

Björn Hultberg, överläkare, kliniskt kemiska laboratoriet (*bjorn.hultberg@klinkem.lu.se*)

Anders Isaksson, överläkare, kliniskt kemiska laboratoriet

Karin Nilsson, forskningssjuksköterska, psykiatriska kliniken

Lars Gustafson, professor, psykiatriska kliniken; samtliga Universitetssjukhuset i Lund

Optimal användning av markörer för kobalamin-/folatstatus

Resultat från utvärdering i en psykiatrisk patientgrupp

■ Kobalamin-/folatbrist kan ge upphov till neuropsykiatriska symtom. Tidigare studier som belyser relationen mellan sådana symtom och kobalamin-/folatbrist hos äldre har baserats på mätningar av dessa vitaminer i serum/plasma eller blod, vilket inte alltid avspeglar vävnadstillgången av vitaminerna. På senare tid har två nyare markörer (homocystein och metylmalonsyra), som belyser vävnadstillgången av kobalamin/folat, därför rönt ett tilltagande intresse. I denna artikel sammanfattas resultaten från två studier, där användningen av olika markörer för kobalamin-/folatstatus utvärderats i en psykiatrisk patientgrupp.

Studier av psykiska sjukdomar hos äldre påvisar olika typer av organiska och icke-organiska orsaker och riskfaktorer, som ofta samverkar. Metabola och nutritionella störningar kan orsaka eller förvärra dessa psykiska sjukdomstillstånd. Kobalamin-/folatbrist kan ge upphov till svåra neuropsykiatriska sjukdomstillstånd, även om bristen i många fall endast förvärrar redan existerande psykiska sjukdomar.

De referensintervall som gäller för kobalaminer och folater är framtagna i populationer där eventuell brist på dessa vitaminer inte med säkerhet kunnat uteslutas. Intervallen är därför i stor utsträckning deskriptiva och anger således inte helt säkert om optimal tillgång eller brist på vitaminer föreligger. Ett stort kliniskt problem är därför osäkerheten om vilka gränsvärden som bör användas i diagnostiken av kobalamin-/folatbrist.

Homocystein och metylmalonsyra

På senare tid har två nyare markörer (homocystein och metylmalonsyra), som belyser vävnadstillgången på kobalamin/folat, därför rönt ett alltmer ökande intresse. För en översikt av detta område hänvisar vi till vår tidigare artikel i Läkartidningen [1]. Homocystein bildas i transmetyleeringsprocessen (Figur 1), där S-adenosylmetionin omvandlas till S-adenosylhomocystein, som i sin tur hydrolyseras till homocystein [2]. Homocystein remetyleras till metionin, huvudsakligen av det kobalamin- och folatberoende enzymet metioninsyntas. Homocystein kan också omvandlas till cystein via en transsulfureringsprocess, som bl a katalyseras av β -

SAMMANFATTAT

Kobalamin-/folatbrist är vanligt hos äldre och kan ge upphov till neuropsykiatriska symtom.

