

Utredning av vitamin B₁₂- og folat-mangel

AV PETTER WETTERBERG

Mangel på vitamin B₁₂ fører til en makrocytær anemi (pernisiøs anemi), som i mikroskopet ikke kan skiller fra folat-mangelanemi. I tillegg får man både sentral og perifer nevropati ved B₁₂-mangel. Nevropatien kan være av alle typer, fra lett nedsettelse av berøringssans i føttene til myelopati med totale tverrsnittlesjoner i ryggmargen eller demenstilstander. Nevropati uten anemi har blitt ansett for å være svært sjeldent, men dette forekommer nok oftere enn hva man tidligere har trodd. Lett B₁₂-mangel øker sannsynligvis risiko for både vaskulær demens og Alzheimers sykdom. Tilførsel av store doser folinsyre kurerer en B₁₂-mangelanemi, men påvirker ikke nevropatiutviklingen.

Historikk

Årsaken til den dødelige (pernisiøse) anemien var på 1920-tallet fortsatt et mysterium. George Whipple studerte på denne tiden kostbehandling av anemi ved å tappe hunder for blod og så gi dem ulike typer av fôr. Han noterte at rødt kjøtt, og særlig lever, var det mest effektive for å få rask nydanning av erythrocytter. Inspirert av dette foreslo Harvard-hematologen George Minot i 1925 sin assistentlege William Murphy å prøve diettbehandling av pasienter med pernisiøs anemi. Det viste seg at en diett med 120–240 gram lever daglig ga dramatisk bedring av disse tidligere dødsdømte pasientene. De ble faktisk helt friske og forble friske så lenge de overholdt dietten sin. Minot og Murphy publiserte sine resultater i 1926. Det var vanskelig å tro at denne alvorlige sykdommen kunne kureres med så enkle midler, men det viste seg å være helt riktig. Minot, Murphy og Whipple ble belønnet med Nobelprisen i 1934. Det ble tidlig utviklet

konsentrater av lever for behandling av pernisiøs anemi, men først i 1948 lyktes det en forskergruppe under

Petter Wetterberg

er født i 1958, oppvokst og utdannet i Lund i Skåne. Jobbet deretter frem til 1996 i Eksjø og Næssjø i Småland og ble spesialist i geriatri. Jobbet så som kommunelege i Herøy kommune i Møre og Romsdal frem til 2000 da han flyttet til Ålesund. Siden dess arbeidet ved det private medisinske senteret Medi 3 som allmennlege og privatpraktiserende geriater. Jobber også to dager i uken som tilsynslege på sykehjem.

ledelse av Karl Folkers ved Merck å isolere og beskrive ren vitamin B₁₂. Men hvorfor måtte disse stakkars pasientene spise så mye lever? Og hvorfor klarte friske mennesker seg uten å få anemi selv om de ikke spiste lever? Disse spørsmålene interesserte en av Minots elever, William Castle. Han gjennomførte forsøk som vel neppe ville ha blitt godkjent av en etisk komité i dag, men som demonstrerte at en faktor i magesekken manglet hos disse pasientene. Hans ganske kvalmende måte å gjøre dette på, var å spise rå kjøttdeig for så å spy opp den igjen etter en stund. Oppkastet ble inkubert ved kroppstemperatur og deretter gitt i sonde til pasienter med pernisiøs anemi. Og se, det virket like bra som leverdietten! Castle konkluderte at det måtte finnes en ytre, «extrinsic» faktor i kjøtt og lever, og en indre, «intrinsic» factor i magesaften.

Nå begynner vi å kjenne oss igjen. Intrinsic factor husker man jo fra medisinstudiet. Extrinsic factor er altså vitamin B₁₂ som finnes i så pass store mengder i lever at man klarer å absorbere nok passivt. I kjøtt er mengden liten, men ved nærvær av en intrinsic factor, et glykoprotein i magesekken som spesifikt binder B₁₂, klarer vi å ta opp nok B₁₂ fra maten for ikke å få mangel. Intrinsic factor produseres av parietalcellene, og pernisiøs anemi er en autoimmun sykdom der man utvikler antistoff rettet mot parietalcellene.



