

Биохимическая роль витамина В12. Вопросы обеспеченности организма.

Выполнила студентка

5 курса

медико-биологического
факультета

Баёва Елена Константиновна

- **Витамины** – это необходимые для жизнедеятельности низкомолекулярные органические соединения, синтез которых у данного вида отсутствует или ограничен (за исключением витамина D, который может синтезироваться в коже человека)

*Витамин В12, или цианкобаламин, —
важное биологическое соединение, активный
гематопозитический фактор
млекопитающих и ростовой фактор для
многих видов микроорганизмов и
животных.*

Витаминами В12 называют группу кобальт называют группу кобальт-содержащих биологически активных веществ, называемых кобаламинами.

К собственно кобаламинам относят:

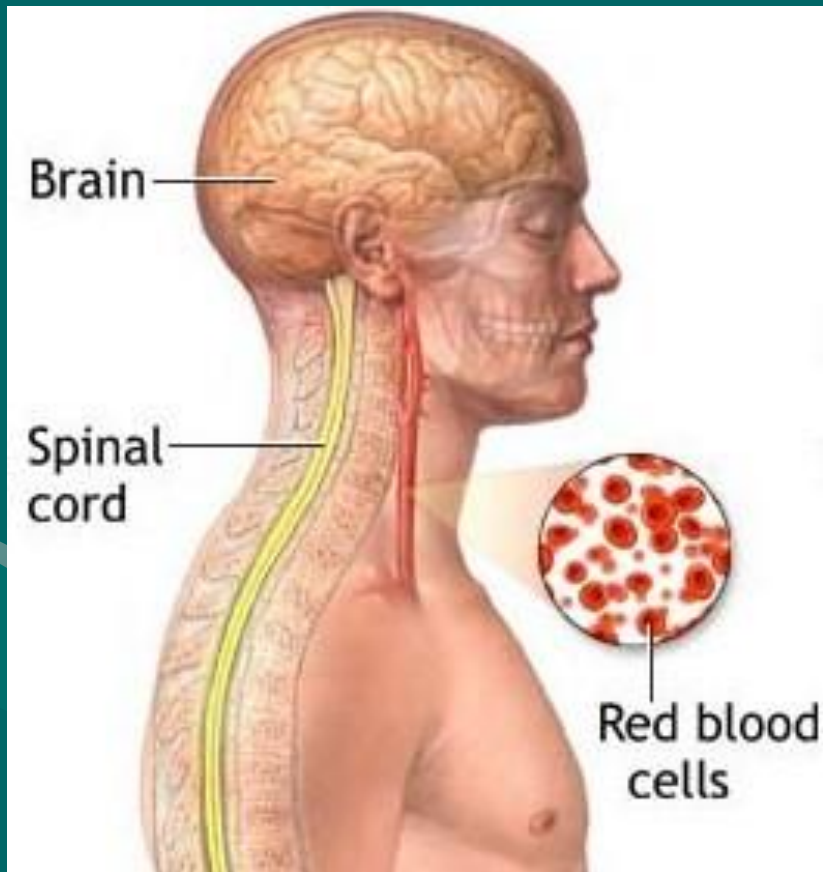
1. Цианкобаламин
2. Гидроксикобаламин
3. Метилкобаламин
4. 5-дезоксиаденозилкобаламин

В более узком смысле витамином В12 называют **цианкобаламин**, так как именно в этой форме в организм человека поступает основное количество витамина В12.

- Начало истории витамина В12 положили исследования злокачественного малокровия (пернициозной анемии) — заболевания, поражающего в основном пожилых людей, но наблюдаемое иногда и у детей.
- До 1926 г. это заболевание было неизлечимым и обычно кончалось смертью. В 1926 г. Мино и Морфи обнаружили, что с пернициозной анемией можно справиться, если употреблять в пищу сырую или слегка поджаренную печень из расчета 1/4 кг в день. И только 22 годами позднее из печени крупного рогатого скота были выделены первые красные кобальтсодержащие кристаллы витамина В12. Позже выяснилось, что более богатым источником витамина могут служить жидкие ферментационные среды бактерий.

Биологическая роль

Витамин В12 необходим для метаболизма человеческого организма, в первую очередь для образования клеток красной крови и нормального функционирования нервной системы.



- Витамин В 12 участвует в клеточном делении, присущем каждой живой клетке. В наибольшей степени от адекватного уровня витамина В 12 зависят те ткани, которые делятся наиболее интенсивно: клетки крови, иммунные клетки, клетки кожи и клетки, выстилающие кишечник.
- Хотя механизм его действия не вполне ясен, известно, что витамин В 12 играет решающую роль в образовании покрытия нервов - миелиновой оболочкой и хроническая недостаточность его приводит к необратимому разрушению нервов.



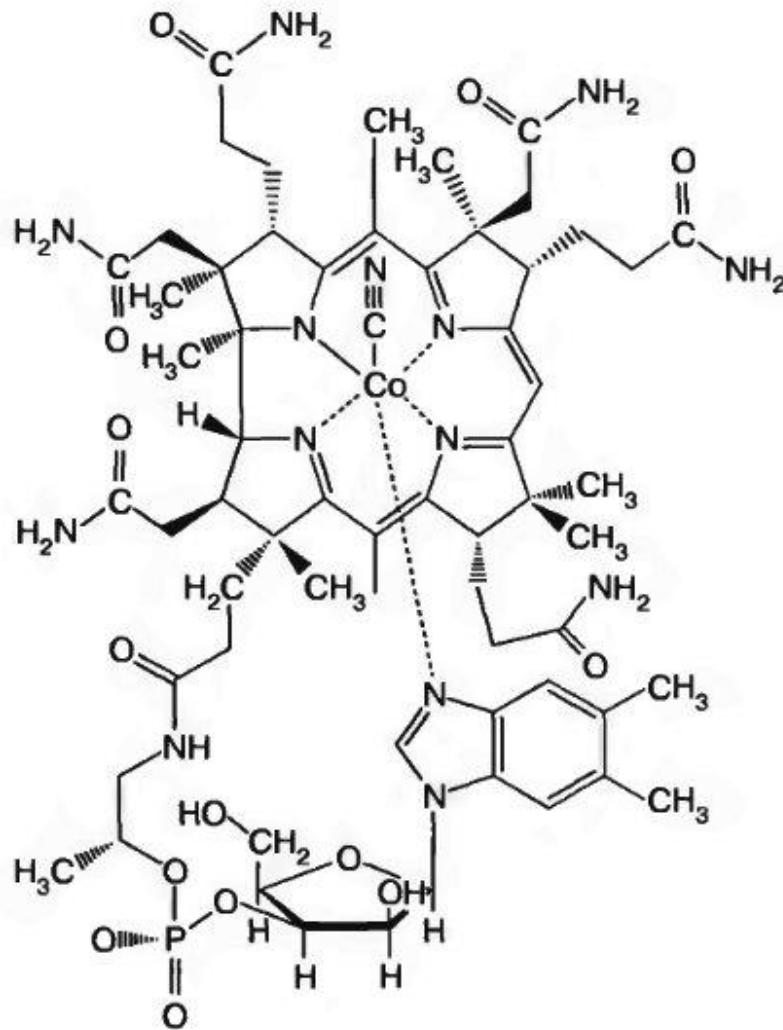
Витамин В12 содержится в мясе, яйцах, сыре, молоке, печени, почках. Витамин В12 в пище связан с белком. Он освобождается при кулинарной обработке и в желудке под влиянием протеолитических ферментов, после чего связывается с внутренним фактором.

- Содержание витамина В12 в организме составляет 2-5 мг при суточном поступлении с пищей 6-9 мкг;
- Из этого количества выводится 2-5 мкг, задерживается в организме около 4 мкг.
- Запасы витамина В12 в организме весьма велики, так что его дефицит развивается только спустя несколько лет после прекращения его поступления.

