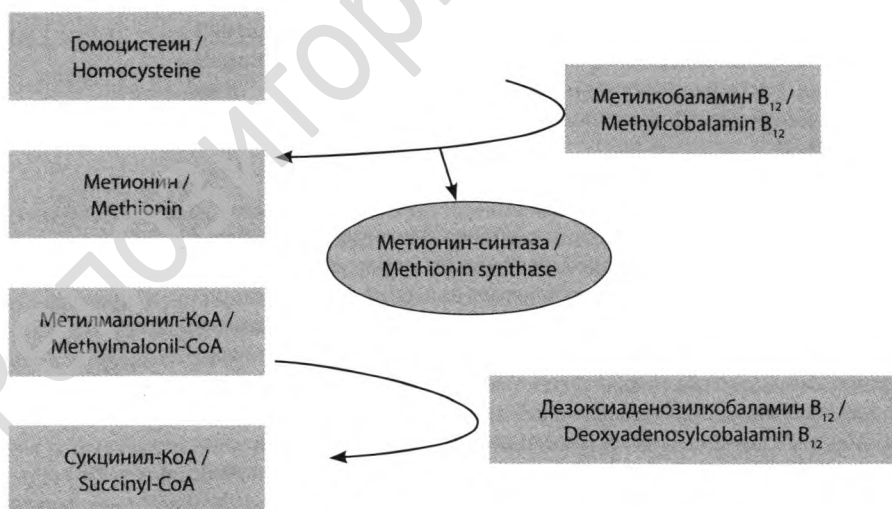
Витамин B₁₂ и пути его метаболизма

Витамин B₁₂ представляет собой наиболее сложную молекулу из всех витаминов, структура которой напоминает структуру гема в гемоглобине. Он состоит из тетрапирролового кольца, в центре которого располагается кобальт, а в каждом из пирроловых колец находится боковой заместитель, по химической природе которого различают цианокобаламин, гидроксокобаламин, метилкобаламин и дезоксиаденозилкобаламин [12]. Ключевая особенность кобаламинов состоит в том, что самостоятельно их не в состоянии произвести ни одно растение или животное. Кобаламины синтезируются микроорганизмами: бактериями, водорослями, плесенью или дрожжами. Большое количество витамина B₁₂ синтезируется пропионовокислыми бактериями, однако его всасывание в толстой кишке «хозяина» настолько мало, что организм человека нуждается в поступлении кобаламина извне – в составе продуктов животного происхождения [3, 8, 12]. Пищевые продукты в своем естественном состоянии могут содержать три активные формы витамина B₁₂ – производных кобаламина: метилкобаламин, аденозилкобаламин и гидроксокобаламин. Аденозилкобаламин

и гидроксокобаламин являются наиболее распространенными дериватами витамина В₁₂ в мясе, тогда как метилкобаламин содержится в молочных продуктах. Другие формы кобаламина редки и присутствуют в пищевых продуктах в малых количествах. Одной из них является гидроксокобаламин – некоферментная форма витамина В₁₂, но организм человека способен преобразовывать эту форму витамина в активную.

Витамин В₁₂ является коферментом клеточных реакций двух видов, протекающих в организме человека и животных, и обе они непосредственно относятся к метаболизму гомоцистеина: одна – с участием метионин-синтазы, в которой метилкобаламин переносит метильную группу на гомоцистеин (путь реметилирования метионина); другая – при участии дезоксиаденозилкобаламина и фермента метилмалонил-КоА-мутазы, осуществляющего превращение углеродного скелета гомоцистеина на этапе превращения метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА (см. рисунок) [4]. В ходе этой реакции к тому же происходит нейтрализация потенциально нейротоксичной метилмалоновой кислоты [3, 12, 37, 50].

Метионин и S-аденозилметионин участвуют в реакциях метилирования ДНК, белков и фосфолипидов, образовании 3-метоксипроизводных адреналина и норадреналина (метанефрина и норметанефрина), и тем самым они способны оказывать влияние на активность генов, восстановление функции мембранных транспортеров и клеточных ферментов (см. рисунок) [3, 4].



Участие метилкобаламина как кофактора метионин-синтазы в биосинтезе метионина, а дезоксикобаламина – как кофактора метилмалонилКоА-мутазы, превращающего метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА

Participation of methylcobalamin as a cofactor of methionine synthetase in the biosynthesis of methionine, and deoxycobalamin – as a cofactor of methylmalonylCoA mutase, which converts methylmalonyl-CoA into succinyl-CoA



Транспортные формы витамина B_{12} как факторы, обеспечивающие его метаболическое влияние