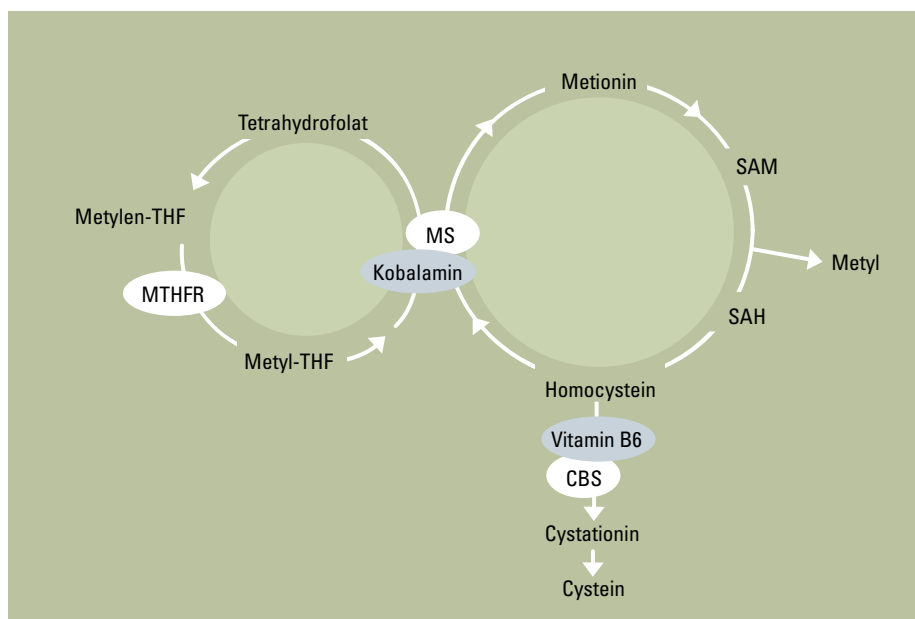
Olika markörer för kobalamin-/folatstatus har utvärderats i en psykiatrisk patientgrupp. Resultatet visar att homocystein i plasma samt kobalamin och folat i serum är bäst lämpade för att utvärdera kobalamin-/folatstatus, medan bestämning av metylmalonat i serum och folat i helblod skulle kunna undvaras.

Patienter som visar ökning av enbart plasmahomocystein är en riskgrupp, som bör följas med upprepade bestämningar av plasmahomocystein.

Bestämning av plasmahomocystein hos psykiatriska patienter är viktigt, eftersom vi tidigare visat att kobalamin- och folatbehandling av patienter med förhöjt plasmahomocystein inte bara sänkte plasmahomocystein utan också förbättrade patienternas kognitiva funktion.

cystationinsyntas [2]. Om dessa båda system inte förmår hålla den intracellulära halten av homocystein på låg nivå exporteras överskottet av homocystein till extracellulärrummet. Under normala fysiologiska förhållanden är homocysteinnivån framför allt beroende av remetyleringsprocessen, varför plasmanivån av homocystein är ökad vid kobalamin-/folatbrist [3, 4]. Kobalamin är också en essentiell kofaktor till enzymet L-metylmalonyl-CoA-mutas [5], som katalyserar omvandlingen av metylmalonyl-CoA till succinyl-CoA. Förhöjd nivå av metylmalonsyra i plasma/serum ses därför vid kobalaminbrist men inte vid folatbrist [4, 6].

Det finns emellertid andra orsaker till ökning av homocystein i plasma/serum än kobalamin-/folatbrist [7-9]. En ök-



Figur 1. Bilden visar att remetylering av homocystein är beroende av tillgången till både kobalamin och folat. THF = tetrahydrofolat, SAM = S-adenosylmetionin, SAH = S-adenosylhomocystein, MTHFR = metyltetrahydrofolatreduktas, MS = metioninsyntas, CBS = cystationin- β -syntas.

ning av homocystein i serum/plasma ses även vid njurinsufficiens och vid mutationer som påverkar remetyleringsprocessen (t ex den mutation som ger upphov till den värme-känsliga metyltetrahydrofolatreduktasbristen, som berör ca 10 procent av populationen) eller transsulfureringsprocessen (t ex heterozygoti för β -cystationinsyntasbrist).

Vi och andra forskargrupper har i tidigare studier påvisat en hög frekvens av förhöjt homocystein i plasma hos psykiogeriatriska patienter, medan metylmalonsyra i serum inte varit förhöjt i samma utsträckning [10-13]. Många studier har också visat att plasmahomocystein relaterar till kognitiva funktioner hos både friska äldre och psykiogeriatriska patienter, vilket däremot inte metylmalonsyra i serum gör [12-21]. I våra tidigare studier kunde vi inte peka ut huvudorsaken till de förhöjda plasmahomocysteinnivåerna hos de psykiogeriatriska patienterna, eftersom de flesta patienter med förhöjda halter uppvisade värden inom referensintervallen för kobalamin, folat och kreatinin [10-12]. De ökade homocysteinnivåerna orsakas dock troligen i de flesta fall av bristande intracellulär tillgång på kobalamin och/eller folat. Vi har därför nyligen genomfört en undersökning [22] för att utreda vilka analyser som är optimala i en utvärdering av folat-/kobalaminstatus i en stor (n=475) och väl definierad psykiogeriatrisk patientgrupp. För att utvärdera informationsvärdet av serum- och blodfolat har vi dessutom jämfört utfallet av dessa i en subpopulation (n=141) av den stora gruppen [23].