Рекомендуемая суточная потребность в витамине В12 (Goodman & Gilman's "The pharmacological Basis of Therapeutics" Eight Edition, vol. 2, 2004)

Категория	Возраст (годы)	В12, мкг
Грудные дети	0-0,5	0,3
	0,5-1	0,5
Дети 1-10 лет	1-3	0,7
	4-6	1
	7-10	1,4
Подростки мальчики	11-14	2
	15-18	2
Подростки девочки	11-14	2
	15-18	2
В период беременности		2,2
В период лактации		7.6

Молекулярная структура витамина В12



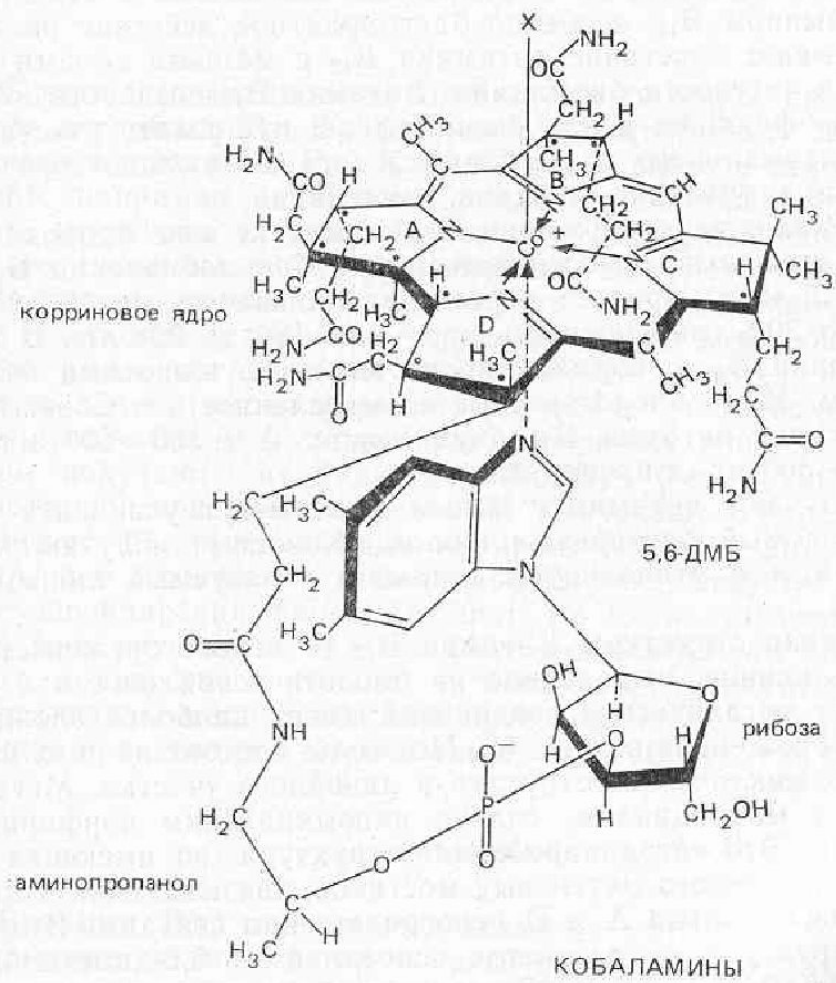
витамин В₁₂

- Структура витамина В12 была определена Дороти Ходжкин и ее сотрудниками в 1956 г методом дифракции рентгеновских лучей. За эту работу в 1964 г. ей была присуждена Нобелевская премия.

- Структура витамина В12 отличается от строения всех других витаминов своей сложностью и наличием в его молекуле иона металла — кобальта.
- Кобальт связан координационной связью с четырьмя атомами азота, входящими в состав порфириноподобной структуры (называемой корриновым ядром), и с атомом азота 5,6-диметилбензимидазола.
- Кобальтсодержащее ядро молекулы представляет собой плоскостную структуру с перпендикулярно расположенным к ней нуклеотидом. Последний, помимо 5,6-диметилбензимидазола, содержит рибозу и фосфорную кислоту
- Из-за присутствия в молекуле витамина кобальта и амидного азота это соединение получило название кобаламин.

Структура Витамина В12 не только очень сложная, но содержит некоторые необычные части:

- 1) корриновая структура ранее не была известна в органической химии (до открытия витамина В12 в 1948 г. независимо Риксом и Смитом);
- 2) N-гликозидная связь встречается в природе очень редко и обнаружена лишь в нескольких соединениях, содержащих рибозо-3-фосфат;
- 3) 5,6-диметилбензимидазол (5,6 ДМБ) тоже принадлежит к уникальным соединениям и встречается в природе только в составе кобаламинов.



X = CN⁻ : цианкобаламин
 X = CH₃ : метилкобаламин

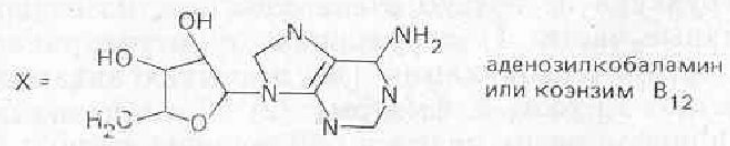


Рис. 53. Структура кобаламинов

- Атом кобальта имеет 6 координационных связей; 4 из них заняты пиррольными кольцами. Одна - N-3—5,6 ДМБ и последняя — верхним лигандом (X), природа которого может варьировать. В коммерческом витамине В12 (цианкобаламине) лиганд -CN- группа
- In vivo чаще всего встречаются дезоксиаденозилная группа (Co-B12—I), метильная группа (метилкобаламин, (CH₃—B12—CoV—II) или оксогруппа (оксокобаламин). Кроме этих соединений, известных как кобаламины, есть другие корриноидные соединения с иным нуклеотидным основанием.

Физико-химические свойства

- Цианкобаламин - это кристаллический гигроскопичный порошок темно-красного цвета без запаха. В 1948 г. красные кобальтсодержащие кристаллы витамина В12 практически одновременно изготовили две крупные фармацевтические фирмы.
- Витамин относительно стабилен на свету и при высоких температурах и при обычной готовке разрушается незначительно.
- Темнеет при температуре 210-220 о С, не плавится ниже 300 о С .
- Растворимость – 1, 2 г. вещества на 100 мл воды. Растворим в спиртах, алифатических кислотах, фенолах. Нерастворим в диэтиловом эфире, ацетоне, СНСl₃, пиридине.
- При контакте с воздухом обычно содержит 10-12% воды, которая удаляется нагреванием при пониженном давлении. Устойчив в твёрдом состоянии в темноте.
- Водные растворы фотолабильны, при этом образуется гидроксикобаламин, длительная экспозиция вызывает необратимую деструкцию. Раствор наиболее устойчив при рН 4-6; можно хранить несколько лет в темноте при комнатной температуре при этих рН и концентрации > 0,1 мкг/мл. Можно автоклавировать при 120 оС и рН 4-6, что сопровождается лишь небольшим разложением.
- В сильноокислых и особенно щелочных растворах при комнатной температуре происходит медленный гидролиз амидных групп.
- Витамин В12 полностью инактивируется при нагревании в щелочных растворах. Реагирует с цианидом при рН 10 с образованием пурпурного дицианокобаламина.

Химический синтез

Химический синтез витамина В12 очень сложен. Больше 10 лет потребовалось сотрудникам двух больших лабораторий — Вудворта и Эшенмозера для осуществления химического синтеза витамина В12, включающего 70 стадий. Поэтому в настоящее время витамин В12 в промышленности получают исключительно *биосинтетическим путем*. Из 10 тонн ежегодно выпускаемого в мире витамина В12 :

- 1) 3,5 т приходится на цианкобаламин (собственно витамин В12),
- 2) 2 т на гидроксокобаламин,
- 3) 1 т — на коэнзим В12 и
- 4) небольшое количество на метилкобаламин;

Эти формы в указанных количествах используют в медицине. Остальное количество витамина используется для животноводства. Витамин В12 применяют при лечении злокачественной анемии, цирроза печени, при нервных и психических расстройствах. Он широко используется в производстве кормов.

Биосинтез

Путь биосинтеза витамина В12 включает три ступени образования:

1) порфиринового ядра;

2) корринового ядра;

3) кобаламинов.

- В настоящее время в промышленности используют в основном три штамма бактерий: *Pseudomonas denitrificans*, представителей рода *Propionibacterium* и метаногенные бактерии (смешанную культуру).
- Во всех случаях независимо от используемого штамма и условий культивирования в среду вводят ионы кобальта и часто 5,6 ДМБ. Добавление таких предшественников корриноидов, как глицин, треонин, б-АЛК и аминокпропанол, может оказывать стимулирующее действие на витаминообразование.

Метаболизм витамина В12

- Под влиянием кулинарной обработки и протеолитических ферментов желудка он высвобождается и быстро связывается с «R-binders» (транскобаламины I и III). Под влиянием протеаз панкреатического сока комплекс R-витамина В12 разрушается и высвобождается витамин В12, который соединяется с внутренним фактором (— гликопротеином, вырабатываемым париетальными клетками фундальной части и тела желудка), образуя комплекс витамин В12-ВФ.
- Последний димеризуется и в подвздошной кишке связывается со специфическими рецепторами. В присутствии ионов кальция и при рН 7,0 этот комплекс расщепляется и витамин В12 проникает в митохондрии клеток слизистой оболочки кишки.
- Отсюда витамин В12 проникает в кровь, где соединяется с транспортным белком транскобаламином II (ТК II), который доставляет витамин к тканям-мишеням — гепатоцитам, гемопоэтическим клеткам и другим.