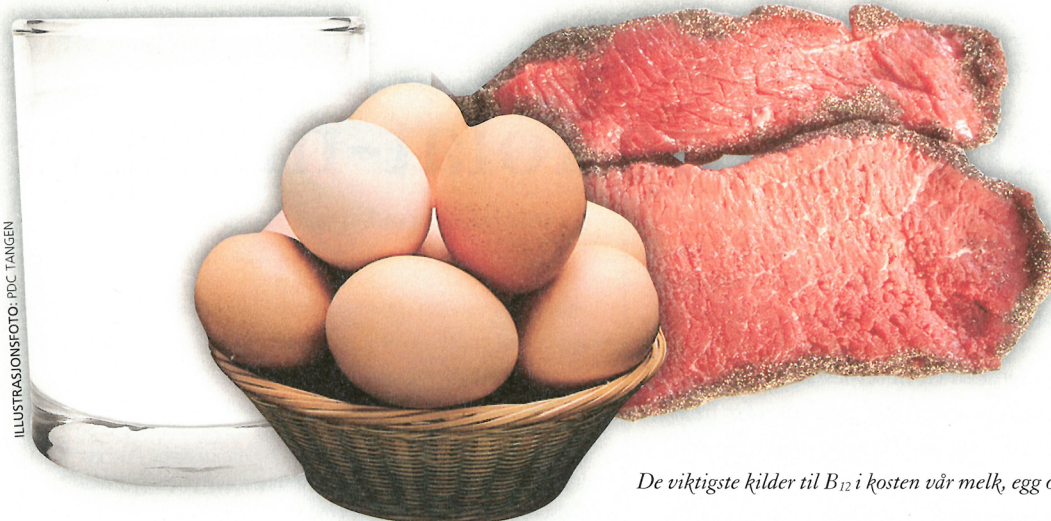
GEORGE WHIPPLE

GEORGE MINOT

WILLIAM MURPHY



George Whipple, George Minot og William Murphy fikk Nobelprisen i 1934



ILLUSTRASJONSFOTO: PDC TANGEN

De viktigste kilder til B₁₂ i kosten vår melk, egg og kjøtt.

Forekomst av Vitamin B₁₂

B₁₂ syntetiseres bare av mikroorganismer, særlig jordbakterier, og ikke av noen dyr eller planter. De viktigste kilder til B₁₂ i kosten vår er kjøtt, egg og melk. Lever har som sagt et spesielt høyt innhold av B₁₂. Kostindusert mangel på B₁₂ er meget uvanlig dersom man ikke har mangel på intrinsic factor eller noen annen form for malabsorpsjon. En strikt vegandiett uten kjøtt, egg og melk kan dog også føre til mangel. Dyr som er planteetere kan absorbere B₁₂ produsert av de bakteriene de har i sitt eget tarmsystem, men den evnen mangler vi. Våre tarmbakterier produserer også B₁₂, og gjødsling med kloakk kombinert med dårlig hygiene er blitt lansert som forklaring på hvorfor veganer i tredje verden ikke utvikler B₁₂-mangel.

B₁₂-opptaket fra tarmen er meget effektivt ved nærvær av intrinsic factor: 65 prosent av en peroralt tilført dose B₁₂ blir da absorbert. Men, som Murphy viste for nesten 80 år siden, vi kan ta opp B₁₂ fra føden også *uten* nærvær av intrinsic factor. Da vil dog bare 1 prosent av en peroralt tilført dose B₁₂ tas opp (gjennom passiv absorpsjon).

Dagsbehovet av B₁₂ er lite, og beregnes til rundt to mikrogram. Lagringskapasiteten i leveren er stor, 3000–5000 mikrogram, det vil si rundt fem års behov.

Biokjemiske forhold

Hos pattedyr eksisterer kun to kjente reaksjoner der B₁₂-derivert kobalamin er kofaktor.

1. Remetylering av homocystein til metionin ved samtidig demetylering av metyltetrahydrofolat.
Mangel på B₁₂ vil derfor føre til en opphopning av *homocystein*.
2. En biokjemisk merkelig «isomerisasjon» av metylmalonyl-CoA til succinyl-CoA. Metylmalonyl-CoA (metylmalonat + coenzym A) er et nedbrytningsprodukt av en-

kelte aminosyrer og fettsyrer, og når det forvandles til sin isomer succinyl-CoA kan det gå videre i metabolismen ved at det går inn i sitronsyresyklus.

En mangel på B₁₂ vil derfor også føre til en opphopning av *metylmalonat*.

