

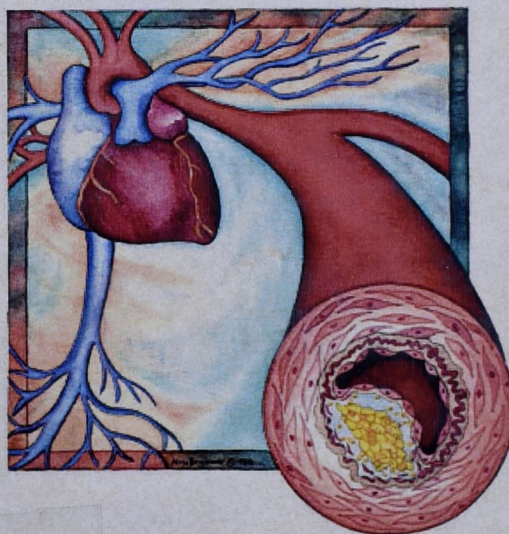
ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

ΑΘΗΝΑ 2004

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ, ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ B12, B6 ΚΑΙ
ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΠΟΥ ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ
ΣΕ ΣΤΕΦΑΝΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ: ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ
ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ

ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ : ΖΑΜΠΕΛΑΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ



ΠΤΥ
ΔΗΜ

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ
ΛΕΙΟΣ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΠΡΟΣ: ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΝΙΟΣ : ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΣΥΝΑΡΤΗΤΙΚΕΣ

**ΕΠΠΕΔΑ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ, ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ B12, B6 ΚΑΙ
ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΠΟΥ ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ
ΣΕ ΣΤΕΦΑΝΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΕΛΕΓΧΟ : ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ
ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ**

**ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ**

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΖΑΜΠΕΛΑΣ ΑΝΤΩΝΙΟΣ

ΕΞΕΤΑΣΤΕΣ : ΣΤΑΥΡΙΝΟΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

ΣΥΝΤΩΣΗΣ ΛΑΜΠΡΟΣ

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΑΘΗΝΑ 2004

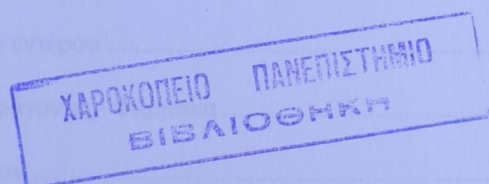
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Είναι πολύ σημαντικό για μένα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στους ανθρώπους που με βοήθησαν στην εκπόνηση της ερευνητικής μου μελέτης. Πρώτα θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συνεργάτες μου στο Γ.Ν. Νικαίας που με βοήθησαν στη διεξαγωγή της μελέτης αυτής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου, Κο Ζαμπέλα ο οποίος με βοήθησε στο σχεδιασμό της μελέτης και μου έδωσε την απαραίτητη επιστημονική βοήθεια προκειμένου να υποστηρίξω επιστημονικά το θέμα μου. Την εκτίμηση μου θα ήθελα επίσης να εκφράσω στον Κο Συντώση για τις πολύτιμες υποδείξεις του σχετικά με την παρουσίαση και το σχεδιασμό της μελέτης καθώς επίσης και για τις διορθώσεις που έγιναν έτσι ώστε να είναι το θέμα μου επιστημονικά αποδεκτό.

Τέλος, νιώθω την ανάγκη να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Κο Παναγιωτάκο αφού χωρίς την πολύτιμη βοήθεια του και τις σημαντικές του υποδείξεις δε θα μπορούσα να διεκπεραιώσω την ερευνητική μου διατριβή.

Δεν πρέπει φυσικά να ξεχάσω να εκφράσω τις βαθύτατες ευχαριστίες μου στα άτομα της μελέτης που πρόθυμα διέθεσαν χρόνο αλλά και τον εαυτό τους για τη διεξαγωγή της μελέτης αυτής.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	1
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1.1. Ιστορική αναδρομή	8
2. Μεταβολισμός της ομοκυστεΐνης	9
2.1 Ρυθμιση του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης	14
3. Διαταραχές του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης	18
3.1. Γενετικοί παράγοντες	22
3.2. Διατροφικοί παράγοντες	25
3.2.1. Ανεπάρκειες βιταμινών	25
3.2.2. Κατανάλωση καφεΐνης	28
4. Φυσιολογικοί παράγοντες	28
4.1. Ηλικία και φύλο	28
4.2. Φυλή	30
5. Παθολογικοί παράγοντες	30
5.1. Κάπνισμα	30
5.2. Κατανάλωση οиноπνεύματος	31
5.3. Νεφρική ανεπάρκεια	32
5.4. Νεοπλασίες- Ψωρίαση	33
5.5. Ενδοκρινικά νοσήματα	33
5.6. Παθήσεις του εντέρου	34
6. Ιατρογενείς παράγοντες- Φάρμακα	34
6.1. Ορμόνες φύλου	34
6.2. Αντιεπιληπτικά φάρμακα	35

6.3. Μεθοτρεξάτη	35
6.4. Πρωτοξείδιο του αζώτου	35
6.5. Άλλα φάρμακα	36
7. Ταξινόμηση των υπερομοκυστεϊναιμιών	36
8. Η ομοκυστεϊνή και ο κίνδυνος προσβολής από στεφανιαία νόσο	37
8.1. Γενετικές βλάβες	37
8.2. Ομοκυστεϊνή και θρόμβωση	38
8.3. Μηχανισμοί δράσης της ομοκυστεϊνης για την αύξηση του κινδύνου προσβολής από στεφανιαία νόσο	42
8.4. Επιδημιολογικές μελέτες	45
8.5. Σκοπός της παρούσας μελέτης	48
9. Μεθοδολογία	48
9.1. Πληθυσμός της μελέτης- κριτήρια εισαγωγής.....	48
9.2. Ανθρωπομετρικές μετρήσεις	50
9.3. Μέτρηση Αρτηριακής πίεσης	50
9.4. Ατομικό και οικογενειακό ιστορικό	50
9.5. Καταγραφή συχνότητας κατανάλωσης οινοπνεύματος και καπνού.....	51
10. Εργαστηριακός έλεγχος- αιμοληψίες	52
11. Προσδιορισμός παραγόντων κινδύνου.....	53
12. Βιοχημικός προσδιορισμός	53
13. Στεφανιογραφικός έλεγχος	54
14. Μελέτες μαρτύρων –ασθενών.....	54
15. Στατιστική ανάλυση	56
16. Αποτελέσματα	59
16.1. Χαρακτηριστικά ασθενών-μαρτύρων	59

16.1. Χαρακτηριστικά ασθενών-μαρτύρων	59
16.2. Ομοκυστεΐνη και βιταμίνες B12, B6 και φυλλικό	64
16.3. Συσχετίσεις στεφανιαίας νόσου με την ομοκυστεΐνη και τις βιταμίνες B.....	64
17. Συμπεράσματα – συζήτηση	69
18. Βιβλιογραφία	72
Παράρτημα : ερωτηματολόγια και φόρμα συμπλήρωσης αποτελεσμάτων της στεφανιογραφίας.....	87

ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

Η καρδιαγγειακή νόσος και κυρίως η στεφανιαία νόσος (Σ.Ν.) αποτελεί μείζον πρόβλημα υγείας κυρίως των ανεπτυγμένων χωρών. Από τις πρώτες κιόλας δεκαετίες του εικοστού αιώνα άρχισε να λαμβάνει διαστάσεις επιδημίας, γεγονός που οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση των αιτιολογικών παραγόντων της. Στα τέλη της δεκαετίας του 60 ήταν πια γνωστοί οι λεγόμενοι παράγοντες κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (τροποποιήσιμοι και μη τροποποιήσιμοι) στους οποίους περιλαμβάνεται η ηλικία, το φύλο, το οικογενειακό ιστορικό, η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης, η παχυσαρκία και το κάπνισμα. Η αντιμετώπιση αυτών των παραγόντων κινδύνου είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση των στεφανιαίων συμβαμάτων όχι όμως στον αναμενόμενο βαθμό. Αυτή η παρατήρηση σε συνάρτηση με το ό,τι σε πολλές περιπτώσεις καρδιαγγειακής νόσου έλειπαν οι παραπάνω παράγοντες οδήγησε τους ερευνητές στην υπόθεση ότι πιθανότατα υπάρχουν και άλλοι παράγοντες οι οποίοι ευθύνονται για τη δημιουργία αθηροσκλήρυνσης και στεφανιαίας νόσου. Τα τελευταία χρόνια έντονο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διερεύνηση της δράσης των αυξητικών παραγόντων, των κυτταροκινών, των δεικτών φλεγμονής και των παραγόντων πήξης στη δημιουργία βλάβης στο ενδοθήλιο με αποτέλεσμα την δημιουργία αθηροσκλήρυνσης και στεφανιαίας νόσου. Σε αυτούς τους πιθανούς παράγοντες κινδύνου ή δείκτες επικινδυνότητας συμπεριλαμβάνεται και η υπερομοκυστεϊναιμία.

Στην παρούσα μελέτη βασικός στόχος ήταν η αναζήτηση της σχέσης μεταξύ των τιμών της ομοκυστεϊνης πλάσματος (tHcy) καθώς και των βιταμινών B12, B6 και φυλλικού οξέος – οι οποίοι δρουν ως συμπαράγοντες στον μεταβολισμό της- με τη συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε άνδρες με ελεύθερο ατομικό ιστορικό

στεφανιαίας νόσου, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφικό έλεγχο. Ο πληθυσμός της μελέτης διαχωρίστηκε σε ασθενείς και μάρτυρες (ανάλογα με τα αποτελέσματα του καθετηριασμού). Η τιμή της ομοκυστεΐνης αν και ήταν προς τα ανώτερα φυσιολογικά όρια και στις δύο ομάδες (μέση τιμή tHcy ασθενών = 13,39 $\mu\text{mol/L}$ έναντι 13.28 $\mu\text{mol/L}$ των υγιών μαρτύρων), δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά. Επίσης δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των τιμών της ομοκυστεΐνης και της συχνότητας εμφάνισης στεφανιαίας νόσου ($\text{OR} = 0.76$, 95% CI : 0.89-1.09, $P=0.98$). Όσον αφορά τη συσχέτιση των βιταμινών B12 (με $\text{OR} = 1,0$ 95%CI 0,99-1,003 και $P=0,98$), B6 ($\text{OR} = 0,995$ 95%CI 0,98-1,007 και $P= 0,375$) και φυλλικού οξέος ($\text{OR}=1,03$ 95%CI 0,89-1,2 και $P=0,69$) με τη συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου επίσης δε βρέθηκε σχέση στατιστικά σημαντική.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καρδιαγγειακή νόσος (CVD) αποτελεί μείζον πρόβλημα υγείας των ανεπτυγμένων χωρών. Το 1999 περίπου το 36% (ή περίπου 50000) όλων των θανάτων που καταγράφηκαν στην Ολλανδία οφειλόταν σε καρδιαγγειακή νόσο. Αντίθετα , το 27% των θανάτων οφειλόταν σε νεοπλασίες διαφορά που υποδεικνύει τη σημαντικότητα των καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

Η καρδιαγγειακή νόσος μπορεί να ταξινομηθεί σε τρεις κατηγορίες:

A. Στη στεφανιαία νόσο

B. Στα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια και,

Γ. Στις άλλες αγγειακές νόσους.

Όσον αφορά τη στεφανιαία νόσο οι στεφανιαίες αρτηρίες της καρδιάς, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αιμάτωση του οργάνου παρουσιάζουν διαφορετικού βαθμού απόφραξη, ενώ στις περιπτώσεις των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων η απόφραξη εντοπίζεται στα αγγεία που τροφοδοτούν με αίμα τον εγκέφαλο. Στην τρίτη κατηγορία των υπολοίπων αγγειοπαθειών συμπεριλαμβάνονται η περιφερική αρτηριοπάθεια , το ανεύρυσμα της κοιλιακής αορτής και φλεγμονώδεις ή αυτοάνοσες παθήσεις της καρδιάς και των αγγείων. Από όλες τις αγγειοπάθειες η στεφανιαία νόσος είναι η συχνότερη.

Η απόφραξη των στεφανιαίων αγγείων πολύ συχνά ξεκινά με την εμφάνιση αθηρωματικών πλακών. Η αθηρωμάτωση χαρακτηρίζεται από την εναπόθεση χοληστερόλης, άχρηστων κυτταρικών προϊόντων, ασβεστίου καθώς και διαφόρων άλλων ουσιών τα οποία επικάθονται στο έσω τοίχωμα του αρτηριακού τοιχώματος ταυτόχρονα με το σχηματισμό ινώδους συνδετικού ιστού. Αν η αθηρωματική πλάκα αναπτυχθεί σε μεγάλο βαθμό έχει σαν αποτέλεσμα την ελάττωση ή την πλήρη

διακοπή της αιματικής ροής -διαμέσου της αρτηρίας -λόγω της απόφραξης. Είναι πολύ συχνό οι πλάκες αυτές, οι οποίες είναι ιδιαίτερα ασταθείς να ραγούν με αποτέλεσμα την κινητοποίηση του μηχανισμού πήξης και το σχηματισμό θρόμβων, οι οποίοι επιτείνουν την ελάττωση της αιματικής ροής διαμέσου των αγγείων (1).

Η υψηλή αρτηριακή πίεση, οι διαταραχές των λιπιδίων (π.χ. υψηλή ολική χοληστερόλη, αύξηση των επιπέδων της LDL, ελάττωση της HDL), ο σακχαρώδης διαβήτης, η παχυσαρκία καθώς επίσης και το κάπνισμα αποτελούν τους σημαντικότερους τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Στους μη τροποποιήσιμους συμπεριλαμβάνονται η ηλικία, το φύλο, το κληρονομικό ιστορικό. Παρόλα αυτά υπάρχει μεγάλη ανάγκη για τη διερεύνηση ύπαρξης και άλλων πιθανών παραγόντων κινδύνου διότι οι παραπάνω τροποποιήσιμοι και μη προδιαθεσικοί παράγοντες δεν μπορούν να δικαιολογήσουν την εμφάνιση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων στο σύνολο τους. Έτσι, το ενδιαφέρον των ερευνητών ως προς την παθογένεια και τους μηχανισμούς της αθηροσκλήρυνσης έχει επικεντρωθεί στη βλάβη του ενδοθηλίου, την οξείδωση των λιποπρωτεϊνών, την αλληλεπίδραση αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών με αποτέλεσμα την επίταση του οξειδωτικού stress, τη φλεγμονή και την πυροδότηση του μηχανισμού πήξης με αποτέλεσμα την αθηρογένεση και τη θρομβογένεση. Σε αυτόν τον υπό εξέταση μηχανισμό έχουν ταυτοποιηθεί κάποιοι δείκτες (biomarkers) οι οποίοι φαίνεται να συμμετέχουν ενεργά στην εξέλιξη της αθηροσκληρυντικής νόσου και να συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης κλινικής και υποκλινικής καρδιαγγειακής νόσου. Ένας από αυτούς τους παράγοντες κινδύνου είναι και η υπερομοκυστεϊναιμία. (2)

2. Μεταβολισμός και αγγειακή νόσος

1.1 Ιστορική αναδρομή: Η ομοκυστεΐνη ως παράγοντας κινδύνου εμφάνισης αγγειακής νόσου.

Η πρώτη αναζήτηση μιας πιθανής σχέσης μεταξύ ομοκυστεΐνης και αγγειακής νόσου τοποθετείται περίπου στο 1964. Μέχρι εκείνη τη στιγμή, ο Mudd και συν. έδειξαν ότι η συσσώρευση της ομοκυστεΐνης στο αίμα και συνεπώς και στα ούρα οδηγούσε σε μια κατάσταση γνωστή ως ομοκυστινουρία, η οποία εμφανιζόταν στα άτομα αυτά τα οποία είχαν έλλειψη του ενζύμου συνθετάση β της κυσταθειονίνης (CBS). Μετά από αυτήν την ανακάλυψη ο Mc Cully (3) παρατήρησε ότι ένας ασθενής με έλλειψη της CBS εμφάνιζε βλάβες στο αρτηριακό τοίχωμα παρόμοιες με αυτές ενός άλλου ασθενούς ο οποίος όμως είχε διαφορετική ενζυμική βλάβη, αλλά έπασχε και αυτός από ομοκυστινουρία.. Αφού λοιπόν και οι δύο διαταραχές είχαν σαν κοινό χαρακτηριστικό τη συσσώρευση της ομοκυστεΐνης, ο Mc Cully υπέθεσε ότι η ομοκυστεΐνη ή κάποιοι από τους μεταβολίτες της ήταν υπεύθυνοι για την εμφάνιση αγγειακής νόσου στους ασθενείς αυτούς. Αυτή η παρατήρηση αποτέλεσε και τη βάση της υπόθεσης ότι οι μέτριες αυξήσεις των συγκεντρώσεων της ομοκυστεΐνης στο αίμα μπορεί να αποτελούν παράγοντα κινδύνου εμφάνισης αθηροσκλήρυνσης στο γενικό πληθυσμό. Οι πρώτοι οι οποίοι εξέτασαν την υπόθεση αυτή ήταν οι Wilcken και Wilcken (4) το 1976, οι οποίοι έδειξαν ότι ασθενείς με στεφανιαία νόσο παρουσίαζαν σε μεγαλύτερο βαθμό διαταραχές του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης σε σχέση με τους υγιείς.

Αντικείμενο του παρόντος κεφαλαίου είναι η συσχέτιση της ομοκυστεΐνης και της

2. Μεταβολισμός της ομοκυστεΐνης

Η ομοκυστεΐνη είναι αμινοξύ το οποίο χαρακτηρίζεται από την παρουσία θεικής ομάδας και δε χρησιμοποιείται στη σύνθεση των πρωτεϊνών. Η ποσότητα που εμπεριέχεται στις τροφές είναι αμελητέα έτσι ώστε κάθε διαταραχή στη συγκέντρωση του να οφείλεται εξ ολοκλήρου σε διαταραχή της ρύθμισης του μεταβολισμού του.

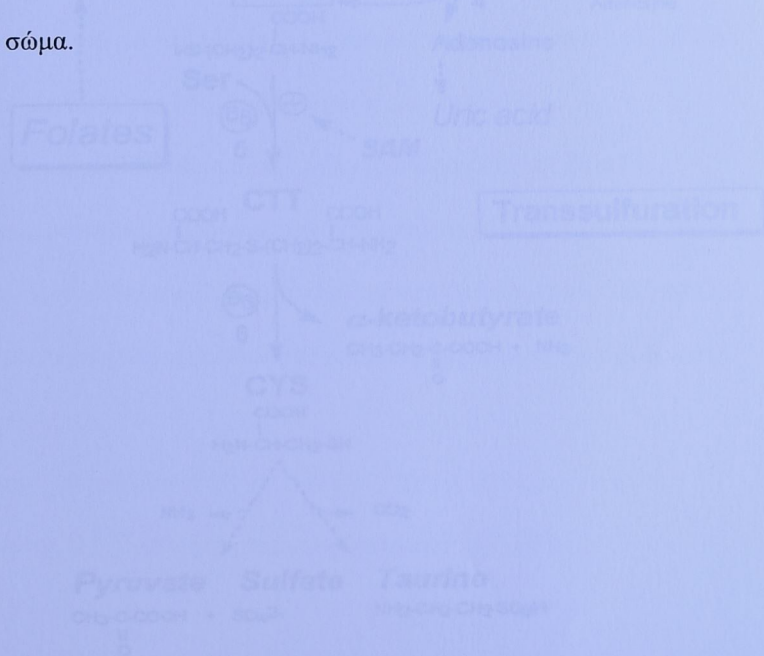
Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης υπόκειται σε πολύ αυστηρή ρύθμιση γι' αυτό και οποιαδήποτε περίσσεια του μεταφέρεται στο πλάσμα. Εκεί, το 99% περίπου οξειδώνεται σε δισουλφίδια. Το μεγαλύτερο μέρος της ομοκυστεΐνης (~ 70%) είναι συνδεδεμένο με πρωτεΐνες. Η μη συνδεδεμένη με πρωτεΐνες περιλαμβάνει την ομοκυστίνη (το δισουλφίδιο της ομοκυστεΐνης) καθώς και άλλα δισουλφίδια της ομοκυστεΐνης ενώ η ελεύθερη ομοκυστεΐνη αποτελεί μόνο το 1%. Ο όρος ολική ομοκυστεΐνη πλάσματος (tHcy) αναφέρεται σε όλες τις παραπάνω μορφές της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα (5) .

Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης μεταξύ 15-30 μM χαρακτηρίζονται ως μέτρια αύξηση, μεταξύ 30 και 100 μM ως μεγάλη , ενώ συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 100 μM χαρακτηρίζουν τη σοβαρή ομοκυστεϊναιμία (6).

Η ομοκυστεΐνη σχηματίζεται από τη μεθειονίνη, η οποία αποτελεί την κύρια πρωτεϊνική πηγή ατόμων θείου. Η απομεθυλίωση της S- αδενοσυλ-μεθειονίνης (SAM) προς S-αδενοσυλ-ομοκυστεΐνη προκύπτει μέσω της ενεργοποίησης της μεθειονίνης από το ATP. Η ενεργοποίηση αυτή συνοδεύεται από απαραίτητες αντιδράσεις μεθυλίωσης οι οποίες επιτρέπουν τη σύνθεση της κρεατινίνης και της

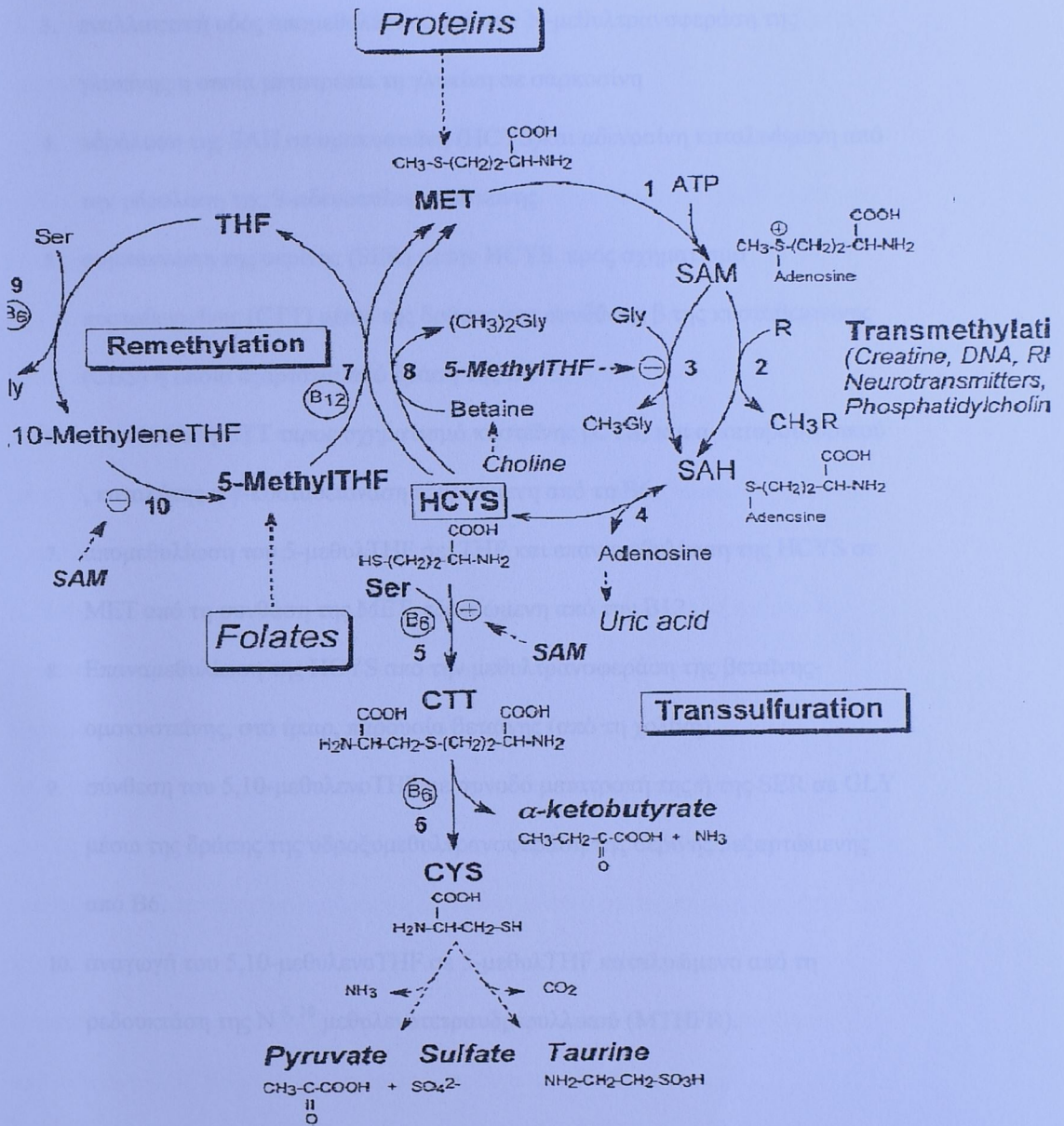
φωσφατιδυλοχολίνης, τη μεθυλίωση των DNA, RNA καθώς επίσης και ενός μεγάλου αριθμού νευρομεσολαβητών.

Η μεθυλίωση της γλυκίνης σε σαρκosίνη, η οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι ανενεργός, επιτρέπει μια εναλλακτική οδό για την απομεθυλίωση της SAM. Αν και η σταθερά ισορροπίας της αντίδρασης ευνοεί το σχηματισμό της SAH, υπό φυσιολογικές μεταβολικές συνθήκες, αν η ενδοκυττάρια συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης και της αδενοσίνης είναι χαμηλή, η SAH που έχει σχηματιστεί με αντιδράσεις διαμεθυλίωσης υδρολύεται σε ομοκυστεΐνη και αδενοσίνη. Αυτή η αντίδραση διαμεθυλίωσης αποτελεί τη βασική μεταβολική οδό για τη σύνθεση της ομοκυστεΐνης στο σώμα.



Επίπεδο 1: Μεταβολισμός της ομοκυστεΐνης

1. ενεργοποίηση της μεθειονίνης (MET) από το ATP μερτικό S-αδενosyl-MET, μεταφορά της μεθειονίνης
2. απομεθυλίωση της SAM (S-αδενosylμεθειονίνη) προς SAH (S-αδενosylαδενosίνη)



Εικόνα 1. Μεταβολισμός της ομοκυστεΐνης

1. ενεργοποίηση της μεθειονίνης (MET) από το ATP παρουσία S-αδενοσυλ-
τρανσφεράση της μεθειονίνης.
2. απομεθυλίωση της SAM (S-αδενοσυλμεθειονίνη) προς SAH (S-
αδενοσυλομοκυστεΐνη)

3. εναλλακτική οδός απομεθυλίωσης από την N-μεθυλτρανσφεράση της γλυκίνης η οποία μετατρέπει τη γλυκίνη σε σαρκοσίνη
4. υδρόλυση της SAH σε ομοκυστεΐνη (HCYS) και αδενοσίνη καταλυόμενη από την υδρολάση της S-αδενοσυλομοκυστεΐνης
5. συμπύκνωση της σερίνης (SER) με την HCYS προς σχηματισμό κυσταθειονίνης (CTT) μέσω της δράσης της συνθάσης β της κυσταθειονίνης (CBS) η οποία εξαρτάται από δράση της B6
6. συμπύκνωση CTT προς σχηματισμό κυστεΐνης (CYS) και α-κετοβουτυρικού, καταλύτης η γ-κυσταθειονάση εξαρτώμενη από τη B6.
7. απομεθυλίωση του 5-μεθυλTHF σε THF και επαναμεθυλίωση της HCYS σε MET από τη συνθάση της MET, εξαρτώμενη από την B12
8. Επαναμεθυλίωση της HCYS από την μεθυλτρανσφεράση της βεταΐνης-ομοκυστεΐνης, στο ήπαρ, παρουσία βεταΐνης (από τη χολίνη).
9. σύνθεση του 5,10-μεθυλενοTHF με συνοδό μετατροπή της ή της SER σε GLY μέσω της δράσης της υδροξυμεθυλτρανσφεράση της σερίνης, εξαρτώμενης από B6.
10. αναγωγή του 5,10-μεθυλενοTHF σε 5-μεθυλTHF καταλυόμενο από τη ρεδοουκτάση της $N^{5,10}$ μεθυλενοτετραυδριφυλλικού (MTHFR).

Η ομοκυστεΐνη που προκύπτει με τους παραπάνω μηχανισμούς είτε καταβολίζεται σε κυσταθειονίνη ή επαναμεθυλιώνεται σε μεθειονίνη.

Η επαναμεθυλίωση της ομοκυστεΐνης καταλύεται από το ένζυμο συνθάση της μεθειονίνης, το οποίο χρησιμοποιεί N^5 – Μεθυλτετραϋδροφυλλικό οξύ (5MTHF) ως δότη μεθυλ-ομάδας και κοβαλαμίνη ως συμπράγοντα. Η παραγωγή του 5MTHF εξαρτάται από την αναγωγή του N^{5-10} μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού (MTHFR) η οποία καταλύει την αναγωγή του N^{5-10} μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού (5,10-Μεθυλενο-THFR). Μικρότερης σημασίας μεταβολική οδός επαναμεθυλίωσης, η οποία δρα ανεξάρτητα από την ύπαρξη του φυλλικού και της κοβαλαμίνης είναι αυτή η οποία χρησιμοποιεί τη μετατροπή της βεταΐνης (που προκύπτει από τη χολίνη) σε N,N-διμεθυλγλυκίνη. Αυτή η μεταβολική οδός, η οποία χρειάζεται ως ένζυμο την βεταΐνη-ομοκυστεΐνη μεθυλτρανσφεράση, έχει δράση κυρίως στο ήπαρ. Σε περιπτώσεις όπου υπάρχει έλλειψη είτε φυλλικού είτε κοβαλαμίνης, ή και των δύο, το μονοπάτι αυτό διατηρεί την απαραίτητη συγκέντρωση της μεθειονίνης στους ιστούς για το σχηματισμό του SAM. Η ενδοκυττάρια ομοκυστεΐνη μπορεί να μετατραπεί σε κυστεΐνη με αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κυρίως στο ήπαρ και τους νεφρούς.(7)

Ο καταβολισμός της ομοκυστεΐνης πραγματοποιείται μέσω της συνθάσης β της κυσταθειονίνης (CBS), ένζυμο το οποίο εξαρτάται από την παρουσία της 5- φωσφοπυριδοξάλης (ενεργός μορφή της βιταμίνης B6) η οποία επιτρέπει τη συμπύκνωση της ομοκυστεΐνης με τη σερίνη. Η προκύπτουσα από την αντίδραση κυσταθειονίνη μετατρέπεται σε κυστεΐνη, πρόδρομο μόριο της γλουταθειόνης και σε α-κετοβουτυρικό από την γ-κυσταθειοκινάση, η οποία είναι επίσης εξαρτώμενη από την 5 -φωσφοπυριδοξάλη.(8) Η κυστεΐνη τελικά αποβάλλεται από τα ούρα. με τη μορφή θεικών αλάτων . Θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι μεταβολικοί οδοί της

μεταφοράς θεικών ομάδων (transsulfuration) και του καταβολικού ενζύμου της N-μεθυλ τρανσφεράσης της γλυκίνης συναντώνται κατά προτίμηση σε ιστούς όπως το ήπαρ και οι νεφροί. Φαίνεται ότι οι ιστοί αυτοί είναι απαραίτητοι για την πρόσληψη (δια μέσου φορέων, υποδοχέων, ή καναλιών) και το μεταβολισμό της οξέως πλεονάζουσας ομοκυστεΐνης στην κυκλοφορία..(9) Ιστοί οι οποίοι δε διαθέτουν αυτό μεταβολικό μονοπάτι απαιτούν πρόσληψη εξωγενούς κυστεΐνης προκειμένου να συνθέσουν γλουταθειόνη.

2.1 Ρύθμιση του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης

Η SAM αποτελεί βασικό παράγοντα για τη ρύθμιση του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης. Από σχετικά πρόσφατα δεδομένα προκύπτει ότι η SAM συμμετέχει ενεργά στη ρύθμιση της επαναμεθυλίωσης και του καταβολισμού της ομοκυστεΐνης μέσω της ανασταλτικής της δράσης στα ένζυμα που συντελούν στη διατήρηση της μεθειονίνης ενώ ενεργοποιεί τα ένζυμα που δρουν καταβολικά στη μεθειονίνη.(8,10) Όταν τα επίπεδα της SAM είναι επαρκή για τη διατήρηση των σημαντικών αντιδράσεων τρανσμεθυλίωσης, η SAM ελαττώνει το ρυθμό της επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη από το 5-μεθυλ -THF, αναστέλλοντας τη δράση του ενζύμου MTHFR (11)

Η SAM ρυθμίζει ακόμα την ηπατική επαναμεθυλίωση της ομοκυστεΐνης μέσω της αναστολής της δράσης του ενζύμου μεθυλτρανσφεράση της βεταΐνης- ομοκυστεΐνης. Επιπλέον, η SAM ρυθμίζει ακόμα και τη δική της σύνθεση (μηχανισμός αυτορρύθμισης) αφού μπορεί να δράσει ανασταλτικά στον τύπο I και II του ενζύμου S-αδενοσυλοτρανσφεράση της μεθειονίνης. Αντίθετα ασκεί διεγερτική δράση στο ισόενζυμο S-αδενοσυλοτρανσφεράση της μεθειονίνης III καθώς επίσης και στην

εναλλακτική μεταβολική οδού τρανσμεθυλίωσης μέσω της ενεργοποίησης της μεθυλτρανσφεράσης της γλυκίνης ενώ αναστέλλει τις περισσότερες τρανσμεθυλάσες τις εξαρτώμενες από τη SAM.

Επιπλέον, προκειμένου να αποφευχθεί η συσσώρευση της ομοκυστεΐνης, η οποία φαίνεται ότι δρά κυτταροτοξικά, η SAM διεγείρει τον καταβολισμό της ομοκυστεΐνης μέσω της αύξησης της δραστηριότητας της CBS καθώς επίσης και της γ-κυσταθειονάσης. (8)

Όταν χορηγούνται μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών ζωικής προέλευσης, πλούσιων σε μεθειονίνη, εμφανίζεται αύξηση της συγκέντρωσης της SAM στους ιστούς, ενώ το 70% της ομοκυστεΐνης καταβολίζεται μέσω της CBS χρησιμοποιώντας τη μεταβολική οδό της μεταφοράς θεικών ομάδων. Αντίθετα, υπό συνθήκες περιορισμένης πρωτεϊνικής πρόσληψης, προτιμάται το μεταβολικό μονοπάτι της επαναμεθυλίωσης μέσω επιτάχυνσης του μετασχηματισμού του εξαρτώμενου από την MTHFR φυλλικού οξέος. Σε αυτήν την περίπτωση μόνο το 10% των αποθεμάτων της ομοκυστεΐνης καταβολίζεται διαμέσου της οδού της CBS μεταφοράς θεικών ομάδων. Παρόλα αυτά η μακροχρόνια αυξημένη πρόσληψη μεθειονίνης μπορεί να οδηγήσει αυτήν τη μεταβολική οδό σε κορεσμό. Το φαινόμενο του κορεσμού σχετίζεται με αναστολή της επαναμεθυλίωσης η οποία οδηγεί σε έξοδο της ομοκυστεΐνης από το κύτταρο. Μελέτες έχουν δείξει ότι δίαιτες εμπλουτισμένες με μεθειονίνη ή η οξεία φόρτιση με μεθειονίνη μπορεί να οδηγήσει σε έξοδο της ομοκυστεΐνης από τα κύτταρα, με αποτέλεσμα την αύξηση της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα. (12).

Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση του φυλλικού οξέος είναι ένας ακόμα παράγοντας που συμμετέχει στη ρύθμιση του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης αφού δρα ως δότης του 5-μεθυλ-THF. Είναι γνωστό ότι το 5-μεθυλ-THF είναι απαραίτητο για την

κυτταρική επαναμεθυλίωση της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη. Στις περιπτώσεις όπου υπάρχει περιορισμένη εξωγενής πρόσληψη μεθυλ- ομάδων από τη μεθειονίνη και τη χολίνη, το 5 -μεθυλ -THF διατηρεί σταθερά τα επίπεδα της SAM στους ιστούς. Επιπλέον, κάτω από συνθήκες όπου υπάρχει αυξημένη πρόσληψη φυλλικού, η 5- μεθυλ -THF μειώνει την ταχύτητα της εναλλακτικής μεταβολικής οδού της τρανσμεθυλίωσης , μέσω της ανασταλτικής του δράσης στο ένζυμο μεθυλτρανσφεράση της γλυκίνης. Η αυξημένη συγκέντρωση SAM στους ιστούς λόγω της παραπάνω διαδικασίας περιορίζει το μετασχηματισμό της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του φυλλικού στην οδό της επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης. Αντίθετα, ελάττωση της βιοδιαθεσιμότητας του 5 -μεθυλ -THF προκαλεί ελάττωση της επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης καθώς και επιτάχυνση της εναλλακτικής μεταφοράς θεικών ομάδων. Ελάττωση των συγκεντρώσεων του SAM στους ιστούς προκαλούμενη από εξάντληση των αποθηκών του φυλλικού οξέος, προάγει την αναστολή των αντιδράσεων μεταφοράς θεικών ομάδων. (13)

Η διατροφική ανεπάρκεια του φυλλικού οξέος καθώς επίσης και η χρήση φαρμάκων που παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό του (π.χ. μεθοτρεξάτη, πρωτοοξειδίο του αζώτου κ.α.) οδηγούν σε συσσώρευση και έκκριση της ομοκυστεΐνης από το κύτταρο στο πλάσμα προκαλώντας αύξηση των επιπέδων της κυκλοφορούσας ομοκυστεΐνης (14).

Ο καθορισμός και η ταξινόμηση των μεταβολικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του φυλλικού και της μεθειονίνης στον έλεγχο των εξαρτώμενων από τη SAM ομοκυστεΐνης, όπως προσεγγίστηκε από τους Selhub και Miller (15 ,16) κυρίως σε πειραματικά μοντέλα με ζώα παρείχε τις απαραίτητες πληροφορίες προκειμένου να κατανοήσουμε τους παθογενετικούς εκείνους μηχανισμούς που οδηγούν σε υπερομοκυστεϊναιμία.

Τα στοιχεία αυτά έχουν βοηθήσει σε μεγάλο βαθμό να κατανοηθεί γιατί η αύξηση της συγκέντρωσης της μεθειονίνης δεν οδηγεί σε ακόμα μεγαλύτερη αύξηση της ομοκυστεΐνης σε ασθενείς οι οποίοι έχουν διαταραχή της οδού επαναμεθυλίωσης (προκαλούμενη από έλλειψη φυλλικού ή κοβαλαμίνης ή /και μερικής συγγενούς βλάβης της MTHFR). Η ελάττωση των συγκεντρώσεων της SAM στους ιστούς λόγω της διαταραγμένης επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης μπορεί να αντirroπιστεί από την αύξηση στη σύνθεση της SAM μέσω της προσφοράς μεθειονίνης (15). Στους ασθενείς αυτούς, το πλεόνασμα της μεθειονίνης που προέρχεται από τις τροφές μπορεί να ελαττώσει επιπλέον την υπερομοκυστεϊναιμία τους προάγοντας τον καταβολισμό της ομοκυστεΐνης. (17) Αντίθετα, όταν οι αποθήκες του φυλλικού οξέος ή της κοβαλαμίνης είναι πλήρεις (18) ή σε μια διαταραχή της οδού μεταφοράς θεικών ομάδων, η οποία οφείλεται σε έλλειψη βιταμίνης B6 ή σε βλάβη της CBS (ετερόζυγη μορφή) (19) η υπερβολική χορήγηση μεθειονίνης μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικού βαθμού αύξηση της τιμής της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα..