Кобаламин поступает в организм в составе продуктов животного происхождения. В желудке под действием пепсина он высвобождается из комплекса с пищевым белком и связывается с транскобаламином I (синонимы: гаптокоррин, R-белок) – высокоаффинным белком слюны и желудочного сока. На этом этапе транскобаламин I (ТК I) защищает витамин B_{12} от гидролиза в кислой среде [3, 4]. В дистальной части двенадцатиперстной кишки под влиянием панкреатических протеаз комплекс «кобаламин – ТК I» расщепляется, и высвободившийся кобаламин связывается с внутренним фактором Касла – продуктом секреции париетальных клеток желудка (внешний фактор Касла – это собственно витамин B_{12}) [12]. Новообразованный комплекс устойчив к действию протеаз в диапазоне pH от 3 до 9. В терминальном отделе подвздошной кишки комплекс «кобаламин – внутренний фактор» поглощается энтероцитами путем эндоцитоза. В цитоплазме энтероцитов происходит лизосомальный гидролиз комплекса «кобаламин – внутренний фактор». На данном этапе кобаламин связывается с вырабатывающимся в энтероцитах транспортным белком транскобаламином II (ТК II). ТК II могут вырабатывать не только энтероциты, но и эндотелий, гепатоциты, моноциты, фибробласты, клетки – предшественники гемопоэза. В крови кобаламин циркулирует только в связи с белками: у здорового человека 70–80% этого витамина связано с ТК I, 20–30% – с ТК II (комплекс «транспортный белок – B_{12} » принято обозначать как «голотранскобаламин», или «метаболически активная форма кобаламина»). Комплекс «кобаламин – ТК I» имеет длительный, многосуточный период полужизни в плазме: возможно, в связи с тем, что в большинстве тканей, кроме печени и почек, рецепторы к нему отсутствуют. Период полужизни комплекса «кобаламин – ТК II», напротив, очень короткий (60–90 мин.), он быстро поглощается различными тканями [3, 5]. Печень является главным депо витамина B_{12} в организме [12]. Выделяется витамин B_{12} в основном с желчью и калом. Существует кишечно-печеночный кругоборот витамина B_{12} в организме: примерно 3/4 выделяемого с желчью витамина B_{12} вновь реабсорбируются, его неактивные аналоги составляют 1/4 [12].

В 2003 г. Herrmann et al. опубликовал исследование по изучению уровня ТК II у веганов и вегетарианцев. Вегетарианцы едят все, за исключением мяса в любом его виде, птицы и рыбы. Животное мясо не употребляется, но продукты животного производства в виде яиц и/или молочных продуктов (лактовегетарианцы/лактоововегетарианцы) полностью включены в диету. Веганство же – это строгое вегетарианство, где исключаются не только мясopодукты всех животных и рыба с морепродуктами, но и все производные этих животных продуктов. Участники исследования были разделены на группы в соответствии со стадией дефицита витамина B_{12} (стадии дефицита были предложены Гербертом и соавторами: I или II стадия дефицита витамина B_{12} характеризовались изолированным снижением концентрации голотранскобаламина, стадия III дефицита витамина B_{12} – увеличением уровня метилмалоновой кислоты на фоне снижения концентрации голотранскобаламина) [6].

У вегетарианцев характер распределения производных витамина B_{12} имел тенденцию к таковому, наблюдаемому в стадии III, тогда как всеядные по статусу обмена витамина B_{12} соответствовали основной группе с нормальным содержанием в плазме (сыворотке) крови витамина B_{12} . Исследование показало влияние диеты на уровень гомоцистеина и кобаламина: всеядные (контрольные) субъекты (представители контрольной группы) имели более низкие концентрации гомоцистеина крови и лучший статус кобаламина, чем лактовегетарианцы/лактоовегетарианцы и веганы. Выполненный авторами статистический анализ показал, что сдвиги в уровне содержания комплекса « B_{12} – ТК II» были более показательными предикторами изменения концентрации гомоцистеина. Авторами выявлена также тесная корреляционная связь между содержанием метилмалоновой кислоты и голотранскобаламина: большинство обследуемых с повышенным уровнем метилмалоновой кислоты имели низкую концентрацию голотранскобаламина [6].

Псевдоформы витамина B_{12} , их биодоступность и содержание в растительных продуктах

Содержащиеся в растениях вещества сходного со структурой молекулы витамина B_{12} строения (псевдокобаламины) не усваиваются организмом человека; более того, они могут препятствовать абсорбции кобаламина [7, 9, 10].

Большинство съедобных сине-зеленых водорослей (цианобактерий), используемых для пищевых добавок, в основном содержат псевдовитамин B_{12} , который неактивен у людей. По этой причине пищевые цианобактерии не подходят для использования в качестве источников витамина B_{12} , особенно у веганов [10]. Тем не менее, обращает на себя внимание помещенная на официальном сайте Американской Ассоциации веганов цитата: «Несмотря на непроверяемые доказательства, что веганы без надежного источника витамина B_{12} наносят вред своему здоровью, некоторые веганские сторонники все еще верят, что растительная пища обеспечивает все питательные вещества, необходимые для оптимального здоровья».

Самой распространенной синтетической (химически более стабильной) формой витамина B_{12} является цианокобаламин. Именно эта форма витамина B_{12} , не встречающаяся в живой природе, производится как пищевая добавка в коммерческих целях. Она включена в состав лекарственных препаратов, так как производить ее относительно просто и недорого. Однако в последние годы ее употребление часто критикуется из-за подозрений в проявлении токсичности, так как соединения – носители цианогруппы в процессе метаболизма трансформируются в цианид (правда, в ничтожно малых количествах). У этой формы производного витамина B_{12} к тому же оказалась низкая степень биодоступности. В организме большинства людей цианокобаламин легко превращается в один из коэнзимов со структурой витамина B_{12} . В Государственном реестре лекарственных средств России зарегистрировано единственное вещество (по международному непатентованному названию) для лечения дефицита витамина B_{12} – цианокобаламин, поставляемое в основном в инъекционной форме.