Homocystein er kjemisk sett en aminosyre, men den er kun en intermediær metabolitt. Den har ingen DNA-kode og det finnes ingen peptider som inneholder homocystein som byggestein. Som man kanskje husker fra studietiden, så finnes det en svovelholdig aminosyre som heter cystein. Homocystein er strukturelt lik cystein, men har en sidekjede som er ett karbonatom lenger. Kjemisk sett er dog homocystein nærmere slekt med en annen essensiell aminosyre, metionin. Metionin er nemlig homocystein + en metylgruppe. Denne metylgruppen kan «aktiveres» ved at metionin kobles til adenosin, og deretter kan metionin donere sin metylgruppe til en annen molekyl. Metionin er kroppens viktigste donor av metylgrupper, og er involvert i mer enn 100 ulike metyleringsreaksjoner. Deriblant har vi en rekke viktige synteseveier, f.eks for fosfolipider, ulike proteiner, myelin, katekolaminer, DNA, RNA etc. Når metionin har gitt fra seg sin metylgruppe så er homocystein det som gjenstår. Metionin minus metylgruppe = homocystein.

Homocystein kan deretter gå hovedsakelig to forskjellige metabolismeveier:

1. Re-metylering til metionin, ved at metyltetrahydrofolat gir fra seg en metylgruppe. Denne reaksjonen går i to trinn via metylering og demetylering av kobalamin. For at homocystein skal kunne remetyleres til metionin kreves altså nærvær av så vel (metyltetrahydro-)folat som **B₁₂**!
2. Omdanning til alfaketobutyrat og cystein, via cystationin. Disse to reaksjonene katalyseres av to **vitamin B₆**-hengige enzymer.

Gjennom ovenstående kan man forstå at mangel på enten B₁₂, folinsyre (folat) eller B₆ vil føre til opphopning av umetabolisert homocystein.

Metylmalonat er også en intermediær metabolitt. Den opptrer bundet til coenzym A som metylmalonyl-CoA. Dette er nest siste trinn i metabolismen av metionin, valin, isoleucin og fettsyrer med et ujevnt antall karbonatomer. Neste trinn katalyseres av et enzym som må ha vitamin B₁₂ som kofaktor. Mangel på B₁₂ fører derfor til akkumulering av metylmalonyl-CoA, målbart i blod som metylmalonsyre / metylmalonat. Metylmalonyl-CoA konkurrerer med et av de normale substratene for fettsyresyntese, malonyl-CoA, hvilket gir en generell inhibering av fettsyresyntesen. Denne konkurransen fører også til syntese av unormale, grenede fettsyrer som så blir bygget inn i fosfolipider og membraner. De grenede fettsyrene forandrer de strukturelle og funksjonelle egenskapene til membranene og fører til neuropati på grunn av skader i myelin og axonale membraner.

Vitamin B₆ – pyridoksin – er et vitamin som er betydningsfullt i denne sammenheng fordi det er utgangspunkt for pyridoksalfosfat, PLP. PLP er aktiv gruppe i mange enzymer som aminotransferaser, dekarboksylaser, aldolaser, etc. Koblingen mellom homocystein og vitamin B₆ er den tidligere omtalte metabolismeveien for homocystein hvor man ender opp med cystein og alfaketobutytrat. Disse to reaksjonene katalyseres av PLP-enzymene cystationinsyntetase og cystationinase.

Folinsyre (alternative navn: folsyre, folacin, folat) er et vitamin som det finnes rikelig av i frukt, grønnsaker og grove kornprodukter. Den naturlig forekommende formen er N⁵-metyltetrahydrofolat som kan brukes direkte til rementylering av homocystein for gjendannelse av metionin. Ren folinsyre (som den som fås i tablettform) må først reduseres i to trinn til tetrahydrofolat og metyleres. Folinsyre har en rekke andre viktige funksjoner som ikke skal gås gjennom i detalj, men purinsyntese og DNA-syntese er prosesser der ulike former av folat, som for eksempel metylenetetrahydrofolat, er nødvendige. Kostindusert mangel på folinsyre er ikke uvanlig hos de med dårlig kosthold.

Er høy homocystein en risikofaktor?