Ακόμα, πιο πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει την ύπαρξη ευαισθησίας της κεκαθαρμένης συνθάσης της μεθειονίνης και της CBS στην οξείδωση, παραπέμποντας σε οξειδοαναγωγικό μηχανισμό ελέγχου της επαναμεθυλίωσης και της μεταφοράς θεικών ομάδων. Η CBS, πρωτεΐνη που περιέχει αίμη, είναι ενεργός στην οξειδωμένη της μορφή ενώ η συνθάση της μεθειονίνης γίνεται ανενεργός με την οξείδωση και απαιτεί αναγωγική μεθυλίωση για την ενεργοποίηση της (20, 21).

Σε συνδυασμό με αυτόν τον ρυθμιστικό μηχανισμό, ο οποίος μπορεί να είναι σημαντικός, ο μεταβολισμός της ομοκυστεΐνης διεγείρεται προς παραγωγή κυστεΐνης και γλουταθειόνης δια μέσου της οδού της τρανσθειώσης σε ανθρώπινα ηπατικά κύτταρα τα οποία εκτέθηκαν σε συνθήκες οξείδωσης. (22)

Είναι λοιπόν πιθανό ότι το οξειδωτικό stress μπορεί να ελαττώσει την επαναμεθυλίωση και να προάγει τη μεταφορά θεικών ομάδων προκειμένου να διατηρηθεί, διαμέσου μηχανισμών αυτοδιόρθωσης, η ενδοκυττάρια δεξαμενή γλουταθειόνης, η οποία είναι βασική και απαραίτητη για την οξειδοαναγωγική ρυθμιστική ικανότητα των κυττάρων.

σημαντικό «απώλειαν» παράγοντα που διακυβεύεται μετάβαση της

ομοκυστεΐνης: (24)

Αυτή η «απώλεια» αντιφάσκει έλα αποτελέσει αντικείμενο μελέτης και δοκιμών

ότι τα κύτταρα μπορούν να μετατρέψουν με αποτελεσματικό τρόπο την ομοκυστεΐνη σε

ομοκυστεΐνη «δοσολογία με τη βοήθεια της μεθαιονίνης» (25).

3. Διαταραχές του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης

Διαταραχές στο μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης μπορεί να παρατηρηθούν σε καταστάσεις όπου υπάρχουν συγγενείς ανωμαλίες στη λειτουργικότητα των ενζύμων που συμμετέχουν στο μεταβολισμό της, στις περιπτώσεις αυτές όπου υπάρχουν ελλείψεις στην πρόσληψη φυλλικού οξέος, βιταμίνης B12, βιταμίνης B6, καθώς επίσης και σε αυξημένη πρόσληψη μεθειονίνης. Είναι αξιοσημείωτη η αλληλεπίδραση μεταξύ του γενετικού υποστρώματος (προδιάθεση) και του διατροφικού παράγοντα (μειωμένη πρόσληψη) ιδιαίτερα όσον αφορά τη μετάλλαξη C677T του γονιδίου της MTHFR και των επιπέδων του φυλλικού οξέος καθώς επίσης και μεταξύ της έλλειψης της CBS (ετερόζυγη μορφή) και της συγκέντρωσης του φυλλικού, αλληλεπιδράσεις που είναι πιθανόν να ευθύνονται για την εμφάνιση της υπερομοκυστεϊναιμίας. (23)

Εκτός από την αυξημένη έξοδο από τα κύτταρα προς το πλάσμα η οποία μπορεί να ελέγχεται μέσω ενός « μειωμένου μεταφορέα ομοκυστεΐνης», η υπερομοκυστεϊναιμία

(9) μπορεί επίσης να προκαλείται από διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας, η οποία ίσως να παίζει βασικό ρόλο στην κάθαρση της ομοκυστεΐνης, καθώς επίσης και από χρόνια ηπατική ανεπάρκεια. Επιπλέον, αν και η θειολακτόνη δεν έχει ταυτοποιηθεί ξεκάθαρα *in vivo*, η ομοκυστεΐνη μπορεί να υποβάλλεται σε συνεχή κυκλική μετατροπή ομοκυστεΐνης-θειολακτόνης, ενδοκυττάρια, η οποία ίσως και να αποτελεί σημαντικό «παράπλευρο» παράγωγο του διαταραγμένου μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης. (24)

Αυτή η «παράπλευρη αντίδραση» έχει αποτελέσει αντικείμενο μελέτης και βρέθηκε ότι τα κύτταρα μπορούν να μετατρέψουν με ικανοποιητικό τρόπο την ομοκυστεΐνη σε ομοκυστεΐνη-θειολακτόνη με τη βοήθεια της μεθιονυλ-tRNA συνθατάσης (25).

Στην κυκλοφορία, η ανηγμένη μορφή της ομοκυστεΐνης προκύπτει είτε μέσω άμεσης εξόδου από τα κύτταρα, (9) είτε μέσω της υδρόλυσης της κυκλοφορούσας θειολακτόνης από την υδρολάση της ομοκυστεΐνης- θειολακτόνης (25). Η ομοκυστεΐνη μπορεί επίσης είτε να δεχθεί οξειδίο του αζώτου (NO) προς σχηματισμό S- νιτρο-ομοκυστεΐνη ή μπορεί να οξειδωθεί σε σουλφινικό οξύ της ομοκυστεΐνης και ομοκυστεϊκό οξύ. Παρόλα αυτά, από τη στιγμή που η ομοκυστεΐνη θα εξέλθει από το κύτταρο, θα οξειδωθεί σε δισουλφίδιο το οποίο θα περιέχει μια θειολική ομάδα ως συστατικό. Πράγματι, όπως έχει ήδη αναφερθεί η κυκλοφορούσα στο πλάσμα ομοκυστεΐνη είναι συνδεδεμένη στο μεγαλύτερο μέρος της με πρωτεΐνες του πλάσματος, ενώ η «ελεύθερη» δηλαδή η μη συνδεδεμένη με πρωτεΐνες, βρίσκεται κυρίως με τη μορφή των οξειδωμένων δισουλφιδίων συμπεριλαμβανομένων της ομοκυστίνης και διαφόρων δισουλφιδίων.

Στον πίνακα που ακολουθεί παραθέτονται τα κυριότερα αίτια διαταραχής του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης που οδηγούν σε αύξηση της συγκέντρωσης της στο πλάσμα.

Πίνακας 1. Αίτια υπερομοκυστεϊναιμίας

1. Γενετικοί Παράγοντες	Σχέση
MTHFR συγγενής ανωμαλία (δραστικότητα <20%)	Μεταλλάξεις ομόζυγου τύπου (σπάνιες), σοβαρή υπερομοκυστεϊναιμία σε κατάσταση νηστείας
MTHFR έλλειψη (δραστικότητα <50%)	Ομόζυγη C677T μετάλλαξη (5%-15%), μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία
CBS συγγενής ανωμαλία (δραστικότητα <2%)	Ομοζυγώτες (σπάνια), σοβαρή βασική υπερομοκυστεϊναιμία
CBS έλλειψη	Ετεροζυγώτες (0.5-1.5%), παθολογική αύξηση ομοκυστεΐνης μετά από φόρτιση με μεθειονίνη
Λειτουργική ανεπάρκεια της συνθάσης της μεθειονίνης	Διαταραγμένος μεταβολισμός της κοβαλαμίνης (σπάνιες μεταλλάξεις), μέτρια έως σοβαρή βασική υπερομοκυστεϊναιμία
2. Διατροφικοί Παράγοντες	Σχέση
Ανεπάρκεια Βιταμίνης B6	Διαταραγμένη αύξηση της ομοκυστεΐνης μετά από φόρτιση με μεθειονίνη
Ανεπάρκεια Βιταμίνης B12	Μέτρια ως υψηλή βασική υπερομοκυστεϊναιμία
Ανεπάρκεια Φυλλικού	Μέτρια ως υψηλή βασική υπερομοκυστεϊναιμία

οξέος	
Αυξημένη πρόσληψη ζωικών πρωτεϊνών πλούσιων σε μεθειονίνη	Μέτρια ως υψηλή βασική υπερομοκυστεϊναιμία
Κατανάλωση καφεΐνης	Ανταγωνισμός δράσης της B6, ανταγωνιστική δράση για τις μεθυλομάδες
3. Φυσιολογικοί παράγοντες	Σχέση
Ηλικία	Η ομοκυστεϊνή πλάσματος αυξάνει με την ηλικία
Άρρενες	Οι άνδρες έχουν υψηλότερη βασική ομοκυστεϊνή σε σχέση με τις γυναίκες
Εμμηνόπαυση	Υψηλά επίπεδα στις μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες τα οποία μπορεί να ελαττωθούν με τη χρήση ορμονικής υποκατάστασης
Φυλή	Οι μαύροι νοτιο-αφρικανοί έχουν χαμηλότερες τιμές από τους λευκούς
4. Παθολογικοί παράγοντες	Σχέση
Κάπνισμα	Διαταραχή του μεταβολισμού του φυλλικού και ανεπάρκεια της βιταμίνης B6?
Αλκοολισμός	Διαταραχή του μεταβολισμού του φυλλικού?
Νεφρική ανεπάρκεια	Ελαττωμένη νεφρική κάθαρση της ομοκυστεϊνης
Ψωρίαση	Ελαττωματική χρήση της ενδοκυττάριας

	ομοκυστεΐνης?
• Καρκίνος	Ελαττωματική χρήση της ενδοκυττάριας ομοκυστεΐνης?
• Ενδοκρινικά νοσήματα	ΣΔ τύπου 1 και 2/ δευτεροπαθώς Υπερ/υποθυρεοειδισμός ?
• Παθήσεις του γαστρεντερικού συστήματος	Ανεπάρκεια φυλλικού και B12 λόγω δυσαπορρόφησης
5. Ιατρογενείς παράγοντες	Σχέση
• Αντισυλληπτικά χάπια	Διαταραχή του μεταβολισμού του φυλλικού και έλλειψη της βιταμίνης B6?
• Μεθοτρεξάτη	Αναστολή της ρεδουκτάσης του διυδροφυλλικού
• Οξείδιο του αζώτου (N₂O)	Αναστολή της συνθάσης της μεθειονίνης
• Αντιεπιληπτικά	Διαταραχή του μεταβολισμού του φυλλικού
• Σουλφασαλαζίνη	Αναστολή της απορρόφησης του φυλλικού

3.1 Γενετικοί Παράγοντες

Μια από τις κλασικές διαταραχές του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης οφείλεται στην ομόζυγη έλλειψη της CBS . Πρόκειται για διαταραχή η οποία μεταβιβάζεται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και προκαλεί τη νόσο ομοκυστινουρία. Τα

άτομα που πάσχουν από αυτό το νόσημα έχουν πολύ υψηλές τιμές ομοκυστεΐνης στο αίμα και στα ούρα καθώς και υψηλή συγκέντρωση μεθειονίνης στο πλάσμα.

Πρόκειται για σπάνιο νόσημα (1 στις 200.000) ενώ τα άτομα που πάσχουν από αυτό μπορεί να έχουν συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης στο πλάσμα μεγαλύτερες και από 400μM/L. Στους ασθενείς εκείνους όπου υπάρχει υπολειπόμενη δραστικότητα του ενζύμου (περίπου στις μισές των περιπτώσεων) η θεραπεία με χορήγηση πυριδοξίνης μπορεί να μειώσει την ομοκυστεΐνη. Στα άτομα που δεν εμφανίζουν ανταπόκριση στη θεραπεία με βιταμίνη B6, η χορήγηση συνδυασμού φυλλικού οξέος και βεταΐνης μαζί με δίαιτα χαμηλή σε μεθειονίνη φαίνεται να είναι αποτελεσματική. (26)

Πρέπει να αναφερθεί ότι η βεταΐνη έχει κάποια μειονεκτήματα αφού φαίνεται ότι αυξάνει τα επίπεδα της μεθειονίνης κάτι που δεν παρατηρείται με τη χορήγηση του φυλλικού οξέος.

Τα άτομα τα οποία είναι ετεροζυγώτες του γονιδίου για τη CBS (φορείς) ανέρχονται σε 1 στους 70 έως και 1 στους 200, στο γενικό πληθυσμό. Τα άτομα αυτά σε ποσοστό 30-50% έχουν φυσιολογικές συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης. Σε αυτά τα άτομα είναι χρήσιμο να πραγματοποιηθεί η δοκιμασία φόρτισης με μεθειονίνη (screening test) και η μέτρηση μετά τη φόρτιση της τιμής της ομοκυστεΐνης. Με τον τρόπο αυτό αναγνωρίζονται οι φορείς της νόσου αφού σε αυτά τα άτομα η δοκιμασία αποβαίνει θετική, δηλαδή μεγάλη αύξηση της τιμής της ομοκυστεΐνης.

Σπάνιες μορφές ομοκυστινουρίας οφείλονται σε διαταραχή της οδού επαναμεθυλίωσης. Μπορεί να οφείλονται δευτεροπαθώς στη μειωμένη δραστικότητα της MTHFR (<20%) οδηγώντας σε σοβαρή υπερομοκυστεϊναιμία η οποία σχετίζεται με μείωση της συγκέντρωσης της μεθειονίνης στο πλάσμα, ή και λειτουργική ανεπάρκεια της συνθάσης της μεθειονίνης η οποία προκαλείται από γενετική βλάβη

του μεταβολισμού της κοβαλαμίνης και προκαλεί υψηλές συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης στο πλάσμα συνδυαζόμενες με χαμηλές τιμές μεθειονίνης .

Η υπερομοκυστεϊναιμία παρατηρείται μόνο στους ομοζυγώτες (υπολειπόμενος αυτοσωμικός χαρακτήρας) ενώ η θεραπεία με χορήγηση βιταμινούχων σκευασμάτων δεν είναι αποτελεσματική αν και η κλινική εικόνα είναι λιγότερο βαριά σε σχέση με τους ομοζυγώτες της CBS μετάλλαξης.

Εκτός από αυτές τις πολύ σπάνιες ενζυμικές βλάβες – γενετικού χαρακτήρα- οι οποίες οδηγούν σε σημαντικού βαθμού διαταραχή του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης, υπάρχουν και πολλές άλλες γενετικές μεταλλάξεις οι οποίες έχουν μικρή μόνο επίδραση στη δραστηριότητα των ενζύμων. Ο 677 C>T πολυμορφισμός του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο MTHFR έχει αποτελέσει αντικείμενο έντονου ερευνητικού ενδιαφέροντος ως προς τη σχέση του με τη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης. Ο επιπολασμός αυτού του πολυμορφισμού είναι σχετικά υψηλός στο γενικό πληθυσμό αφού ο επιπολασμός των ομοζυγωτών (677 TT) στην καυκάσια φυλή ανέρχεται σε 5-15% (27, 28). Η μετάλλαξη αυτή έχει σαν αποτέλεσμα την ελάττωση της δραστηριότητας του ενζύμου MTHFR, γεγονός που οδηγεί σε υψηλότερες συγκεντρώσεις tHcy. Οι ασθενείς που είναι ομόζυγοι ως προς το παθολογικό γονίδιο (αυτοσωμικός υπολειπόμενος χαρακτήρας), εμφανίζουν μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της οποίας δίνονται συμπληρώματα φυλλικού οξέος. Επειδή η αύξηση της τιμής tHcy παρατηρείται μόνο όταν η συγκέντρωση του φυλλικού είναι μικρότερη από 15.4nmol/L.(29) πιθανόν η έλλειψη φυλλικού οξέος να αποτελεί το «έναυσμα» για την έκφραση του παθολογικού γονιδίου.

3. 2. Διατροφικοί Παράγοντες

3.2.1. Ανεπάρκειες βιταμινών

Από διάφορες μελέτες που έχουν διεξαχθή σε ανθρώπους και πειραματόζωα έχει φανεί ότι η ανεπάρκεια του προσλαμβανόμενου φυλλικού οξέος ή της κοβαλαμίνης είχε σαν αποτέλεσμα μια μέτρια ή και λίγο μεγαλύτερη αύξηση της συγκέντρωσης της ομοκυστεΐνης.(30).Φαίνεται όμως πως μόνο η σοβαρή και παρατεταμένη ανεπάρκεια της βιταμίνης B6 θα μπορούσε να είχε επίδραση στη βασική ομοκυστεΐνη (31)

Αντίθετα με ότι παρατηρείται στην ανεπάρκεια κοβαλαμίνης ή φυλλικού οξέος, η ανεπάρκεια βιταμίνης B6 οδηγεί σε αύξηση της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα μετά από φόρτιση με μεθειονίνη από το στόμα. (15.) Η υπέρμετρη πρόσληψη μεθειονίνης με την τροφή, η οποία μειώνει την κινητοποίηση της ενδοκυττάριας «δεξαμενής» του φυλλικού στην οδό της επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης, θα μπορούσε να επεξηγήσει την αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης μετά από φόρτιση με μεθειονίνη σε καταστάσεις όπου υπάρχει έλλειψη της βιταμίνης B6.

Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι η υπέρμετρη κατανάλωση ζωικής προέλευσης πρωτεϊνών πλούσιων σε μεθειονίνη οδηγεί σε αύξηση της κυκλοφορούσας ομοκυστεΐνης. (8, 31)

Η προκύπτουσα υπερομοκυστεϊναιμία μπορεί να είναι το αποτέλεσμα του κορεσμού της καταβολικής οδού της tHcy, μπορεί να απαντηθεί τόσο σε κατάσταση νηστείας όσο και μετά από per os φόρτιση με μεθειονίνη και μόνο όταν οι αποθήκες του οργανισμού σε φυλλικό οξύ και κοβαλαμίνη είναι πλήρεις.

Σε μελέτη που διεξήχθη σε υγιείς άνδρες δε διαπιστώθηκε σχέση μεταξύ μικρής διάρκειας διακυμάνσεις της διαιτητικής πρόσληψης μεθειονίνης και συγκέντρωσης

ομοκυστεΐνης πλάσματος (32) ενώ αντίθετα η μειωμένη πρόσληψη φυλλικού παίζει κεντρικό ρόλο στη υπερομοκυστεϊναιμία.

Πολλές είναι και οι μελέτες παρέμβασης με βιταμίνες του συμπλέγματος Β και την επίδρασή τους στο μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης. Η συνήθης μεθοδολογία αφορούσε στη χορήγηση συμπληρωμάτων με φυλλικό οξύ (συνθετική μορφή του φυλλικού) καθώς και συνδυασμών φυλλικού οξέος, βιταμίνης Β2, Β6 και Β12 (33- 39).

Στις μελέτες αυτές παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση αυτών των συμπληρωμάτων ελάττωσε τα επίπεδα της tHcy τόσο σε άτομα με φυσιολογικά επίπεδα όσο και σε άτομα με αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης. Μεταανάλυση 12 τυχαιοποιημένων μελετών έδειξε ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων φυλλικού οξέος μειώνει τη συγκέντρωση της tHcy κατά 25% ανεξάρτητα από το δοσολογικό σχήμα (500-5000 μg. Η ελάττωση της tHcy διαπιστώθηκε στις περιπτώσεις εκείνες όπου η αρχική συγκέντρωση πριν από τη θεραπευτική παρέμβαση κυμαινόταν στα 12 μΜ κατά μέσο όρο. Ενώ στις περιπτώσεις εκείνες όπου η αρχική συγκέντρωση της tHcy ήταν μεγαλύτερη παρατηρήθηκε ότι και η απάντηση των ατόμων στα συμπληρώματα του φυλλικού ήταν μεγαλύτερη (μεγαλύτερη μείωση της tHcy). (40)

Έχει βρεθεί ότι πρόσληψη φυλλικού οξέος σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις απ' ότι συνήθως , από ενήλικες οδηγούσε σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις tHcy, ανεξάρτητα από άλλους διατροφικούς παράγοντες ή παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής. (41- 43)

Οι μελέτες αυτές συμπλήρωσαν άλλες μελέτες παρατήρησης με θέμα τη διαιτητική πρόσληψη του φυλλικού και τις συγκεντρώσεις της tHcy σε άτομα μέσης ηλικίας καθώς και σε ηλικιωμένους (44, 45)

Η σχέση της βιταμίνης B2 και της ομοκυστεΐνης δεν έχει διερευνηθεί στον ίδιο βαθμό όπως οι υπόλοιπες βιταμίνες που έχουν προαναφερθεί, ενώ η ασθενής αντίστροφη συσχέτιση που έχει προκύψει στις μελέτες αυτές μπορεί να οφείλεται σε ελλείψεις του σχεδιασμού των μελετών (π.χ. να μην έχει γίνει διόρθωση για την πρόσληψη και άλλων διατροφικών παραγόντων, όπως είναι η μεθειονίνη και το αλκοόλ). (42 - 44). Τέτοια σχεδιαστικά λάθη είναι πιθανόν να αντιμετωπίστηκαν και σε άλλες μελέτες η οποίες διερεύνησαν τη σχέση της βιταμίνης B6 και της tHcy. (41- 48)

Σε αυτές τις μελέτες παρατηρήθηκε αντίστροφη σχέση μεταξύ αυτών των δύο παραγόντων εκτός από μία μελέτη όπου δε βρέθηκε καμία σχέση. (48).

