

Vpliv 35 dnevnega mirovanja na koncentracijo homocisteina v krvi

The effect of 35-day bed rest on plasma homocysteine concentration

Nadja Plazar, Mihaela Jurdana, Rado Pišot

Povzetek: Telesna neaktivnost je drugi najpomembnejši dejavnik tveganja za razvoj kroničnih nenalezljivih bolezni v razvitih državah. Stanje se v zadnjih letih nekoliko izboljšuje, vendar je še vedno le 20% populacije aktivne do te mere, da zmanjšuje verjetnost pojava srčno-žilnih zapletov. Epidemiološke raziskave so potrdile, da redna telesna aktivnost in prehrana, ki vsebuje dovolj folne kisline, vitamina B6 in B12 znižuje količino homocisteina v krvi. V naši raziskavi smo preučevali vpliv dolgotrajnega mirovanja na koncentracijo homocisteina in folne kisline v krvi. Deset moških preiskovancev je v bolnišničnem okolju preležalo 35 dni v vodoravnem položaju. Po 35 dnevih ležanja smo zabeležili statistično značilno povečano koncentracijo homocisteina in znižano koncentracijo folne kisline, kljub nadzorovani prehrani. Zaključimo lahko, da je dolgotrajna telesna neaktivnost lahko samostojni, neodvisni dejavnik tveganja za razvoj srčno-žilnih obolenj.

Ključne besede: simulirana breztežnost, telesna neaktivnost, homocistein, folna kislina

Abstract: Physical inactivity is the second most significant risk factor for chronic non-infectious contagious diseases in developed countries. However, conditions have slightly improved in the past few years, still, only 20% of the population is being active in a fashion to reduce the probability of cardio-vascular complications. Epidemiological research has confirmed that regular physical activity and nutrition containing sufficient quantities of folic acid, vitamins B6 and B12, reduce the level of homocysteine in blood. In our research, we studied the influence of long-lasting inactivity on the concentration of homocysteine and folic acid levels in blood. Ten male subjects were resting in horizontal position for 35 days in clinical setting. After 35 days of resting we documented statistically relevant increase in homocysteine concentration and decrease of folic acid concentration, despite supervised nutrition. We can conclude, that prolonged physical inactivity is an autonomous, independent risk factor for the cardio-vascular disease development.

Key words: microgravity, physical inactivity, homocysteine, folic acid.

1 Uvod

Telesna aktivnost ima pomembno vlogo v našem življenju, saj je najcenejša oblika krepitve zdravja. Nič manj pomembno se zdi spoznanje, da s telesno aktivnostjo zmanjšujemo dejavnike tveganja za razvoj srčno-žilnih obolenj, ki zavzemajo vodilno mesto med kroničnimi nenalezljivimi obolenji.

Znanstveniki potrjujejo, da program redne telesne aktivnosti preprečuje razvoj debelosti, izgubo mišične mase, izgubo odzivnosti tkiv na inzulin ter kardiovaskularna obolenja, tako pri sedentarnih zdravih ljudeh, kakor tudi pri bolnikih s kroničnimi obolenji (1).

Homocistein, aminokislina v krvi, ki nastaja pri presnovi metionina, predstavlja tveganje za razvoj srčno-žilnih obolenj (2, 3). Spoznana je, kot dejavnik tveganja za žilno bolezen, kot je koronarna srčna bolezen, okulzivna bolezen perifernih arterij, ishemična cerebrovaskularna bolezen in venska tromboza (4). Koncentracija

homocisteina je prav tako zvišana v plazmi bolnikov z ledvičnim popuščanjem ali ledvično odpovedjo in predstavlja neodvisni dejavnik tveganja za razvoj srčno-žilnih obolenj (5).

Na raven homocisteina v krvi močno vplivajo življenjske navade, kot so prehrana, stres, in uživanje alkohola (6, 7, 8). Predvsem pomembna je prehrana in mikronutrienti, kot so folna kislina, vitamina B6 in B12, ki sodelujejo kot koencimi v presnovi homocisteina. Več študij je potrdilo, da so višje ravni vitaminov skupine B vsaj deloma povezane z nižjimi koncentracijami homocisteina (9, 10). Drugi novejši dokazi kažejo, da so najnižje koncentracije folne kisline v krvi povezane s povečanim tveganjem za pogubno bolezen koronarne arterije in možgansko kapjo (10, 11, 12).