Patientgrupperna

Den stora populationen bestod av 475 patienter (213 män och 262 kvinnor, medelålder 76,3 \pm 10,4 år) som utretts vid psykiogeriatriska kliniken vid Universitetssjukhuset i Lund. Patienter med någon form av vitaminbehandling uteslöts från studien. Blodfolat och serumfolat jämfördes i en subgrupp ur den stora gruppen och bestod av 141 patienter (62 män och 79 kvinnor, medelålder 76,8 \pm 9,7 år). De olika diagnoserna i de båda grupperna framgår av Tabell I.

Metoder och referensintervall

Homocystein i plasma bestämdes med en högtrycksvätskekromatografimetod [24]. Metylmalonsyra i serum bestämdes med gaskromatografi-masspektrometri [25]. Den övre referensintervallgränsen (95:e percentilen) för plasmahomocystein hos äldre är 19,9 μ mol/l [26] och för metylmalonsyra

Tabell I. Diagnoser i de psykiogeriatriska patientgrupper som studerades.

Diagnos	Den stora patientgruppen	Subgruppen
Alzheimer-demens	79	28
Frontotemporal demens	14	4
Vaskulär demens	167	45
Ospecificerad demens	24	10
Annan demens	35	21
Konfusionstillstånd	15	4
Depression	61	13
Andra psykiatriska sjukdomar	41	8
Lätt kognitiv dysfunktion	39	8

Annan demens: patienter med annan specificerad demens (huvudsakligen en blandning av vaskulär demens och Alzheimer-demens).

i serum 0,41 μ mol/l [27]. Eftersom studier har visat att nivåerna av plasmahomocystein och metylmalonsyra i serum har god överensstämmelse mellan olika laboratorier i Skandinavien testades även utfallet av andra referensintervall som används för dessa metaboliter. Således testades två andra och ofta använda övre referensgränser för metylmalonsyra i serum (0,28 μ mol/l, erhållet från 235 danska normalpersoner, där åtta personer uteslöts på grund av höga metylmalonsyrvärden i serum [28], och 0,376 μ mol/l, erhållet från 50 normala blodgivare i Denver, USA [3]). För plasmahomocystein testades också utfallet vid användning av en lägre och en högre övre referensintervallgräns (18 och 22 μ mol/l) än den vi normalt använder för äldre populationer (19,9 μ mol/l).

Kobalamin och folat bestämdes med kompetitiva proteinbindningsmetoder. Referensintervallen för kobalamin och folat är bl a beroende av mätmetod och referenspopulation. För kobalamin i serum har vi använt referensintervallet 150-650 pmol/l. Referensintervallet för serumfolat med vår metod är 7-39 nmol/l och för folat i blod 180-725 nmol/l.

Utfall av markörerna

I den stora patientgruppen (475 patienter) jämfördes nivåerna av de olika markörerna för kobalamin-/folatstatus (serumkobalamin, blodfolat, plasmahomocystein och metylmalonsyra i serum) med varandra (Tabell II) [22]. Resultaten visar

Tabell II. Utvärdering av markörer för kobalamin-/folatstatus hos 475 psykiogeriatriska patienter.

	Antal patienter med normala markörer, procent	Antal av dessa patienter med patologiska fynd av de andra markörerna, procent
S-metylmalonsyra <0,41 µmol/l	409 (86)	168/409 (41)
P-homocystein <19,9 µmol/l	287 (60)	50/287 (17)

att 409 patienter hade normala nivåer av metylmalonsyra (<0,41 µmol/l). Av dessa hade dock 168 (41 procent) patologiska värden av åtminstone en av de andra markörerna för kobalamin-/folatstatus (39 patienter hade sänkta serumkobalaminer, 45 hade sänkt blodfolat och 136 förhöjt plasmahomocystein).

