

## Фармакокінетичне дослідження використання 5-метилтетрагідрофолату та фолієвої кислоти у пацієнтів з ішемічною хворобою серця

[Френк Ф. Віллемс](#)<sup>1,\*</sup>, [Годфрід Г. Дж. Боерс](#)<sup>2</sup>, [Хенк Дж. Блом](#)<sup>3</sup>, [Вім Р. М. Енгеверен](#)<sup>4</sup>, [Фрік В. А. Верхойгт](#)<sup>4</sup>

- Інформація про автора
  - Примітки до статті
  - Інформація про авторські права та ліцензію
- PMCID: PMC1574248 PMID: [14769778](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14769778/)

### Анотація

1. Метилтетрагідрофолатредуктаза (MTHFR) є регулюючим ферментом у фолат-залежному реметилуванні гомоцистеїну, оскільки вона каталізує відновлення 5,10-метилтетрагідрофолату до 5-метилтетрагідрофолату (5-MTHF).
2. Суб'єкти, гомозиготні за мутацією 677C → T у ферменті MTHFR, страждають від підвищеного серцево-судинного ризику. Можна припустити, що безпосереднє введення 5-MTHF замість фолієвої кислоти може сприяти реметилуванню гомоцистеїну в метіонін.
3. Метою цього дослідження було визначити фармакокінетичні властивості перорально прийнятого 6[ R, S ]-5-MTHF порівняно з фолієвою кислотою у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями з гомозиготністю за 677C → T MTHFR.
4. Це відкрите контрольоване, двостороннє, двоперіодне рандомізоване перехресне дослідження. Пацієнти отримували одну пероральну дозу 5 мг фолієвої кислоти або 5 мг 5-MTHF у кожному періоді. Концентрації діастереоізомерів 6[ S ]-5-MTHF та 6[ R ]-5-MTHF визначали у зразках венозної крові.
5. Усі фармакокінетичні параметри демонструють, що біодоступність 5-MTHF вища порівняно з фолієвою кислотою. Пікова концентрація обох ізомерів після введення 6[ R,S ] 5-MTHF майже в сім разів вища порівняно з фолієвою кислотою, незалежно від генотипу пацієнта. Однак, через 1 тиждень після введення одноразової дози 6[ R, S ] 5-MTHF, ми виявили 6[ R ] 5-MTHF після введення фолієвої кислоти, що вказує на накопичення цього ізомеру в організмі.
6. Наші результати показують, що пероральний 5-MTHF має інший фармакокінетичний профіль з вищою біодоступністю порівняно з фолієвою кислотою, незалежно від генотипу пацієнта. Не можна виключати негативний вплив зберігання високих рівнів неприродного ізомеру 6[ R ]5-MTHF.

**Ключові слова:** гомоцистеїн, метилтетрагідрофолатредуктаза, фолієва кислота, 5-метилтетрагідрофолат

### Вступ

Опубліковано понад 80 перехресних, випадок-контрольних та проспективних когортних досліджень щодо зв'язку між гомоцистеїном та артеріально-судинними захворюваннями ([Refsum et al., 1998](#)). Незважаючи на переконливі епідеміологічні докази, що підтверджують, що гіпергомоцистеїнемія є незалежним фактором ризику судинних

захворювань, точний причинно-наслідковий зв'язок залишається нез'ясованим. Метилентетрагідрофолатредуктаза (MTHFR) є регулюючим ферментом у фолат-залежному реметилюванні гомоцистеїну, оскільки вона каталізує відновлення 5,10-метилентетрагідрофолату до 6[S]-5-метилтетрагідрофолату (5-MTHF), природної циркулюючої форми фолату в плазмі. 6[S]-5-MTHF служить донором метильної групи для перетворення гомоцистеїну в метіонін. У 1995 році Фросст *та ін.* виявили поширену мутацію в гені MTHFR, перехід у нуклеотиді 677 (C → T), що перетворює аланін на валін. Пацієнти, гомозиготні за цим варіантом, мають підвищений загальний рівень гомоцистеїну в плазмі ( [Kluijtmans et al., 1997](#) ). Нещодавно було переконливо продемонстровано, що ці суб'єкти, 10–20% населення, мають підвищений серцево-судинний ризик ( [Klerk et al., 2002](#) ). Багато досліджень показали, що підвищений рівень гомоцистеїну можна знизити шляхом прийому фолієвої кислоти в дозах від 400 мкг до 10 мг/день ( Clarke & Armitage, 2000 ). Нещодавно ми продемонстрували корисний вплив терапії, що знижує рівень гомоцистеїну, з використанням довготривалої терапії фолатом, 5 мг, на ендотеліальну функцію коронарних артерій у пацієнтів з гіпергомоцистеїнемією, що є сурогатною кінцевою точкою для серцево-судинних подій ( [Willems et al., 2002](#) ). Крім того, [Doshi et al. \(2002\)](#) продемонстрували, що 5-MTHF має прямий корисний вплив на ендотеліальну функцію, незалежно від рівня гомоцистеїну в плазмі. Ці результати свідчать про те, що високі концентрації природного ізомеру 5-MTHF у плазмі можуть бути корисними при серцево-судинних захворюваннях. Чи пов'язані ці ефекти зі зниженою активністю ферменту MTHFR, чи з кращою біодоступністю 5-MTHF, незрозуміло. Перорально прийнята фолієва кислота повинна бути відновлена та перетворена на тетрагідрофолат, перш ніж вона зможе стати метаболічно активною. У суб'єктів, гомозиготних за мутацією MTHFR 677C → T, можна припустити, що пряме введення 5-MTHF замість фолієвої кислоти може сприяти реметилюванню гомоцистеїну в метіонін. В іншому випадку, можливо, що ефективність 5-MTHF краща незалежно від зниженої активності ферменту MTHFR. 5-MTHF доступний у вигляді суміші 6[S] та 6[R.] рацематів. Хоча вважається, що лише 6[S] 5-MTHF є біоактивним, можливі біологічні ефекти 6[R] 5-MTHF не є зрозумілими. Метою цього дослідження було визначити фармакокінетичні властивості одноразової дози перорально прийнятого 6[R,S] 5-MTHF, комерційно доступної рацемічної суміші двох діастереоізомерів 5-MTHF, порівняно з фолієвою кислотою у пацієнтів із серцево-судинними захворюваннями з гомозиготністю за поліморфізмом MTHFR (генотип TT) у порівнянні з пацієнтами з генотипом дикого типу (CC).