Σε τρεις μελέτες διαπιστώθηκε ότι οι χαμηλές συγκεντρώσεις της tHcy σχετίζονταν με ιδιαίτερα υψηλή πρόσληψη βιταμίνης B12 σε άτομα ηλικιωμένα και μέσης ηλικίας (44,45,47). Η εξήγηση αυτού του αποτελέσματος βρίσκεται στο ότι γενικά στις ανεπτυγμένες χώρες η ημερήσια πρόσληψη βιταμίνης B12 είναι μεγαλύτερη από τη συνιστώμενη, ενώ γενικά τα ηλικιωμένα άτομα παρουσιάζουν προβλήματα δυσασπορρόφησης της B12 λόγω της συνήθως συνυπάρχουσας ατροφικής γαστρίτιδος. Τέλος τα αποτελέσματα από τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη μελέτη παρέμβασης έδειξαν ότι η τροποποίηση του διαιτολογίου σε σχέση με το περιεχόμενο του σε φρούτα, λαχανικά, κορεσμένα και ολικά λιπαρά , είχε σημαντικές επιδράσεις στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης νηστείας τα οποία σχετίστηκαν με μεταβολές στη συγκέντρωση του φυλλικού στον ορό όχι όμως και με τις βιταμίνες B12 και B6, και ύστερα μόλις από 3 εβδομάδες.(49)

4. Φυλλικό οξύ παράγοντας

4.1 Βιταμίνη και ορμόνη

Το φυλλικό οξύ είναι η πιο κοινή μορφή της βιταμίνης B9.

Είναι η B9, η οποία να συνδυάζεται με την B12.

3.2.2. Κατανάλωση καφέ . Η κατανάλωση καφεΐνης έχει συσχετιστεί θετικά με τη συγκέντρωση της tHcy τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες στις περισσότερες μελέτες παρατήρησης. (42,46, 50, 51) όχι όμως και σε όλες .(41,45, 52)

Από πρόσφατες μελέτες παρέμβασης προέκυψε ότι πιθανόν υπάρχει αιτιολογικός παράγοντας μεταξύ της λήψης καφεΐνης και επιπέδων ομοκυστεΐνης. (53, 54, 55)

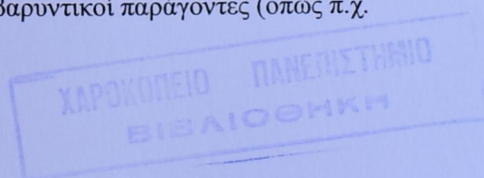
Η καφεΐνη φαίνεται να είναι παράγοντας αύξησης των επιπέδων της ομοκυστεΐνης, ίσως διότι αναστέλλει τη μετατροπή της ομοκυστεΐνης σε κυστεΐνη μέσω της ανταγωνιστικής της δράσης στη βιταμίνη B6 (54). Επιπλέον, από πρόσφατα σχετικά δεδομένα φάνηκε ότι το χλωρογονικό οξύ, μια πολυφαινόλη η οποία ανιχνεύεται στον καφέ στην ίδια συγκέντρωση με την καφεΐνη μπορεί ίσως να συμμετέχει στη διαδικασία αύξησης της συγκέντρωσης της ομοκυστεΐνης. Όταν οι πολυφαινόλες μεταβολίζονται απαιτούν μεθυλικές ομάδες, οι οποίες προέρχονται από τη μεθειονίνη με αποτέλεσμα την αύξηση της παραγόμενης ομοκυστεΐνης (56).

Τόσο η καφεΐνη όσο και το χλωρογονικό οξύ υπάρχουν και στο τσάι , σε μικρότερες όμως συγκεντρώσεις, γεγονός που επεξηγεί την αδυναμία συσχέτισης κατανάλωσης τσαγιού και υπερομοκυστεϊναιμίας.

4. Φυσιολογικοί παράγοντες

4.1.Ηλικία και φύλο

Τόσο η αύξηση της ηλικίας όσο και το ανδρικό φύλο σχετίζονται με την αύξηση της tHcy (57,58,) χωρίς να υπάρχουν άλλοι επιβαρυντικοί παράγοντες (όπως π.χ.



γενετική προδιάθεση). Οι άνδρες υπολογίζεται ότι έχουν κατά 25% μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης στο πλάσμα συγκριτικά με τις αντίστοιχες προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. (59).

Από έρευνες προέκυψε ότι η διαφορά αυτή μεταξύ των δύο φύλων μπορεί να οφείλεται στο ότι υπάρχει διαφορά στις αντιδράσεις μεταφοράς θεικών ομάδων και επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης με τις γυναίκες να διαθέτουν ένα πιο αποτελεσματικό σύστημα επαναμεθυλίωσης 60 ενώ αντίθετα οι άνδρες να διαθέτουν καλύτερο σύστημα μεταφοράς θεικών ομάδων (18).

Η διαφορά που υπάρχει μεταξύ των φύλων ίσως να μπορεί να εξηγηθεί και από τη διαφορά που υπάρχει στο ποσοστό της μυϊκής μάζας μεταξύ ανδρών και γυναικών, με τους άνδρες να υπερέχουν φανερά.. Το αυξημένο ποσοστό μυών οδηγεί σε αύξηση της tHcy αφού ο σχηματισμός των μυών σχετίζεται άμεσα με το σχηματισμό της ομοκυστεΐνης και τη σύνδεση της με την αντίδραση σχηματισμού κρεατίνης/κρεατινίνης.(61)

Άλλος παράγοντας που θα μπορούσε να εξηγήσει τη διαφορά αυτή είναι και οι ορμόνες του φύλου (58) παρατήρηση που επιβεβαιώθηκε από αποτελέσματα μελέτης που διεξήχθη σε άνδρες και γυναίκες οι οποίοι είχαν προβεί σε αλλαγή φύλου.(62) Επίσης η επίδραση του παράγοντα της ηλικίας στο γυναικείο πληθυσμό μπορεί να εξηγηθεί από τα επίπεδα των ορμονών του φύλου. Συγκεκριμένα οι γυναίκες που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση εμφανίζουν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις της tHcy σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Αντίθετα η χορήγηση σκευασμάτων ορμονικής υποκατάστασης μετά την εμμηνόπαυση βρέθηκε ότι υποστρέφει την αύξηση της tHcy. (58, 63)

4.2.Φυλή

Οι μαύροι της νοτίου Αφρικής έχουν χαμηλότερα επίπεδα tHcy από τους λευκούς νοτίου Αφρικανούς οι οποίοι τρέφονται με τα ίδια τρόφιμα, παρατήρηση που παραπέμπει στην υπόθεση ότι ο λόγος είναι γενετικός. (64)

5. Παθολογικοί παράγοντες

5.1. Κάπνισμα

Το κάπνισμα συσχετίζεται θετικά με τα επίπεδα της tHcy.(41,42,43, 46). Το γεγονός ότι η επίδραση του καπνίσματος παραμένει ακόμα και στις περιπτώσεις όπου έχει γίνει διόρθωση για την κατανάλωση καφεΐνης και την πρόσληψη φυλλικού οξέος υποδηλώνει τη σημαντικότητα της επίδρασης του (41). Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι οι καπνιστές στην πλειοψηφία τους ακολουθούν λιγότερο υγιεινή διατροφή, (65) οπότε συνήθως συνυπάρχουν και διατροφικές ελλείψεις. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε μελέτη που έγινε διόρθωση σε σχέση με το φυλλικό οξύ η σχέση μεταξύ καπνίσματος και υπερομοκυστεϊναιμίας εξαφανίστηκε.(45)Ο ακριβής μηχανισμός δράσης του καπνίσματος πάνω στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης δεν είναι εξακριβωμένος. Πιθανοί μηχανισμοί έχουν να κάνουν με την απευθείας επίδραση τοπικά των κυττάρων που έρχονται σε επαφή με τον καπνό (66) ή μέσω της μεταβολής της οξειδοαναγωγικής κατάστασης των θειολών (67) ή τέλος μέσω της αναστολής ενζύμων όπως για παράδειγμα η συνθάση της μεθειονίνης. (68)

5.2. Κατανάλωση οινοπνεύματος.

Η σχέση της κατανάλωσης οινοπνεύματος και των επιπέδων της ομοκυστεΐνης ακολουθεί μάλλον καμπύλη J (69). Αυτό φαίνεται από την παρατήρηση ότι τα άτομα που έκαναν μικρή κατανάλωση οινοπνεύματος είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης σε σχέση με αυτούς που δεν κατανάλωναν καθόλου οινόπνευμα.

Αντίθετα η μεγάλη κατανάλωση οινοπνεύματος σχετίζεται με σημαντική αύξηση της tHcy. (46,70). Αντίστροφη σχέση μεταξύ μέτριας κατανάλωσης οινοπνεύματος και tHcy φάνηκε σε κάποιες μελέτες στις οποίες όμως τα αποτελέσματα αυτά αφορούσαν μόνο τον ανδρικό πληθυσμό (47, 70), ενώ παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και σε μελέτες των οποίων το δείγμα περιελάμβανε και γυναίκες και άνδρες (71,72)

Σε μελέτες που διεξήχθησαν στην Αμερική η συσχέτιση ήταν πολύ ασθενής.(43,73, 74). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπήρξαν και μελέτες κατά τις οποίες δε φάνηκε να υπάρχει οποιαδήποτε συσχέτιση μεταξύ οινοπνεύματος και συγκέντρωσης ομοκυστεΐνης. (59). Ένας σημαντικός παράγοντας ο οποίος φαίνεται να έχει επηρεάσει τα αποτελέσματα όλων των μελετών είναι το ό,τι η πολύ μεγάλη κατανάλωση οινοπνεύματος οδηγεί σε μεγάλη αύξηση τις τιμές της tHcy. Επομένως, οι συμμετοχή αλκοολικών ατόμων είναι προφανές ότι δημιουργεί ψευδώς θετική συσχέτιση.

Τελικά φαίνεται ότι η σχέση οινοπνεύματος και tHcy είναι αρκετά πολύπλοκη.

Παρόλα αυτά υπάρχουν αρκετές μελέτες στις οποίες διερευνήθηκε η σχέση διαφόρων παραμέτρων σχετικά με το μοντέλο ζωής (π.χ. πρόσληψη φυλλικού, κάπνισμα, κατανάλωση καφέ), όπου τα αποτελέσματα ήταν σχεδόν τα ίδια ακόμα και όταν εξαίρεσαν τους πρώην πότες γεγονός που συνηγορεί υπέρ του ότι η μέτρια

κατανάλωση αλκοόλ έχει ευεργετική επίδραση στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης σε σχέση με την αποφυγή πρόσληψης.(47, 70,)

5.3. Νεφρική ανεπάρκεια

Το πιο συχνό κλινικό αίτιο υπερομοκυστεϊναιμίας , μετά από τις διατροφικές ελλείψεις του φυλλικού και των βιταμινών B12 , είναι η νεφρική ανεπάρκεια. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο επηρεάζεται η συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης στη νεφρική ανεπάρκεια δεν είναι απόλυτα γνωστός , υπάρχουν όμως διάφοροι μηχανισμοί που θα μπορούσαν να επεξηγήσουν τη σχέση αυτή. Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι νεφροί και το ήπαρ είναι τα δύο όργανα στα οποία γίνεται η βιοσύνθεση και ο καταβολισμός της ομοκυστεΐνης. Είναι λοιπόν επόμενο ότι η διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας θα επηρεάσει τη ρύθμιση του μεταβολισμού της tHcy. Η μείωση της κάθαρσης της ομοκυστεΐνης από τους νεφρούς μπορεί να αποτελεί ένα λόγο. Η επαναρρόφιση όμως της ομοκυστεΐνης από τα νεφρικά σωληνάκια αφορά μόνο το 30% της ολικής συγκέντρωσης της στο πλάσμα και αντιστοιχεί στις δισουλφιδικές μορφές που δεν είναι συνδεδεμένες με πρωτεΐνες. Το σύστημα οξειδοαναγωγής των σωληναριακών κυττάρων επιτρέπει την αναγωγή των δισουλφιδίων, με αποτέλεσμα να γίνεται η ομοκυστεΐνη διαθέσιμη να εισέλθει είτε στην μεταβολική οδό της επαναμεθυλίωσης , είτε της μεταφοράς θευκών ομάδων. (75). Άλλη αιτία αύξησης της tHcy είναι ότι στην χρόνια νεφρική ανεπάρκεια αυξάνεται κατά πολύ η κρεατινίνη του ορού, οπότε αυξάνεται το υπόστρωμα για την παραγωγή ομοκυστεΐνης με χημικές αντιδράσεις οι οποίες έχουν ήδη αναφερθεί. (76).

5.4. Νεοπλασίες – Ψωρίαση

Στα νοσήματα αυτά το χαρακτηριστικό είναι οι ταχύτατες μιτωτικές διαδικασίες, οι οποίες έχουν υψηλές απαιτήσεις για μεθυλικές ομάδες. Δότης των μεθυλομάδων είναι η μεθειονίνη με αποτέλεσμα όταν η μεθειονίνη χρησιμοποιείται από τα νεοπλασματικά κύτταρα η ομοκυστεΐνη να μην μπορεί να καταβολιστεί.(77).

6. Ενδοκρινικά νοσήματα (Ψωρίαση)

5.5. Ενδοκρινικά νοσήματα

Εξεσημασμένη υπερομοκυστεΐναιμία παρατηρήθηκε σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 1 (Σ.Δ. 1),οι οποίοι όμως είχαν επιλοκές από τη νόσο όπως συμπτωματική λευκωματουρία και αύξηση της κρεατινίνης. Πιθανόν λοιπόν σε αυτούς τους ασθενείς η αύξηση της tHcy να οφείλεται όχι στο διαβήτη αλλά δευτεροπαθώς στην επηρεασμένη νεφρική λειτουργία .(78)

Σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2 παρατηρήθηκε μικρή αύξηση της tHcy στην ομάδα που θεραπευόταν με μετφορμίνη. Γενικά όμως τα δεδομένα σχετικά με την επίδραση του σακχαρώδους διαβήτη στη συγκέντρωση της tHcy δεν είναι ιδιαίτερα πολλά.

Στους ασθενείς που πάσχουν από υποθυρεοειδισμό τα επίπεδα της tHcy είναι υψηλότερα συγκριτικά με αυτούς που είχαν υπερθυρεοειδισμό.(79)

Αυτό μπορεί να οφείλεται στην επίδραση της λειτουργίας του θυρεοειδούς στον κύκλο του μεταβολισμού καθώς επίσης και στις συγκεντρώσεις των βιταμινών και στη νεφρική λειτουργία (78) .

να οφείλεται στη βλάβιση των κυτταρικών επιπέδων και στην αλτάση της παραγωγή τους σε απροσδόκητα και απροσπερή (81).

Σημαντική είναι η παρατήρηση ότι οι γυναίκες που μετά τη συμπαράση του

λαμβάναν θεραπεία ορμονικής αντικατάστασης μειώναν τα επίπεδα της tHcy (75)

5.6. Παθήσεις του εντέρου

Νοσήματα του πεπτικού όπως η ελκώδης κολίτιδα , η νόσος του Crohn, η κοιλιοκάκη και το σύνδρομο βραχέως εντέρου μπορεί να προκαλέσουν ανεπάρκεια του φυλλικού ή της βιταμίνης B12 κυρίως λόγω δυσαπορρόφησης. Σε αυτές τις καταστάσεις μπορεί να παρατηρηθούν αυξημένες συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης.

6. Ιατρογενείς παράγοντες (Φάρμακα)

Εκτός από τους παράγοντες που ήδη αναφέρθηκαν ότι επηρεάζουν τα επίπεδα της tHcy, υπάρχουν και αρκετά φάρμακα τα οποία επηρεάζουν τη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης σε κάποιες ιδιαίτερες ομάδες του πληθυσμού.

6.1. Ορμόνες του φύλου.

Η επίδραση των ορμονών του φύλου στα επίπεδα της tHcy πηγάζει από την παρατήρηση ότι οι γυναίκες έχουν μικρότερες τιμές από τους αντίστοιχους άνδρες ενώ και μεταξύ γυναικών οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις της tHcy παρατηρούνται στις προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες καθώς και κατά τη διάρκεια της κύησης (58). Από παλιότερες μελέτες με μικρό δείγμα συμμετεχόντων, τα αντισυλληπτικά δισκία είχαν ενοχοποιηθεί ως υπεύθυνα για την αύξηση της tHcy (80).

Νεότερες όμως μελέτες απέδειξαν ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά μεταξύ των γυναικών που χρησιμοποιούσαν αντισυλληπτικά και αυτών που δεν έκαναν χρήση. Το αποτέλεσμα αυτό ίσως και να οφείλεται στη βελτίωση των σκευασμάτων αυτών και στην ελάττωση της περιεκτικότητας τους σε οιστρογόνα και προγεστερόνη (81). Σημαντική είναι η παρατήρηση ότι οι γυναίκες που μετά τη εμμηνόπαυση που λάμβαναν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης μείωσαν τα επίπεδα της tHcy. (75)

ενώ η χρήση της ταμοξιφαίνης- ενός αντιοιστρογόνου για τη θεραπεία του καρκίνου του μαστού- φάνηκε να ελαττώνει τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης.

6.2. Αντιεπιληπτικά φάρμακα

Τα φάρμακα αυτά χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της επιληψίας. Θεωρείται ότι παρεμβαίνουν στην απορρόφηση του φυλλικού οξέος και στον καταβολισμό του ενώ πιθανόν να αναστέλλουν τα ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του φυλλικού οξέος. Η φαινυτοΐνη είναι από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα αντιεπιληπτικά που σχετίζεται με την ανεπάρκεια του φυλλικού. Άλλα φάρμακα όπως η φαινοβαρβιτάλη, η καρβαμαζεπίνη η πριμιδόνη και το βαλπροϊκό οξύ είναι πιθανόν να παρεμβαίνουν στον μηχανισμό επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης. (82).

6.3. Μεθοτρεξάτη

Το φάρμακο αυτό είναι αναστολέας της μετατροπής του διυδροφυλλικού σε τετραϋδροφυλλικό με αποτέλεσμα τη μείωση της σύνθεσης των DNA και RNA νουκλεοτιδίων. Χορηγείται σε καταστάσεις όπου απαιτείται η καταστολή της κυτταρικής αναπαραγωγής όπως π.χ. οι νεοπλασίες, η ψωρίαση, τα αυτοάνοσα νοσήματα κ.λ.π. Άλλα φάρμακα της κατηγορίας αυτής όπως η σουλφοσαλαζίνη, η τριμετρεξάτη η τριμεθοπρίμη πιθανόν να έχουν την ίδια επίδραση πάνω στα επίπεδα της tHcy (77).