Svetovna zdravstvena organizacija ugotavlja, da letno po celem svetu zaradi pomanjkanja telesne aktivnosti umre 1,9 milijona ljudi, od tega 600.000 v Evropi in da je pri tistih, ki niso vsaj minimalno telesno dejavni, verjetnost za obolevnost srca in ožilja 50% večja (13).

Telesna aktivnost dokazano znižujejo koncentracijo celokupnega plazemskega homocisteina in s tem verjetnost za razvoj bolezni srca in ožilja pri zdravih in že obolelih ljudeh (14, 15). V študiji, ki je zajela 620 ljudi so na podlagi vprašalnika, ki je vključeval vsebinska vprašanja o količini tedenske telesne aktivnosti, vprašanja o življenjskem slogu ter na osnovi izmerjene koncentracije homocisteina ugotovili, da je telesna aktivnost neodvisni dejavnik življenjskega sloga povezan z nižjimi koncentracijami homocisteina v krvi (16).

Višje vrednosti homocisteina najdemo pri moških, kot pri ženskah v rodni dobi. Pri štiridesetih letih je pri ženskah v povprečju koncentracija homocisteina za približno 2 $\mu\text{mol/l}$ nižja kot pri moških, kar pripisujejo delovanju estrogena, saj se po menopavzi vrednosti homocisteina približajo moškim vrednostim (17). V študiji, ki je zajela 28263 zdravih žensk po menopavzi, se je v treh letih poteka raziskave pri 122 razvila srčnožilna bolezen. Pri teh je bila koncentracija homocisteina značilno višja (14,1 proti 12,4 $\mu\text{mol/L}$) (18).

Vrednosti homocisteina naraščajo s starostjo, kar je posledica počasnejše presnove, slabše absorpcije in nezadostnega uživanja folatov ter vitaminov B12 in B6 (19).

Glede na vlogo in pomen telesne aktivnosti v preventivi pred srčno-žilnimi obolenji, smo se vključili v raziskavo »Vpliv simulirane breztežnosti na človeški organizem«, da bi poskušali ugotoviti povezavo med dolgotrajno telesno neaktivnostjo, koncentracijo homocisteina ter folne kisline v krvi. Zanimalo nas je ali je telesna neaktivnost samostojni, neodvisni dejavnik tveganja za razvoj srčno-žilnih obolenj.

2 Materiali in metode

2.1 Preiskovanci

Vpliv simulirane breztežnosti na človeško telo smo izvedli z raziskavo *Bed rest* (BR), kjer so preiskovanci mirovali 35 dni v horizontalnem položaju. Na osnovi izbranih kriterijev (nekadilci, ne alkoholiiki, moškega spola, določena starost med 20. in 30. letom), osebnega razgovora in zdravniškega pregleda smo izmed vseh prijavljenih prostovoljcev izbrali deset preiskovancev, brez zgodovine živčno-mišičnih in srčno-žilnih obolenj, starosti $24,3 \pm 2,6$ let (\pm S.D.). Preiskovanci so bili po predhodnih zdravstvenih testih vključeni v raziskavo, na katero so pristali s podpisom privolitve. Raziskava je potekala julija in avgusta 2007 v bolnišničnih prostorih Ortopedske bolnišnice Valdoltra, ki je nudila zdravstveno nego in tehnično podporo. Vse dnevne aktivnosti preiskovancev so se izvajale v ležečem položaju. Fizična aktivnost je bila strogo prepovedana skozi celotno 35-dnevno obdobje raziskave. Preiskovanci so imeli organizirano pasivno razgibavanje sklepov in masažo trikrat tedensko, pod vodstvom fizioterapevta. Prehrana je bila individualno dimenzionirana po načelih zdrave prehrane, s ciljem ohranjanja telesne teže. Prehrana je bila na začetku uravnotežena po sestavi in količini glede na izračun bazalnega metabolizma preiskovancev. Med raziskavo smo izračune ponavljali v tedenskih presledkih, da bi ohranjali nespremenjeno telesno težo in maščobno maso. obroki hrane so bili po sestavinah in količinsko uravnoteženi, preiskovanci so morali pojesti celotne obroke, brez dodatnih prehranskih vnosov.