Высвобождение витамина В12 из комплекса ТК II -В12 в клетке происходит в 3 этапа:

- 1) связывание комплекса с рецепторами клетки;
- 2) его эндоцитоз;
- 3) лизосомальный гидролиз с высвобождением витамина.

Часть витамина В12 в сыворотке крови связывается с кобалофилинами («R-binders») — транскобаламинами I и III. Эти В12связывающие гликопротеины высвобождают его только в печени. При наличии большого количества витамина В12 около 1 % его может проникать в кровь путем пассивной диффузии.

Основным депо витамина является печень, в 1 г которой содержится 1 мкг витамина В12. У здоровых доношенных детей резервы витамина В12 в печени составляют 20-25 мкг, депо резко истощается к году. В 100 мл женского молока содержится 0,11 мкг витамина В12.

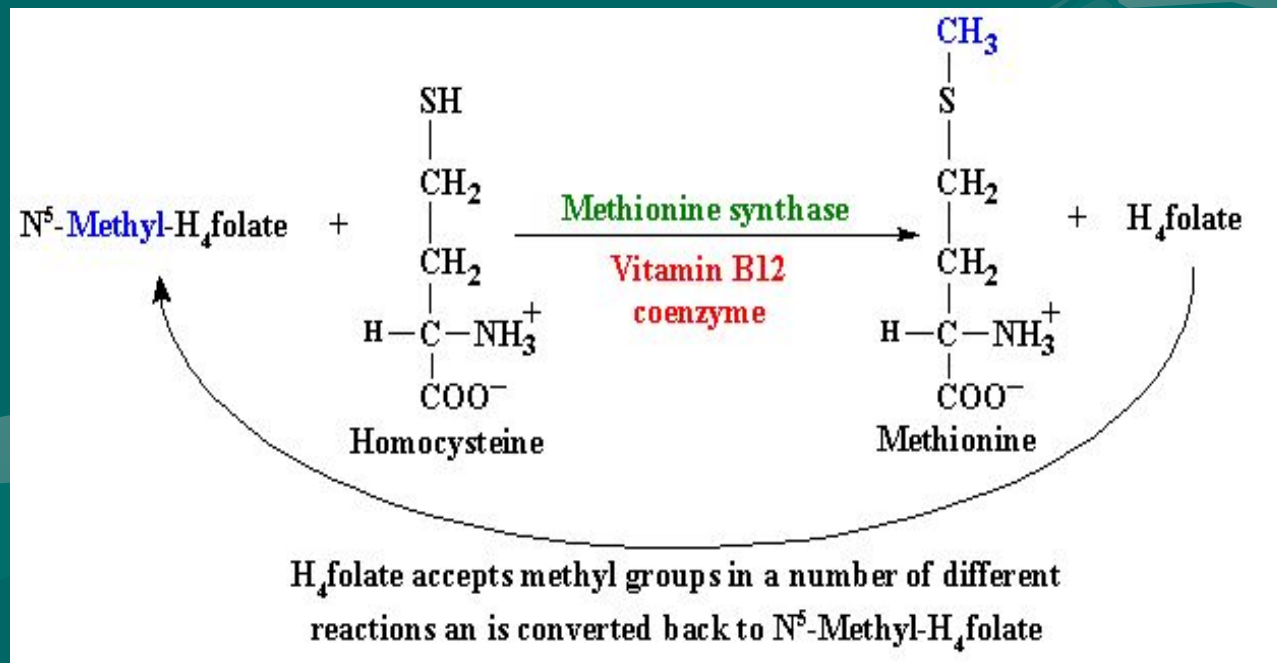
Выведение витамина В12

Витамин В12 в основном выделяется с желчью, его потеря происходит также с калом; в сутки теряется 0,1 % от всего депонированного витамина. Доказано существование кишечно-печеночного кругооборота витамина В12 — около 3/4 выделенного с желчью витамина вновь реабсорбируется. Этим объясняется развитие мегалобластной анемии через 1-3 года после полного прекращения поступления витамина В12 в организм. Физиологические потери витамина с мочой крайне незначительны.

Биохимические функции витамина В12

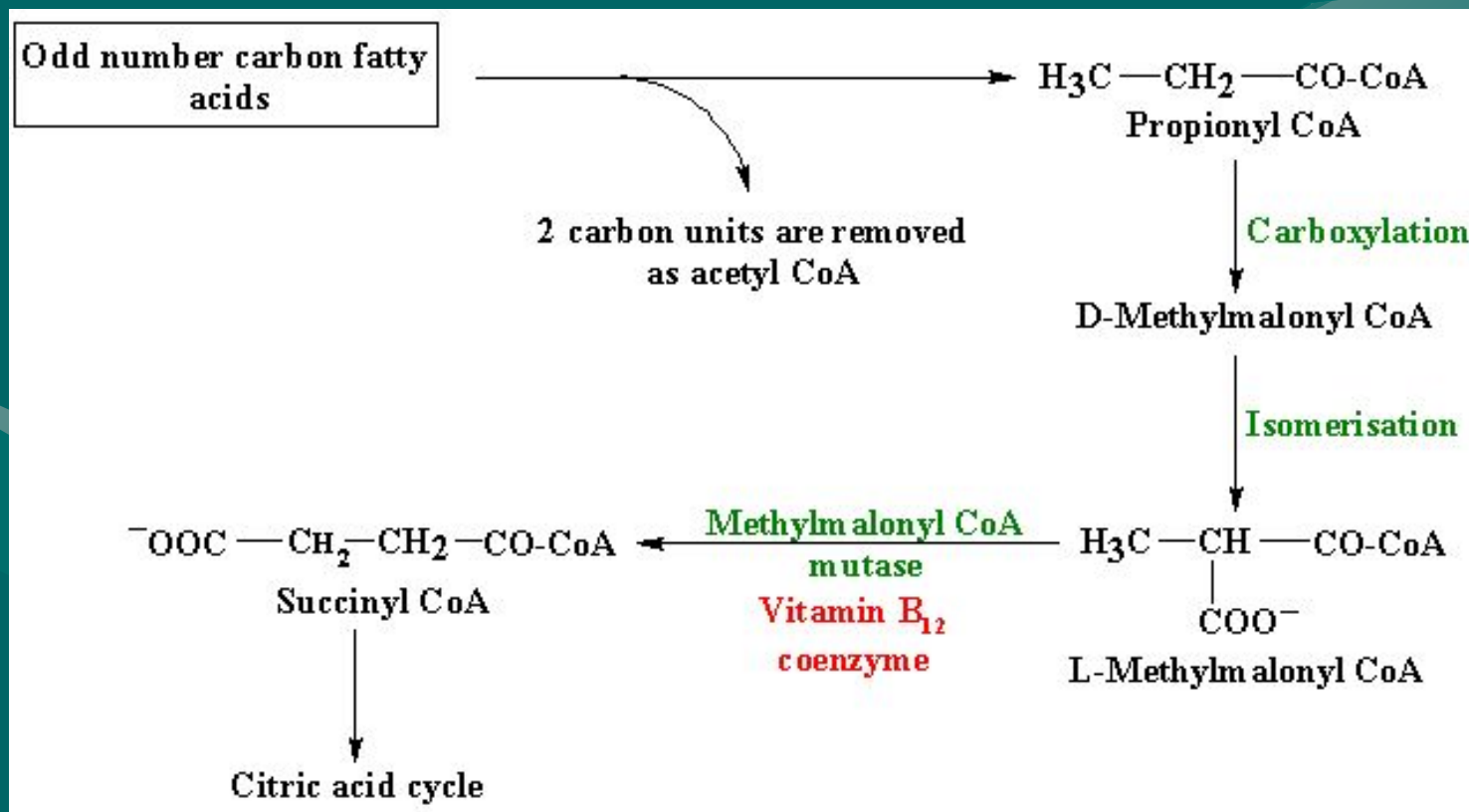
К настоящему времени известно около 15 различных В12-регулируемых реакций, но только две из них протекают в клетках млекопитающих — синтез метионина из гомоцистеина (явно не удовлетворяющий потребностям организма) и изомеризация D-метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА.

В первой реакции участвует метил-В12, являющийся коферментом метионинсинтазы (гомоцистеин-метилтрансферазы). Фермент переносит метильную группу с 5-метил-ТГФК на гомоцистеин с образованием метионина:



- При уменьшении содержания в диете витамина В12 синтез метионина метионинсинтазой снижается, но поскольку при полноценном питании метионин поступает с пищей, метаболизм белков нарушается не сразу.
- Вместе с тем падение активности метионинсинтазы приводит к накоплению 5-метил-ТГФК, который образуется при восстановлении 5,10-метилен-ТГФК, т. е. истощается пул других коферментов ТГФК.
- Таким образом, даже при условии вполне достаточного общего уровня фолатов создается их функциональный дефицит — уменьшается содержание формил- и метиленпроизводных ТГФК.
- Как раз эти производные, а точнее, приносимые ими одноуглеродные радикалы, необходимы для синтеза предшественников нуклеиновых кислот. Этот феномен получил название секвестрация пула ТГФК.