Hyperhomocysteinemi er knyttet til økt risiko for hjertekarsykdom, stroke, cerebral mikroarteriosklerose, vaskulær demens og Alzheimers sykdom. Det har selvfølgelig vært mye diskutert om hyperhomocysteinemi er en konsekvens av eller en forgjenger til sykdom. Annen del av diskusjonen dreier seg om hvorvidt hyperhomocysteinemi virkelig er en kausal risikofaktor. Mer enn 40 epidemiologiske studier har vist at forhøyet homocysteinnivå har en uav-

hengig assosiasjon til øket risiko, det vil si selv om man i størst mulig grad «korrigerer» for andre kjente risikofaktorer som for eksempel røyking, kolesterol, alder og blodtrykk. Høyt homocystein prognostiserer også vaskulær sykdom. Det vil si at dersom man følger en gruppe friske personer over tid så vil insidensen av vaskulær sykdom være høyere hos dem som har forhøyet homocystein i utgangspunktet. Det finnes en doseresponsammenheng og effekten blir signifikant allerede ved nivåer over 11–12 mmol/l. Én mmol/l stigning i homocysteinnivå gir en risikoøkning tilsvarende 0,5 mmol/l stigning av kolesterolnivå.

Det finnes ikke noen sikker forklaring på hva skademekanismen skulle være. Det har vært foreslått at det finnes en direkte toksisk effekt av homocystein på blodkar. In vitro kan man demonstrere at homocystein har en eksitotoksisk effekt på lik linje med glutamat, det vil si at høye konsentrasjoner fører til celledød via overstimulering. Det finnes også en teori om at homocystein på grunn av sin reaktivitet skulle gi endotel-dysfunksjon som følge av oxidativ stress.

Blodprøver

Pris: Det er vanskelig å uttale seg generelt om pris på laboratorieanalyser, da det er store variasjoner mellom laboratorier. Flere steder vil dog en homocysteinanalyse prismessig ligge på nivå med S-folat + B₁₂ (og i tillegg gi bedre informasjon). Metylmalonat er på mange laboratorier betydelig dyrere enn «vanlig» S-B₁₂, på grunn av at man bruker kommersielle «kits» som er relativt kostbare. Større laboratorier kan bruke HPLC-teknikk (høytrykks væskrokromatografi) som gjør analysen billigere.

S-B₁₂, altså serumnivå av vitamin B₁₂, har sin verdi ved utredning av malabsorpsjon, anemi og hyperhomocysteinemi, men egner seg ikke så godt som screening for B₁₂-mangel. Dersom man av kostnadshensyn vil bruke S-B₁₂ som screening bør man være klar over at 100–280 pmol/l er en gråsonerområde der pasienten kan ha en klar mangel. Analyse av metylmalonat gir en mer eksakt beskjed om hvorvidt det foreligger B₁₂-mangel. Lav S-B₁₂-verdi med normalt P-homocystein og S-metylmalonat skal ikke behandles. Kilder til falskt lave verdier er for eksempel: Megadoser av vitamin C (sannsynligvis reell B₁₂-mangel, da vitamin C kan ødelegge B₁₂-molekylet). Grav folat- eller jernmangel. Graviditet eller bruk av p-piller. Medfødt mangel på transportproteiner (transkobalaminer). Myelomatose.

Det har ingen hensikt å måle S-B₁₂ for å følge behandlingseffekt. S-B₁₂ blir alltid høy ved substitusjon, særlig ved parenteral behandling. Falskt høye B₁₂-verdier ses også ved leversykdommer og myeloproliferative sykdommer. Dersom man finner en høy S-B₁₂-verdi (ofte rundt 1000 pmol/l) og

man sikkert kan utelukke at pasienten er blitt substituert, motiverer dette hematologisk utredning og kontroll av leververdier.

S-folat anbefales nå som standard analysemetode for folat, da erythrocyttfolat (S-Ery-folat) har vist seg ikke å tilføre så mye mer i diagnostikken som man tidligere har trodd. Problemet med S-folat er det samme som med S-B₁₂, der finnes en gråson (4,5–10 nmol/l) innenfor hvilken det kan foreligge en klar folatmangel tross at verdien er «normal». P-homocystein gir bedre informasjon om folatstatus, men er ofte en dyrere analyse.

P-totalhomocystein (P-tHCy). Homocystein forekommer i liten grad fritt i blodet. Mesteparten er bundet til albumin og resten har en tendens til å danne dimerer ved hjelp av disulfidbindinger. Homocystein kan danne en dimer med seg selv (homocystin), og også med cystein. P-totalhomocystein avser den totale mengden homocystein inkludert fritt, bundet og dimerer. Den vanlige skrivefeilen homocystin betegner altså kun dimeren «dihomocystein».