## Методи

---

### Вибір пацієнта

Це дослідження є відкритим контрольованим, двостороннім, двоперіодним рандомізованим перехресним дослідженням з 1-тижневим підготовчим періодом та 1-тижневим періодом вимивання. Пацієнти з встановленою ішемічною хворобою серця були обстежені за допомогою аналізу ДНК на наявність поліморфізму MTHFR 677C → T. Генотипу ДНК екстрагували з лімфоцитів периферичної крові за стандартною процедурою, а аналіз мутацій проводили, по суті, як описано [Frosst et al. \(1995\)](#) . Усі пацієнти надали інформовану згоду. Загалом у дослідженні взяли участь 12 пацієнтів з генотипом TT MTHFR та 12 пацієнтів з диким типом MTHFR.

Групи були підібрані за віком, статтю та масою тіла. Включення пацієнтів вимагало маси тіла в межах 20% від нормальних значень згідно з таблицями зросту та ваги Метрополітану. Клінічно значущі фізичні зміни не допускалися. У всіх учасників дослідження на початку та через 4 тижні було проведено аналіз крові на функцію печінки та нирок, гематологічні показники, аналіз сечі та вміст вітамінів. Пацієнти з інфарктом міокарда протягом останніх

3 місяців були виключені, а також пацієнти з відповідним анамнезом захворювань печінки, нирок та шлунково-кишкових захворювань. Прийом ліків, пов'язаних з метаболізмом фолатів, вживання вітамінів або здача крові протягом останніх 3 місяців були виключені. Були виключені люди, які вживали значну кількість тютюну ( $10 \text{ днів}^{-1}$ ), алкоголю ( $>40 \text{ г день}^{-1}$ ) або наркотиків.

Пацієнти не вживали їжу та напої, окрім води, за 12 годин до введення фолієвої кислоти або 5-МТНФ та до 4 годин після введення препарату. Протягом періоду дослідження пацієнти дотримувалися стабільної дієти, яка гарантувала стабільне споживання  $200 \text{ мкг}$  фолату на день (рекомендована добова норма). Досліджуваний препарат складався з одноразової пероральної дози фолієвої кислоти (фоліна<sup>R</sup>)  $5 \text{ мг}$  або  $6 [R, S]$  5-МТНФ (Префолік<sup>R</sup>)  $5 \text{ мг}$ .

## Розклад навчання

Кожен пацієнт пройшов попереднє обстеження протягом 2 тижнів до періоду введення в дослідження. Протягом першого періоду дослідження пацієнти отримували одноразову пероральну дозу  $5 \text{ мг}$  фолієвої кислоти або  $5 \text{ мг}$   $6[R, S]$  5-МТНФ, розчиненого у  $50 \text{ мл}$  дистильованої води, згідно зі списком рандомізації. Пацієнти були засліплені щодо лікування. Далі був період вимивання тривалістю 1 тиждень, після якого пацієнти переходили на інший графік лікування. Введення фолієвої кислоти або 5-МТНФ пацієнтам натщесерце проводилося між 07:00 та 09:00.

## Зразки крові

Зразки венозної крові брали у такі моменти часу: 0 (до введення дози), 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 та 12 годин після введення фолієвої кислоти або  $6[R, S]$  5-МТНФ. Зразки крові збирали в гепаринізовані пробірки, негайно поміщали на лід і протягом 30 хвилин центрифугували при  $3000 \times g$  протягом 15 хвилин при  $4^\circ\text{C}$ . Супернатантну плазму переносили в поліпропіленову пробірку, що містила аскорбат натрію, та зберігали при температурі  $-20^\circ\text{C}$ .