Вторая реакция требует участия другой коферментной формы витамина — д-аденозин-В12. Кофермент входит в состав метималонил-КоА-мутазы. Особенности катализа этого фермента являются образование свободнорадикальных промежуточных продуктов реакции и изменение валентности кобальта. Субстратом для его действия является метималонил-КоА, образующийся при карбоксилировании пропионил-КоА.



Эта реакция является весьма важной в метаболизме пропионовой кислоты (точнее, пропионил-СКоА), которая образуется при окислении жирных кислот с нечетным числом атомов углерода, боковой цепи холестерина, окислительном распаде аминокислот: изолейцина, метионина и серина.

Недостаточность витамина В12

- Дефицит витамина В12 в организме человека может быть вызван наследственными и приобретёнными причинами.
- Приобретенные формы витамин В12-дефицитной анемии встречаются значительно чаще, чем наследственные.

Причины приобретенных витамин В12-дефицитных анемий:

- I. Неадекватное поступление витамина В12.
- II. Нарушение абсорбции витамина В12
- III. Приобретенные нарушения метаболизма витамина В12

I. Неадекватное поступление витамина В12.

1. Дефицит витамина В12 у матери (вегетарианство, пернициозная анемия, спру), приводящий к дефициту витамина В12 в грудном молоке — мегалобластная анемия у детей на грудном вскармливании развивается в 7-24 мес (иногда в более раннем возрасте).
2. Алиментарная недостаточность витамина В12 (содержание в диете < 2 мг/сут).
 - 1) строгое вегетарианство (полное отсутствие в диете молока, яиц, мясных продуктов);
 - 2) голодание;
 - 3) быстрое питание;
 - 4) у детей раннего возраста при вскармливании козьим молоком или разведенным сухим коровьим молоком.

II. Нарушение абсорбции витамина В12

1. Недостаточность секреции внутреннего фактора:

- 1) пернициозная анемия (антитела против слизистой оболочки желудка);
- 2) заболевания слизистой желудка;
- 3) эрозивные поражения;
- 4) частичная или тотальная гастрэктомия.

2. Недостаточное всасывание в тонкой кишке:

- 1) специфическая мальабсорбция витамина В₁₂ - употребление хелатов (фитаты, ЭДТА), связывающих кальций, что приводит к нарушениям всасывания витамина В₁₂;
- 2) заболевания кишечника, протекающие с генерализованным нарушением всасывания, включая мальабсорбцию витамина В₁₂;
- 3) заболевания терминального отдела подвздошной кишки (резекция, шунтирование, болезнь Крона, туберкулез, лимфома);
- 4) недостаточность поджелудочной железы;
- 5) синдром Золлингера—Эллисона;
- 6) целиакия;
- 7) спру;
- 8) кишечная склеродермия.

3. Конкурентная борьба за витамин В12:

- 1) синдром «слепой кишки» — анатомические изменения тонкой кишки (дивертикулы, анастомозы, фистулы, слепые петли и карманы, стриктуры) приводят к нарушению всасывания витамина В₁₂ вследствие изменения бактериальной кишечной флоры;
- 2) инвазия широким лентецом (*Diphyllobothrium latum*) — гельминт конкурирует с хозяином из-за витамина В₁₂, последний может содержаться в теле гельминта в количествах, необходимых для достижения терапевтической ремиссии.

Pernicious Anemia

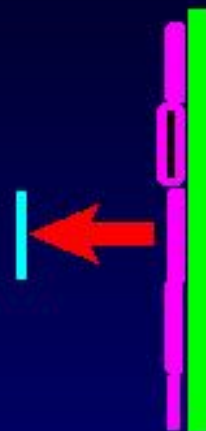
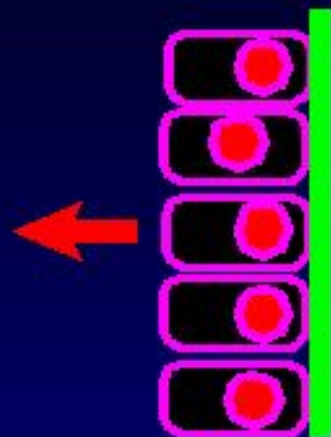
Normal

Pernicious Anemia

Stomach

Stomach

Acid +
IF



Normal
gastric parietal
cells

Atrophic gastritis
Achlorhydria
No IF

III. Приобретенные нарушения метаболизма витамина В12

1. Повышенная утилизации витамина В12 :

- 1) заболевания печени;
- 2) злокачественные новообразования;
- 3) гипотиреоз;
- 4) белковая недостаточность (квashiоркор, маразм).

2. Прием лекарств, нарушающих абсорбцию и/или утилизацию витамина В12 (ПАСК, неомицин, колхицин, этанол, метформин, циметидин, оральные контрацептивы (?), закись азота.

Наследственные формы дефицита витамина В12

Наследственные витамин В₁₂-дефицитные анемии, обусловленные нарушением абсорбции витамина [Lanzkowsky P., 2000]

Признаки	Форма заболевания			
	Наследственный дефицит внутреннего фактора (врожденная пернициозная анемия)	Ювенильная пернициозная анемия (аутоиммунная)	Ювенильная пернициозная анемия с аутоиммунной полиэндокринопатией или селективным дефицитом IgA	Синдром Имерслунд-Гресбека (эссенциальная эпителионатии с синдромом мегалобластной анемии)
Причина развития	Врожденное отсутствие синтеза ВФ или врожденные дефекты в молекуле ВФ	Наличие антител, блокирующих секрецию ВФ слизистой желудка	Наличие антител, блокирующих секрецию ВФ слизистой желудка	Нарушение транспорта комплекса ВФ-В ₁₂ к энтероцитам вследствие отсутствия рецепторов для комплекса ВФ-В _p
Сроки появления симптомов	Первые 2 года жизни, иногда у подростков и взрослых	9 мес - 5 лет (сроки истощения запасов витамина В ₁₂ , приобретенных плодом внутриутробно)	10 лет и старше	Первые 2 года жизни, иногда позднее
Гистология слизистой оболочки желудка	Слизистая не изменена	Атрофия слизистой	Атрофия слизистой	Слизистая не изменена

Признаки	Наследственный дефицит внутреннего фактора (врожденная пернициозная анемия)	Ювенильная пернициозная анемия (аутоиммунная)	Ювенильная пернициозная анемия с аутоиммунной полиэндокринопатией или селективным дефицитом IgA	Синдром Имерслунда-Гресбека (эссенциальная эпителиопатия с синдромом мегалобластной анемии)
Стандартный	Снижение абсорбции свободного кобаламина	Снижение абсорбции свободного кобаламина	Снижение абсорбции свободного кобаламина	Снижение абсорбции свободного кобаламина
Модифицированный (с добавлениями ВФ)	Нормальная абсорбция комплекса ВФ — В ₁₂	Нормальная абсорбция комплекса ВФ — В ₁₂	Нормальная абсорбция комплекса ВФ — В ₁₂	Снижение абсорбции комплекса ВФ — В ₁₂
Клинические признаки	Отставание в умственном развитии Миелопатия	Редко развитие СКВ. Дефицит IgA. Монилаз. Эндокринопатия у сиблингов.	Гипотиреоз (хронический аутоиммунный тиреоидит Хашимото). Инсулин-зависимый сахарный диабет. Недостаточность яичников. Миастения гравис. Гипопаратиреоз. Болезнь Аддисона. Монилаз. Гипогаммаглобулинемия. Селективный дефицит IgA.	Селективный дефицит всасывания кобаламина, отсутствие признаков генерализованной мальабсорбции. Доброкачественная протеинурия по тубулярному типу (не купируется системным назначением витамина В ₁₂). Персистирующая аминокислотурия. Большинство из известных больных описано в Норвегии, Финляндии, Саудовской Аравии и у евреев-сефардов.

Недостаточность витамина В12, вызванная как наследственными, так и приобретёнными причинами ведет к развитию В12 – дефицитной мегалобластной анемии.

Клинические проявления мегалобластных анемий включают триаду признаков: анемический синдром, признаки поражения желудочно-кишечного тракта, неврологическую симптоматику.