Помимо указанных препаратов другие формы витамина B_{12} не могут быть использованы человеческим организмом. Группа этих встречающихся в природе форм витамина B_{12} называется «корриноиды». Так же как у витамина B_{12} в центре молекулярной структуры этих форм соединений находится атом кобальта. Некоторые из этих корриноидов обладают очень схожей с витамином B_{12} химической структурой, но они не могут играть ту же физиологическую роль в организме. Около 1/3 корриноидов у человека обычно являются неактивными аналогами витамина B_{12} [7, 10]. Это открытие разрушило миф о том, что некоторые растительные продукты являются источником витамина B_{12} , поскольку, как выяснилось, они содержат больше неактивных корриноидов [10]. Еще несколько лет тому назад не представлялось возможным различить эти два типа витамина B_{12} (активную, биодоступную и неактивную), так как известные методы, используемые для этой цели, не обеспечивали необходимую специфичность и точность исследования. В настоящее же время современные технологии хроматографического анализа позволяют выявить значительное количество неактивных аналогов псевдовитамина B_{12} в различных продуктах. Оценено также влияние водорослей (нори и спирулина) и ферментированных растительных продуктов на гематологический статус детей с дефицитом витамина B_{12} . Полученные результаты позволили прийти к заключению о том, что неоправданно пропагандировать водоросли и другие растительные продукты в качестве безопасного источника витамина B_{12} , поскольку его биодоступность сомнительна [9, 10].

Биодоступность добавок

Общее содержание витамина B_{12} в организме взрослого человека колеблется от 2 до 5 мг, основное его количество содержится в печени. Норма потребления, установленная в США Национальным институтом здоровья, соответствует 2,4 мкг в сутки для взрослого человека (верхний предел пока не установлен). Однако расход организма соответствует 2–5 мкг в сутки, что может превышать установленную суточную норму потребления. Одно из исследований показало, что потребление 6 мкг в сутки является достаточным для поддержания нормального уровня витамина B_{12} в плазме крови. Для ово- и лактовегетарианцев суточная потребность в витамине B_{12} составляет 2,4 мкг в сутки; веганам было рекомендовано потреблять до 6 мкг в сутки [13].

У веганов выявлены более низкие показатели концентрации витамина B_{12} , но более высокие – фолата, чем у вегетарианцев и всеядных. Так, в одном из сравнительных исследований Европейской проспективной группы по исследованию рака и питания в Оксфорде (EPIC-Oxford в Великобритании), осуществленном на контингенте обследованных 689 мужчин (из них: 226 всеядных, 231 вегетарианец и 232 вегана), установлено, что дефицит витамина B_{12} имеют более 50% веганов. Еще у 21% веганов установлены уровни витамина B_{12} , классифицированные как очень низкие. Средняя концентрация витамина B_{12} сыворотки крови была самой высокой среди всеядных (270–292 пмоль/л), промежуточной – среди вегетарианцев (175–189 пмоль/л) и самой низкой среди веганов (117–127 пмоль/л). В данном исследовании не было выявлено

тесной связи между продолжительностью соблюдения вегетарианской или веганской диеты и уровнем витамина В₁₂ [13]. Привлекло внимание и то обстоятельство, что уровни витаминов в крови лиц, принимавших и не принимавших добавки, не различались между собой: это может говорить о том, что практика приема добавок в исследованной когорте была недостаточной для достижения оптимального уровня В₁₂. Источники витамина В₁₂, подходящие для вегетарианской диеты, включают обогащенные витамином В₁₂ сухие завтраки и пищевые дрожжи либо только пищевые добавки. По-видимому, организм обладает ограниченной способностью воспринимать перорально применяемые добавки витамина В₁₂ [14], которая лимитирована содержанием внутреннего фактора. При приеме внутрь 500 мкг оральной добавки может быть поглощено только лишь около 10 мкг. Из-за этой плохой биодоступности были разработаны и представлены для продажи сублингвальные капли, пастилки и трансдермальные продукты – под предлогом того, что они предлагают лучшее усвоение [1, 27]; однако исследования, подтверждающего это утверждение, не было осуществлено. Самые известные растительные продукты, содержащие псевдовитамин В₁₂ – это водоросли: такие как спирулина и хлорелла. Тем не менее, многие производители растительных продуктов для веганов и вегетарианцев, несмотря на очевидные доказательства их неэффективного использования, продолжают продавать их (из коммерческих соображений) под видом настоящего витамина В₁₂. Вместе с тем потребление в высоких дозах этих аналогов может только усугубить дефицит витамина В₁₂ [14, 15]. При употреблении морских водорослей в качестве источника витамина В₁₂ результаты лабораторного исследования могут создать ложное впечатление о повышении уровня витамина В₁₂ в сыворотке крови, так как эти продукты содержат множество неактивных аналогов витамина В₁₂.

Источники витамина В₁₂

Витамином В₁₂ богаты морепродукты: моллюски, устрицы, осьминоги, рыба, икра и другие. Такие приправы, как ферментированный тайский рыбный соус, темпе (продукт из цельных, ферментированных соевых бобов, который содержит множество питательных веществ), могут обеспечить значительный уровень витамина В₁₂ в рационе [15–17]. Содержание витамина В₁₂ в коровьем молоке в 5–10 раз выше, чем в козьем [24]. Небольшое количество витамина В₁₂ (менее 0,1 мкг на 100 г продукта) обнаружено в некоторых растениях: его содержат брокколи, спаржа, белокопытник японский и пророщенный маш, что может быть объяснено способностью растений всасывать витамин из некоторых органических удобрений. Так, исследования показали, что удобрение почвы коровьим навозом увеличивает содержание В₁₂ в листьях шпината примерно на 0,14 мкг на 100 г. Витамин В₁₂ обнаруживался и в плодовых телах высших грибов, не способных его синтезировать, что тоже может объясняться взаимодействием с бактериями. Обычно в съедобных грибах содержится незначительное количество витамина В₁₂ (менее 0,1 мкг на 100 г сухеных грибов), однако некоторые грибы являются исключением. Так, в лисичке обыкновенной содержание В₁₂ варьируется от 1,09 до 2,65 мкг на 100 г, а в высушенном шиитаке содержится примерно 5,6 мкг на 100 г этого продукта.