## Аналітика

Концентрації діастереомерів  $[6R]$  та  $[6S]$  5-МТНФ у плазмі визначали валідованим стереоселективним методом. Після етапу іонного обміну для очищення від біологічної матриці, діастереомери 5-МТНФ розділяли за допомогою стереоспецифічної ферментативної реакції з використанням 5-МТНФР. Після завершення реакції аліквоти зразків аналізували за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з обернено-фазовою детекцією з флуоресценцією. За допомогою цього методу концентрації діастереоізомерів у плазмі в діапазоні низької базової лінії ( $3\text{--}4 \text{ нг/мл}^{-1}$ ) визначали з коефіцієнтом варіації між аналізами 10%. Межа кількісного визначення для  $6[R]$  5-МТНФ підтримується на рівні  $5 \text{ нг/мл}^{-1}$  ([Leeming et al., 1990](#)). На основі плазмових концентрацій стереоізомерів кислоти  $[6R]$  та  $[6S]$  5-МТНФ, отриманих до 12 годин після введення одноразової дози фолієвої кислоти або 5-МТНФ, було розраховано такі параметри:  $C_{\max}$  ( $\text{нг мл}^{-1}$ ) (найвища концентрація діастереоізомеру в плазмі),  $t_{\max}$  (год) (час досягнення  $C_{\max}$ ),  $C_{0-12z}$  ( $\text{нг мл}^{-1}$ ) (концентрація діастереоізомеру в момент відбору проб  $z$ ),  $AUC_{0-12z}$  (площа під кривою залежності концентрації в плазмі від часу до моменту відбору проб  $z$ ),  $AUC_{\infty}$  (площа під кривою залежності концентрації в плазмі від часу за рівнянням:  $AUC_{\infty} = AUC_z + C_z \lambda_z^{-1}$ ) та  $t^{1/2}$  (год). Рівні фолатів у плазмі визначали на початку дослідження, через 2, 4 та 12 годин після прийому вітамінів за допомогою ВЕРХ, як описано [te Poele-Pothoff et al. \(1995\)](#).

## Статистика

Базові характеристики узагальнено за допомогою відповідної описової статистики. Фармакокінетичні параметри аналізуються за допомогою дисперсійного аналізу з урахуванням наступних факторів у моделі: період лікування, категорія та послідовність. Ефект лікування та взаємодія категорії лікування тестуються на рівні 0,05. Логарифмічне перетворення виконується для  $AUC_z$ ,  $AUC_{\infty}$  та  $C_{max}$  перед проведенням дисперсійного аналізу (ANOVA). Для представлення точкової оцінки (середнє значення, стандартне відхилення та 95% довірчі інтервали) конвертуються назад у вихідну шкалу.

## Результати

Серед 157 пацієнтів, обстежених на мутацію ТТ МТНFR, ми виявили 14 пацієнтів, гомозиготних за цією мутацією. З 27 пацієнтів, включених спочатку, 24 пацієнти завершили дослідження. Троє пацієнтів були виключені з дослідження через порушення протоколу: два пацієнти з генотипом ТТ та один пацієнт з генотипом СС. Базові характеристики пацієнтів, які брали участь у дослідженні, наведені в [таблиці 1](#). Середній загальний рівень гомоцистеїну в плазмі натщесерце (tHcy) у пацієнтів з генотипом ТТ становив 26,8 мкмоль/л (стандартне відхилення 18,2) порівняно з 15,4 мкмоль/л (стандартне відхилення<sup>3,5</sup>) у пацієнтів з генотипом СС ( $P < 0,05$ ). Загальний вміст фолатів у плазмі становив 13,5 нмоль/л (стандартне відхилення 5,7) у групі з поліморфізмом ТТ порівняно з 19,1 нмоль/л (стандартне відхилення 17,8) у групі з поліморфізмом СС ( $P = 0,35$ ). Інших суттєвих відмінностей між двома групами не виявлено.

### Таблиця 1.

Базові характеристики

	N= 10(TT)	N= 14(CC)	P- значення <sup>a</sup>
Вік (роки)	56,9 (діапазон 46–64)	57,2 (діапазон 46–66)	0,91
Стать (чоловіча/жіноча)	8/2	11/3	0,55
Гомоцистеїн (мкмоль/л)	26,8 (18,1) <sup>b</sup>	15,4 (3,5)	<0,05
Фолат (нмоль/л)	13,5 (5,7)	19,1 (17,8)	0,35
Вітамін В12 (пмоль/л)	225 (112)	230 (88)	0,89
Вітамін В6 (нмоль/л)	49 (17)	44 (12)	0,47
Загальний холестерин (ммоль/л)	5,69 (1,41)	5,16 (0,76)	0,25
Тригліцериди (ммоль/л)	2,05 (1,1)	2,11 (1,0)	0,89
Глюкоза (ммоль/л)	5,7 (1,8)	7,2 (2,4)	0,11
Креатинін (μ моль/л)	101 (11,6)	101 (39,0)	0,99

<sup>a</sup>  $t$ -критерій Стьюдента на рівність середніх значень або  $\chi^2$ -критерій, де це доречно.

<sup>b</sup> с.д. (стандартне відхилення) у дужках.

Через 1 тиждень після завершення дослідження рівень фолатів у плазмі крові збільшився з 13,5 до 24,5 нмоль/л у групі з поліморфізмом ТТ порівняно з відсутністю змін у групі з поліморфізмом СС ( $P < 0,05$ ). Вітамін В12 та вітамін В6 не змінювалися протягом періоду спостереження. Прийом одноразової дози 5 мг фолієвої кислоти або 5 мг 5-МТНФ не впливав на рівень гомоцистеїну в плазмі крові протягом 12-годинного спостереження незалежно від генотипу пацієнта. В обох групах рівень гомоцистеїну не змінювався під час періоду спостереження через 1 тиждень.