Симптомы болезни появляются постепенно:

- Первоначально отмечают ухудшение аппетита, отвращение к мясу, возможны диспепсические явления.
- Наиболее выражен анемический синдром — бледность, легкая иктеричность кожи с лимонно-желтым оттенком, субиктеричность склер, слабость, недомогание, быстрая утомляемость, головокружение, тахикардия, одышка даже при небольшой физической нагрузке.
- Характерны изменения со стороны желудочно-кишечного тракта — глоссит (появление на языке ярко-красных участков воспаления, чувствительных к приему пищи, особенно кислой), сопровождающийся болями и жжением, возможно появление афт на языке. По мере стихания воспалительных явлений сосочки языка атрофируются, язык становится блестящим и гладким — «лакированный язык».
- Со стороны нервной системы изменения минимальны, у детей не наблюдается фуникулярного миелоза. Наиболее часто отмечаются парестезии — ощущение ползания мурашек, онемение конечностей и прочие.
- Возможна умеренная гепатоспленомегалия.
- Иногда при усилении гемолиза отмечается субфебрилитет.
- Возможны функциональные изменения со стороны ЖКТ, сердца. Нередко у больных отмечают резкое снижение желудочной секреции. Из-за длительной гипоксии возможно развитие функциональной недостаточности миокарда (происходит нарушение питания сердечной мышцы, ее жировая инфильтрация).

Патогенез

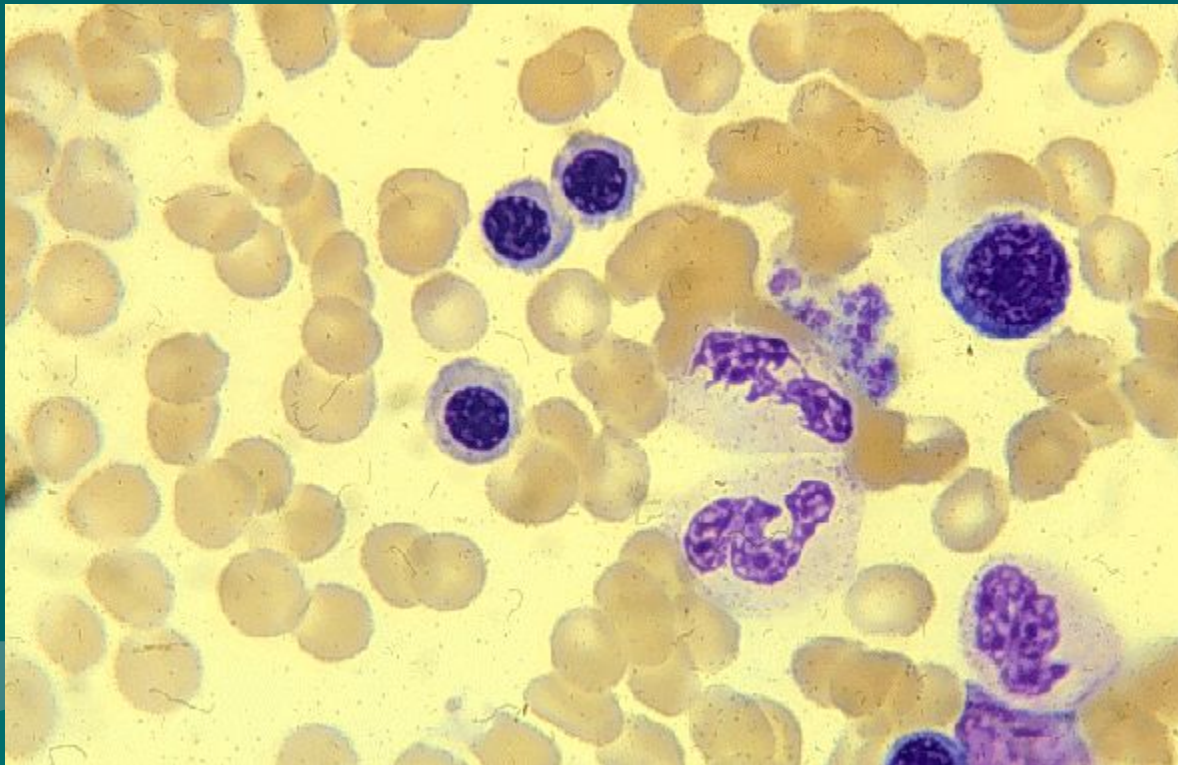
- В плазме витамин В12 присутствует в виде коферментов — метилкобаламина и 5'-дезоксиаденозилкобаламина. Метилкобаламин необходим для обеспечения нормального кроветворения, а именно для синтеза тимидинмонофосфата, входящего в состав ДНК, и образования тетрагидрофолиевой кислоты. Нарушение образования тимидина при дефиците витамина В12 приводит к нарушению синтеза ДНК, замедлению нормальных процессов созревания гемопоэтических клеток (удлинение фазы S), что выражается в мегалобластическом кроветворении.
- Страдает не только эритропоэз, но также гранулоцито- и тромбоцитопоэз. Таким образом, в основе нарушения гемопоэза при дефиците витамина В12 лежит механизм задержки нормального созревания клеток. 5'-дезоксиаденозилкобаламин участвует в метаболизме метилмалоновой кислоты (промежуточного продукта метаболизма жирных кислот) в янтарную кислоту. При дефиците витамина В12 содержание в крови метилмалоновой кислоты увеличивается и она появляется в моче.
- Дефицит кобаламина вызывает неврологические нарушения, обусловленные пятнистой демиелинизацией серого вещества в головном и спинном мозге и периферических нервах.

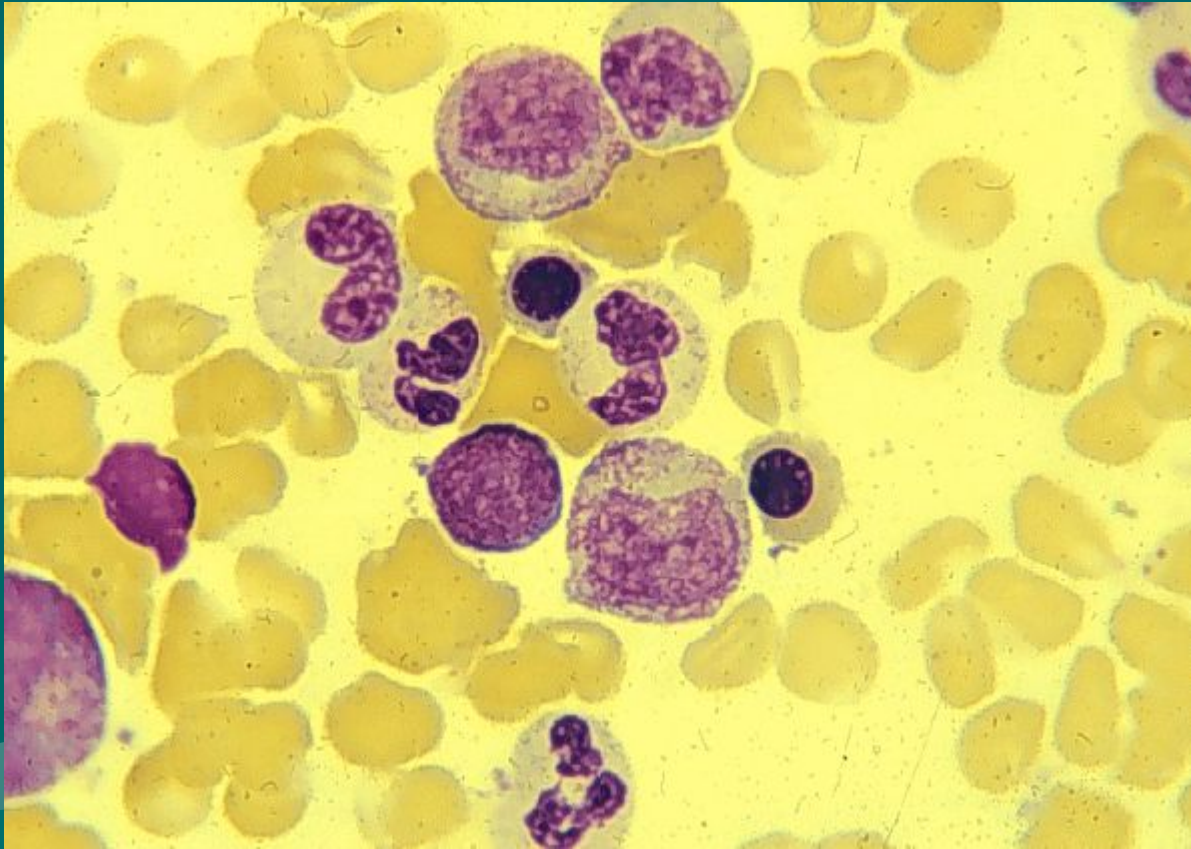
Картина крови при мегалобластных анемиях