6. 4. Πρωτοξείδιο του αζώτου

Πρόκειται για αέριο αναισθητικό το οποίο κατά τη χορήγηση του αυξάνει ταχύτατα τα επίπεδα της tHcy στο πλάσμα. Ο μηχανισμός δράσης του στηρίζεται στην αδρανοποίηση της συνθάσης της μεθειονίνης, του απαραίτητου ενζύμου για την επαναμεθυλίωση της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη. Η προεγχειρητική χορήγηση βεταΐνης η οποία μπορεί να κάνει επαναμεθυλίωση χωρίς τη συμμετοχή της συνθάσης της μεθειονίνης, μπορεί να προλάβει την οξεία αύξηση της ομοκυστεΐνης

και ίσως έτσι να ελαττωθεί η πιθανότητα εμφάνισης μετεγχειρητικών επιπλοκών λόγω της θρομβογενετικής δράσης της ομοκυστεΐνης.

6.5. Άλλα φάρμακα

Φάρμακα όπως η ισονιαζίδη, η υδραλαζίνη, η κυκλοσερίνη δρουν σαν ανταγωνιστές της βιταμίνης B6. Επίσης φάρμακα, τα οποία χρειάζονται μεθυλοποίηση προκειμένου να ενεργοποιηθούν, όπως η L-Dopa που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της νόσου του Πάρκινσον μπορούν να προκαλέσουν αύξηση της συγκέντρωσης της tHcy.

7. Ταξινόμηση των υπερομοκυστεϊναιμιών

Η σοβαρή υπερομοκυστεϊναιμία διαχωρίστηκε σε υποκατηγορίες ανάλογα με την ολική συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα (tHcy) (6)

Έτσι προέκυψαν οι εξής κατηγορίες:

5. Σοβαρή υπερομοκυστεϊναιμία για συγκεντρώσεις υψηλότερες από 100 $\mu\text{Mol/L}$,
6. Ενδιάμεσης βαρύτητας για συγκεντρώσεις μεταξύ 30 και 100 $\mu\text{Mol/L}$ και,
7. Μέτριας βαρύτητας για συγκεντρώσεις μεταξύ 15 έως 30 $\mu\text{Mol/L}$.

Οι τιμές αναφοράς για την tHcy κυμαίνονται μεταξύ 5 και 15 $\mu\text{Mol/L}$ (μέση συγκέντρωση 10 $\mu\text{Mol/L}$). Λόγω της επίδρασης της ηλικίας, του φύλου των διατροφικών συνηθειών και ελλείψεων, δεν υπάρχει κοινός προσδιορισμός των τιμών εκείνων που θα πρέπει να υπερβεί η tHcy προκειμένου να θεωρηθεί ως υπερομοκυστεϊναιμία στα φυσιολογικά άτομα που δεν πάσχουν από γενετικού τύπου βλάβες του μεταβολισμού της.

Από πολλές μελέτες φαίνεται η ύπαρξη θετικής συσχέτισης μεταξύ της συγκέντρωσης της tHcy και της συχνότητας εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου.

Μεγαλύτερη συχνότητα των νοσημάτων αυτών παρατηρείται στις περιπτώσεις αυτές που η συγκέντρωση της tHcy ξεπερνά τα 16 $\mu\text{Mol/L}$. (83,84)

Από νεότερες όμως μελέτες προέκυψαν στοιχεία σύμφωνα με τα οποία συγκέντρωση tHcy μεγαλύτερη από 12 $\mu\text{Mol/L}$ σχετίζεται με αύξηση του δείκτη πιθανοτήτων για την εμφάνιση αθηροσκληρυντικών αγγειοπαθειών. (85).

Έχοντας ως σημείο αναφοράς τη ρύθμιση του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης από τη SAM, μπορεί κανείς να προτείνει 3 τύπους ενδιάμεσης και μέτριας υπερομοκυστεϊναιμίας. Οι τύποι αυτοί προκύπτουν από:

1. Την αναστολή της μεταβολικής οδού επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης ως επακόλουθο της ανεπάρκειας της βιταμίνης B12 ή του φυλλικού οξέος, ή λόγω της παρουσίας της μετάλλαξης για το γονίδιο της MTHFR ή λόγω βλάβης της συνθάσης της μεθειονίνης
2. Την αναστολή της οδού μεταφοράς θεικών ομάδων στην ομοκυστεΐνη λόγω ανεπάρκειας της βιταμίνης B6 ή μερικής συγγενούς έλλειψης της CBS και,
3. Τον κορεσμό της παραπάνω μεταβολικής οδού η οποία σχετίζεται με την υπέρμετρη διατροφική πρόσληψη μεθειονίνης σε καταστάσεις όμως όπου συνυπάρχουν και διατροφικές ανεπάρκειες του φυλλικού και της κοβαλαμίνης. (86)

8.3. Ομοκυστεΐνη και Υπόταση

8. Η ομοκυστεΐνη και ο κίνδυνος προσβολής από στεφανιαία νόσο

8.1. Γενετικές βλάβες

Τα πρώτα και ισχυρότερα στοιχεία που αποδείκνυαν την αύξησης της tHcy ως παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση αθηρωματικής νόσου προέρχονται από ασθενείς με γενετικές βλάβες του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης. Οι ασθενείς οι οποίοι έπασχαν από έλλειψη της CBS και δεν έπαιρναν την κατάλληλη θεραπεία, σε

ποσοστό 50% περίπου εμφάνιζαν κάποιο αγγειακό σύμβαμα πριν φτάσουν ακόμη στην ηλικία των 30 ετών.⁸⁷

Ασθενείς με άλλες κληρονομικές διαταραχές του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης, όπως η έλλειψη της MTHFR ή ελλείψεις στο μεταβολισμό της κοβαλαμίνης (βιταμίνη B12) (3) παρουσίαζαν και αυτοί διάφορες μορφές αγγειακής νόσου σε νεαρή ακόμα ηλικία. Το κοινό χαρακτηριστικό όλων αυτών των γενετικών ανεπαρκειών είναι η παρουσία της ομοκυστεΐνης σε ιδιαίτερα αυξημένες συγκεντρώσεις ($> 100 \mu\text{M}$). Η θεραπευτική αντιμετώπιση αυτών των ασθενών με ουσίες που ελάττωναν τη συγκέντρωση της tHcy (π.χ. φυλλικό οξύ, βιταμίνη B12, βιταμίνη B6, βεταΐνη) είχε σαν αποτέλεσμα την πρόληψη των αγγειακών συμβαμάτων. Παρά όμως την οποιαδήποτε θεραπευτική αγωγή, οι ασθενείς δεν κατόρθωναν ποτέ να αποκτήσουν φυσιολογικές τιμές tHcy ($> 30 \mu\text{M}$), (88) οπότε συνέχιζαν να έχουν μεγαλύτερο σχετικό κίνδυνο προσβολής από καρδιαγγειακά νοσήματα συγκριτικά με τον υπόλοιπο πληθυσμό.

8.2. Ομοκυστεΐνη και θρόμβωση

Η πρωτοποριακή εργασία των Harker et al (89) έδειξε ότι ο τραυματισμός των κυττάρων του ενδοθηλίου ο οποίος σχετίζεται με μείωση της επιβίωσης των αιμοπεταλίων συμμετέχει στην έναρξη των αγγειακών βλαβών οι οποίες προάγονται από την τεχνητά προκαλούμενη αύξηση της ομοκυστεΐνης. Ορμώμενοι από την παρατήρηση ότι οι πρώιμες αθηρωματικές βλάβες που παρατηρήθηκαν σε πειραματόζωα με υπερομοκυστεΐναιμία μπορούσαν να αντιμετωπιστούν με χορήγηση

ανταιοπεταλιακών παραγόντων και συγκεκριμένα διπυριδαμόλης, οι ερευνητές αυτής της μελέτης κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο πολλαπλασιασμός των λείων μυικών κυττάρων που επάγεται από τη δράση των αιμοπεταλίων, μπορεί να αποτελέσει έναν πιθανό κυτταρικό μηχανισμό ο οποίος να συμμετέχει στην αθηρογόνο δράση της υπερομοκυστεϊναιμίας. Τα αποτελέσματα αυτά δεν επαληθεύθηκαν από άλλους ερευνητές σε έρευνες με ασθενείς που έπασχαν από ομοκυστινουρία και σε *in vitro* μελέτες οι διαταραχές της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων ήταν αμφιλεγόμενη (90). Παρόλα αυτά, οι υποστηρικτές της θεωρίας ότι η υπερομοκυστεϊναιμία προάγει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων πραγματοποίησαν *in vitro* μελέτες, από τις οποίες προέκυψε ότι εκτός από την άμεση κυτταροτοξική δράση της αυξημένης συγκέντρωσης της tHcy, η ομοκυστεϊνή μπορεί και διαταράσσει την αντιθρομβωτική ικανότητα του ενδοθηλίου (91, 92). Αν και τα δεδομένα σχετικά με τη βιοσύνθεση της προστακυκλίνης (PGI₂) από ενδοθηλιακά κύτταρα τα οποία επωάζονται σε περιβάλλον με ομοκυστεϊνή είναι αντικρουόμενα (93) η ομοκυστεϊνή θα μπορούσε να επηρεάσει την ικανότητα των κυττάρων αυτών να αναστείλουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, πιθανόν μέσω της ελάττωσης της βιοδιαθεσιμότητας του οξειδίου του αζώτου (NO) (94) επιπλέον, η έκθεση μονοκυττάρων σε ομοκυστεϊνή προάγει την έκφραση του ιστικού παράγοντα (tissue factor TF), (95) και η έκθεση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε ομοκυστεϊνή αυξάνει την έκφραση του TF και την ενεργοποίηση του παράγοντα V σε παράγοντα Vα και έτσι προωθείται ο σχηματισμός της θρομβίνης διαμέσου της πυροδότησης και της επανάληψης του μηχανισμού πήξης. Μέσω της αύξησης της δραστηριότητας του TF, η ομοκυστεϊνή θα μπορούσε να ενισχύσει την εξαρτώμενη από τον GPIIb-IIIa/Ινωδογόνο παράγοντα τη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. (96). Ακόμα, η ομοκυστεϊνή φαίνεται να διαταράσσει

τους αντιπηκτικούς παράγοντες όπως είναι το σύστημα θρομβομοδοουλίνης/πρωτεΐνης C και η αντιθρομβίνη III. Επίσης μπορεί να αναστέλλει την έκφραση της θρομβομοδοουλίνης μέσω της διαταραχής της ενδοκυττάριας οξειδοαναγωγικής μεταφοράς της θειόλης, ενώ μπορεί να αναστέλλει τη δράση θρομβομοδοουλίνης μέσω της αλλαγής του πλούσιου σε δισουλφίδια βασικού «μοτίβου» της πρωτεΐνης, καθώς και της δραστηριότητας της πρωτεΐνης C, της θρομβίνης στον αντιπηκτικό μηχανισμό θρομβομοδοουλίνης /πρωτεΐνης C. (97)

Επιπλέον, η ομοκυστεΐνη θα μπορούσε συγκεκριμένα να αναστέλλει την απενεργοποίηση του παράγοντα Va μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεΐνης C με την ομοκυστεΐνωση του συμπαράγοντα (98). Η σύνδεση της αντιθρομβίνης III στην επιφάνεια του ενδοθηλίου μειώνεται επίσης από την ομοκυστεΐνη λόγω της αναστολής έκφρασης της θεικής ηπαρίνης. (99).

Όσον αφορά τη διαδικασία της ινωδόλυσης, έχει αναφερθεί παρουσία ομοκυστεΐνης, διαταραχή στη δέσμευση και στη δράση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tissue-type Plasminogen activator, t-PA) στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία θα μπορούσε να δρα ανασταλτικά στην εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο ινωδόλυση (100). Είναι σημαντικό το ότι ο δισουλφιδικός δεσμός μεταξύ ομοκυστεΐνης και της πλούσιας σε κυστεΐνη περιοχή της αννεξίνης II είναι υπεύθυνη για την εξειδικευμένη από την ομοκυστεΐνη αναστολή της σύνδεσης του t-PA με τη αννεξίνη στην κυτταρική επιφάνεια. (101). Σε αντίθεση με την έκκριση και την έκφραση του mRNA του t-PA, η έκκριση και η γονιδιακή έκφραση του αναστολέα του τύπου 1 t-PA σε ανθρώπινα κύτταρα ενδοθηλίου καθώς και σε λεία μυϊκά κύτταρα αυξάνεται από την ομοκυστεΐνη (102).

Τέλος, αυξάνοντας τη συγγένεια της λιποπρωτεΐνης α για την ινική η ομοκυστεΐνη θα μπορούσε να καταστείλει τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη στην επιφάνεια της ινικής.

Από όλες αυτές τις παρατηρήσεις προκύπτει ότι η αυξημένη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα ευνοεί τη θρομβογένεση. Στα πλαίσια της διερεύνησης αυτής της σχέσης έχουν γίνει διάφορες μελέτες στο γενικό πληθυσμό αλλά και σε ομάδες υψηλού κινδύνου. Υπάρχουν βάσιμα επιδημιολογικά στοιχεία τα οποία υποδεικνύουν ότι η συγκέντρωση της tHcy αποτελεί παράγοντα κινδύνου για φλεβοθρομβώσεις (103). Σε τρεις προοπτικές μελέτες στις οποίες ελέγχθηκε η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης της tHcy και της φλεβικής θρόμβωσης, φάνηκε ότι υπάρχει σημαντική θετική συσχέτιση τόσο στην ομάδα των υγιών ατόμων όσο και στις ομάδες των ασθενών από συστηματικό ερυθματώδη λύκο και αυτών που είχαν ιστορικό φλεβικής θρόμβωσης. (104- 106)

Επιπλέον, το 50% των αγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς με ανεπάρκεια CBS οφείλεται σε θρομβωτικά επεισόδια. (87). Κατά συνέπεια, αν η υπερομοκυστεϊναίμια είναι περισσότερο θρομβογόνος παρά αθηρογόνος παράγοντας, ένα τμήμα της ασθενούς σχέσης της tHcy και του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου θα μπορούσε να αποδοθεί στο γεγονός ότι η στεφανιαία νόσος περιλαμβάνει καρδιακά συμβάματα των οποίων τα αίτια είναι και η αθηρωμάτωση αλλά και η θρόμβωση. Η θρομβογονική δράση της tHcy -ως πρωταρχική δράση- θα μπορούσε να επεξηγήσει γιατί υπάρχει σταθερή συσχέτιση με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίων συμβαμάτων σε άτομα υψηλού κινδύνου. Αν τα άτομα αυτά έχουν ήδη κάποιου βαθμού αθηρωμάτωση, η θρόμβωση η οποία διεγείρεται από την tHcy θα μπορούσε να αποτελέσει το βασικό παράγοντα πυροδότησης του αγγειακού εμφράκτου.

8.3. Μηχανισμοί δράσης της ομοκυστεΐνης για την αύξηση του κινδύνου προσβολής από στεφανιαία νόσο.

Η παρατήρηση του Mc Cully το 1969 οδήγησε στην υπόθεση ότι η ομοκυστεΐνη θα μπορούσε να είναι υπεύθυνη για τις βλάβες των αρτηριακών τοιχωμάτων. Αν και πολλές μελέτες τόσο *in vitro* όσο και *in vivo* προσπάθησαν να διερευνήσουν αυτήν την υπόθεση, ωστόσο οι μηχανισμοί βάσει των οποίων η υπερομοκυστεϊναιμία προάγει την ανάπτυξη της αγγειακής νόσου δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί.

A. Μελέτες in vitro: αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης είχαν επίδραση πάνω στα ενδοθηλιακά κύτταρα σε πολλά επίπεδα. Ο τραυματισμός των ενδοθηλιακών κυττάρων, η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, οι δραματικές επιδράσεις πάνω στην έκφραση της θρομβομοδουλίνης, η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C, η δράση του ιστικού παράγοντα και η αυξημένη οξείδωση των LDL λιποπρωτεϊνών, (107) έχουν περιγραφεί ως μερικοί από τους μηχανισμούς με τους οποίους η ομοκυστεΐνη προάγει την αθηρωμάτωση και τη θρόμβωση. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η ομοκυστεΐνη έχει ανεπιθύμητες επιδράσεις στα λεία μυϊκά κύτταρα λόγω της επαγωγής της έκφρασης του γονιδίου της κυκλίνης A καθώς και της αυξημένης μεταγραφής της εξαρτώμενης από την κυκλίνη κινάσης, μια πρωτεΐνη η οποία ρυθμίζει τις μιτώσεις. Και οι δύο αυτές δράσεις μπορεί να έχουν σαν αποτέλεσμα της προαγωγή του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών κυττάρων.

Β. Μελέτες σε ασθενείς με ομοκυστινουρία: Οι μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε ασθενείς με σοβαρή υπερομοκυστεϊναιμία έχουν ρίξει αρκετό φως ως προς τους πιθανούς μηχανισμούς δράσης της ομοκυστεϊνης. Σε μελέτη που διεξήχθη (108) σε δείγμα 11 ασθενών με ομοκυστινουρία και ανεπάρκεια της β-κυσταθειονινοσυνθετάσης σε ομόζυγο μορφή, παρατηρήθηκε ότι υπήρχε αύξηση της αποβολής των μεταβολιτών της θρομβοξάνης, παραμέτρου της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Το αν αυτή η ενεργοποίηση ήταν αιτιολογικός παράγοντας ή ήταν απότοκος άλλου μηχανισμού δεν διευκρινίστηκε. Ένας πιθανός μηχανισμός ο οποίος θα μπορούσε να είχε οδηγήσει στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων περιλαμβάνει την αυξημένη οξείδωση των LDL λιποπρωτεϊνών. Σε μελέτη όμως που πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με ομοκυστινουρία και σε υγιείς δε διαπιστώθηκε αυξημένη υπεροξείδωση λιπιδίων. (109)

Γ. Μελέτες πάνω στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου: Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παίζουν βασικό ρόλο στη ρύθμιση και διατήρηση υγιών των αγγείων. Επιπλέον, τα κύτταρα αυτά είναι απαραίτητα για τις διαδικασίες της αιμόστασης, της συγκολλητικότητας και της μετανάστευσης των κυττάρων, της πηκτικότητας και της ινωδόλυσης (110). Το ρυθμιστικό σύστημα –κλειδί των ενδοθηλιακών κυττάρων περιλαμβάνει τη συνθάση του οξειδίου του αζώτου (NOS nitric oxide) η οποία συμμετέχει στη σύνθεση του μονοξειδίου του αζώτου και της κιτρουλλίνης από L-αργινίνη. Το NO που μεταφέρεται από το ενδοθήλιο ελέγχει τον τόνο των αγγείων, αναστέλλει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, τη συγκολλητικότητα και τη μετανάστευση, περιορίζει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και τροποποιεί την αλληλεπίδραση του ενδοθηλίου και των λευκοκυττάρων.

Πρόσφατα, προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες παρείχαν στοιχεία ότι πράγματι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου προάγει την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Μετά από παρακολούθηση 157 ασθενών με ήπια στεφανιαία νόσο για χρονικό διάστημα περίπου 28 μηνών, διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με σοβαρού βαθμού ενδοθηλιακή βλάβη παρουσίασαν μεγαλύτερη αναλογία από καρδιακά συμβάματα σε σχέση με αυτούς που είχαν ήπια ενδοθηλιακή δυσλειτουργία ή και καθόλου.(111)

Η βλάβη του ενδοθηλίου η οποία παρατηρείται στους ασθενείς με υπερομοκυστεϊναιμία μπορεί να οφείλεται σε ελαττωμένη βιοδιαθεσιμότητα του μεταφερόμενου με το ενδοθήλιο NO. Πολλές είναι οι υποθέσεις που έχουν γίνει προκειμένου να εξηγηθεί η ελάττωση της διαθεσιμότητας του NO. Πρώτον, σε φυσιολογικές συγκεντρώσεις tHcy, η ομοκυστεΐνη θα μπορούσε να αντιδρά με το NO προς σχηματισμό S-νιτροσο-ομοκυστεΐνης, η οποία φέρει NO σε μικρή ποσότητα και το οποίο αναστέλλει τη συγκολλητικότητα των αιμοπεταλίων, είναι αγγειοδιασταλτικό και προλαμβάνει το σχηματισμό των ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Παρόλα αυτά όμως, όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι συνεχώς εκτεθειμένα σε υψηλές συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης χάνουν πλέον την ικανότητα τους να ελαττώνουν την τοξική δράση της ομοκυστεΐνης. Δεύτερον, η ομοκυστεΐνη μπορεί να ελαττώνει τη διαθεσιμότητα του NO μέσω του σχηματισμού ενεργών ελευθέρων ριζών οξυγόνου και μέσω της αναστολής της υπεροξειδάσης της γλουταθειόνης, η οποία είναι απαραίτητη για την προστασία των ενδοθηλιακών κυττάρων από το οξειδωτικό stress.