## Фармакокінетичні властивості 6[ R,S]-5-МТНФ порівняно з фолієвою кислотою

Основні фармакокінетичні параметри після обох стратегій лікування діастереоізомерами 6[ S ] 5-МТНФ та 6[ R ] 5-МТНФ наведено в [Таблиці 2](#). Усі фармакокінетичні параметри демонструють, що біодоступність кислоти 6[ R , S ] 5-МТНФ вища порівняно з фолієвою кислотою. Пікова концентрація природного діастереоізомеру 6[ S ] 5-МТНФ після введення 5-МТНФ більш ніж у сім разів вища порівняно з піковою концентрацією 6[ S ] 5-МТНФ після введення фолієвої кислоти: 129 нг мл<sup>-1</sup> (стандартне відхилення 42,4) проти 14,1 нг мл<sup>-1</sup> (стандартне відхилення 9,4) ( $P < 0,001$ ) відповідно. Пікова концентрація діастереоізомеру 6[ R ] 5-МТНФ після введення 5-МТНФ порівняно з фолієвою кислотою становить 144 нг мл<sup>-1</sup> (стандартне відхилення 75) проти 42 нг мл<sup>-1</sup> (стандартне відхилення 40) ( $P < 0,001$ ) відповідно.

### Таблиця 2.

Середні фармакокінетичні параметри для 6[ S ]-5-МТНФ та 6[ R ]-5-МТНФ після введення фолк-кислоти або 5-МТНФ

	<b>Фолієва кислота</b>	<b>6 [S] 5-МТНФ 5-МТНФ</b>	<b>P- значення <sup>a</sup></b>	<b>Фолієва кислота</b>	<b>6 [R] 5-МТНФ 5-МТНФ</b>	<b>P- значення</b>
$K_e$	0,15 (0,1) <sup>b</sup>	0,42 (0,2)	<0,001	0,14 (0,04)	0,13 (0,04)	0,66
$T_{1/2}$ (год)	4,9 (2,5)	2,7 (2,6)	<0,01	5,2 (1,2)	6,0 (2,6)	<0,05
$T_{max}$ (год)	2,3 (0,8)	1,3 (0,5)	<0,001	2,4 (0,7)	1,6 (0,5)	<0,001
$C_{max}$ (нг мл <sup>-1</sup> )	14 (11)	129 (33)	<0,001	42 (10)	145 (47)	<0,001
AUC <sub>0-12</sub>	73 (39)	383 (113)	<0,001	523 (180)	700 (223)	<0,05
AUC <sub>0-∞</sub>	96 (48)	405 (117)	<0,001	701 (284)	924 (378)	<0,05

<sup>a</sup> Однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA).

<sup>b</sup> с.д. у дужках.

## Вплив генотипу MTHFR 677C → T на фармакокінетичні властивості 6[ R , S ] 5-MTHF

Основні фармакокінетичні параметри біологічно активного діастереоізомеру 6[ S ] 5-MTHF для обох стратегій лікування у зв'язку з генотипом пацієнтів наведено в [таблиці 3](#). Істотних відмінностей у фармакокінетичних параметрах між пацієнтами з генотипом TT та пацієнтами з генотипом CC немає. На [рисунок 1](#) показано 12-годинну криву спостереження за 6[ S ] 5-MTHF у нг/мл після перорального прийому фолієвої кислоти та 5-MTHF в обох групах генотипів. Дані 12-годинної кривої спостереження за 6[ R ] 5-MTHF по суті однакові (дані не показані).

**Таблиця 3.**

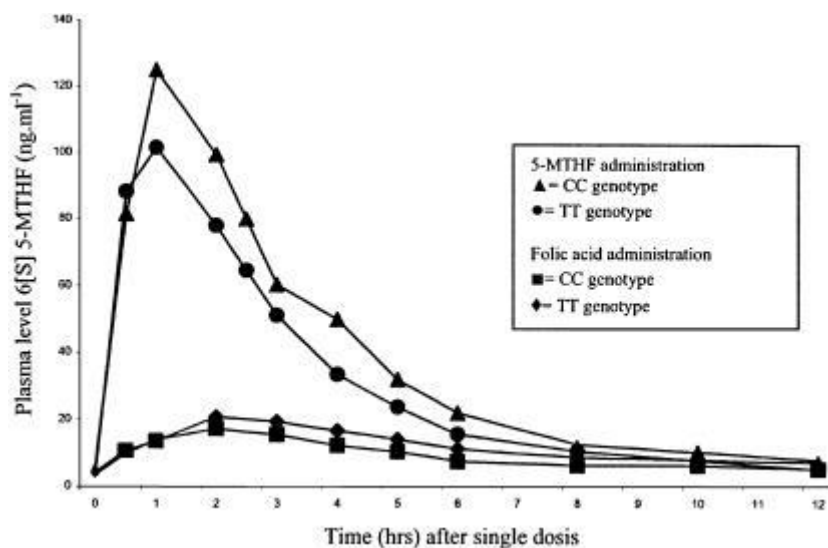
Фармакокінетичні параметри для 6[ S ]5-MTHF після введення фолієвої кислоти або 5-MTHF пацієнтам з генотипом (TT) та (CC)