Normala nivåer av plasmahomocystein (<19,9 µmol/l) observerades hos 287 patienter (Tabell II). Av dessa hade endast 50 (17 procent) patologiska värden av någon av de andra markörerna (29 hade sänkta serumkobalaminer, 18 hade sänkt blodfolat och 15 förhöjt metylmalonsyra i serum). Om patienter med sänkta nivåer av serumkobalaminer och/eller blodfolater också uteslöts från dessa 50 patienter återstod endast 9 patienter med lätt förhöjda värden av metylmalonsyra (0,42–0,81).

Av de 188 patienterna med förhöjt plasmahomocystein hade 88 en selektiv ökning av plasmahomocystein. Vi kunde påvisa att dessa 88 hade lägre blodfolat och högre serumkreatinin än de 178 patienter som hade normala värden av samtliga markörer. Således kan selektiva öknings av plasmahomocystein vara en tidig varning för utveckling av folatbrist. Användningen av alternativa övre referensgränser för plasmahomocystein (18 och 22 µmol/l) och metylmalonsyra i serum (0,28 och 0,376 µmol/l) medförde ingen diagnostisk förbättring jämfört med våra vanligen använda referensgränser.

Blod- eller serumfolat

Den slumpvis valda subgruppen (141 av totalt 475 patienter, Tabell I) studerades för att belysa frågan om blod- eller serumfolat skall användas för utvärdering av folatbrist [23]. Vi kunde visa att nivån av folat i både serum och blod var lägre i patientgruppen med förhöjt plasmahomocystein än i gruppen med normalt homocysteinvärde. Folat i serum och blod visade god samvariation, och bägge korrelerade inverst till nivån av plasmahomocystein. Endast en av patienterna med serumfolat över 12 nmol/l hade förhöjd plasmanivå av homocystein. Ingen sådan skarp gräns kunde ses beträffande plasmahomocystein och blodfolat. Denna skillnad i serum- och blodfolat i relation till plasmahomocystein beror troligen på att serumfolat och plasmahomocystein omsätts betydligt snabbare än blodfolat [29].

32 av de 49 patienter som hade förhöjt plasmahomocystein uppvisade sänkt serumfolat (<7,0 nmol/l), och 7 av dessa patienter hade dessutom tecken på kobalaminbrist. Ytterligare 3 patienter hade sänkt blodfolat (<180 nmol/l). Om bara blodfolat använts i stället för serumfolat hade endast 17 av patienterna uppvisat sänkt folatnivå. 10 patienter hade endast tecken på kobalaminbrist. Sammanfattningsvis kunde således tecken på folat-/kobalaminbrist påvisas hos 45 av 49 patienter med förhöjt plasmahomocystein.

Kognitiv funktion i relation till markörerna

Ett stort antal studier har publicerats om markörer för kobalamin-/folatstatus och deras relation till kognitiv funktion och

psykisk sjukdom, och många av dessa har påvisat ett samband mellan plasmahomocystein och kognitiv funktion hos både friska äldre personer och psykiogeriatriska patienter, medan metylmalonsyra i serum inte har uppvisat någon större samvariation med kognitiva funktioner [12-21]. Dessutom har en studie visat att förhöjt metylmalonsyra i serum inte förutsäger ytterligare ökning av metylmalonsyra med tiden och inte heller kliniska manifestationer relaterade till kobalaminbrist [30].

Således förefaller plasmahomocystein i högre grad än metylmalonsyra i serum vara associerat med neuropsykiatrisk dysfunktion. Nivån av plasmahomocystein avspeglar den integrerade intracellulära tillgången till folater och kobalaminer, eftersom dessa vitaminer är nödvändiga vid remetylering av homocystein till metionin (Figur 1). Därmed avspeglar homocysteinnivån också transmetyleringsfunktionen i cellen. En hypotes är att relationen mellan plasmahomocystein och kognitiv funktion beror på att hypometylation leder till neurologiska skador och neuropsykiatriska symtom [1, 10, 19].