Η υπόθεση αυτή οδήγησε στο σχεδιασμό μελέτης κατά την οποία χορηγήθηκαν αντιοξειδωτικές βιταμίνες (βιταμίνη E, και C) σε υγιείς εθελοντές. Η μελέτη ήταν τυφλή, τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη και διεξήχθη σε 20 άτομα. Από τα αποτελέσματα της μελέτης προέκυψε ότι στα άτομα στα οποία είχαν δοθεί οι

αντιοξειδωτικές βιταμίνες πριν από την τεχνητή δημιουργία υπερομοκυστεΐναιμίας, λόγω φόρτισης με μεθειονίνη, δεν επηρεάστηκαν οι ενδοθηλιακές λειτουργίες (112)

8.4. Επιδημιολογικές μελέτες

Μέχρι στιγμής έχουν διεξαχθεί αρκετές δεκάδες μελετών που είχαν σαν κύριο σκοπό τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ των συγκεντρώσεων της ομοκυστεΐνης και του κινδύνου εμφάνισης καρδιακών νοσημάτων και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου. Οι μελέτες αυτές είναι προοπτικές (prospective) ή αναδρομικές (retro-spective) ενώ αρκετές είναι διασταυρούμενες (cross sectional) ή case-control.

Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών είναι αντικρουόμενα. Πιο ισχυρή συσχέτιση εμφανίζουν οι διασταυρούμενες και οι αναδρομικές ενώ η συσχέτιση στις προοπτικές είναι σαφώς πιο ασθενής. Από μετα-ανάλυση των Boushey et al το 1995 (113) έντεκα αναδρομικών και διασταυρούμενων μελετών προέκυψε ότι για κάθε 5μM αύξησης της ομοκυστεΐνης ο κίνδυνος για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου αυξάνει κατά πολύ. Ο Christen et al (2000) (114) αξιολόγησε όλα τα αποτελέσματα από 43 μελέτες οι οποίες είχαν διεξαχθεί από το 1966 έως και το 1998. Από την επεξεργασία όλων αυτών των μελετών προέκυψε ότι οι προοπτικές μελέτες είχαν μικρότερη δύναμη στο να αποδείξουν αιτιολογική σχέση μεταξύ της ομοκυστεΐνης και των στεφανιαίων συμβαμάτων. Αντίθετα, προκύπτει από τις μελέτες αυτές ότι η ομοκυστεΐνη δρα περισσότερο ως δείκτης αθηρογένεσης και αντιδρόν οξείας φάσης παρά ως παράγοντας κινδύνου.

Όπως προαναφέρθηκε , στις διασταυρούμενες μελέτες και τις μελέτες ελέγχου πληθυσμού, η σχέση ομοκυστεϊνης –στεφανιαίας νόσου ήταν πολύ ισχυρή. Οι λόγοι για τους οποίους τα αποτελέσματα είναι τόσο αμφιλεγόμενα είναι πολλοί.

Πρώτον, η χρονική στιγμή κατά την οποία γίνεται η συλλογή των δειγμάτων του αίματος είναι ένας σημαντικός παράγοντας. Στις αναδρομικές μελέτες η αιμοληψία γίνεται αφού έχει λάβει χώρα ένα στεφανιαίο συμβάν (π.χ. έμφραγμα του μυοκαρδίου). Αυτό συνεπάγεται ότι αφενός μεν έχουν διαταραχθεί οι συνήθειες του ατόμου (π.χ. κάπνισμα, λήψη αλκοόλ, διατροφικές συνήθειες) αφετέρου λόγω του συμβάματος έχουν επιπλεχθεί και φαρμακολογικοί παράγοντες οι οποίοι πιθανόν να έχουν τροποποιήσει τους παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου. Γι' αυτούς τους λόγους κάποιοι ερευνητές όπως πχ, ο Evans et al (1997) (115) προτύπωσαν κάποιους παράγοντες κινδύνου όπως η ηλικία , η φυλή, το κάπνισμα, το λιπιδαιμικό προφίλ κ.α. Στις διασταυρούμενες μελέτες οι συγκεντρώσεις της tHcy μετρήθηκαν τη στιγμή που διαπιστώθηκε και η νόσος. Και σε αυτές τις περιπτώσεις , αν και η νόσος είναι σε αρχικό στάδιο (κλινικό) δε πρέπει να μην υπολογιστούν συνυπάρχουσες καταστάσεις όπως η αρτηριακή υπέρταση ή η δυσλιπιδαιμία (114).

Τέλος , στις προοπτικές μελέτες το κύριο πλεονέκτημα είναι ότι η συλλογή του αίματος έγινε πριν από οποιοδήποτε καρδιαγγειακό συμβάν και έτσι δεν υπάρχει επίδραση της νόσου στον τρόπο ζωής και στις διατροφικές συνήθειες του ατόμου.

Από την άλλη στις προοπτικές μελέτες η συλλογή των δειγμάτων αίματος γίνεται σε άτομα που δεν είναι επιλεγμένα για αυξημένο κίνδυνο προσβολής από καρδιαγγειακά νοσήματα με αποτέλεσμα η συσχέτιση tHcy και στεφανιαίας νόσου να μην είναι ισχυρή.

Είναι κοινά αποδεκτό ότι σε άτομα με σοβαρού βαθμού διαταραχή του μεταβολισμού της ομοκυστεϊνης, στα οποία η συγκέντρωση της είναι πολλαπλάσια του

φυσιολογικού, η προσβολή από στεφανιαία νόσο είναι σαφώς πιο συχνή. Τέτοιες καταστάσεις ανιχνεύονται στα άτομα με γενετικού τύπου ελλείψεις ή δυσλειτουργίες των απαραίτητων ενζύμων που συμμετέχουν στον μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης.

Με δεδομένο όμως το ότι τα γενετικά αυτά νοσήματα είναι σπάνια ενώ η παρατηρούμενη αύξηση της tHcy είναι συνήθως μικρή ή μέτρια στο γενικό πληθυσμό, διερωτάται κανείς αν θα μπορούσε να αποδείξει μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των μετρίων αυτών συγκεντρώσεων της ομοκυστεΐνης και των στεφανιαίων συμβαμάτων. Έχει βρεθεί ότι η μέτρια αύξηση της συγκέντρωσης της tHcy σχετίζεται με στεφανιαία νόσο στα άτομα αυτά του γενικού πληθυσμού που ανήκουν όμως στις ομάδες υψηλού κινδύνου, όπως οι διαβητικοί και αυτοί που έχουν ιστορικό στεφανιαίας νόσου. Στα άτομα αυτά η αύξηση της tHcy θα μπορούσε να πυροδοτήσει το συμβάν, με αποτέλεσμα την εμφάνιση θετικής συσχέτισης βραχείας διάρκειας. Από την άλλη η tHcy θα μπορούσε να αποτελεί απλώς ένα δείκτη της σοβαρότητας της αγγειακής νόσου.

Πρόσφατες επιδημιολογικές έρευνες δεν μπόρεσαν να τεκμηριώσουν ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της ομοκυστεΐνης και της συχνότητας εμφάνισης στεφανιαίων συμβαμάτων σε υγιή άτομα. Παρόλα αυτά όμως η ελάττωση των συγκεντρώσεων της –μέσω της χορήγησης συμπληρωμάτων φυλλικού οξέος και B6– είχε σαν αποτέλεσμα τη θετική επίδραση όσον αφορά την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης σε υγιή άτομα, όπως αυτό προέκυψε με τη χρήση ηλεκτροκαρδιογραφήματος (116).

8.5. Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αναζήτηση σχέσης μεταξύ της συγκέντρωσης της ομοκυστεΐνης πλάσματος, των βιταμινών B12, B6 και φυλλικού οξέος και της συχνότητας στεφανιαίας νόσου σε άνδρες με ελεύθερο ατομικό ιστορικό στεφανιαίας νόσου οι οποίοι υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφικό έλεγχο. Στη μελέτη αυτή λαμβάνονται υπόψιν και συνυπολογίζονται όλοι οι συγχυτικοί παράγοντες (κάπνισμα, δυσλιπιδαιμία, αρτηριακή υπέρταση, ηλικία, φύλο), ενώ ελέγχονται επίσης και οι παράγοντες που επηρεάζουν τη συγκέντρωση των βιταμινών στο αίμα (φάρμακα, παθήσεις του εντέρου, λήψη βιταμινούχων συμπληρωμάτων).

9. Μεθοδολογία

9.1. Πληθυσμός της μελέτης –κριτήρια εισαγωγής

Η μελέτη διεξήχθη από τον Οκτώβριο του 2002 έως και το Μάιο του 2003. Οι συμμετέχοντες προήλθαν από τα εξωτερικά ιατρεία της Β' Καρδιολογικής κλινικής του Γ.Ν.Νικαίας (ΑΓ. Παντελεήμων), τα καρδιολογικά ιατρεία των υποκαταστημάτων του Ι.Κ.Α. της περιοχής του Πειραιά, καθώς και από ιδιώτες καρδιολόγους της περιοχής.

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν από 106 άνδρες ηλικίας 45 έως 70 ετών .

Όλοι οι συμμετέχοντες είχαν ελεύθερο ατομικό ιστορικό στεφανιαίας νόσου και παραπέμφθηκαν από το θεράποντα ιατρό τους για καθετηριασμό και στεφανιογραφικό έλεγχο είτε διότι εμφάνιζαν συμπτωματολογία η οποία απαιτούσε διαφορική διαγνωστική προσέγγιση (π.χ. δοκιμασία κόπωσης θετική +/- προδιαθεσικοί

παράγοντες) είτε για προληπτικούς λόγους (ύπαρξη πολλαπλών παραγόντων κινδύνου, όπως κάπνισμα, παχυσαρκία, οικογενειακό ιστορικό, αρτηριακή υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, κ.α.). Οι ασθενείς της μελέτης (N=65) αναγνωρίστηκαν ύστερα από τον καθετηριασμό των στεφανιαίων αρτηριών και την καταγραφή στένωσης τουλάχιστον κατά 50 % μίας τουλάχιστον μεγάλης στεφανιαίας αρτηρίας (δεξιά στεφανιαία, πρόσθιος κατιόν κλάδος, περισπώμενη, στέλεχος). Οι ομάδα των υγιών μαρτύρων (N=41) αποτελούνταν από άτομα τα οποία ύστερα από το στεφανιογραφικό έλεγχο είχαν στένωση μικρότερη από 50% των στεφανιαίων αρτηριών. Όλοι οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (όπως ορίστηκε από το ατομικό ιστορικό λήψης αντιδιαβητικών φαρμάκων ή με γλυκόζη νηστείας άνω του 126mg/dl (κριτήρια της ADA)), ηπατοπάθεια (αύξηση της ALT 2,5 φορές από την ανώτερη φυσιολογική τιμή), νεφρική ανεπάρκεια (κρεατινίνη άνω του 1,8), νεοπλασίες ή λήψη κυτταροστατικών φαρμάκων λόγω αυτοάνοσων νοσημάτων εξαιρέθηκαν, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η επίδραση άλλων καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου. Επίσης καταγράφηκε η χρήση και το είδος της φαρμακευτικής αγωγής (αντιυπερτασικά, αντιαιμοπεταλιακά, ορμόνες, νιτρώδη, ασπιρίνη, βιταμινούχα συμπληρώματα).

Από κάθε ασθενή ζητήθηκε να υπογράψει έντυπο συγκατάθεσης, ενώ για τη διεξαγωγή της μελέτης πάρθηκε έγκριση από το Επιστημονικό Συμβούλιο και το Διοικητικό Συμβούλιο του Νοσοκομείου.

9.2. Ανθρωπομετρικές μετρήσεις

Σε όλους τους συμμετέχοντες υπολογίστηκε και καταγράφηκε το σωματικό βάρος (σε kg) με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας. Κατά τη μέτρηση οι ασθενείς ήταν νηστικοί, είχαν ουρήσει και φορούσαν ελαφρά ενδύματα, χωρίς υποδήματα. Το ύψος των ατόμων υπολογίστηκε με τη χρήση σταθερού αναστήμετρου ακριβείας $\pm 0,5\text{cm}$ (SECA, GERMANY).

Με βάση τη μέτρηση του βάρους και του ύψους υπολογίστηκε ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) ως το πηλίκο του βάρους προς το ύψος υψωμένο στο τετράγωνο (kg/m^2).

Η περίμετρος μέσης (waist) (σε cm) μετρήθηκε στο ύψος των λαγόνιων ακρολοφιών ενώ η περίμετρος της περιφέρειας (hip) (σε cm) μετρήθηκε στο ύψος των ισχιακών κυρτωμάτων, με τη χρήση ελαστικής μετροταινίας. Η λόγος W/H ratio προέκυψε από το πηλίκο της περιμέτρου μέσης προς την περίμετρο της περιφέρειας.

9. 3. Μέτρηση αρτηριακής πίεσης

Η αρτηριακή πίεση μετρήθηκε με τη βοήθεια ηλεκτρονικού πιεσόμετρου (Omron) και αφού τα άτομα ήταν σε ύπτια θέση και σε ηρεμία για τουλάχιστον 5 λεπτά. Μέχρι και τη στιγμή της μέτρησης κανείς από τους συμμετέχοντες δεν είχε λάβει αντιυπερτασική φαρμακευτική αγωγή (από αυτούς που λάμβαναν συστηματικά).

9.4. Ατομικό και οικογενειακό ιστορικό

Στους συμμετέχοντες δόθηκε (έως και μία εβδομάδα μετά από τον στεφανιογραφικό έλεγχο) ερωτηματολόγιο που είχε ως σκοπό την καταγραφή της συχνότητας εμφάνισης των γνωστών παραγόντων κινδύνου από το ατομικό και οικογενειακό τους ιστορικό. Συγκεκριμένα οι συμμετέχοντες ερωτήθηκαν σχετικά με την ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού στεφανιαίας νόσου, οικογενειακού ιστορικού σακχαρώδη

διαβήτη, οικογενειακού ιστορικού υπέρτασης και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου.

Ως οικογενειακό ιστορικό σταφαναϊάς νόσου ορίστηκε ο θάνατος από ξκαρδιακό επεισόδιο, το έμφραγμα του μυοκαρδίου ή επέμβαση στεφανιαίας επαναγγείωσης πριν την ηλικία των 65 ετών σε 1^ο βαθμού συγγενή. Στη συνέχεια ρωτήθηκαν αν στο ατομικό τους ιστορικό υπήρχε στεφανιαία νόσος, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, περιφερική αρτηριοπάθεια, , ιστορικό by-pass, ιστορικό αγγειοπλαστική, δυσλιπιδαιμίας, διαβήτη και υπέρτασης.

Τέλος καταγράφηκαν τα φάρμακα που λάμβανε ο συμμετέχων ταξινομημένα σε κατηγορίες. **Οι κατηγορίες αυτές ήταν :**

Φιμπράτες (για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας)

Στατίνες (για τη θεραπευτική αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας)

B- blockers (για τη θεραπεία της υπέρτασης)

α-MEA (για τη θεραπεία της υπέρτασης)

Αναστολείς διαύλων ασβεστίου (για τη θεραπεία της υπέρτασης)

Διουρητικά (για τη θεραπεία της υπέρτασης)

Λήψη νιτρωδών

Λήψη ακετυλσαλκυλικού οξέος

Λήψη αντιαιμοπεταλιακών

Λήψη αντιεπιληπτικής αγωγής

Λήψη ορμονών (κορτικοειδή και θυρεοειδικές ορμόνες)

Λήψη αντιδιαβητικών φαρμάκων

9.5. Καταγραφή συχνότητας καπνίσματος και αλκοόλ.

Στην παρούσα μελέτη κατεγράφησαν η συχνότητα κατανάλωσης τσιγάρων και αλκοόλ. Ως καπνιστές θεωρήθηκαν τα άτομα αυτά τα οποία κάπνιζαν μέχρι και την περίοδο του στεφανιογραφικού ελέγχου καθώς και αυτοί που είχαν διακόψει το

κάπνισμα για χρονικό διάστημα μικρότερο από ένα έτος. Τα άτομα που δεν είχαν καπνίσει ποτέ στη ζωή τους ή είχαν διακόψει το κάπνισμα για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από ένα έτος θεωρήθηκαν ως μη καπνιστές.

Η κατανάλωση αλκοόλ διακρίθηκε σε τέσσερις κατηγορίες. Στην κατηγορία

A. σπάνια /ποτέ

B. Μηνιαίως

Γ. Εβδομαδιαίως

Δ. Ημερησίως

Τα άτομα τα οποία κατατάχθηκαν στις δύο πρώτες ομάδες χαρακτηρίστηκαν ως μη πότες και τα άτομα τα οποία κατατάχθηκαν στις δύο τελευταίες κατηγορίες θεωρήθηκαν ως πότες (μέση κατανάλωση αλκοόλ $> 100\text{ml}$ / ημερησίως).

10. Εργαστηριακός έλεγχος- αιμοληψίες

Οι συμμετέχοντες στη μελέτη κλήθηκαν να προσέλθουν την ημέρα τη στεφανιογραφίας σε κατάσταση νηστείας για τουλάχιστον 8 ώρες. Αφού τους δόθηκε ο απαραίτητος ιματισμός κατακλίθηκαν στην αίθουσα προετοιμασίας του αιμοδυναμικού εργαστηρίου της καρδιολογικής κλινικής του νοσοκομείου. Εκεί τους τοποθετήθηκε φλεβοκαθετήρας μεγέθους 10 ή 12 G σε μεγάλη φλέβα του αριστερού άνω άκρου. Από το φλεβοκαθετήρα αυτό λήφθηκε η απαραίτητη ποσότητα φλεβικού αίματος για τον προσδιορισμό των εργαστηριακών παραμέτρων της μελέτης.

Συγκεκριμένα λήφθηκαν περίπου 21ml αίματος και τα οποία τοποθετήθηκαν στα αντίστοιχα φιαλίδια.. Χρησιμοποιήθηκαν Vacutainer Tubes Becton Dickinson (9.5 ml), Vacuette 2 Serum Sep, Clot Activator (2*4 ml), K3E EDTA Vacuette (3ml), τα οποία περιείχαν το κατάλληλο αντιπηκτικό ή δεν περιείχαν αντιπηκτικό παράγοντα ανάλογα με τις απαιτήσεις της μεθόδου προσδιορισμού της παραμέτρου. Ο ορός και

το πλάσμα αφού διαχωρίστηκαν , αποθηκεύτηκαν σε βαθιά κατάψυξη (-20°C) μέχρι την ανάλυση τους.

11. Προσδιορισμός Παραγόντων Κινδύνου

Καταγράφηκαν οι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο όπως, η ηλικία, το φύλο (μόνο άντρες συμμετέχοντες), το λιπιδαιμικό προφίλ (ολική χοληστερόλη $\geq 200 \text{ mg/dl}$, $\text{LDL} \geq 130 \text{ mg/dl}$, $\text{HDL} < 40 \text{ mg/dl}$, $\text{TG} \geq 200 \text{ mg/dl}$), η υπέρταση ($\text{ΑΠ} \geq 140/90 \text{ mmHg}$) ή η λήψη αντιυπερτασικών φαρμάκων συστηματικά.