<i>Генотип</i>	<i>TT</i>	<i>Фолієва кислота CC</i>	<i>P- значення</i> <sup>a</sup>	<i>TT</i>	<i>5- MTHF CC</i>	<i>P- значення</i>
<i>K<sub>e</sub></i>	0,15 (0,1) <sup>б</sup>	0,17 (0,1)	0,56	0,32 (0,1)	0,35 (0,2)	0,66
<i>T<sub>1/2</sub> (ГОД)</i>	5,0 (2,0)	4,8 (2,9)	0,83	2,36 (0,7)	2,82 (3,5)	0,69
<i>T<sub>max</sub> (ГОД)</i>	2,4 (0,8)	2,3 (0,8)	0,66	1,3 (0,5)	1,2 (0,5)	0,88
<i>C<sub>max</sub> (НГ МЛ<sup>-1</sup>)</i>	14 (11)	14 (7)	0,83	101 (29)	107 (36)	0,66
<i>AUC<sub>0-12</sub></i>	72 (39)	74 (41)	0,90	303 (105)	329 (121)	0,58
<i>AUC<sub>0-∞</sub></i>	99 (37)	94 (55)	0,82	312 (111)	340 (123)	0,35

<sup>a</sup> Однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA).

<sup>б</sup> с.д. у дужках.

Рисунок 1.

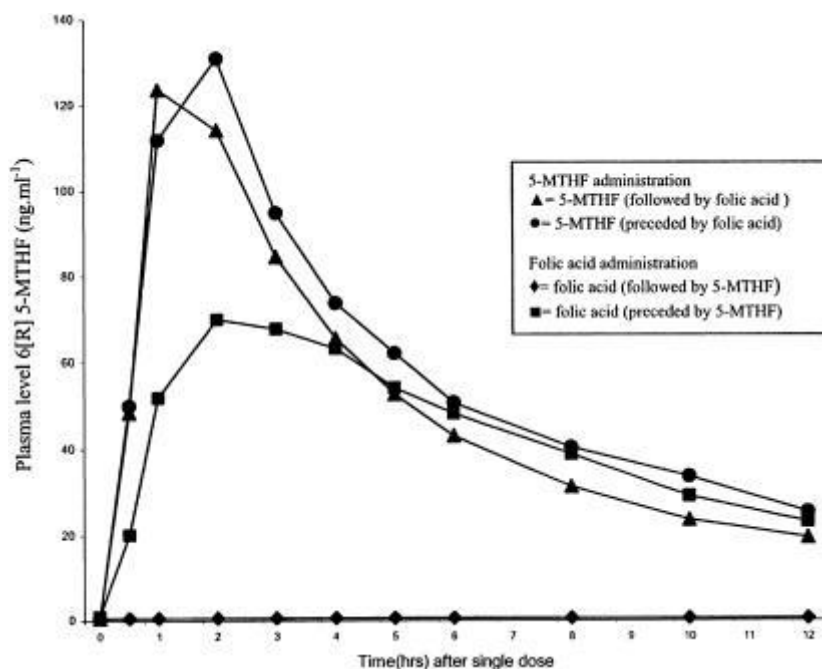


Генотип та лікування: концентрація 6[ S ] 5-MTHF у плазмі (нг мл<sup>-1</sup>) у пацієнтів з генотипом MTHFR CC або генотипом TT після введення 6[ R , S ] 5-MTHF. Концентрація 6[ S ] 5-MTHF у плазмі (нг мл<sup>-1</sup>) у пацієнтів з генотипом MTHFR CC або генотипом TT після введення фолієвої кислоти.

### Фармакокінетичні властивості 6[ R , S ]-5-MTHF у зв'язку з послідовністю лікування

Послідовність лікування фолієвою кислотою або 5-MTHF (або фолієва кислота, або 6[ R , S ]-5-MTHF як перший препарат) не впливала на результати фармакокінетичних параметрів для діастереоізомеру 6[ S ]-5-MTHF (дані не показані). Крива вимивання для діастереоізомеру 6[ R ]-5-MTHF показала, що у випадку, якщо фолієву кислоту вводили в перший період, метаболічний неактивний діастереоізомер 6[ R ]-5-MTHF не був присутній у плазмі (межа виявлення <5 нг/мл<sup>3</sup>). Однак, якщо фолієву кислоту вводили в другий період, рівні 6[ R ]-5-MTHF ставали чітко виявленими в плазмі. Це не залежало від генотипу пацієнта ( [Рисунок 2](#) ).

Рисунок 2.



Послідовність лікування: 6[ R ] концентрація 5-МТНФ у плазмі (нг мл<sup>-1</sup>) у пацієнтів після прийому фолієвої кислоти в першому періоді та 6[ R ] концентрація 5-МТНФ у плазмі (нг мл<sup>-1</sup>) у пацієнтів після прийому фолієвої кислоти в другому періоді. Концентрація 6[ R ] 5-МТНФ у плазмі (нг мл<sup>-1</sup>) у пацієнтів після прийому 6[ R , S ] 5-МТНФ у першому періоді та пацієнтів після прийому 6[ R , S ] 5-МТНФ у другому періоді.

## Обговорення та висновки

Це дослідження продемонструвало вищу біодоступність перорально прийнятого рацемічного 6[ R , S ]-5-МТНФ, 5 мг, порівняно з фолієвою кислотою, 5 мг. На ефекти не впливав генотип МТНFR 677ТТ пацієнта. Рівень гомоцистеїну в плазмі не змінювався після прийому одноразової дози фолієвої кислоти або 6[ R , S ]-5-МТНФ кислоти.