- Forhøyet P-tHCy ses ved en rekke forskjellige tilstander, der den vanligste er nyresvikt. Også en lett nyresvikt gir forhøyet verdier av homocystein. Hos pasienter med nyresvikt ligger homocysteinverdien ofte på 20–40 µmol/l.

- Ved magetarmsykdommer inkludert cancer, malabsorpsjon (f eks cøliaki), inflammatoriske tilstander, thyreoidasjukdommer, diabetes og alkoholisme ser man også forhøyet homocystein.
- Det forekommer enzymvarianter hos inntil 15–20 prosent av en normalbefolkning som kan gi forhøyet homocystein, ofte i nivået 40–50 µmol/l.
- Ulike medikamenter kan gi forhøyet P-tHCy, f eks N₂O (lystgass), methotrexate, fenytoin, metformin (Glucophage®), protonpumpehemmere (Nexium®, Losec®, Lanzo®, etc).
- Endelig finnes det en gruppe arvelige enzymdefekter som fører til svært høye nivåer (>100–150 µmol/l) av homocystein. Disse sammenfattes under benevnningen homocystinuri. Dette er sjeldne tilstander som forekommer hos fra 1/20 000 til 1/350 000 levende fødte. Den syke får vaskulær trombotisk sykdom i ung alder.

P-totalhomocystein er beste måten å kontrollere folsyre- og B₁₂-status. Eksempler på tilstander og situasjoner der det blir anbefalt å måle P-tHCy er:

- Hjertesykdom (angina, infarkt, svikt)
- Vaskulær sykdom (arteriosklerose)
- Cerebrovaskulær sykdom
- Kognitiv svikt, demens
- Generelle nevrologiske symptomer som nevropati, ataksi, konsentrasjonsvansker etc.
- Eldre, spesielt dersom diffuse symptomer som ustøhet, tretthet, dårlig hukommelse
- Alle typer av magetarmsykdommer, spesielt etter reseksjoner, men også ved mer diffuse magetarmsymptomer for å avsløre eventuell malabsorpsjon
- Veganer / vegetarianer
- Tromboser, også familiære (med tanke på eventuelle enzymmutasjoner med høyt P-tHCy)
- Autoimmune sykdommer; diabetes, RA, hypotyreose

Referanseverdien er <13 µmol/l, for eldre ≤20 µmol/l. Verdier over 20 µmol/l gir mistanke om vitaminmangel. Verdier >40–50 µmol/l med normalt metylmalonat taler for en genetisk variant av MTHFR (metyltetrahydrofolatreduktase). Verdier >100–150 µmol/l gir mistanke om medfødt enzymdefekt (homocystinuri).

Dersom man finner forhøyet P-tHCy bør man komplettere med S-metylmalonat, gjerne også S-B₁₂ og S-folat. Det er også nødvendig å tenke på eventuelle bakenforliggende sykdommer som nevnt ovenfor.

Fastende P-tHCy gir mest riktige verdier, men det er ikke nødvendig å måle fasteverdier ved screening. Et proteinrikt måltid kan gi falskt høy verdi. Et spesielt problem ved denne prøven er at homocysteinproduksjonen fortsetter i erythrocyttene etter prøvetaking, og plasma må derfor sentrifugeres fra innen ½ time. Eventuelt kan prøven stå opp til to timer i kjøle-



ILLUSTRASJONSFOTO: PDC TANGEN

skap før sentrifugering. Plasma er deretter stabilt tre døgn i romtemperatur. De vanligst brukte analysemetodene krever EDTA-plasma.

S-metylmalonat er den verdi som best avspeiler B₁₂-status. Metylmalonat påvirkes ikke ved folatmangel, kun ved B₁₂-mangel, og påvirkes ikke av folatsubstitusjon. Dermed er metylmalonat beste måten å kontrollere effekt av pågående B₁₂-behandling.

Vitaminbehandling ved hyperhomocysteinemi

Dersom man gir behandling med kofaktorene B₁₂, folat og B₆ (som for eksempel i tablettene «Triobe») så vil man få en senkning av P-tHCy ved at metabolismen av homocystein optimaliseres. Problemet er at det ikke finnes beviser for at senkning av *lett forhøyet* homocysteinnivå påvirker vaskulær risiko.

Ved konstatert vitaminmangel er det ikke vanskelig å konkludere at man skal behandle med substitusjon av mangelen. Likedan vil nok mange anbefale senkning av homocysteinnivåer over 20 mmol/l, uansett om man finner noen bakenforliggende vitaminmangel eller sykdom. Det er vanskeligere å anbefale senkning av *lett forhøyet* homocysteinnivå for å forebygge sykdom.