12. Βιοχημικοί Προσδιορισμοί

Η ολική ομοκυστεΐνη πλάσματος (tHcy) προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού (IMx Homocysteine assay: Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA)) από το βιοχημικό εργαστήριο του νοσοκομείου. Ο προσδιορισμός έγινε με τη χρήση του πλάσματος το οποίο ήταν αποθηκευμένο στους -20°C . Οι φυσιολογικές τιμές της ομοκυστεΐνης με τη μέθοδο αυτή κυμαίνονταν μεταξύ $5\text{-}15 \text{ }\mu\text{Mol/L}$.

Το φυλλικό οξύ πλάσματος μετρήθηκε με ραδιοανοσολογική μέθοδο RIA (φυσιολογικές τιμές: $3\text{-}17 \text{ ng/ml}$) όπως και οι βιταμίνες B12 (Φ.Τ. $200\text{-}950 \text{ pg/ml}$) και B6 (Φ. Τ. $29,8\text{-}102,4 \text{ nmol/L}$) από το ορμονολογικό εργαστήριο.

Τα λιπίδια μετρήθηκαν από το βιοχημικό εργαστήριο. Η μέτρηση της ολικής χοληστερόλης (TCHOL : Φ.Τ. $<200 \text{ mg/dl}$) και των τριγλυκεριδίων (TG: Φ.Τ. $<200 \text{ mg/dl}$) έγινε με ενζυματική ποσοτική μέθοδο ενώ η HDL (Φ.Τ. $>40 \text{ mg/dl}$) μετρήθηκε άμεσα με χρωματομετρία και η LDL (Φ.Τ. $< 130 \text{ mg/dl}$) έμμεσα..

Τέλος έγιναν προσδιορισμοί παραμέτρων ασφαλείας όπως μέτρηση του αιματοκρίτη (Φ.Τ. $37,7\text{-}47,9 \%$), κρεατινίνης ορού ($<1,6 \text{ mg/dl}$) , ουρίας αίματος (σε συνάρτηση με την τιμή της κρεατινίνης), και της ALT . Από τη μελέτη δε χρειάστηκε να

εξαιρεθεί κανένα άτομο λόγω των παραπάνω παραμέτρων αφού σε όλους τους συμμετέχοντες βρίσκονταν εντός των φυσιολογικών τιμών.

13. Στεφανιογραφικός έλεγχος

Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφικό έλεγχο – με καθετηριασμό της δεξιάς μηριαίας αρτηρίας- από τον καρδιολόγο του αιμοδυναμικού εργαστηρίου του νοσοκομείου. Η εξέτασης διήρκησε περίπου μία ώρα ανά περιστατικό. Ο ασθενείς στη συνέχεια παρακολουθήθηκαν για 12 περίπου ώρες σε θάλαμο βραχείας νοσηλείας και στο τέλος της ημέρας έλαβαν εξιτήριο.

Τα αποτελέσματα της στεφανιογραφίας αξιολογήθηκαν από τα films σε δεύτερο χρόνο. Βάση των films συμπληρώθηκε ειδικό έντυπο καταγραφής του αριθμού και της βαρύτητας της απόφραξης. Η στένωση αξιολογήθηκε για ποσοστό $\geq 50\%$ για τη δεξιά στεφανιαία αρτηρία, τον πρόσθιο κατιόντα κλάδο, την περισπώμενη και το στέλεχος. Ο βαθμός της στένωσης αξιολογήθηκε ανάλογα με το ποσοστό της στένωσης ($\geq 50\%$, $>70\%$, $>90\%$ και 100%) ενώ η βαρύτητα υπολογίστηκε ανάλογα με το ποσοστό απόφραξης και των αριθμό των αγγείων στα οποία εντοπίστηκε η στένωση. Αγγεία με στένωση μικρότερη από 50% θεωρήθηκαν ως αθηρωματικά και το άτομο χαρακτηρίστηκε ως μάρτυρας.

14. Μελέτες ασθενών -μαρτύρων

Η παρούσα εργασία είναι μια μελέτη ασθενών – μαρτύρων με αναδρομική συγκέντρωση της διερευνούμενης πληροφορίας. Είναι γνωστό στη σύγχρονη

15. Στατιστική Ανάλυση

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται στους πίνακες των αποτελεσμάτων σαν μέσες τιμές ($\pm$ μια τυπική απόκλιση), ενώ οι κατηγορικές μεταβλητές παρουσιάζονται σαν απόλυτες (και σχετικές) συχνότητες. Συγκρίσεις μεταξύ ασθενών και μαρτύρων αναφορικά με τους διερευνούμενους παράγοντες έγιναν με την εφαρμογή του παραμετρικού κριτηρίου t - του Student (για τις συνεχείς μεταβλητές) και του ελέγχου χ^2 (για τις κατηγορικές μεταβλητές). Για την εκτίμηση των σχέσεων των διερευνούμενων παραγόντων με την πιθανότητα παρουσίας ή όχι της νόσου, έγινε εφαρμογή πολυπαραγοντικών υποδειγμάτων (μοντέλων) δεσμευμένης λογαριθμιστικής εξάρτησης, αφού προηγήθηκε διερευνητική ανάλυση για την παρουσία αλληλοεπιδράσεων και συγχιτικών παραγόντων (117). Η κατασκευή του τελικού μοντέλου έγινε με την ακόλουθη διαδικασία:

- Αρχικά αποτιμήθηκαν όλες οι 2^{ης} και 3^{ης} τάξης συνεργίες μεταξύ των διερευνούμενων παραγόντων (υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης, κάπνισμα, κατανάλωση αλκοόλ οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, παχυσαρκία). Όσες συνεργίες αξιολογήθηκαν στατιστικά σημαντικές (σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας (πιθανότητα σφάλματος τύπου - I) μικρότερο ή ίσο με 10%) λήφθηκαν υπόψη για την πολυπαραγοντική ανάλυση που ακολούθησε, καθώς επίσης και οι συνιστώσες τους (ανεξάρτητα επιπέδου στατιστικής σημαντικότητας). Η επιβεβαίωση της στατιστικής σημαντικότητας των συνεργιών έγινε και με την εφαρμογή διερευνητικής ανάλυσης. Πιο συγκεκριμένα, οι πίνακες συνάφειας και ο υπολογισμός των αντίστοιχων χ^2 κριτηρίων, εφαρμόσθηκαν για την αξιολόγηση των σχέσεων μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών. Με τη χρήση του Student's t -test διερευνήθηκαν οι

σχέσεις μεταξύ ποσοτικών και κατηγορικών μεταβλητών, αφού είχε προηγηθεί έλεγχος κανονικότητας. Στις περιπτώσεις όπου αυτή η προϋπόθεση δεν ικανοποιήθηκε εφαρμόστηκε ο έλεγχος του Wilcoxon-Mann-Whitney. Επίσης, ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson εφαρμόστηκε για να αποτιμήσει πιθανές αυτοσυσχετίσεις μεταξύ των συνεχών, κανονικά κατανομημένων, μεταβλητών. Στις περιπτώσεις όπου αυτή η προϋπόθεση δεν ικανοποιήθηκε εφαρμόστηκε ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman.

- Στη συνέχεια δημιουργήθηκε το αρχικό μοντέλο με όλους τους διερευνούμενους παράγοντες που περιγράφηκαν στην προηγούμενη παράγραφο καθώς επίσης και τις στατιστικά σημαντικές συνέργιες. Έπειτα δημιουργήθηκε το τελικό μοντέλο με βάση την ανάδρομη διαδικασία αποκλεισμού των μη στατιστικά σημαντικών παραγόντων. Επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας για τις παραμέτρους που παρέμεναν στο τελικό μοντέλο, και που δεν αποτελούσαν μέρος κάποιας συνεργίας, θεωρήθηκε το 5%.

- ο Επειδή όμως η στατιστική αξία δεν συμβαδίζει πάντα με την κλινική αποτιμήθηκε η στατιστική σημαντικότητα διαφόρων πιθανών συγκριτικών παραγόντων (π.χ. αριθμός τσιγάρων, ποσότητα καταναλισκόμενου αλκοόλ, καθώς επίσης και όλοι οι κλασσικοί παράγοντες που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο) στην εκτίμηση του σχετικού κινδύνου εκδήλωσης της νόσου. Αν κάποιος παράγοντας μετέβαλε στατιστικά σημαντικά (με βάση το κριτήριο του Wald) κάποιον άλλο παράγοντα που ήταν ήδη στο μοντέλο τότε θεωρήθηκε συγκριτικός και παρέμενε στο μοντέλο.

Με την διαδικασία αυτή, που είναι ιδιαίτερα δημοφιλής στην στατιστική επιδημιολογία, δημιουργήθηκε το τελικό πολυπαραγοντικό μοντέλο παραγόντων κινδύνου για την εκτίμηση της πιθανότητας εκδήλωσης οξέων στεφανιαίων συνδρόμων. Για την αξιολόγηση της καλής προσαρμογής των μοντέλων στα δεδομένα της μελέτης (goodness-of-fit) υπολογίσθηκαν τα κατάλοιπα του Pearson και η Deviance.

Στο σημείο αυτό πρέπει να τονισθεί ότι η αποτίμηση του σχετικού κινδύνου εκδήλωσης της νόσου ανάλογα της παρουσίας ή της απουσίας του διερευνούμενου παράγοντα έγινε με τον υπολογισμό του σχετικού λόγου συμπληρωματικών πιθανοτήτων (OR = odds ratio) και των αντιστοίχων 95% διαστημάτων εμπιστοσύνης. Ο υπολογισμός του odds ratio έγινε με τη βοήθεια της συνάρτησης

$$g(x) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k$$

$$\text{που ισοδυναμεί με την έκφραση } g(x) = \ln\left(\frac{\pi(x)}{1 - \pi(x)}\right)$$

Το γεγονός που έκανε την χρήση της λογαριθμιστικής εξάρτησης ιδιαίτερα δημοφιλή στην επιδημιολογική έρευνα (118) είναι η ερμηνευτική ιδιότητα των συντελεστών $\{\beta_i\}$. Πιο συγκεκριμένα ο λογάριθμος των odds ratio στην περίπτωση της λογιστικής παλινδρόμησης είναι ίσος με:

$$\ln(\text{odds ratio}) = \ln\left(\frac{\frac{\pi(1)}{1 - \pi(1)}}{\frac{\pi(0)}{1 - \pi(0)}}\right) = g(1) - g(0) = \beta_1$$

$$\text{odds ratio \{OR\} = } e^{\beta_1}$$

Κατά συνέπεια το odds ratio είναι ένα μέτρο της σχέσης που συνδέει την έκβαση (δηλ. την παρουσία της νόσου) με την παρουσία ή όχι, του υπό διερεύνηση

παράγοντα. Πρέπει όμως να αναφερθεί ότι μέχρι τις αρχές της δεκαετίας του 1950 υπήρχε έντονη επιφύλαξη στο κατά πόσο η εκτίμηση του σχετικού κινδύνου από το odds ratio είναι ικανοποιητική. Όμως, ο Cornifield (1951), ο Farewell (1979), και οι Prentyce και Pyke (1979) ολοκλήρωσαν το μαθηματικό υπόβαθρο με το οποίο οι αναδρομικού τύπου μελέτες ασθενών – μαρτύρων μπορούν να αναλυθούν σαν προοπτικές μελέτες.

16.Αποτελέσματα

16.1. Χαρακτηριστικά ασθενών –μαρτύρων

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των στεφανιαίων ασθενών και των μαρτύρων παρουσιάζονται στον πίνακα 1.

Πίνακας 1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά ασθενών -μαρτύρων

Χαρακτηριστικά	Ασθενείς (N=65)	Μάρτυρες (N=41)	P
Ηλικία (έτη)	59.31 (+/-6.87)	58.07 (+/-8.57)	0.41
ΔΜΣ (kg/m ²)	26.97 (+/- 3.56)	28.07 (+/- 3.04)	0.102
Περίμετρος μέσης (cm)	98.6 (+/- 8.2)	100.4 9+/- 8.02)	0.373
W/H	0.96 (+/-0.52)	0.96 (+/-0.49)	0.85

Το εύρος της ηλικίας τόσο των ασθενών όσο και των μαρτύρων κυμαινόταν μεταξύ 45 και 70 ετών. Η μέση τιμή για τους στεφανιαίους ήταν 59,31 έτη και για τους μάρτυρες 58,07 έτη ενώ δεν καταγράφηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων (P=0,41). Επίσης οι δύο ομάδες ατόμων της μελέτης δεν είχαν διαφορές όσον αφορά το ΔΜΣ (P=0,102), την περίμετρο μέσης (P=0,373) και το λόγο W/H (P=0,85).

Στον πίνακα 2 παραθέτονται τα στοιχεία σχετικά με το οικογενειακό και το ατομικό ιστορικό υγιών – ασθενών , σε σχέση με τη στεφανιαία νόσο και τα καρδιαγγειακά νοσήματα γενικότερα.

Πίνακας 2. Οικογενειακό και ατομικό ιστορικό ασθενών-μαρτύρων

Οικογενειακό ιστορικό	Ασθενείς (N=65) (%)	Μάρτυρες (N=41) (%)	P
Ο.Ι. Στεφανιαίας νόσου	45	34	0,289
Ο.Ι. Σακχαρώδη διαβήτη	14	37	0,006
Ο.Ι. Υπέρτασης	34	51	0,077
Ο.Ι. Α.Ε.Ε.	23	34	0,217
Ατομικό ιστορικό			
Α.Ι. Υπέρτασης	51	46	0,661
Α.Ι. Α.Ε.Ε.	11	0	0,03
Α.Ι. Δυσλιπιδαιμίας	58	29	0,003

Ο.Ι. = Οικογενειακό ιστορικό Α.Ι.= Ατομικό ιστορικό ΑΕΕ= Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

Οι δύο ομάδες δεν είχαν σημαντική επιβάρυνση από το οικογενειακό τους ιστορικό για στεφανιαία νόσο ($P=0,289$) και για Α.Ε.Ε. ($P= 0,217$), ενώ οι μάρτυρες της μελέτης είχαν μεγαλύτερη οικογενειακή επιβάρυνση για ΣΔ ($P<0,05$) και για υπέρταση ($P<0,1$). Τέλος , οι ασθενείς της μελέτης είχαν στο ατομικό ιστορικό τους περισσότερα περιστατικά Α.Ε.Ε. ($P<0,05$) καθώς επίσης έπασχαν σε μεγαλύτερο βαθμό από δυσλιπιδαιμία ($P<0,05$). Το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ ήταν δύο από τις παραμέτρους για τις οποίες έγινε έλεγχος και στις δύο ομάδες ασθενών. Και οι δύο παράμετροι αποτελούν συγχυτικούς παράγοντες στην αξιολόγηση άλλων

παραγόντων για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, ενώ όπως έχει ήδη αναφερθεί επηρεάζουν και τις συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης. Το 40% των ασθενών και το 49% των υγιών ατόμων ήταν καπνιστές, χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες. Το 46% των ασθενών και το 49% των υγιών ατόμων χαρακτηρίστηκαν ως πότες αλλά και σε αυτήν την περίπτωση δεν ήταν στατιστικά σημαντική η διαφορά αυτή. Διαφορά παρατηρήθηκε στη συστολική και στη διαστολική πίεση των υγιών έναντι των ασθενών. Οι υγιείς είχαν υψηλότερη συστολική πίεση (μέση τιμή : 132,9 P <0,1) και διαστολική πίεση (μέση τιμή : 84,8 P<0,05). Από τον έλεγχο για τους υπόλοιπους συγγενικούς παράγοντες (ολική χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL, LDL, αθηρωματικός δείκτης, ουρία, κρεατινίνη και αιματοκρίτης) δεν προέκυψε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο υπό εξέταση ομάδες ατόμων. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα επίπεδα της χοληστερόλης και της LDL ήταν υψηλότερα του φυσιολογικού και στις δύο ομάδες (ολ. Χοληστερόλη : ασθενείς 228.4 mg/dl έναντι 225,8 mg/dl υγιών, και LDL : ασθενείς 152.9 mg/dl έναντι 149.5 mg/dl των υγιών). Αντίθετα οι μέσες τιμές των τριγλυκεριδίων και της HDL ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων. Τέλος η τιμή της γλυκόζης ελέγχθηκε προκειμένου να εξαιρεθούν τα άτομα με ΣΔ, όπως και της ουρίας, κρεατινίνης και αιματοκρίτη ελέγχθηκαν για την πιθανότητα ύπαρξης άλλης παθήσεως που πιθανόν να επηρέαζε την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου.

Τέλος, έγινε έλεγχος των φαρμάκων που λάμβαναν τα άτομα σε τακτική βάση μέχρι και την προηγούμενη ημέρα του καθετηριασμού (πίνακας 4). Οι ασθενείς της μελέτης σε ποσοστό 29% λάμβαναν φάρμακα μείωσης της χοληστερόλης (στατίνες) ενώ στην ομάδα των υγιών το αντίστοιχο ποσοστό ήταν μόλις 5%. Η χρήση στατινών ήταν στατιστικά σημαντική με επίπεδο σημαντικότητας P= 0,002. Αντίστοιχα, σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε και στη χρήση νιτροδών φαρμάκων στην ομάδα των

ασθενών (23%) έναντι των υγιών (0%) με $P=0,001$. Η διαφορά αυτή ίσως να οφείλεται στο ότι κάποιοι από τους ασθενείς έλαβαν πολύ γρήγορα φαρμακευτική αγωγή λόγω εμφάνισης συμπτωμάτων συμβατών με στεφανιαία νόσο και συνύπαρξης πολλαπλών παραγόντων κινδύνου χωρίς ο θεράπων γιατρός τους να περιμένει τα αποτελέσματα της στεφανιογραφίας για να καταλήξει στη διάγνωση. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι σε μεγάλο βαθμό (69% και 66% αντίστοιχα) ασθενείς και υγιείς λάμβαναν ασπιρίνη, ενώ κανείς από τους συμμετέχοντες δε λάμβανε συμπληρώματα βιταμινών και αντιεπιληπτικά φάρμακα τα οποία θα μπορούσαν να επηρεάσουν τις τιμές των βιταμινών Β και του φυλλικού οξέος στο πλάσμα.

Πίνακας 3. Γνωστοί παράγοντες κινδύνου Σ.Ν. και συγχυτικοί παράγοντες*

Χαρακτηριστικά	Ασθενείς (N=65)	Μάρτυρες (N=41)	P
Κάπνισμα (%)	40	49	0,379
Αλκοόλ (%)	46	49	0,794
Συστολική πίεση (mmHg)	127,2 (+/- 13,4)	132,9 (+/- 13,4)	0,035
Διαστολική πίεση (mmHg)	81,2 (+/- 7,66)	84,8 (+/-5,9)	0,014
Ολ. Χοληστερόλη (mg/dl)	228.4 (+/- 47.5)	225.8 (+/-34.8)	0.76
LDL-C (mg/dl)	152.9 (+/- 45.4)	149.5 (+/- 32)	0.67
HDL-C (mg/dl)	46.3 (+/- 12.95)	49.1 (+/-10.5)	0.25
TG (mg/dl)	144.3 (+/-58.5)	139.9 (+/- 60.6)	0.71
Αιματοκρίτης %	43.5 (+/-3.22)	44.2 (+/- 3.2)	0.27
Κρεατινίνη (mg/dl)	1 (+/- 0.2)	0.94 (+/- 0.18)	0.11

Ουρία	39.5 (+/- 12.3)	37.2 (+/- 11.9)	0.35
Γλυκόζη νηστείας (mmol/L)	5.68 (+/- 0.96)	5.74 (+/-1.1)	0.75
Αθρωματικός δείκτης	5.16 (+/- 1.47)	4.78 (+/-1.04)	0.16

Πίνακας 4. Φάρμακα που λαμβάνουν οι συμμετέχοντες

Χαρακτηριστικά	Ασθενείς (N=65) (%)	Μάρτυρες (N=41) (%)	P
Φμπράτες	3	0	0,261
Στατίνες	29	5	0,002
B- blockers	28	22	0.5
A-MEA	34	24	0.306
Αναστολείς Ca	26	24	0.841
Διουρητικά	17	12	0,512
Νιτρώδη	23	0	0,001
Ακετυλσαλυκυλικό (ασπιρίνη)	69	66	0,720
Αντιαιμοπεταλιακά	20	10	0,165
Αντιεπιληπτικά	0	0	
Ορμόνες	3	5	0,639
Συμπληρώματα βιταμινών	0	0	

16.2. Ομοκυστεΐνη και βιταμίνες B12, B6 και φυλλικό οξύ

Οι συγκεντρώσεις της ομοκυστεΐνης και των βιταμινών B φαίνονται στον πίνακα 5.