## Фармакокінетичні властивості фолієвої кислоти та 6[ R,S ]-5-МТНФ

У нашому дослідженні було показано швидке підвищення рівня 6[ S ]-5-МТНФ, природного ізомеру, що має біологічну активність ( [Keresztesy & Silverman, 1951](#) ), протягом 1–3 годин після введення фолієвої кислоти або 6[ R , S ]-5-МТНФ з піковими концентраціями, які були в сім разів або більше вищими за вихідні концентрації. Наші дані щодо фармакокінетичного профілю узгоджуються з попередніми дослідженнями, що оцінювало вплив перорального застосування фолієвої кислоти у пацієнтів з поліморфізмом ТТ порівняно з пацієнтами з поліморфізмом СС, де спостерігалось порівнянне підвищення рівня діастереоізомеру 6[ S ]-5-МТНФ ( [Stern et al., 2000](#) ). Очікується, що рівні 5-МТНФ будуть пропорційно нижчими після введення фолієвої кислоти порівняно з 6[ R , S ]-5-МТНФ, оскільки 6[ R , S ]-5-МТНФ доступний безпосередньо після всмоктування в клітинах кишечника, тоді як фолієва кислота спочатку повинна метаболізуватися в тетрагідрофолат. Залежно від надходження фолату, тетрагідрофолат може транспортуватися в портальну циркуляцію, перетворюватися на 6[ S ]-5-МТНФ або зберігатися в тканинах у вигляді тетрагідрофолату.

Цей тривалий біохімічний шлях може бути можливим поясненням різниці у фармакокінетичних параметрах. У деяких дослідженнях 5-МТНФ використовували як фармакологічний засіб для покращення ендотеліальної функції у пацієнтів із судинними захворюваннями ( [Doshi et al., 2002](#) ). Можна припустити, що ці високі рівні циркулюючих метаболічних активних фолатів можуть бути відповідальними за спостережуване пряме покращення ендотеліальної функції.

## Фолати у зв'язку з генотипом

Наші дані показують, що немає відмінностей у фармакокінетичних властивостях як фолієвої кислоти, так і 6[ R , S ]5-МТНФ залежно від генотипу пацієнтів. Мутації в МТНFR були пов'язані з меншою часткою 5-МТНФ та більшою часткою формільованих фолатів ( [Rosenblatt et al., 1979](#) ). Це пов'язано зі зниженою активністю МТНFR, що призводить до меншої швидкості відновлення 5,10-метилен-ТГФ до 5-МТНФ, що, своєю чергою, спричиняє підвищену доступність 5,10-метилен-ТГФ для окислення до формільованих фолатних форм. Наші результати свідчать про те, що активність МТНFR *in vivo* не є етапом, що обмежує швидкість перетворення фолієвої кислоти на 5-МТНФ.

## Послідовність терапії

Послідовність введення фолієвої кислоти або 6[ R , S ]5-МТНФ не впливала на фармакокінетичні параметри щодо рівня фізіологічно активної форми 6[ S ]5-МТНФ у плазмі. Оскільки перорально застосовуваний 5-МТНФ складається з рацемічної суміші 6[ S ]5-МТНФ та 6[ R ]5-МТНФ, можна пояснити, що ізомер 6[ R ]5-МТНФ можна виявити в плазмі. Порівняно з рівнями 6[ S ]5-МТНФ у плазмі, рівні 6[ R ]5-МТНФ у плазмі досягають вищих пікових концентрацій і все ще мають вищу концентрацію в плазмі через 12 годин після прийому. Ці дані свідчать про те, що цей ізомер має повільніший кліренс з плазми, можливо, через неприродну форму 5-МТНФ. Наші висновки узгоджуються з попереднім дослідженням, що вивчало вплив високих доз 6[ R , S ]5-МТНФ, яке демонструвало вищу концентрацію в плазмі та повільніший плазмований кліренс 6[ R ]5-МТНФ порівняно з 6[ S ]5-МТНФ ( [Mader et al., 1995](#) ). У цьому дослідженні було продемонстровано, що зв'язування 6[ R ]5-МТНФ з білками становить 88% порівняно з 56% для 6[ S ]5-МТНФ зі зниженням ниркового кліренсу, як наслідок.

Якщо фолієву кислоту вводили як перший препарат, 6[ R ]5-МТНФ не можна було виявити в плазмі. Цього слід було очікувати, оскільки фолієва кислота метаболізується лише до свого природного активного ізомеру. Однак, коли фолієву кислоту вводили у другому періоді (через 1 тиждень після введення рацемічного 6[ R , S ]5-МТНФ), 6[ R ]5-МТНФ можна було виявити в плазмі, навіть при відносно високих рівнях ( [Рисунок 2](#) ). Попереднє дослідження показало, що швидкість виведення 6[ R ]5-МТНФ приблизно в чотири рази повільніша, ніж для 6[ S ]5-МТНФ ( [Mader et al., 1994](#) ). Однак це не може пояснити той факт, що через 1 тиждень після одноразового болюсного введення 6[ R , S ]5-МТНФ ми виявили відносно високі рівні 6[ R ]5-МТНФ лише після введення фолієвої кислоти. Ізомер 6[ R ]5-МТНФ не виявлявся на початку дослідження, тобто до введення фолієвої кислоти. Тому здається менш імовірним, що різниця у зв'язуванні з білками плазми між 6[ S ]5-МТНФ та 6[ R ]5-МТНФ пояснює це явище, оскільки ізомер 6[ R ]5-МТНФ не виявлявся в плазмі на початку дослідження. Наші результати свідчать про те, що ізомер 6[ R ]5-МТНФ зберігається в організмі до його вивільнення після введення відносно великої дози фолієвої кислоти. Фолати зберігаються в тканинах, головним чином у печінці, де фолати міцно зв'язуються цитозольними та мітохондріальними фолат-зв'язуючими білками. Це зв'язування може бути нестереоспецифічним. Біологічні ефекти зв'язування 6[ R ]5-