Slika 1: Preiskovanec med 35 dnevnim mirovanjem

Vse aktivnosti preiskovancev smo spremljali s 24-urnim video nadzorom. Preiskovanci so bili predhodno podrobno obveščeni o poteku raziskave in stopnji tveganja.

Raziskava je bila odobrena s strani Komisije Republike Slovenije za medicinsko etiko in izvedena v skladu z načeli Helsinško-Tokijske deklaracije.

2.2 Telesna teža in višina

Pred raziskavo in med samim potekom raziskave, smo spremljali nekatere morfološke parametre. Da bi preprečili izgubo telesne mase, smo redno, trikrat dnevno ter individualno poskrbeli za redne obroke prehrane ter spremljali njihov dnevni vnos. Telesno težo (TT v kg) in višino (TV v cm) smo merili z uporabo klasičnih merilnih inštrumentov ter spremljali indeks telesne mase (BMI v kg/m^2). Telesno višino smo merili pred preiskavo ter po njej, telesno težo pa smo beležili tedensko.

2.3. Odvzem krvnih vzorcev

Preiskovancem smo opravili odvzem krvi pred in po zaključeni »bed rest« študiji. Venska kri je bila odvzeta na tešče v jutranjih urah (med 7.00 in 7.30) v mililitrske vakumske epruvete (Beckton-Dickinson, Rutherford, ZDA). Za biokemične preiskave je bila kri odvzeta v epruvete z litijevim heparinatom, kot antikoagulantom in s separacijskim gelom. Vzorce krvi smo z obračanjem epruvete premešali z antikoagulacijskim sredstvom in jih do centrifugiranja shranili v ledeni kopeli, da bi zmanjšali prehod homocisteina iz krvnih celic v plazmo. Plazmo za določanje homocisteina in folata smo pripravili s centrifugiranjem. Del tako pripravljene plazme smo prelili v manjše plastične epruvete in jih zamašene hranili do analize pri -70°C .

2.4 Koncentracija celokupnega plazemskega homocisteina

Koncentracijo celokupnega plazemskega homocisteina smo merili v plazmi s polarizacijsko imunofluorescenčno metodo (FPIA) na aparatu IMX (Abbott Laboratories, IL, ZDA) s tovarniško pripravljenimi reagenti, kalibracijskim in kontrolnim materialom (Abbott Park, IL, ZDA).

2.5 Koncentracije folatov

Koncentracijo folatov smo merili v plazmi s polarizacijsko imunofluorescenčno metodo (FPIA) na aparatu AXSYM (Abbott

Laboratories, IL, ZDA) s tovarniško pripravljenimi reagenti, kalibracijskim in kontrolnim materialom (Abbott Park, IL, ZDA).

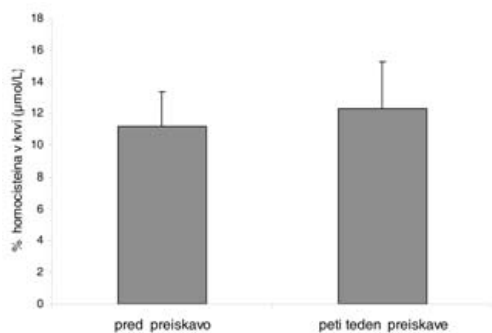
2.6 Statistika

Podatki so prikazani s povprečnimi vrednostmi in ustreznimi standardnimi odkloni. Statistična značilnost sprememb je bila izračunana z uporabo statističnega paketa SPSS 15.0 s parnim *t*-testom.