1. Независимо от этиологии у больных выявляют гиперхромную анемию с характерными изменениями морфологии эритроцитов — эритроциты овальной формы, крупные (до 12—14 мкм и более). Встречаются эритроциты с базофильной пунктацией цитоплазмы, во многих из них обнаруживаются остатки ядра (тельца Жолли — остатки ядерного хроматина, кольца Кебота — остатки ядерной оболочки, имеющие вид колечка; пылинки Вейденрейха — остатки ядерного вещества). Количество ретикулоцитов снижено.
2. Наряду с анемией возможны лейконейтро- и тромбоцитопения, типично появление полисегментированных нейтрофилов.
3. Клетки эритроидного ростка в основном представлены мегалобластами, имеющими более крупные размеры, чем нормальные эритрокарициты, и своеобразную морфологию ядра. Ядро располагается эксцентрично, имеет нежно-сетчатую структуру. Возможно наличие клеток с дегенеративно-измененными ядрами (в виде трефового туза, тутовой ягоды и других). Отмечается асинхронизм созревания ядра и цитоплазмы; для цитоплазмы характерна более ранняя гемоглобинизация, то есть диссоциация между степенью зрелости ядра и цитоплазмы: молодое ядро и относительно зрелая цитоплазма.
4. Выявляют задержку созревания гранулоцитов, наличие гигантских метамиелоцитов с крупным ядром и базофильной цитоплазмой, палочкоядерных и полисегментированных нейтрофилов (с 6-10 сегментами). Число мегакариоцитов нормальное или снижено; характерно наличие гигантских форм мегакариоцитов, отшнуровывание тромбоцитов менее выражено.

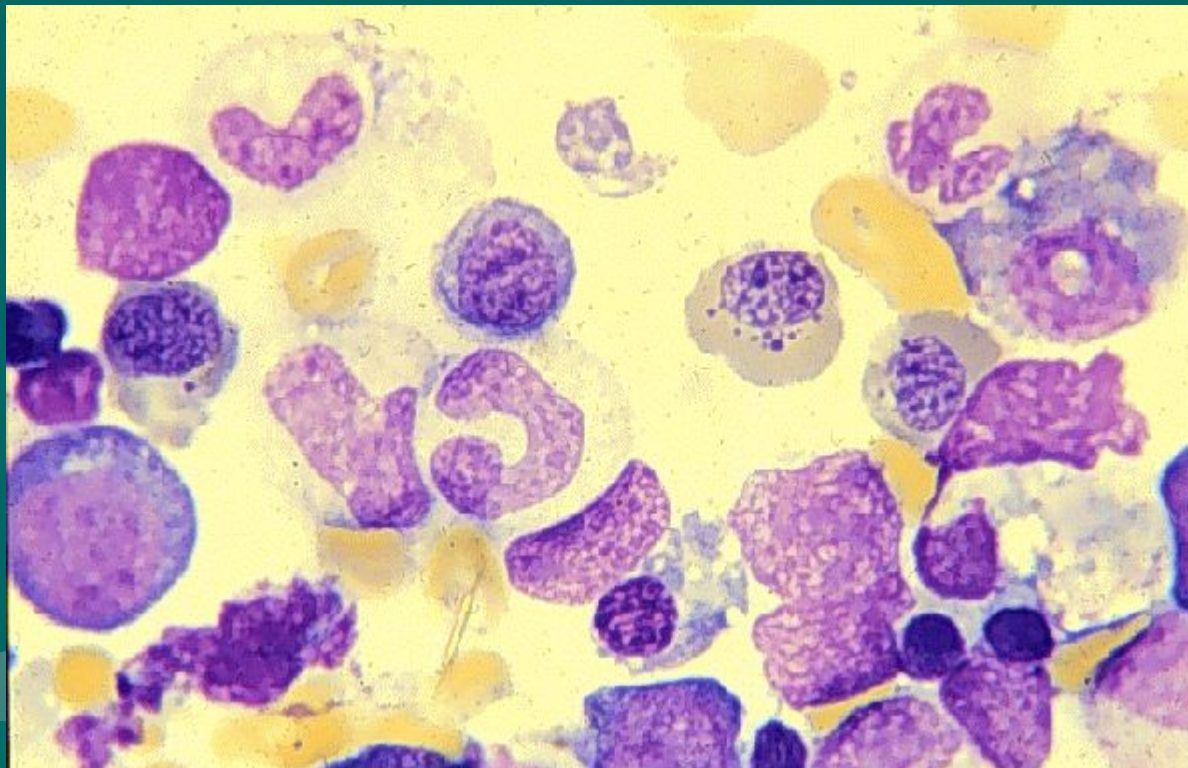
Анемия у больных обусловлена неэффективным эритропоэзом и укорочением длительности жизни эритроцитов, что подтверждается повышенным содержанием эритрокариоцитов в костном мозге при сниженном количестве ретикулоцитов в периферической крови. Типичен экстрамедуллярный гемолиз эритроцитов — длительность жизни эритроцитов снижена в 2-3 раза по сравнению с нормой, билирубинемия. Также имеются неэффективный гранулоцитопозз и тромбоцитопозз. Таким образом, для мегалобластных анемий характерно изменение всех трех ростков кроветворения.