МТНФ незрозумілі. [Мадер та ін . \(1995\) повідомили, що у пацієнтів, які отримували високі дози 6\[ R , S \] 5-МТНФ](#), не спостерігалось серйозних короткострокових побічних ефектів . Оскільки 6[ R ] 5-МТНФ не метаболізується, можна припустити, що він може пригнічувати регуляторні ферменти, пов'язані з метаболізмом фолатів та гомоцистеїну. По-друге, біодоступність 6[ S ] 5-МТНФ може бути знижена через конкуренцію з діастереоізомером 6[ R ] 5-МТНФ.

## Генотип пацієнта та рівень гомоцистеїну

Кілька дослідників продемонстрували, що у суб'єктів, гомозиготних за поліморфізмом ТТ, підвищений рівень тНсУ лише за низького рівня фолату в плазмі ( [Kang et al ., 1987](#) ; [Harmon et al ., 1996](#) ; [Christensen et al ., 1997](#) ; [Kluijtmans et al ., 1997](#) ). Рівень фолату в плазмі в групі пацієнтів з поліморфізмом ТТ був відносно низьким порівняно з рівнем фолату в групі СС. Очевидно, що введення одноразової дози фолієвої кислоти або 6[ R , S ] 5-МТНФ не змінювало рівень гомоцистеїну під час дослідження, що свідчить про необхідність тривалого лікування.

## Висновок

Наші результати показують, що 6[ R , S ] 5-МТНФ має інший фармакокінетичний профіль порівняно з фолієвою кислотою, незалежно від генотипу МТНFR 677С → Т пацієнтів. Хоча клінічне значення цих відмінностей потребує подальшого дослідження, швидке семикратне збільшення концентрації природного ізомеру може бути перспективною особливістю 5-МТНФ у лікуванні судинних захворювань. Клінічні наслідки відносно високих рівнів неприродного ізомеру, 6[ R , S ] 5-МТНФ, у плазмі крові після введення 6[ R , S ] 5-МТНФ невідомі. Оскільки наше дослідження показує, що цей ізомер накопичується в організмі, необхідні подальші дослідження клінічних довгострокових ефектів рацемічної кислоти 6[ R , S ] 5-МТНФ для оцінки можливих шкідливих наслідків.

## Подяки

Д-р Х. Дж. Блом є авторитетним дослідником Нідерландського фонду серця (D 97.021). Це дослідження було підтримано необмеженим грантом від Knoll Pharmaceutici Spa, Італія.

## Абревіатури

**AUC** <sub>0-12.мкл</sub>

Площа під кривою залежності концентрації в плазмі від часу до моменту відбору проб  $z$

**AUC** <sub>∞</sub>

площа під кривою залежності концентрації у плазмі від часу за рівнянням :  $AUC_{\infty} = AUC_z + C_z \lambda_z^{-1}$

**C** <sub>max</sub>

найвища концентрація в плазмі

**C** <sub>0-12</sub> унцій

концентрація під час відбору проб  $z$

**5-МТНФ**

5-метилтетрагідрофолат

**МТНFR**

метилтетрагідрофолатредуктаза

**тГЦ**

загальний гомоцистеїн плазми

## Посилання

---

1. КРИСТЕНСЕН Б., ФРОССТ П., ЛЮСЬЄ-КАКАН С., СЕЛХАБ Дж., ГОЙЄТТ П., РОЗЕНБЛАТТ Д.С., ЖЕНЕСТ Дж., РОЗЕН Р. Кореляція поширеної мутації в гені метилентетрагідрофолатредуктази з рівнем гомоцистеїну в плазмі крові у пацієнтів з передчасною ішемічною хворобою серця. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997;17:569–573. doi: 10.1161/01.atv.17.3.569. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
2. КЛАРК Р., АРМІТЕЙДЖ Дж. Вітамінні добавки та серцево-судинний ризик: огляд рандомізованих досліджень вітамінних добавок, що знижують рівень гомоцистеїну. *Semin. Thromb. Hemost.* 2000;26:341–348. doi: 10.1055/s-2000-8101. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
3. DOSHI SN, MCDOWELL IF, MOAT SJ, PAYNE N., DURRANT HJ, LEWIS MJ, GOODFELLOW J. Фолієва кислота покращує ендотеліальну функцію при ішемічній хворобі серця за допомогою механізмів, значною мірою незалежних від зниження рівня гомоцистеїну. *Circulation.* 2002;105:22–26. doi: 10.1161/hc0102.101388. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
4. FROSST P., BLOM HJ, MILOS R., GOYETTE P., SHEPPARD CA, MATTHEWS RG, BOERS GHJ, DEN HEIJER M., KLUIJTMANS LAJ, VAN DEN HEUVEL LPWJ, ROZEN R. Кандидат на генетичний фактор ризику для судинних захворювань: поширена мутація в метилентетрагідрофолатредуктазі. *Нац. Жене.* 1995;10:111-113. doi: 10.1038/ng0595-111. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
5. HARMON DL, WOODSIDE JV, YARNELL JW, MCMASTER D., YOUNG IS, MCCRUM EE, GEY KF, WHITEHEAD AS, EVANS AE Поширений «термолабільний» варіант метилентетрагідрофолатредуктази є основним фактором, що визначає легку гіпергомоцистеїнемію. *QJ Med.* 1996;89:571–577. doi: 10.1093/qjmed/89.8.571. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
6. KANG SS, WONG PWK, NORUSIS M. Гомоцистеїнемія, спричинена дефіцитом фолієвої кислоти. *Метаболізм.* 1987;36:458–462. doi: 10.1016/0026-0495(87)90043-6. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
7. KERESZTESY JC, SILVERMAN M. Фактор кристалічного цитворуму з печінки. *J. Am. Chem. Soc.* 1951;73:5510. [ [Google Scholar](#) ]
8. КЛЕРК М., ВЕРХОЕФ П., КЛАРК Р., БЛОМ Х.Й., КОК Ф.Й., ШОУТЕН EG MTHFR 677C → T поліморфізм та ризик ішемічної хвороби серця: метааналіз. *JAMA.* 2002;288:2023–2031. doi: 10.1001/jama.288.16.2023. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
9. KLUIJTMANS LAJ, KASTELEIN JP, LINDEMANS J., BOERS GHJ, HEIL SG, BRUSCHKE AVG, JUKEMA JW, VAN DEN HEUVEL LPWJ, TRIJBELS FJM, BOERMA GJM, VERHEUGT FWA, WILLEMS FF, BLOM HJ Термолабільний метилен тетрагідрофолатредуктаза при ішемічній хворобі серця. *Тираж.* 1997;96:2573-2577. doi: 10.1161/01.cir.96.8.2573. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