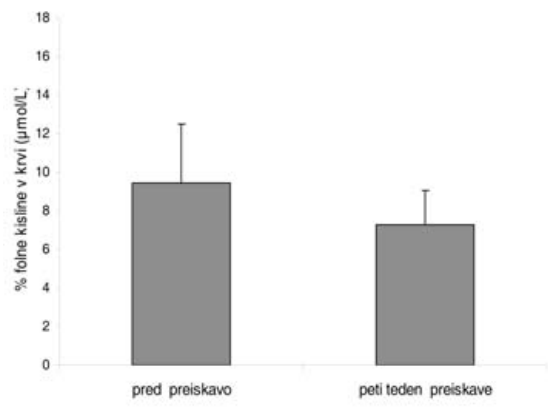
3 Rezultati

3.1 Telesna višina in telesna teža

Telesna višina se po zaključeni raziskavi ni značilno spremenila ($P=0,46$). Ob BR0 (pred bed rest preiskavo) je znašala $179,7 \pm (8,0)$ cm in ob BR5 (po petem tednu bed rest preiskave) $179,4 \pm (7,5)$ cm, medtem ko je telesna teža po tretjem tednu (BR3) začela upadati do zaključka raziskave, oziroma do petega tedna ležanja (BR5). Izguba telesne teže v tretjem tednu BR3 je znašala 1.6 % ($p<0,001$), v petem tednu (BR5) pa 3 %, ($p<0,001$).



Slika 2: Koncentracija homocisteina v krvi preiskovancev med 35-dnevnim mirovanjem. Koncentracija homocisteina se je v času petih tednov raziskave (do zadnjega odvzema krvi), statistično značilno povečala, vendar ni presegla kritične meje. $p=0,014$



Slika 3: Prikaz koncentracije folatov v krvi preiskovancev pred začetkom in v petem tednu raziskave. Koncentracija se je v času petih tednov statistično značilno znižala. $p=0,007$

3.2 Koncentracija homocisteina ter folatov

V naši raziskavi smo primerjali vrednosti celokupnega homocisteina ter folatov pred začetkom bed rest študije (BR0) ter zadnji, peti teden, tik pred vstajanjem (BR5). Raziskava je pokazala statistično značilne razlike v koncentraciji homocisteina, ki je pred študijo znašala $11,19 \pm 2,19$ µmol/L, po študiji pa $12,28 \pm 2,96$ µmol/L ($p=0,014$), $n=10$, slika 2. Prav tako se je med preiskavo značilno znižala koncentracija folatov v krvi iz $9,46 \pm 3,06$ µmol/L na $7,28 \pm 1,80$ µmol/L ($p=0,007$), $n=10$; slika 3.

4 Razprava

Vseh deset preiskovancev, ki so bili vključeni v raziskavo je uspešno prestalo 35-dnevno horizontalno ležanje, kakor tudi nekajtedensko rehabilitacijo. Glede na to, da je bila prehrana preiskovancev vodena individualno s stališča zagotavljanja nevtralne energijske bilance, so bili preiskovanci primorani pojesti celotne obroke, brez nikakršnih prehranskih dodatkov. Ker je bil kaloričen vnos obrokov izračunan glede na tedensko izmerjeno telesno težo preiskovancev, smo preprečili večje izgube telesne teže, predvsem pa smo zavrli pridobivanje odvečne maščobne mase. Kljub temu, da je bilo prehranjevanje nadzorovano z kontroliranim vnosom posameznih sestavin živil in mikrohrantov, med njimi tudi folne kisline, se je koncentracija folne kisline po pettedenskem mirovanju značilno znižala, vendar v območju referenčnih vrednosti. Prav tako smo po pettedenskem mirovanju zabeležili zmerno hiperhomocisteinemijo, koncentracija nevarnega homocisteina se je značilno povečala in presegla referenčne vrednosti. Slednje dokazuje obratno sorazmerno povezavo med koncentracijo folne kisline in homocisteina, ki so jo potrdile že predhodne študije (9, 10). Povišan homocistein naj bi bil odgovoren za najmanj 10% tveganja za razvoj ateroskleroze, žilne bolezni (20), zmerna hiperhomocisteinemija pa je približno enako pomemben dejavnik tveganja za nastanek ateroskleroze, kot kajenje in hiperlipidemija (21).