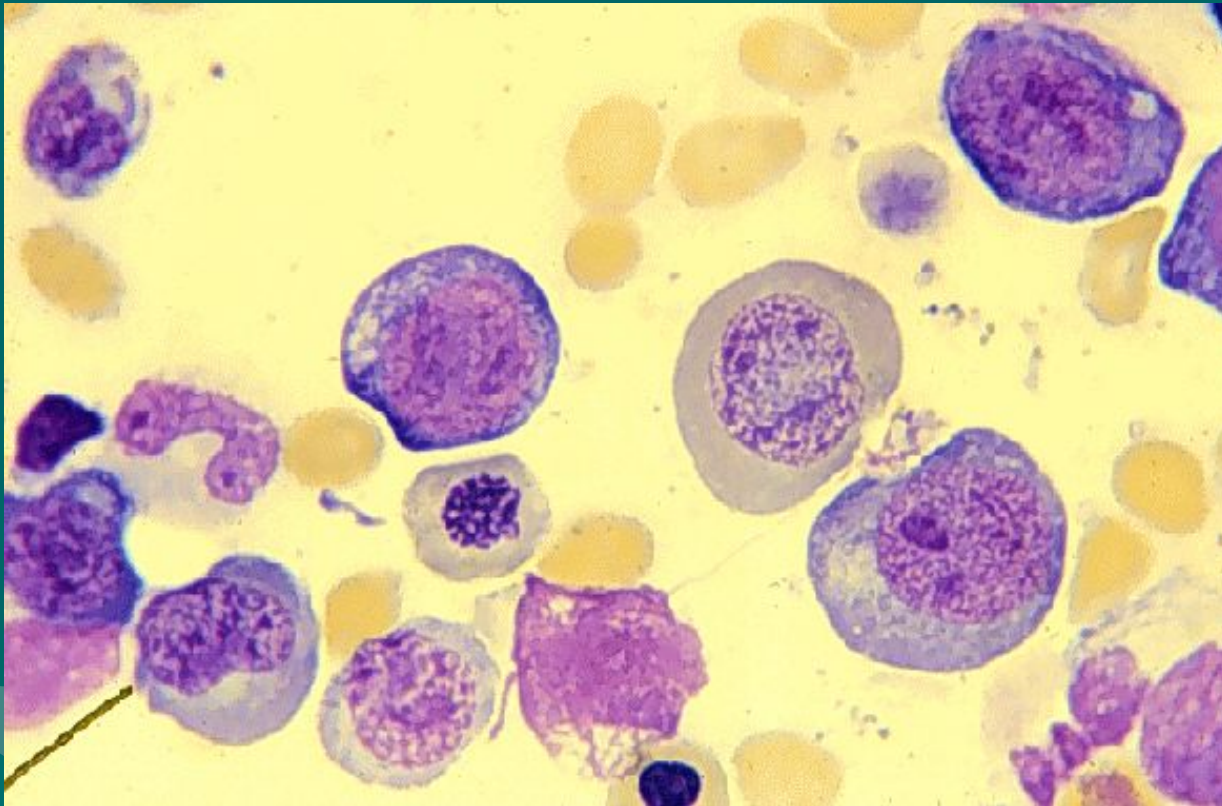
Костный мозг в норме





Мегалобластный костный мозг





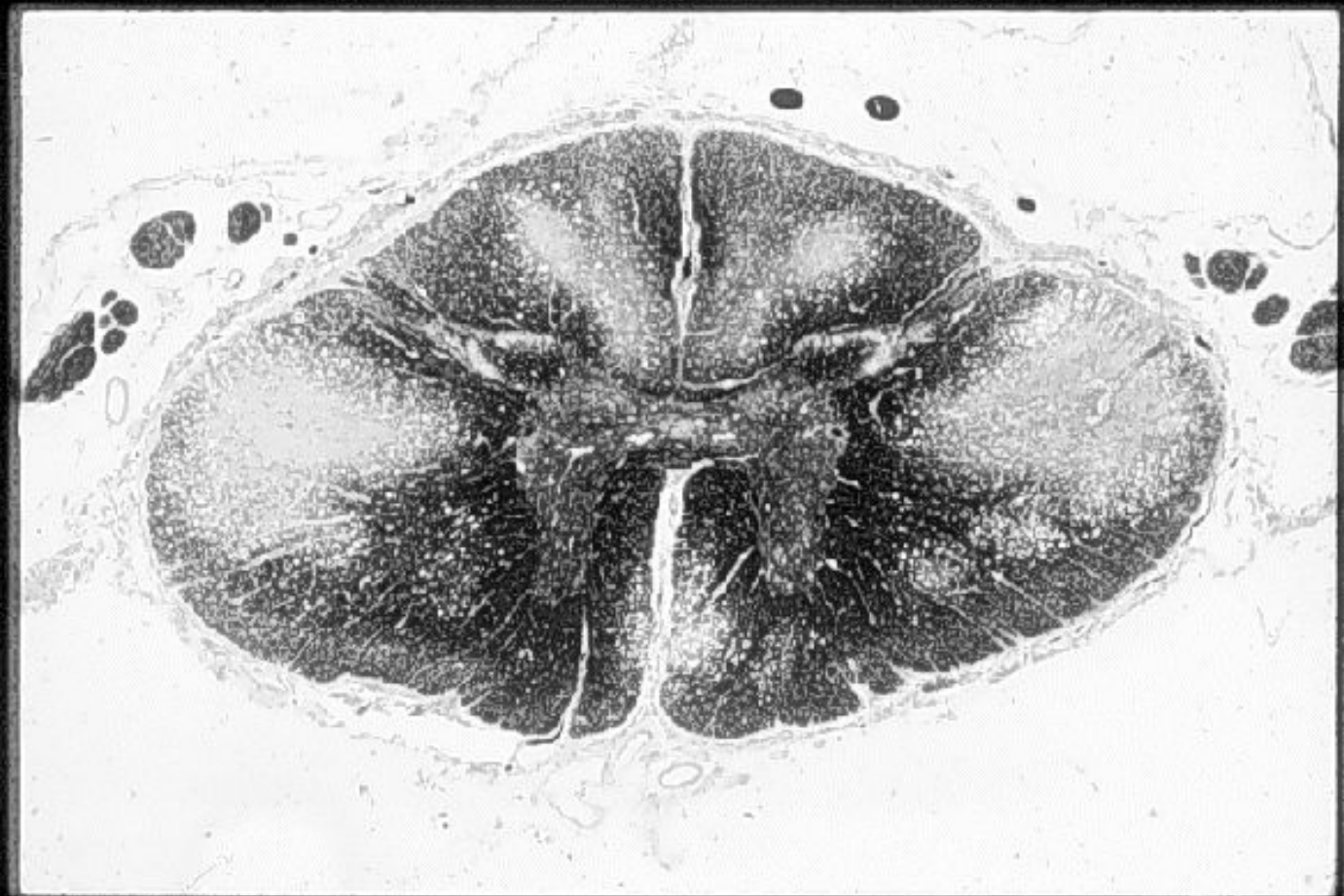
Патологическая анатомия и патогенез фуникулярный миелоза

- Характерно набухание миелиновых оболочек с последующей демиелинизацией и глиозом. Вначале поражаются задние канатики нижнешейного и верхнегрудного отделов спинного мозга, затем процесс распространяется вверх и вниз по спинному мозгу, а позже захватывает и боковые канатики. Происходит также демиелинизация миелиновых волокон в макулопапиллярном пучке зрительного нерва .
- Патогенез изучен недостаточно. Большое значение придают нарушению функции *метионинсинтазы* и *метилмалонил-КоА-мутаза* .
- Возможно, ингибирование метилмалонил-КоА-мутаза угнетает метаболизм жирных кислот, содержащих нечетное число атомов углерода, в результате чего происходит внедрение аномальных жирных кислот в миелин. Эти аномальные кислоты были обнаружены при биопсии периферических нервов у больных дефицитом кобаламина. ких расстройств. Предполагают, однако, что этот механизм не главный, поскольку известны наследственные формы авитаминоза В12 с неврологическими расстройствами и нормальной активностью метилмалонил-КоА-мутаза. Возможно, более важная роль принадлежит метионинсинтазе . Развитию неврологических расстройств может способствовать дефицит метионина за счет нарушения продукции холинсодержащих фосфолипидов.
- Интересно, что типичные для авитаминоза В12 неврологические расстройства возникают у лиц, профессионально контактирующих с закисью азота , в частности у зубных врачей. На крысах показано, что при продолжительном воздействии закиси азота метионинсинтаза инактивируется, тогда как активность метилмалонил-КоА-мутаза не меняется. Возможно, благодаря метилированию основной белок миелина прочнее встраивается в миелиновую оболочку, что играет какую-то роль в патогенезе.

Клинически фуникулярный миелоз проявляется:

- Ранние симптомы - общая слабость и упорная парестезия (покалывание), затем нарушается вибрационная чувствительность (больше в ногах, чем в руках), меньше страдает проприоцептивная чувствительность.
- Возникают двигательные нарушения, обычно только в ногах: нижний спастический парализ с повышением сухожильных рефлексов, клонусом и патологическими разгибательными рефлексами. На ранних стадиях нередко можно обнаружить различные изменения коленных рефлексов и изменения ахилловых рефлексов (снижение, повышение либо отсутствие).
- Изменения походки сначала носят характер абазии, затем к абазии присоединяется спастичность. Психические расстройства многообразны: раздражительность, апатия, сонливость, подозрительность, психоз со спутанностью сознания, деменция. Иногда авитаминоз В12 проявляется только изменениями личности и деменцией. Характерна нейропатия зрительного нерва со снижением остроты зрения и центральной скотомой.

Подострая демиелинизация спинного мозга



Гипервитаминоз. Симптомы интоксикации.

- Введение витамина даже в тысячекратной, по сравнению с физиологической, дозе не оказывало токсического эффекта. Есть сообщения, что дополнительный прием витамина В 12 может вызвать угревидные высыпания на коже или усиление их, если они уже есть. Другие подтвержденные документально симптомы не известны.
- Возможно развитие побочных явлений при передозировке цианокобаламина: отек легких; застойная сердечная недостаточность; тромбоз периферических сосудов; крапивница; редко - анафилактический шок.

Метаболические изменения при недостатке кобаламина

Биохимические отклонения в плазме и моче у пациентов с недостаточностью кобаламина отражают дисфункцию ферментов, для которых он является коэнзимом.

1. отчётливо повышается уровень метилмалоновой кислоты в моче
2. отчётливо повышается уровень пропионовой кислоты в моче
3. в комплексе с метилмалоновой ацидурией была зарегистрирована избыточная экскреция гомоцистеина с мочой.

4. Ален и его коллеги обследовали большое количество людей с подозреваемой или доказанной недостаточностью кобаламина и показали, что у 95% из них имелась метилмалоновая ацидемия, гомоцистеинемия, или и то, и другое, часто без гематологических признаков.

5. Интересен факт обнаружения в моче избыточного количества уксусной кислоты. Механизм, ведущий к этому точно неизвестен, т.к. ацетат не принимает участия в главном пути катаболизма пропионата. Эти данные могут, конечно, отражать усиление утилизации пропионата альтернативным путём в случае блока основного пути метаболизма, т.к. каждый альтернативный путь в конечном счёте приводит к образованию ацетил-КоА.

Оценка обеспеченности организма витамином В12

Для определения статуса витамина В12 используют как прямые так и непрямые (функциональные) методы.

- Один из основных методов оценки обеспеченности организма витамином В12 - определение его концентрации в сыворотке крови, которая в норме составляет 150-900 нг/мл.
- Микробиологическое, конкурентное белковое связывание, и иммунометрические пробы используют для определения количественного содержания витамина В12. В этих целях используют нечеловеческий внутренний фактор – чаще всего из желудка свиньи.
- Непрямые методы включают пробы на концентрацию метилмалоновой кислоты в моче и сыворотке, гомоцистеин плазмы и тест на адсорбцию витамина В12.
- Цитохимическое исследование предшественников клеток красной крови и тест на антитела к внутреннему фактору являются вспомогательными методами оценки статуса витамина В12.
- Микробиологическое, конкурентное белковое связывание, и иммунометрические пробы используют для определения количественного содержания витамина В12. В этих целях используют нечеловеческий внутренний фактор – чаще всего из желудка свиньи.
- Поскольку частой причиной дефицита витамина В12 является нарушение его всасывания, то важное диагностическое значение имеют тесты, оценивающие состояние этого процесса (тест Шиллинга с меченым цианкобаламином).