10. ЛІМІНГ Р.Дж., ПОЛЛОК А., МЕЛВІЛЛ Л.Дж., ХЕМОМ К.Г. Вимірювання 5-метилтетрагідрофолієвої кислоти у людини за допомогою високоефективної рідинної хроматографії. *Метаболізм*. 1990;39:902–904. doi: 10.1016/0026-0495(90)90298-q. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
11. МАДЕР Р.М., ШТЕГЕР Г.Г., РІЗОВСЬКІ Б., ДЖАВАНСМАРД М.П., ШАЙТХАУЕР В., ДЖЕЙКЕС Р., РАЙНЕР Х. Стереоспецифічна фармакокінетика рац-5-метилтетрагідрофолієвої кислоти у пацієнтів з запущеним колоректальним раком. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1995;40:209–215. [ [Безкоштовна стаття РМС](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
12. МАДЕР Р.М., ШТЕГЕР Г.Г., РІЗОВСЬКІ Б., ЯКЕШ Р., РАЙНЕР Г. Різне стереоспецифічне зв'язування білків тетрагідрофолатів з сироватковим альбуміном людини. *J. Pharm. Sci.* 1994;83:1247–1249. doi: 10.1002/jps.2600830912. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
13. ТЕ ПОЕЛЕ-ПОТХОФФ МТ, ВАН ДЕН БЕРГ М., ФРАНКЕН ДГ, БОЕРС Г.Х., ЯКОБС К., ДЕ КРУН ІФ, ЕСКЕС Т.К., ТРІЙБЕЛС Дж.М., БЛОМ Х.Й. Три різні методи визначення загального гомоцистеїну в плазмі. *Ann. Clin. Biochem.* 1995;32:218–220. doi: 10.1177/000456329503200218. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
14. REFSUM H., UELAND PM, NYGÅRD O., VOLLSET SE Гомоцистеїн і серцево-судинні захворювання. *Annu. Rev. Med.* 1998;49:31-62. doi: 10.1146/annurev.med.49.1.31. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
15. ROSENBLATT DS, COOPER BA, LUE-SHING S., WONG PWK, BERLOW S., NARISAWA K., BAUMGARTNER RJ Розподіл фолатів у культивованих клітинах людини. Дослідження дефіциту 5,10-CH<sub>2</sub>-H<sub>4</sub> PteGlu редуктази. *Clin. Invest.* 1979;63:1019–1025. doi: 10.1172/JCI109370. [ [DOI](#) ] [ [Безкоштовна стаття РМС](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
16. STERN LL, BAGLEY PJ, ROSENBERG IH, SELHUB J. Перетворення 5-формілтетрагідрофолієвої кислоти в 5-метилтетрагідрофолієву кислоту не порушено у осіб з адекватним рівнем фолієвої кислоти, гомозиготних за мутацією С677Т у гені метилентетрагідрофолатредуктази. *J. Nutr.* 2000;130:2238–2242. doi: 10.1093/jn/130.9.2238. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]
17. ВІЛЛЕМС Ф.Ф., ЕНГЕВАЕРЕН В.Р.М., БОЕРС Г.Х.Й., БЛОМ Х.Й., ВЕРХОЙГТ Ф.ВА. Функція коронарного ендотелію при гіпергомоцистеїнемії: покращення після лікування фолієвою кислотою та кобаламіном у пацієнтів з ішемічною хворобою серця. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002;40:766–772. doi: 10.1016/s0735-1097(02)02016-8. [ [DOI](#) ] [ [PubMed](#) ] [ [Google Scholar](#) ]

---

Статті з Британського журналу фармакології надані тут завдяки люб'язному дозволу **Британського фармакологічного товариства**.