Наиболее вероятным кандидатом на вегетарианские источники витамина B_{12} является темпе [18, 19]. Сами по себе соевые бобы не включают в свой состав этот витамин. В темпе обогащение соевых бобов витамином B_{12} происходит исключительно благодаря ферментации. Индонезийская темпе – богатая белком вегетарианская еда, является одним из первых в мире аналогов мяса [19]. Кроме того, это один из первых вегетарианских продуктов, содержащих важное для питания количество витамина B_{12} [18, 20]. В качестве закваски для производства темпе используется мицелий плесени, принадлежащий роду *Rhizopus*, который зарастает соевые бобы, связывая их в твердый «пирог»: его можно нарезать ломтиками и обжарить или нарезать кубиками; используется вместо мяса в супах. *R. oligosporus* является предпочтительной заквасочной культурой для производства темпе по нескольким причинам: он эффективно растет при высоких температурах (30–40 °C), а в процессе ферментации проявляет сильную липолитическую и протеолитическую активность. В результате образуются аминокислоты, которые организм уже способен усвоить. Одновременно с этим расщепляются и нейтрализуются растительные токсины, которые содержатся в соевых бобах. Кроме того, *R. oligosporus* производит метаболиты, которые позволяют ему ингибировать и, таким образом, вытеснять другие плесени и грамположительные бактерии, включая потенциально вредные *Aspergillus flavus* и *Staphylococcus aureus* [21–23]. Таким образом, люди, которые едят темпе (tempeh), редко страдают кишечными расстройствами и имеют здоровый микробиом. Темпе относится к категории скоропортящихся продуктов и не подлежит длительному хранению; по этой причине его сложно встретить за пределами Азии [22, 25].

Влияние дефицита витамина B_{12} на лабораторные показатели системы крови (кровотворение)

Стала более известной последовательность развития клинических проявлений гиповитаминоза: установлено, что симптомы поражения нервной системы предшествуют развитию анемии [3].

Согласно исследованиям, проведенным Гербертом, организм человека проходит через четыре стадии отрицательного баланса кобаламина: истощение сыворотки (низкий уровень голотранскобаламина II, то есть низкий уровень витамина B_{12} в транскобаламине II, истощение клеток (снижение уровня хологаптокоррина и низкие концентрации витамина B_{12} в эритроцитах), биохимический дефицит (замедленный синтез ДНК, повышенные концентрации гомоцистеина и метилмалоната в сыворотке) и, наконец, клинический дефицит – анемия [6].

В качестве классического проявления дефицита кобаламина рассматривается мегалобластоз костного мозга и слизистых оболочек с развитием мегалобластной (пернициозной) анемии, сочетающейся с нейтро- и тромбоцитопенией. В основе этих проявлений лежит дефицит метилкобаламина и нарушение деления ДНК. Однако выраженная анемия наблюдается не более чем в 13–15% случаев дефицита витамина B_{12} ; его первым признаком может быть наличие макроцитоза (или только тенденции к макроцитозу) при нормальном уровне гемоглобина [3]. В работах последних лет показано, что такой традиционно

применяющийся тест оценки макроцитоза, как определение среднего объема эритроцитов, не обладает достаточной чувствительностью вследствие нередкого сопутствующего влияния других факторов, в частности дефицита железа, хронического воспалительного процесса [31]. Нормоцитоз и даже микроцитоз эритроцитов не исключают возможности наличия дефицита витамина В₁₂, и поэтому следует обращать внимание на соотношение числа эритроцитов, показателей MCV, сывороточного железа, ферритина [12]. При несоответствии имеющихся данных соответствующим референтным величинам показано определение в крови уровня витаминов. Более чувствительными маркерами мегалобластического кроветворения являются средние размеры нейтрофилов и моноцитов, оцениваемые на автоматическом анализаторе [6].

Авторами проведенного в Санкт-Петербурге исследования, в котором приняли участие 165 обследуемых с разной степенью дефицита витамина В₁₂, среди всеядных установлены степени дефицита витамина В₁₂. Легкая степень соответствия концентрации витамина В₁₂ – 190–151 нг/л; средняя – 150–101 нг/л; тяжелая – 100–51 нг/л и очень тяжелая – <50,0 нг/л. Отмечено, что при уровне содержания витамина В₁₂ в плазме (сыворотке) крови менее 24 нг/л (очень тяжелая степень дефицита) анемия разной степени отмечалась у всех пациентов, а при уровне более 140 нг/л (средняя степень дефицита) анемия, связанная с дефицитом витамина В₁₂, практически не встречается. Основной причиной снижения уровня гемоглобина у пациентов этой группы оказался дефицит железа [12]. Авторы исследования констатировали, что дефицит витамина В₁₂ не всегда приводит к развитию анемии, а степень дефицита витамина далеко не всегда соответствует степени тяжести анемии: дефицит витамина В₁₂ не является синонимом анемии. Классическая пернициозная анемия составляет не более 13–15% всех случаев дефицита витамина В₁₂. Не обнаружено четкой корреляции между уровнем витамина В₁₂ в крови, наличием анемии и степенью ее тяжести. Иногда дефицит витамина В₁₂ проявляется только лейкопенией. Авторы предположили, что классическая В₁₂-дефицитная анемия – это результат нераспознанного и длительного дефицита витамина В₁₂, который осложнился гемолизом дефектных эритроцитов. Проявления нейропатии и глоссита могут быть вызваны дефицитом витамина В₁₂ и при нормальном уровне гемоглобина [12].