Raziskava »Bed rest« ali »Vpliv simulirane breztežnosti na človeško organizem« je mednarodna raziskava interdisciplinarnega značaja v katero so vključeni številni tuji in domači znanstveniki. Cilj raziskave je proučevanje vpliva gibalne neaktivnosti na človeško telo, predvsem pa učinek simulirane breztežnosti na skeletno-mišični, termoregulacijski in nenazadnje na srčno-žilni sistem. Tovrstne raziskave so pomembne, tako za priprave za polet v vesolje, kakor tudi za proučevanje posledic dolgotrajnega ležanja po operaciji. Prav v tem se križajo interesi »vesoljske« in »zemeljske« medicine.

Z gradnjo mednarodne vesoljske postaje Freedom postaja človeška prisotnost v vesolju čedalje večja. Najdaljša bivanja astronautov v vesolju so do sedaj bila približno eno leto. Na podlagi izkušenj iz vesolja, kot tudi zemeljskih poskusov, se zavedamo, da breztežnostno stanje povzroča določene spremembe, ki so po daljšem bivanju v vesolju lahko škodljive. Trenutne raziskave na Zemlji so usmerjene k razumevanju vzrokov teh sprememb in k razvijanju ukrepov, ki bi preprečili škodljive fiziološke spremembe (22). V raziskavi smo ugotavljali in spremljali, kako dolgotrajno mirovanje ali neaktivnost, vpliva na nivo nevarnega homocisteina v krvi ter povezavo med koncentracijo homocisteina in folatov. Rezultati raziskave bodo koristni ne samo za bodoče delavce v vesolju, temveč tudi za razumevanje fizioloških sprememb pri imobiliziranih pacientih.

Znanje o fizioloških spremembah, vidnih pri pacientih, ki morajo dalj časa mirovati, je pomanjkljivo. Spremembe pri pacientih je težko ovrednotiti, ker je nemogoče oceniti prvotno, zdravo stanje pred imobilizacijo. Spremljamo lahko samo spremembe ob prisotnem patološkem stanju, zaradi katerega je pacient nepremičen. Težko je torej ločiti patološko izzvano spremembo, ki so izključno posledica razbremenitve. Opisane „vesoljske raziskave“ so zaradi navedenih razlogov ključnega pomena tudi za zdravstvo, še posebno ortopedske klinike in rehabilitacijske ustanove, ki imajo opravka z nepremičnimi pacienti (22).

Horizontalno mirovanje v postelji oziroma simulirana breztežnost (mednarodno *bed rest* – BR) je ena izmed najpogosteje uporabljenih oblik spremljanja posledic popolne gibalne neaktivnosti (23, 24). Ker mnoge raziskave navajajo, da je telesna aktivnost samostojni neodvisni dejavnik življenjskega sloga, ki je povezan z nižjimi koncentracijami homocisteina (16), bi lahko z našo preiskavo trdili, da je telesna neaktivnost, samostojni neodvisni dejavnik tveganja za razvoj srčno-žilnih bolezni, čeprav ne moremo natančno zagotoviti ali se je nivo nevarnega homocisteina po petih tednih povečal nad kritično mejo zaradi telesne neaktivnosti ali znižanja folne kisline.

5 Sklep

Raziskave, ki preučujejo »Vpliv simulirane breztežnosti na človeški organizem« so bile predstavljene v Sloveniji leta 2000/2001, ko je potekala prva tovrstna študija simulacije breztežnostnega prostora. Do danes smo izvedli že tretjo tovrstno študijo, in v tem času prišli do pomembnih odkritij, ne le za slovenski in evropski prostor, temveč tudi za svetovni prostor.

Zaključki, ki izhajajo iz naše raziskave so potrdili pomen gibalno-športne aktivnosti pri preprečevanju srčno-žilnih obolenj. Iz raziskave je razvidno, da dolgotrajno mirovanje zvišuje nivo homocisteina v krvi, kar slabo vpliva na srčno-žilni sistem. Slednje pa pojasnjuje, da dolgotrajna telesna neaktivnost v vsakdanjem življenju ima enake posledice.