Folater, kobalaminer och plasmahomocystein

Kobalaminhalten mäts i serum/plasma, medan halten av folat kan bestämmas i plasma, serum, helblod eller erythrocyter. Folathalten i erythrocyter och helblod avspeglar huvudsakligen folatstatus då blodkroppen bildades [31]. Folathalten i erythrocyter och helblod påverkas således obetydligt av fluktuerande folatintag och återspeglar inte heller den aktuella tillgången på folat. Serumfolat, å andra sidan, reflekterar aktuellt folatstatus och reagerar med en sänkning inom några få dagar efter total folatrestriktion [31]. En sänkning under den lägre referensintervallgränsen tar dock flera veckor hos individer med ett från början normalt folatstatus [2], och tiden från det att folatrestriktionen börjar tills även blodfolat sänks och hematologiska manifestationer visar sig rör sig om 4–5 månader [32].

Bestämning av folat i serum eller blod är de mest använda screeningtesten för denna vitaminbrist. Det finns dock problem förknippade med bestämningarna [33], vilka bl a relateras till olika mätmetodologier och kalibreringsrutiner. Den lägre referensintervallgränsen kan variera, beroende på mätmetod och referenspopulation. Efter det att metoder för bestämning av plasmahomocystein blivit allmänt tillgängliga har denna analys använts för att tolka folatnivåer i serum och blod, eftersom plasmanivån av homocystein anses avspegla den intracellulära tillgången på folater och kobalaminer. Man har då noterat en lägsta godtagbar serumfolatgräns på 10–15 nmol/l för att er hålla »normala« plasmanivåer av homocystein [34, 35]. Även personer med den mutation som ger upphov till den värmekänsliga metylentetrahydrofolatreduktasbristen visar normala nivåer av plasmahomocystein när serumfolat är över ca 15 nmol/l [36].

Sammanfattat

Fyndet i den stora gruppen [22] talar för användning av plasmahomocystein, serumkobalamin och blodfolat för utvärdering av kobalamin-/folatstatus hos psykiogeriatriska patienter (och sannolikt även i andra situationer), medan metylmalonsyra i serum ger mycket lite tilläggsinformation. Detta är en betydelsefull konklusion, då metylmalonsyra är en resurskrävande och dyr analys. Konklusionen understryks också av det faktum att plasmahomocystein är mer associerat till kognitiva funktioner än metylmalonsyra i serum [12-21]; det senare tycks inte förutsäga kliniska manifestationer av kobalaminbrist [30].

De patienter som visade ökning av enbart plasmahomocystein löper ökad risk att utveckla kliniska tecken på folatbrist och bör följas med upprepade bestämningar av plasma-

ANNONS

ANNONS

homocystein inför eventuell vitaminbehandling. Bestämning av plasmahomocystein hos psykiogeriatriska patienter är viktig, eftersom vi tidigare har visat att kobalamin- och folatbehandling av patienter med förhöjt plasmahomocystein inte bara sänkte plasmahomocystein utan även förbättrade patienternas kognitiva funktion [14].

Slutsatsen, efter att ha jämfört serum- och blodfolat [23], är att folatbrist är vanlig bland psykiogeriatriska patienter och troligen huvudorsak till den höga frekvensen av förhöjt plasmahomocystein. En förklaring kan vara att en psykiogeriatrisk patient äter sämre, beroende på nedsatt kognitiv funktion och/eller fysiska begränsningar, och att folatstatus betydligt snabbare än kobalaminstatus påverkas vid bristande näringsintag. En annan konklusion är att serumfolat återspeglar aktuellt intracellulärt folatstatus bättre än blodfolat. Därför bör serumfolat snarare än blodfolat användas vid utvärdering av folatstatus. Ett serumfolat över 15 nmol/l utesluter med hög sannolikhet intracellulär folatbrist.