В исследовании, посвященном проблеме влияния вегетарианства на некоторые гематологические показатели, у веганов обнаружены самые высокие уровни метилмалоновой кислоты: 0,7 ммоль/л при норме от 0,07 до 0,27 мкмоль/л и гомоцистеина – 12,8 мкмоль/л. У веганов были обнаружены меньшее количество лимфоцитов, тромбоцитов и более высокий средний корпускулярный объем эритроцитов (92 фл) по сравнению с таковым у лакто- или лактоовоовегетарианцев, у которых средний корпускулярный объем эритроцитов был 89 фл [11, 35]. В аналогичном исследовании [35] с оценкой биохимического, гематологического и иммунного статуса веганов были также отмечены более низкие показатели лейкоцитов, лимфоцитов и тромбоцитов при низком уровне витамина В₁₂ (менее 150 пмоль/л).



Маркеры дефицита витамина В₁₂

Гипергомоцистеинемия. Гомоцистеин (ГЦ) – это сульфгидрилсодержащая аминокислота [43]. В физиологических условиях ГЦ синтезируется в организме из метионина (см. рисунок). При образовании избыточного количества гомоцистеина организм преобразует его вновь в метионин с помощью витамина В₁₂ и активной формы фолиевой кислоты (ФК) – 5-метилтетрагидрофолата (см. рисунок). Отсюда следует, что при дефиците витаминов В₁₂, В₆, фолиевой кислоты и снижении активности фермента 5,10-метилентетрагидрофолатредуктаза (МТНФР) уровень гомоцистеина повышен (см. рисунок), так как обратная реакция не сможет протекать [4, 43].

Гипергомоцистеинемия связана с повышенным риском развития атеросклероза, сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [29, 33]. В ряде исследований была найдена связь между тяжестью ишемической болезни сердца (ИБС) и гипергомоцистеинемией. ГЦ сильно коррелировала с тяжестью ИБС [43]. ГЦ оказывает неблагоприятное воздействие на внутреннюю стенку артерий, особенно на эндотелий; уменьшает биодоступность оксида азота, способствует формированию внутриклеточного окислительного стресса, запуская множественные проатерогенные механизмы [29]. Кроме того, гипергомоцистеинемия ассоциирована с высоким риском возникновения венозных тромбозов [43]. В ряде исследований среди всеядных (Израиль, 1999 [30], Норвегия [31]) была обнаружена взаимосвязь между высоким уровнем гомоцистеина и смертностью как от сердечно-сосудистых, так и от других заболеваний в общей популяции людей в возрасте 65–72 лет. Полученные в ходе исследования результаты показали статистически значимое увеличение показателя смертности у людей с уровнем гомоцистеина 15 мкмоль/л и выше. Уровень гомоцистеина в сыворотке крови 10 мкмоль/л [37] не сопровождается возникновением метаболических нарушений, наносящих существенный вред организму. Допустимым уровнем гомоцистеина в крови считается таковой от 2,2 до 13,2 мкмоль/л [28]. Установлено, что уровень витамина В₁₂ в крови 300 пмоль/л (406 нг/л) достаточен для поддержания гомоцистеина в допустимых границах [32]. Известно, что гипергомоцистеинемия может возникать и в результате недостатка фолиевой кислоты, но, как правило, вегетарианская диета достаточно насыщена фолиевой кислотой.

С учетом этого обстоятельства можно полагать, что у вегетарианцев уровень гомоцистеина повышен в основном из-за недостатка витамина В₁₂ [27, 35, 36]. Учитывая эти особенности, вегетарианцам, особенно веганам, следует рекомендовать тщательно планировать свои диеты, регулярно контролировать уровень витамина В₁₂ в плазме (сыворотке) крови, чтобы облегчить раннее выявление низкого статуса кобаламина и использовать продукты, обогащенные витамином В₁₂ или принимать витамин В₁₂ в случае необходимости [1, 27].

Метилмалоновая кислота (ММА). Вторая коферментная форма витамина В₁₂ – аденозилкобаламин участвует в превращении метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА. В случае недостатка витамина В₁₂ уровень метилмалонил-КоА увеличивается. Затем метилмалонил-КоА превращается в метилмалоновую кислоту (ММК), которая накапливается

в крови и моче. Поскольку витамин В₁₂ является единственным коэнзимом, необходимым для этого пути, уровни ММК следует рассматривать как лучшие индикаторы дефицита витамина В₁₂ [38, 42].

Нормальный уровень ММК в сыворотке составляет от 0,07 до 0,27 мкмоль/л. Накопление метилмалоновой кислоты приводит к угнетению сукцинатдегидрогеназы (фермент цикла Кребса) и нарушению процесса аэробного гликолиза – основного источника образования молекул аденозинтрифосфата. Компенсаторная ответная активация анаэробного гликолиза ведет к накоплению лактата и развитию внутриклеточного ацидоза; повышенное содержание лактата оказывает влияние на мозговой кровоток [36]. Метилмалоновая кислота к тому же непосредственно подавляет активность комплекса II митохондриальной дыхательной цепи, провоцирует развитие в клетке окислительного стресса [12, 37, 39].