7 Literatura

1. Biolo G, Ciochi B, Stulle M, et al. Metabolic consequence of physical inactivity. *J Ren Nutr* 2005; 15(1): 49-53.
2. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274(19):1526-1533.
3. Shai I, Stampfer MJ, Ma J, et al. Homocysteine as a risk factor for coronary heart diseases and its association with inflammatory biomarkers, lipids and dietary factors. *Atherosclerosis* 2004; 177(2):375-381.
4. Stegnar M. Hiperhomocisteinemija in žilna bolezen. *Farm Vestn* 2002; 343-346.
5. Van Guldener C, Stehouwer C. Homocysteine metabolism in renal disease. *Clin Chem Lab Med* 2003; (41): 1412-1417.
6. Boden-Albala B, Sacco RL. Lifestyle factors and stroke risk: Exercise, alcohol, diet, obesity, smoking, drug use and stress. *Curr Atheroscler Rep* 2000; 2(2): 160-166.
7. El-Khairy L, Ueland PM, Nygard O, et al. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total cysteine in plasma: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 1999; 70(6): 1016-1024.
8. de Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, Kromhout D. Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Epidemiol* 2001; 54(2): 150-154.
9. Homocysteine and risk of coronary artery disease: Folate is the important determinant of plasma homocysteine concentration. *Nutrition* 2003; (19): 577-583.
10. Siri PW, Verhoef P, Kok FJ. Vitamins B6, B12, and folate: association with plasma total homocysteine and risk of coronary atherosclerosis. *J Am Coll Nutr* 1998; 17(5): 435-441.
11. Robinson K, Arheart K, Refsum H, et al. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European COMAC Group. *Circulation* 1998; 97(5): 421-424.
12. Verhoef P, Kok FJ, Kruyssen DA, et al. Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17(5): 989-995.
13. Kraševc-Ravnik E, Bevc-Stankovič M. Svetovni dan gibanja 2008: Telesna dejavnost za vse. (2008): <http://www.ivz.si/index.php?akcija=novica&n=1528>
14. Joubert LM, Manore MM. Exercise, nutrition, and homocysteine. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2006; 16(4): 341-61.
15. Gaume V, Maougin F, Figard H, et al. Physical training decreases total plasma homocysteine and cysteine in middle-aged subjects. 2005; 49(2): 125-31.
16. Dankner R, Chetrit A, Dror GK et al. Physical activity is inversely associated with total homocysteine levels, independent of C677T MTHFR genotype and plasma B vitamins. *Age* 2007; (29): 219-227.
17. Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, et al. DACH-LIGA Homocystein (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society): Consensus paper on the regional clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 392-1403.
18. Ridker PM, Rifkin BR, Mojon JE, Buring JE et al. Homocystein and risk of cardiovascular diseases among postmenopausal women. *JAMA* 1999; (281): 1817-1821.
19. Ueland PM, Mosen AL. Hyperhomocysteinemia and B-vitamin deficiencies in infants and children. *Clin Chem lab* 2003; 41:1418-1426.
20. Clarke R, Levington S, Donald A et al. Underestimation of the importance of homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease in epidemiological studies. *J Cardiovasc Risc* 2001; 8: 396-399.
21. Chen P, Poddar R, Tipa EV et al. Homocysteine metabolism in cardiovascular cells and tissues: implications for hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease. *Adv Enzyme Regul* 1999; 39:93-109.
22. Eiken O, Mekjavic IB. The Valdostra Bedrest Study: Effects of 35 days of horizontal bedrest on the function of peripheral blood vessels, the thermoregulatory system and on the function and structure of the musculoskeletal system. Report No. FOI-R-0748-SE. Swedish Defence Research Agency (FOI), NBC Defence, Defence Medicine: Umea. (2002).
23. Ferrando AA, Lane HW, Stuart CA et al. Prolonged bed rest decreases skeletal muscle and whole body protein synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1996; 270: 627-633.
24. Adams GR, Caiozzo VJ, Baldwin KM. Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models. *J Appl Physiol* 2003; 95(6): 2185-2201.