*

Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.

Referenser

- Hultberg B, Isaksson A, Nilsson K, Gustafson L. Homocystein och metylmalonsyra; markörer för kobalamin-/folatstatus. *Läkartidningen* 2000;97:41-31-6.
- Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1995. p. 1279-327.
- Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency I: Usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990;34:90-8.
- Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994;96:239-46.
- Rosenberg LE, Fenton WA. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. In: Scriver CG, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic basis of inherited disease*. 6th ed. New York: McGraw-Hill; 1989. p. 821-44.
- Nexø E, Hansen M, Rasmussen K, Lindgren A, Gräsbeck R. How to diagnose cobalamin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 1994;54 (Suppl 219):61-76.
- Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994;236:633-41.
- Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Brattström L, Ueland PM. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. *J Intern Med* 1999;246:425-54.
- Nilsson K, Gustafson L, Fäldt R, Andersson A, Brattström L, Lindgren A, et al. Hyperhomocysteinemia – a common finding in a psychogeriatric population. *Europ J Clin Invest* 1996;26:853-9.
- Nilsson K, Gustafson L, Hultberg B. The plasma homocysteine concentration is better than that of serum methylmalonic acid as a marker for sociopsychological performance in a psychogeriatric population. *Clin Chem* 2000;46:691-6.
- Lehmann M, Gottfries CG, Regland B. Identification of cognitive impairment in the elderly: Homocysteine is an early marker. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999;10:12-20.
- Nilsson K, Gustafson L, Hultberg B. Improvement of cognitive functions after cobalamin/folate supplementation in elderly patients with dementia and elevated plasma homocysteine. *Int J Geriatr Psychiatry* 2001;16:609-14.
- Morris SM, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Hyperhomocysteinemia associated with poor recall in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr* 2001;73:927-33.
- Nilsson K, Gustafson L, Hultberg B. Optimal use of markers for cobalamin and folate status in a psychogeriatric population. *Int J Geriatr Psychiatry* 2002;17:919-25.
- Hultberg B, Nilsson K, Isaksson A, Gustafson L. Folate deficiency is a common finding in psychogeriatric patients. *Aging* 2002;14:479-84.
- Rasmussen K, Möller J, Lyngbak M, Holm-Pedersen AM, Dybkjaer L. Age- and gender-specific reference intervals for total homocysteine and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem* 1996;42:630-6.
- Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Increased plasma methylmalonic acid level does not predict clinical manifestations of vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med* 2001;161:1534-41.
- Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency. *Arch Intern Med* 1999;159:1289-98.
- Lewis CA, Panchrauniti N, Sauberlich HE. Plasma folate adequacy as determined by homocysteine level. *Ann N Y Acad Sci* 1992;669:360-2.
- Brouwer DA, Welten HT, Reijngoud DJ, van Doormaal JJ, Muskiet FA. Plasma folic cutoff value derived from its relationship with homocysteine. *Clin Chem* 1998;44:1545-50.

I Läkartidningens elektroniska arkiv

<http://larkiv.lakartidningen.se>

är artikeln kompletterad med fullständig referenslista.



= artikeln är referentgranskad

SUMMARY

Optimal use of markers for cobalamin/folate status
Findings in a group of psychogeriatric patients

Björn Hultberg, Anders Isaksson, Karin Nilsson, Lars Gustafson

Läkartidningen 2003;100:3136-40

Cobalamin/folate deficiency may lead to neuropsychiatric symptoms. This review summarizes present findings concerning the different markers for cobalamin/folate deficiency in psychogeriatric patients. These findings suggest the use of plasma homocysteine, serum cobalamin and serum folate to evaluate cobalamin/folate status in psychogeriatric patients, whereas the use of serum methylmalonic acid and whole blood folate could be omitted.

Correspondence: Björn Hultberg, Dept of Clinical Chemistry, Universitetssjukhuset i Lund, 221 85 Lund, Sweden (bjorn.hultberg@klinikern.lu.se)