Уровни метилмалоновой кислоты и гомоцистеина в плазме (сыворотке) крови оказались более надежными предикторами диетической недостаточности, чем показатели содержания витамина В₁₂. Нормальные уровни как метилмалоновой кислоты, так и общего гомоцистеина исключают клинически значимый дефицит кобаламина [39, 40, 42].

Алгоритм и особенности клинико-лабораторной диагностики недостаточности содержания витамина В₁₂ в организме людей, придерживающихся вегетарианского стиля питания

Несмотря на достаточно большую встречаемость и потенциальную тяжесть В₁₂-дефицитных состояний, к настоящему времени отсутствуют международные согласительные документы, касающиеся алгоритмов диагностики и лечения. Клинико-диагностическая значимость констатации «изолированного» (без клинических проявлений) снижения уровня кобаламина сомнительна, в то же время у вегетарианцев с явными клиническими проявлениями дефицита витамина В₁₂ уровень кобаламина (определенный ординарными методами исследования) может оставаться в пределах нормы (это «ложнонормальное» содержание кобаламина). Следовательно, в ряде случаев оправданно использование дополнительных методов диагностики для выявления функционального или биохимического дефицита витамина В₁₂. К таким тестам относится определение в сыворотке крови уровня гомоцистеина, метилмалоновой кислоты и сывороточной концентрации голотранскобаламина. К сожалению, указанные исследования можно выполнить далеко не во всех лабораториях: осложняет ситуацию также отсутствие стандартных референтных величин нормы. Уровень ММК определяется специальным методом – газовой хроматографии/масс-спектрометрии, что ограничивает его широкое применение в клинико-лабораторной практике. В силу этого приходится констатировать отсутствие «золотого стандарта» диагностики дефицита витамина В₁₂ [44].

Определение сывороточного уровня кобаламина в настоящее время является рекомендуемым начальным методом обследования вегетарианцев с подозрением на дефицит витамина В₁₂. Границы нормального общего содержания кобаламина достаточно условны и приняты как 180–914 нг/л. Эти пределы установлены главным образом с учетом отсутствия макроцитоза в периферической крови; показатели



концентрации кобаламина от 180 до 350 нг/л предлагается рассматривать как «пограничные» [44]. При этом определяется «общий кобаламин» – как «неактивная» (гаптокоррин – т. е. связанный с транскобаламином I и транскобаламином III витамин B_{12}), так и «активная» (голотранскобаламин – связанный с транскобаламином II витамин B_{12}) его формы. К сожалению, диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность теста его определения далеки от 100%, что не позволяет рассматривать его в качестве основного ориентира при постановке диагноза.

В качестве лабораторных маркеров дефицита витамина B_{12} в спорных случаях рекомендуется ориентироваться на содержание гомоцистеина и/или метилмалоновой кислоты в сыворотке крови, по уровню которых судят о метаболическом (биохимическом) дефиците витамина B_{12} . Считается, что тест определения уровня общего кобаламина в сыворотке крови с уровнем его содержания <148 пмоль/л, или 200 нг/л (пороговое значение) обладает диагностической чувствительностью 97% в выявлении дефицита витамина B_{12} . В то же время окончательного представления о том, какое значение концентрации следует считать пороговым, нет. Повышение содержания ММК более четко указывает на дефицит витамина B_{12} , тогда как увеличение уровня гомоцистеина может отражать дефицит как кобаламина, так и фолиевой кислоты. Если у пациента обнаруживаются клинические проявления, характерные для гиповитаминоза B_{12} , а содержание общего кобаламина в плазме крови соответствует пограничным значениям (180–350 нг/л) и при этом определяется повышенное содержание ММК и/или гомоцистеина, – можно говорить о дефиците витамина B_{12} (при условии исключения дефицита фолиевой кислоты). При нормальном содержании метилмалоната и гомоцистеина наличие дефицита витамина B_{12} (и фолиевой кислоты) практически исключено [44].

При этом следует помнить, что плазменный (сывороточный) уровень ММК повышается не только при дефиците витамина B_{12} , но также у пациентов с почечной недостаточностью, при гемоконцентрации, синдроме избыточного бактериального роста в тонкой кишке и при катаболических процессах [6, 42, 44]. Несмотря на эти ограничения, выраженное повышение уровня содержания ММК ($>0,75$ мкмоль/л) типично именно для дефицита витамина B_{12} , хотя разные лаборатории дают различный верхний предел нормальных значений (от 0,27 до 0,75 мкмоль/л). Если же эти показатели уменьшаются на фоне назначения витамина B_{12} , то первоначальное повышение расценивается как доказательство его дефицита. Пониженный уровень общего кобаламина (менее 180 нг/л) может обнаруживаться даже при отсутствии специфических клинических симптомов; в таком случае показано динамическое наблюдение [29, 52].

Поскольку нормальный или повышенный общий уровень кобаламина еще не исключает наличия функционального дефицита (вызванного чрезмерным содержанием фракции «кобаламин – ТК I», недоступной для усвоения большинством клеток), в последние годы стал применяться новый диагностический тест – определение уровня голотранскобаламина («кобаламин – ТК II»), отражающего содержание витамина в форме, доступной для клеток любого типа. Содержание голотранскобаламина наиболее точно отражает содержание кобаламина

в клетках (эритроцитах). У здоровых людей уровень голотранскобаламина колеблется в пределах от 19–42 пмоль/л (нижний интервал нормы) до 134–157 пмоль/л (верхний интервал нормы). Наименьшим нормальным значением этого показателя следует считать уровень концентрации <32 пмоль/л.