I en leder i tidsskriftet «Stroke» i 2002 hevdet Amos D Korczyn, professor i neurologi ved Universitetet i Tel Aviv, at man bør gi tilskudd av B₁₂ og folat til alle eldre, særlig til dem med økt risiko for vaskulære sykdommer og demens. Her til lands er vi nok betydelig mer konservativ så langt, spesielt med tanke på at det ennå ikke foreligger endelige beviser for at vitaminsubstitusjon som senker homocysteinnivået har positive effekter på vaskulær risiko.

Det pågår store intervensjonsstudier for å undersøke hvorvidt man kan oppnå redusert morbiditet ved å senke et forhøyet homocysteinnivå, analogt med senkning av forhøyet kolesterol. Det finnes arvelige tilstander med alvorlig forhøyet homocysteinnivå (homocystinuri) der man har sett klare behandlingseffekter. Disse personene får vaskulære sykdommer i unge år, men man kan forhindre dette ved å senke deres homocysteinnivåer.

Man har i små studier vist bedret kognisjon hos demente med høyt homocystein (> 15 mmol/l) ved at man senket homocysteinnivået. De som ikke hadde forhøyet nivå i utgangspunktet fikk ikke den effekten. På samme måte er det vist langsommere progress av plaques i arteria carotis ved senkning av et forhøyet homocysteinnivå (> 14 mmol/l). In vitro kan man også vise bedret endotelfunksjon ved senkning av et forhøyet homocysteinnivå (> 14 mmol/l).

Peroral eller parenteral B₁₂-behandling?

Pernisiøs anemi kan behandles med peroral B₁₂-substitusjon, som Minot og Murphy viste allerede i 1926. B₁₂-behandling gis dog fortsatt stort sett parenteralt her i Norge. Som nevnt ovenfor absorberes en prosent av en peroral dose passivt i tynntarmen uten nærvær av intrinsic factor. Da dagsbehovet er to (til fem) mg, er en nødvendig peroral daglig dose: 200–500 mg = 0,2–0,5 mg, forutsatt at det ikke foreligger annen tarmsykdom. Ved anemistilstander anbefales at man først «lader opp» pasienten med fire til fem B₁₂-injeksjoner. Noen pasienter med pernisiøs anemi vil trenge en høyere peroral dosering. Effekten av gitt behandling kan følges ved å måle S-metylmalonat, som skal normaliseres dersom pasienten får i seg nok B₁₂. Merk at S-B₁₂ ikke gir konkret svar på dette!

Ved myelopati finnes det holdepunkter for at serumnivået av B₁₂ må holdes høyt i opp til ett år for å få full effekt. For å oppnå det må man gi ukentlige injeksjoner av vitamin B₁₂.

Folinsyrebehandling

Anbefalt daglig inntak av folinsyre er 0,3 mg/d. For gravide og ammende anbefales 0,4 mg/d. Gravide med risiko for neuralrørsdefekt skal ha fire mg/d inntil 12. svangerskapsuke. Norske kostundersøkelser viser at de fleste voksne har et for lavt inntak (cirka 0,2 mg/d).

Folatberikning av mel er delvis innført i USA, men mange er bekymret for risikoen for å dekke over utvikling av B₁₂-mangel. Tilfører man rikelig med folat så vil man jo ikke utvikle anemi, og heller ikke høyt homocystein som tegn på B₁₂-mangel. Teoretisk sett kunne dette føre til at flere får B₁₂-neuropati på grunn av at de ikke blir oppdaget i tide.

Sammenfatning

- Screening med P-homocystein er bedre, men kan være noe dyrere enn S-folat og S-B₁₂.
- Høyt P-homocystein er assosiert med økt risiko for kardiovaskulære sykdommer og demens.
- Folatmangel gir høyt homocystein.
- Kostindusert folatmangel er ikke uvanlig i Norge.
- B₁₂-mangel gir høyt homocystein og høyt metylmalonat.
- Mange andre tilstander kan også gi forhøyet homocystein.
- B₁₂-mangel kan behandles peroralt, med enkelte forbehold.

Har du kommentarer, reaksjoner eller spørsmål om artikkelen? Inspirerer den deg til å skrive noe selv? Ansvarlig redaktør for denne artikkelen har vært Jannike Reymert. Kontakt henne på jannike.reymert@online.no