1. Определение «истинного» кобаламина — метод конкурентного белкового связывания, РИА.

- В качестве материала используют сыворотку. Не допускать применения гепарина, аскорбиновой кислоты, фторидов, избегать гемолиза, защищать от света. роба стабильна 4 ч при 8'C, 8 нед в замороженном состоянии, (—20'C). Не допускать оттаивания и повторного замораживания,
- *Нормальные величины:*
- *Диагностическое значение.* «Истинный» кобаламин повышаются при остром и хроническом миелолейкозе, примерно 1/3 случаев хронического лимфолейкоза, некоторых случаях моноцитарного лейкоза; лейкоцитозе, истинной полицитемии, раке (особенно с метастазами в печень), заболеваниях печени (острый и хронический гепатит, цирроз, печеночная кома), лекарственно-индуцированном холестазае, эритромиелозе, недостаточности белкового питания.
- Пониженные значения наблюдаются при нелеченом дефиците витамина В12, обычно приводящем к мегалобластной анемии.

2. Микробиологический, с использованием *L. Leishmanii*

- Используемый материал - Гемолизат эритроцитов. Отмытые клетки цельной крови (гспарин) могут быть заморожены за ≤ 4 нед до экстракции.
- *Нормальные величины:* 82 — 225 пг/мл эритроцитов, 60 — 166 пмоль/л эритроцитов.
- *Влияющие факторы.* Химическое действие снижают метотрексат, пириметамин и большинство антибиотиков.
- *Диагностическое значение.* Показатели снижены при нелеченом дефиците витамина В12, фолиево- и железодефицитной анемии (во всех этих случаях имеется частичное совпадение с нормальными величинами). Несмотря на высокий уровень итамина В12 в сыворотке при хроническом миелодиспластическом синдроме или истинной полицитемии его уровень в эритроцитах не повышен.

3. Микробиологический, с использованием *E. gracilis*

- *Исследуемый материал* - печень (идеально 15 мг, но может быть достаточно до 2 мг).
- *Нормальные величины* 0,6 — 1,5 мкг/г, 0,44 — 1,11 мкмоль/кг сырой ткани печени. Коэфф. перевода пг/мл в пмоль/л и мкг/г в мкмоль/кг 0,738, обратно — 1,355.
- *Диагностическое значение.* Показатели снижены при следующих состояниях: нелеченый дефицит витамина В12, дефицит фолиевой кислоты (у некоторых больных), заболевания печени (у многих больных).

4. Витамин-В12-связывающая способность, ненасыщенная. Радиологический метод с использованием древесного угля, покрытого гемоглобином.

- В качестве используемого материала берётся сыворотка натощак. Не использовать гепарин и ЭДТА, защищать от действия света. Прекратить прием витамина В12 по крайней мере за 72 ч до взятия пробы. Проба стабильна 4 дня при температуре, 7 дней при — 15 оС.
- *Нормальные величины* 738 — 1476 пмоль/л. Коэфф. перевода пг/мл в пмоль/л 0,738, обратно — 1,355.
- *Диагностическое значение.* Значения повышаются при миелопролиферативных заболеваниях с увеличением числа лейкоцитов в периферической крови, пернициозной анемии, дефиците фолиевой кислоты, раке печени и других солидных опухолях (иногда).
- Значения снижены при мальабсорбции, циррозе печени и инфекционном гепатите (некоторые случаи).

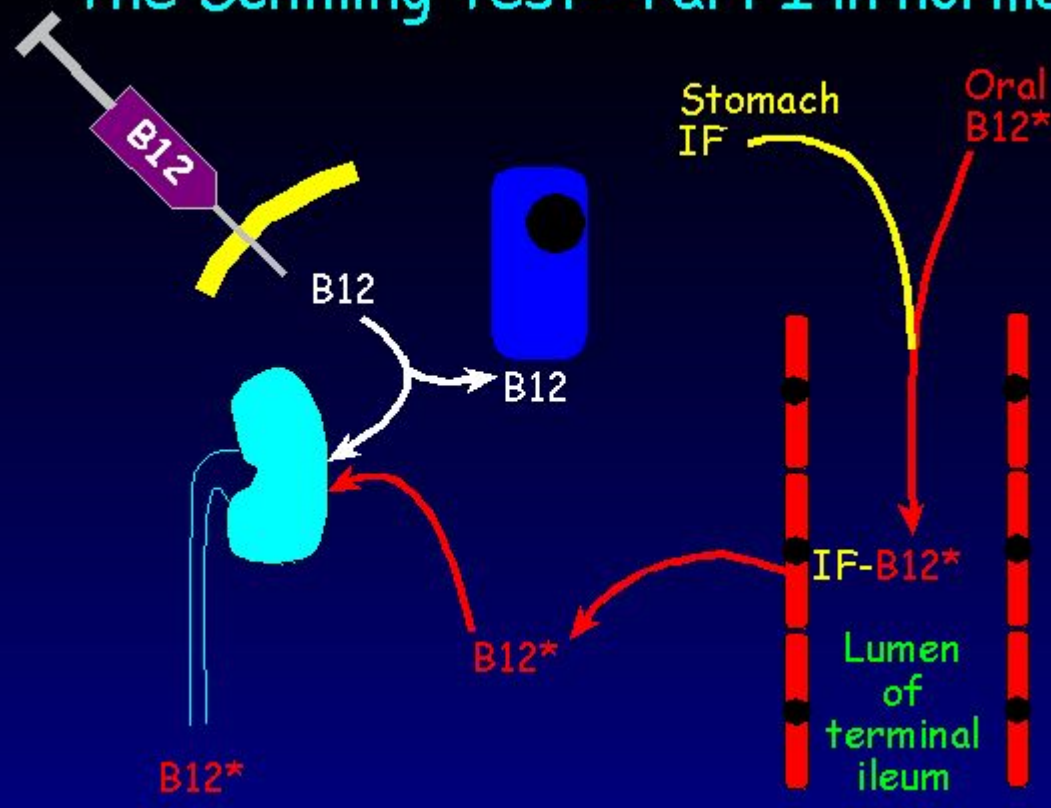
Витамин В12, тест абсорбции (проба Шиллинга)

- ^{57}Co -В12 или ^{58}Co -В12 0,5 или 1,0 мкКи перорально, натощак; одновременно или не позднее чем через 6 ч в/м вводят 1 мг немеченого В12 (доза, вызывающая прилив крови к лицу).
- В качестве *исследуемого материала* - моча суточная.
- *Нормальная величина.* Выводится $>7,5\%$ введенной дозы,
- *Диагностическое значение.* Снижается после тотальной гастрэктомии, резекции терминальной части подвздошной кишки; обширном поражении подвздошной кишки; избыточном бактериальном росте; пернициозной анемии (с мочой выводится 0—2,5% введенной дозы); недостаточности функции поджелудочной железы (иногда), дефекте рецепторов клеток слизистой оболочки подвздошной кишки к витамину В12 (редко), глютенчувствительной энтеропатии, анатомических аномалиях тонкой кишки, хроническом панкреатите, муковисцидозе, жиардиазе, лучевой терапии, болезни Крона, синдроме Имерслунд — Гресбека.

Проба Шиллинга применяется для подтверждения пернициозной анемии. Результаты недостоверны при поражении почек, а воспроизводимость плохая при заболеваниях кишечника. Для выявления мегалобластных изменений до проведения пробы Шиллинга следует исследовать костный мозг, при этом за реакцией ретикулоцитов наблюдают, как обычно у больных анемией. После резекции желудка проба Шиллинга может не выявить дефицит витамина В12. Наиболее частой причиной недостоверных результатов при исследовании мочи является неполный сбор пробы.

При подозрении на пернициозную анемию пробу Шиллинга следует повторить через 5 дней с дополнительным пероральным приемом 60 мг активного свиного внутреннего фактора. Нормальный результат указывает на дефицит внутреннего фактора для дифференциальной диагностики дефицита В12 обусловленного недостатком внутреннего фактора, и других причин нарушения его всасывания в качестве рутинного метода предлагается одновременное введение ^{57}Co -В12 и ^{60}Co -В12 -внутреннего фактора.

The Schilling Test - Part I in normal



спасибо за внимание!