Определение уровня голотранскобаламина должно рассматриваться в качестве метода выбора для диагностики дефицита кобаламина [44]. Если уровень кобаламина снижается при физиологической беременности и при приеме гормональных контрацептивов, то концентрация голотранскобаламина не подвержена таким колебаниям, что делает его более надежным инструментом для оценки дефицита витамина В₁₂. Если учесть, что определение концентрации голотранскобаламина возможно при стандартном оснащении современной клинической лаборатории, а также не требует соблюдения особых условий на преаналитическом этапе, диагностические преимущества этого теста позволяют полагать, что в ближайшем будущем он будет рассматриваться в качестве метода выбора в начале диагностического поиска при подозрении на дефицит витамина В₁₂ [41, 44].

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

■ ЛИТЕРАТУРА

1. Donaldson M.S. (2000) Metabolic vitamin B12 status on a mostly raw vegan diet with follow-up using tablets, nutritional yeast, or probiotic supplements. *Ann Nutr Metab*, vol. 44, pp. 229–234. doi: 10.1159/000046689
2. Herrmann W., Schorr H., Purschwitz K., Rassoul F., Richter V. (2001) Total homocysteine, vitamin B12, and total antioxidant status in vegetarians. *Clin Chem*, vol. 47, pp. 1094–1101.
3. Pavlov C., Damulin I., Shulpekova Y. (2020) Neurological disorders in vitamin B₁₂ deficiency. *Meditsinskie novosti*, no 2, pp. 6–11.
4. Andrianova M., Roitman E., Isaeva A., Kolesnikova I., Nureev M. (2014) Patogeneticheskoe i klinicheskoe obosnovanie kompleksnoi profilaktiki gipergomocisteinemii [Pathogenetic and clinical substantiation of complex prevention of hyperhomocysteinemia]. *Racionalnaya farmakoterapiya*, vol. 4, no 18, pp. 32–38. doi: 10.20514/2226-6704-2014-0-4-32-38
5. Green R., Allen L.H., Björke-Monsen A.L. (2017) *Nat. Rev. Dis. Prim.*, vol. 3, p. 17040.
6. Herbert V. (1994) Stage of vitamin B-12 status (cobalamin) in vegetarians. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 59, pp. 1213–1222. doi: org/10.1093/ajcn/59.5.1213
7. Herbert V. (1988) Vitamin B-12: Plant Sources, Requirements and Analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 48, pp. 852–858. Available at: <https://doi.org/10.1093/ajcn/48.3.852>
8. Smirnov V., Klimochkin Y.U. (2008) *Vitaminy i kofermenty* [Vitamins and coenzymes]. Samara: state tech. un-t.
9. Dagnelie P., Staveren W. (1991) Vitamin B-12 from algae appears not to be bioavailable. *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 53, pp. 695–697. doi: org/10.1093/ajcn/53.3.695
10. Fumio W. (2007) Vitamin B12 Sources and Bioavailability. *Experimental Biology and Medicine*, vol. 232, issue 10, pp. 1266–1274. doi: org/10.3181/0703-MR-67
11. Obeid R., Geisel J., Schorr H., Hübner U., Herrmann W. (2002) The impact of vegetarianism on some haematological parameters. *Eur J Haematol*, vol. 69, pp. 275–279. doi: 10.1034/j.1600-0609.2002.02798.x.PMID: 12460231
12. Perekatova T., Ostroumova M. (2009) Once more about vitamin B12 deficit. *Clinical hematology oncology. Basic research and clinical practice*, vol. 2, no 1, pp. 185–194.
13. Gilsing A., Crowe F. (2010) Serum concentrations of vitamin B12 and folate in British male omnivores, vegetarians and vegans: results from a cross-sectional analysis of the EPIC-Oxford cohort study. *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 64 (9), pp. 933–939. doi: 10.1038/ejcn.2010.142
14. Andrés E., Dali-Youcef N., Vogel T. (2009) Oral cobalamin (vitamin B 12) treatment. *An update Int J Lab Hematol*, vol. 31 (1), pp. 1–8.
15. Phillips F. (2005) Vegetarian nutrition. *Nutr Bull*, vol. 30 (2), pp. 132–67.
16. Areekul S., Thearawibul R., Matrakul D. (1974) Vitamin B12 contents in fermented fish, fish sauce and soya-bean sauce. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, vol. 5, pp. 461.
17. Van Veen A., Steinkraus K.H. (1970) Nutritive value and wholesomeness of fermented foods. *J. Agric. Food Chem.*, vol. 18, pp. 576–578.
18. Liem I., Steinkraus K., Cronk T. (1977) Production of vitamin B-12 in tempeh, a fermented soybean food. *Appl. Environ. Microbiol*, vol. 34, pp. 773–76.
19. Steinkraus K., Hand D. (1961) Pilot plant studies on tempeh. In *Proceedings of the Conference on Soybean Products for Protein in Human Foods. Agricultural Research Service, Peoria*, Ill. p. 7544.



20. Nout M. (1989) Effect of *Rhizopus* and *Neurospora* spp. on growth of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* and accumulation of aflatoxin B1 in groundnut. *Mycological Research*, vol. 93 (4), pp. 518–523. doi: 10.1016/s0953-7562(89)80046-2.
21. Kobayasi S., Okazaki N., Koseki T. (1992) Purification and Characterization of an Antibiotic Substance Produced from *Rhizopus oligosporus* IFO 8631. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 56 (1), pp. 94–98. doi: 10.1271/bbb.56.94. PMID 1368137.
22. Wang H., Ruttile I. and Hesselatine C. (1969) Antibacterial compound from a soybean product fermented by *Rhizopus oligosporus*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, vol. 131, pp. 579–583.
23. Chang-Tien, Chang, Hsu, Cheng-Kuang; Chou, Su-Tze; Chen, Ya-Chen; Huang. (2009) Effect of fermentation time on the antioxidant activities of tempeh prepared from fermented soybean using *Rhizopus oligosporus*. *International Journal of Food Science and Technology*.
24. Indyk H.E., Persson B.S., Caselunghe M.C.B., Moberg A., Filonzi E.L. (2002) Determination of vitamin B12 in milk products and selected foods by optical biosensor protein binding assay: method comparison. *J. AOAC Int.*, 85, pp. 72–81.
25. Hesselatine C.W., Smith M., Bradle R., Djin K.S. (1963) Investigations of tempeh, an Indonesian food. *Dev. Ind. Microbiol.*, 4, pp. 275–287.
26. Elmadfa I., Singer I. (2009) Vitamin B-12 and homocysteine status among vegetarians: a global perspective. *Am J Clin Nutr.*, vol. 89 (5), pp. 1693–1698. doi: 10.3945/ajcn.2009.26736Y. Epub 2009 Apr 8. PMID: 19357223
27. Loehrer F., Schwab R., Angst C., Haefeli W.E., Fowler B. (1997) Influence of oral S-adenosylmethionine on plasma 5-methyltetrahydrofolate, S-adenosylhomocysteine, homocysteine and methionine in healthy humans. *J Pharmacol Exp Ther.*, vol. 282 (2), pp. 845–50.
28. (1998) Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. *BMJ*, 316 (7135), p. 894.
29. Gontschar I., Stepanova J., Prudyvus I. (2013) *Biochemical Predictors and Markers of Ischemic Stroke*. Minsk, Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education. (in Russian)
30. Kark J., Selhub J., Adler B., Gofin J., Abramson J. (1999) Nonfasting plasma total homocysteine level and mortality in middle-aged and elderly men and women in Jerusalem. *Ann Intern Med.*, 131 (5), pp. 321–30.
31. Vollset S., Refsum H., Tverdal A., Nygard O., Nordrehaug J., Tell G. (2001) Ueland PM. Plasma total homocysteine and cardiovascular and non cardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr.*, 74 (1), p. 130.
32. Selhub J., Jacques P.F., Dallal G., Choumenkovich S., Rogers G. (2008) The use of blood concentrations of vitamins and their respective functional indicators to define folate and vitamin B12 status. *Food Nutr Bull.*, vol. 29, no 2, pp. 67–73. Review.
33. Wald D., Law M., Morris J. (2002) Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ*, 325 (7374): 1202.
34. (2002) Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA*, Oct 23–30, pp. 288.
35. Haddad E., Berk L., Kettering J., Hubbard R. (1999) Dietary intake and biochemical, hematologic, and immune status of vegans compared with nonvegetarians. *Am J Clin Nutr.*, 70 (suppl), pp. 586–93.
36. Malouf M., Evans J. Folic (2003) Acid With or Without Vitamin B12 for Cognition and Dementia. *Cochrane Database Syst Rev* CD004514. doi: 10.1002/14651858.CD004514.
37. Okun J., Hörster F., Farkas L. (2002) Neurodegeneration in Methylmalonic Aciduria Involves Inhibition of Complex II and the Tricarboxylic Acid Cycle, and Synergistically Acting Excitotoxicity. *The journal of biological chemistry*, vol. 277, no 17, pp. 14674–14680.
38. Lindenbaum J., Savage D., Stabler S., Allen R. (1990) Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am. J. Hematol.*, 34, pp. 99–107.
39. Schneede J., Dagnelie C., van Staveren W. (1994) Methylmalonic acid and homocysteine in plasma as indicators of functional cobalamin deficiency in infants on macrobiotic diets. *Pediatr. Res.*, 36, pp. 194–201.
40. Miller D., Norman E., Greene H., Hayes K.C. (1988) Increased urinary methylmalonic acid excretion in breast-fed infants of vegetarian mothers and identification of an acceptable dietary source of vitamin B-12. *Am. J. Clin. Nutr.*, 47, pp. 89–92.
41. Specker B., Black A., Allen L., Morrow F. (1990) Vitamin B-12: low milk concentrations are related to low serum concentrations in vegetarian women and to methylmalonic aciduria in their infants. *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, pp. 1073–76.
42. Savage D., Lindenbaum J., Stabler S. (1994) Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am. J. Med.*, 96, pp. 239–46.
43. Prystrom A. (2020) Rol folatov v serdechno-sosudistoi profilaktike sovremennoe sostoyanie problemi [The role of folate in cardiovascular prevention: current state of the problem]. *Meditinskije novosti*, no 4, pp. 37–43.
44. Krasnovskii A., Grigorev S., Alehina R. (2016) Sovremennye vozmozhnosti diagnostiki i lecheniya defitsita vitamina V12. [Modern possibilities of diagnostics and treatment of vitamin B12 deficiency]. *The clinician*, vol. 10, no 3, pp. 16–25. doi: 10.17650/1818-8338-2016-10-3-15-25

Поступила/Received: 19.06.2020

Контакты/Contacts: timoshenko.makeup@gmail.com