Η ομοκυστεΐνη τόσο στους στεφανιαίους ασθενείς όσο και στους υγιείς ήταν σε παρόμοια επίπεδα (13,4 $\mu\text{mol/L}$ έναντι 13,3 $\mu\text{mol/L}$ αντίστοιχα, $P = 0,9$). Διαφορά δεν διαπιστώθηκε ούτε στις τιμές της B 12 (327,9 pg/ml έναντι 334,9 pg/ml $P = 0,81$) αλλά ούτε και στις τιμές της B6 (49,04 nmol/L έναντι 59,4 nmol/L $P = 0,15$). Τέλος από τον έλεγχο των συγκεντρώσεων του φυλλικού οξέος δε διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ατόμων (7,3 ng/ml έναντι 7,24 ng/ml $P = 0,9$). Πρέπει να σημειωθεί ότι οι βιταμίνες B12, B6 και φυλλικό βρίσκονταν εντός των φυσιολογικών ορίων και στις δύο ομάδες και μάλιστα σε υψηλότερα επίπεδα από τις κατώτερες φυσιολογικές τιμές.

Πίνακας 5. Επίπεδα ομοκυστεΐνης πλάσματος (tHcy) βιταμινών B12, B6 και φυλλικού οξέος στους ασθενείς με στεφανιαία νόσο και τους μάρτυρες.

	Ασθενείς (N=65)	Μάρτυρες (N=41)	P
tHcy ($\mu\text{mol/L}$)	13,4 (+/- 4,22)	13,3 (+/- 4,11)	0,9
B12 (pg/ml)	327,9(+/- 147,5)	334,9 (+/- 149,5)	0,81
B6 (nmol/L)	49,04 (+/-29,6)	59,4 (+/- 44,2)	0,15
Φυλλικό οξύ (ng/ml)	7,3 (+/- 3,04)	7,24 (+/- 2,79)	0,9

tHcy: ολική ομοκυστεΐνη πλάσματος νηστείας

16.3. Συσχετίσεις στεφανιαίας νόσου με την ομοκυστεΐνη και τις βιταμίνες B

Προκειμένου να εκτιμήσουμε τη σχέση της ολικής ομοκυστεΐνης, των βιταμινών B, του φυλλικού οξέος καθώς και παραμέτρων όπως η ηλικία, ο ΔΜΣ, το κάπνισμα και

η κατανάλωση αλκοόλ οι οποίες επηρεάζουν τη συγκέντρωση των παραπάνω προχωρήσαμε σε λογαριθμιστική παλινδρόμηση. Τα αποτελέσματα για κάθε έναν από τους διατροφικούς παράγοντες φαίνεται στους πίνακες 6-9.

Η σχέση της συγκέντρωσης της ομοκυστεΐνης και της συχνότητας στεφανιαίας νόσου δεν ήταν ισχυρή (OR 0.76 95% CI 0.89-1.09) με $P=0,98$.

Παρόμοια ήταν τα ευρήματα και για τη σχέση B12 και στεφανιαίας νόσου (OR 1.0 95% CI 0.99-1.003) με $P=0,98$.

Η συσχέτιση των τιμών της B6 και της συχνότητας στεφανιαίας νόσου στον υπό εξέταση πληθυσμό έδωσε OR 0.995 95% CI :0.98-1.007 με $P=0,375$ ενώ για το φυλλικό τα αντίστοιχα αποτελέσματα ήταν OR 1.03 95% CI 0.89-1.2 με $P=0,69$. και σε αυτήν την περίπτωση τα αποτελέσματα της μελέτης δεν απέδειξαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της B6 , του φυλλικού και της στεφανιαίας νόσου.

Πίνακας 9. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση. Σχέση B6 και συχνότητας

Πίνακας 6. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση. Σχέση ομοκυστεΐνης και συχνότητας στεφανιαίας νόσου

	Odds Ratio	95% CI	P
Ηλικία	1.014	0.96-1.07	0.63
ΔΜΣ	0.9	0.79-1.02	0.095
Κάπνισμα	0.67	0.29-1.57	0.36
Αλκοόλ	0.94	0.40-2.16	0.88
THcy	0.76	0.89-1.09	0.98

Πίνακας 7. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση. Σχέση B12 και συχνότητας στεφανιαίας νόσου

	Odds Ratio	95% CI	P
Ηλικία	1.01	0.96-1.068	0.68
ΔΜΙ	0.90	0.79-1.02	0.099
Κάπνισμα	0.67	0.29-1.56	0.35
Αλκοόλ	0.96	0.41-2.21	0.91
B12	1,00	0.99-1.003	0.98

Πίνακας 8. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση. Σχέση B6 και συχνότητας στεφανιαίας νόσου

	Odds Ratio	95% CI	P
Ηλικία	1.006	0.94-1.06	0.82
ΔΜΣ	0.92	0.8-1.04	0.18
Κάπνισμα	0.66	0.28-1.53	0.33
Αλκοόλ	0.99	0.43-2.27	0.98
B6	0.99	0.98-1	0.37

Πίνακας 9. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση. Σχέση φυλλικού οξέος και συχνότητας στεφανιαίας νόσου

	Odds Ratio	95% CI	P
Ηλικία	1,01	0,96-1,07	0,69
ΔΜΣ	0,9	0,79-1,02	0,09
Κάπνισμα	0,68	0,29-1,59	0,37
Αλκοόλ	0,95	0,41-2,16	0,9
Φυλλικό οξύ	1,03	0,89-1,18	0,7

Τέλος ελέγξαμε τη συνεργική δράση της ομοκυστεΐνης και της B12, της ομοκυστεΐνης και της B6, της ομοκυστεΐνης και του φυλλικού στη συχνότητα εμφάνισης στεφανιαίας νόσου (πίνακες 10-12). Για το σκοπό αυτό εκτελέσαμε λογαριθμιστική παλινδρόμηση. Τα αποτελέσματα και αυτού του ελέγχου ήταν αρνητικά. Σε καμιά από τις παραπάνω περιπτώσεις δε βρέθηκε διαφορά στατιστικά σημαντική η οποία να δικαιολογεί την επίδραση της ομοκυστεΐνης και των συμπαραγόντων του μεταβολισμού της στην ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου.

Πίνακας 10. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση : συσχέτιση της συνεργικής δράσης ομοκυστεΐνης – B12 στη συχνότητα Σ.Ν.

	Odds Ratio	95% CI	P
Ηλικία	1,01	0,96-1,07	0,69
ΔΜΣ	0,9	0,79-1,02	0,099
Κάπνισμα	0,67	0,28-1,56	0,35
Αλκοόλ	0,96	0,42-2,18	0,92
B12 με tHcy	1,00	1,0-1,0	0,98

Πίνακας 11. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση : συσχέτιση της συνεργικής δράσης

B6- ομοκυστεΐνης στη συχνότητα Σ.Ν.

	Odds Ratio	95% CI	P
Ηλικία	1,01	0,96-1,07	0,68
ΔΜΣ	0,91	0,8-1,03	0,14
Κάπνισμα	0,66	0,28-1,56	0,35
Αλκοόλ	0,98	0,43-2,24	0,96
B6 με tHcy	1,00	0,99 -1,0	0,39

Πίνακας 12. Λογαριθμιστική παλινδρόμηση : συσχέτιση της συνεργικής δράσης

φυλλικού οξέος – ομοκυστεΐνης στη συχνότητα Σ.Ν.

	Odds Ratio	95% CI	P
Ηλικία	1,01	0,96-1,07	0,71
ΔΜΣ	0,90	0,79-1,02	0,98
Κάπνισμα	0,67	0,29-1,56	0,35
Αλκοόλ	0,96	0,42-2,18	0,92
Φυλλικό οξύ με tHcy	1,00	0,99 -1,01	0,27

17. Συμπεράσματα – συζήτηση

Από την παρούσα μελέτη δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ομοκυστεΐνης πλάσματος, των βιταμινών B12, B6 και φυλλικού οξέος και της συχνότητας εμφάνισης στεφανιαίας νόσου. Επίσης δεν προέκυψε συσχέτιση της συνεργικής δράσης της ομοκυστεΐνης με τις παραπάνω βιταμίνες και της συχνότητας στεφανιαίας νόσου. Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με αποτελέσματα πρόσφατης μελέτης (119) στην οποία οι συμμετέχοντες είχαν επίσης υποβληθεί σε στεφανιογραφικό έλεγχο και στην οποία βρέθηκε θετική συσχέτιση της τιμής της ομοκυστεΐνης και του φυλλικού οξέος με τη στεφανιαία νόσο όχι όμως των δύο βιταμινών B. Οι διαφορές της παρούσας μελέτης με την παραπάνω είναι πολλές και σημαντικές. Στη μελέτη των Lee et al οι ασθενείς δεν ήταν ελεύθεροι ατομικού ιστορικού στεφανιαίας νόσου σε αντίθεση με τους υγιείς, ο πληθυσμός είχε μεγάλο εύρος ηλικίας (36-92 ετών) και συμπεριελήφθησαν άνδρες και γυναίκες.

Ένα σημαντικό στοιχείο της δικής μας μελέτης είναι ότι ο πληθυσμός των δύο ομάδων δεν έχει διαφορές σε όλους τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου (ηλικία, φύλο, ΔΜΣ, W/H, W, λιπιδαιμικό προφίλ, κάπνισμα κατανάλωση αλκοόλ).

Το πιο σημαντικό στοιχείο όμως της παρούσας μελέτης είναι ότι τόσο οι ασθενείς όσο και οι υγιείς δεν εμφάνιζαν διατροφικές ελλείψεις στις υπό εξέταση βιταμίνες αφού όπως προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση η μέση τιμή κυμαινόταν εντός των φυσιολογικών τιμών και υψηλότερα από την κατώτερη φυσιολογική τιμή. Παρόμοια παρατήρηση έγινε σε μελέτη πρόσφατα δημοσιευμένη , στην οποία ελέγχθηκε η δράση της χορήγησης συμπληρωμάτων βιταμινών με σκοπό τη δευτερογενή πρόληψη αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων , εμφραγμάτων και θανάτων. Από τα

αποτελέσματα της μελέτης αυτής δεν προέκυψε συσχέτιση της μέτριας μείωσης της τιμής της ομοκυστεΐνης με τη μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας των ασθενών με αποτέλεσμα να μη θεωρηθεί η ομοκυστεΐνη ως σημαντικός παράγοντας κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου. Αξιοσημείωτο είναι ότι οι συμμετέχοντες δεν είχαν ιδιαίτερες διατροφικές ελλείψεις, ιδιαίτερα όσον αφορά το φυλλικό οξύ, αφού από το 1996 έχει αρχίσει συστηματικά ο εμπλουτισμός των τροφίμων με φυλλικό οξύ (120).

Την προηγούμενη δεκαετία το μεγαλύτερο ενδιαφέρον είχε επικεντρωθεί στη σχέση μεταξύ ομοκυστεΐνης και ελλείψεων βιταμινών Β και φυλλικού. Ο Ubbink et al (121) έδειξε ότι τα άτομα με υψηλή τιμή ομοκυστεΐνης ($>16,3 \mu\text{Mol/L}$) έχουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα Β6, Β12 και φυλλικού από ότι τα άτομα με φυσιολογική τιμή ομοκυστεΐνης. Σε αντίθεση λοιπόν με αρκετές προηγούμενες μελέτες, στην παρούσα μελέτη δε βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ ομοκυστεΐνης, Β12, Β6, και φυλλικού.

Από άλλες μελέτες (10, 86) έχει φανεί ότι η S- αδενοσυλμεθειονίνη (ενεργοποιητής της β- συνθάσης της κυσταθειονίνης) σε καταστάσεις νηστείας προτιμά τη μεταβολική οδό επαναμεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης διαμέσου του φυλλικού και της βιταμίνης Β12, ενώ η έλλειψη της Β6 δεν την επηρεάζει. Η βιταμίνη Β6 έχει επίδραση στη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης μόνο στην περίπτωση που κάνουμε φόρτιση με μεθειονίνη. Γι' αυτό το λόγο το φυλλικό θεωρείται ότι αποτελεί πιο σημαντικό ρυθμιστή της συγκέντρωσης της ομοκυστεΐνης πλάσματος.

Μια άλλη πιθανή εξήγηση των αρνητικών αποτελεσμάτων της μελέτης αυτής σχετικά με τις βιταμίνες Β και το φυλλικό είναι ότι τόσο οι στεφανιαίοι ασθενείς όσο και οι μάρτυρες είχαν φυσιολογικές συγκεντρώσεις των παραγόντων αυτών.

Η παρατήρηση αυτή έρχεται να ερμηνεύσει αποτελέσματα παλιότερων μελετών όπου η χορήγηση βιταμινούχων συμπληρωμάτων σε υγιή άτομα δεν είχε επίδραση στη συγκέντρωση της ομοκυστεΐνης όταν τα άτομα αυτά δεν είχαν ελλείψεις των

βιταμινών αυτών.(10, 86, 122). Επίσης σε πρόσφατη προοπτική μελέτη (123)

διάρκειας τεσσάρων ετών που διεξήχθη σε υγιή πληθυσμό , ελεύθερο από καρδιαγγειακά νοσήματα , δε βρέθηκαν στοιχεία που να χαρακτηρίζουν την ομοκυστεΐνη ως παράγοντα κινδύνου θνησιμότητας από στεφανιαία συμβάματα., ενώ διαφαίνεται , χωρίς να έχει τεκμηριωθεί, ότι οι υψηλότερες συγκεντρώσεις φυλλικού οξέος δρουν προστατευτικά έναντι της στεφανιαίας νόσου.

Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη δε διαπιστώθηκε οποιαδήποτε συσχέτιση μεταξύ ομοκυστεΐνης , βιταμινών Β και φυλλικού οξέος και συχνότητας στεφανιαίας νόσου. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι η μέση τιμή της ομοκυστεΐνης ήταν κοντά στα ανώτερα φυσιολογικά όρια και στις δύο ομάδες πληθυσμού. Επίσης οι συγκεντρώσεις των απαραίτητων συμπαραγόντων για το μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης (Β12,Β6, φυλλικό) ήταν σε φυσιολογικά όρια.. όλα τα παραπάνω έρχονται να προστεθούν στα αποτελέσματα και άλλων παλιότερων μελετών γεγονός που δικαιολογεί το σκεπτικισμό των ερευνητών για το χαρακτηρισμό της ομοκυστεΐνης ως παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου.

Βιβλιογραφία

1. Fuster V, Lewis A. Mechanisms leading to myocardial infarction : insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994; 90:2126-2146
2. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med*. 1997; 336:1276-1282
3. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-128
4. Wilcken DE and Wilcken B. The pathogenesis of coronary heart disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Investig* 1976; 57: 1079-1082
5. Mudd SH, Finkelstein JD, Refsum H, et al. Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1704-1706
6. Kang SS, Wong PW, and Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992; 12:279-2984
7. Karlson P. *Biochemistry* 1984; pp 183-186
8. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem* 1990; 1:228-237
9. Blom HJ. Consequences of homocysteine export and oxidation in the vascular system. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26:227-232)

10. Selhub J and Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: Interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1992;55:131-138).
11. Fowler B. Disorders of homocysteine metabolism. *J Inherited Metab Dis* 1997; 20:270-285)
12. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR et al. Total homocysteine in plasma or serum: Methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764-1779
13. Durand P, Lussier-Cacan S, and Blache D . Acute methionine load-induced hyperhomocysteinemia enhances platelet aggregation, thromboxane biosynthesis and macrophage-derived tissue factor activity in rats. *FASEB J* 1997a ; 11:1157-1168
14. Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine , a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease , and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114:473-501
15. Miller JW, Nadeau MR, Smith D, and Selhub J. Vitamin B6 deficiency vs folate deficiency: Comparison of responses to methionine loading in rats. *Am J Clin Nutr* 1994a ;59:1033-1039)
16. Miller JW, Nadeau MR, Smith J, Smith D, and Selhub J. Folate-deficiency-induced homocysteinaemia in rats: Disruption of S-adenosylmethionine' s coordinate regulation of homocysteine metabolism. *Biochem J* 1994b; 298:415-419)
17. Lochner Fmt, Haefeli WE, Angst CP, et al. Effect of methionine loading on 5 methyltetrahydrofolate, S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine in plasma of healthy humans. *Clin Sci* 1996;91:79-86

- 18 Silberberg J, Crooks R, Fryer J, et al,. Gender differences and other determinants of the rise in plasma homocysteine after L-methionine loading. *Atherosclerosis* 1997 ;133:105-110
- 19 Bostom AG, Jacques PF, Nadeau MR, et al. Post- methionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total plasma homocysteine: Initial results from the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 1995a;116:147-151),
- 20 Chen Z and Banerjee R. Purification of soluble cytochrome b5 as a component of the reductive activation of porcine methionine synthase. *J Biol Chem* 1998; 273:26248-26255
- 21 Taoka S, Ohja S, Shan X, et al. Evidence for heme-mediated redox regulation of human cystathionine beta-synthase activity. *J Biol Chem* 1998;273: 25179-25184).
- 22 Mosharov E, Cranford MR, and Banerjee R The quantitatively important relationship between homocysteine metabolism and glutathione synthesis by the transsulfuration pathway and its regulation by redox changes. *Biochemistry* 2000.;39:13005-13011).
- 23 Lentz SR, Erger RA, Dayal S, et al .Folate dependence of hyperhomocysteinemia and vascular dysfunction in cystathionine beta-synthase-deficient mice. *Am J Physiol* 2000;.279:H970-H975
- 24 Jakubowski H Homocysteine thiolactone: Metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. *J Nutr* 2000a;.130 (Suppl): 377S-381S.
- 25 Jakubowski H Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. A protective mechanism against protein N-homocysteinylation. *J Biol Chem* 2000b;.275: 3957-3962.)

26. Franken DG, Boers GHJ, Blom HJ, and Trijbels JMF . Effect of various regimens of vitamin B6 and folic acid on mild hyperhomocysteinemia in vascular patients. *J Inherited Metab Dis* 1994;17: 159-162)
- 27 Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PWK and Sora H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1993; 88: 1463-1469
- 28 Brattstrom L, Landgren F, et al. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials. *Br. Med J* 1998a.; 316:894-898
- 29 Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93:7-9
- 30 Durand P, Prost M, and Blache D Prothrombotic effects of a folic acid deficient diet in rat platelets and macrophages related to elevated homocysteine and decreased n-3 polyunsaturated fatty acids. *Atherosclerosis* 1996 b;. 121:231-243.)
- 31 Brattstrom L Vitamins as homocysteine- lowering agents. *J Nutr* (1996).;126:1276S-1280S
- 32 Ward M, McNulty H, Pentieva K, et al .Fluctuations in dietary methionine intake do not alter plasma homocysteine concentration in healthy men. *J Nutr* 2000; 130: 2653-2657)
33. Ward M, McNulty H, McPartlin J, et al. Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. *QJM* 1997; 90:519-524

34. Brouwer IA, Van Dusseldorp M, Thomas CMG, et al.. Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 1999b; 69:99-104
- 35 Brattstrom LE, , Israelsson B, Jeppsson JO, and Hultberg BL. Folic acid – an innocuous means to reduce plasma homocysteine. *Scan J Clin Lab Investig* 1988; 48:215-225
- 36.Olszewski AJ, Szostak WB, Bialkowska M, Rudnicki S, and Mc Cully KS. Reduction of plasma lipid and homocysteine levels by pyridoxine, folate cobalamin, choline, riboflavin and troxerutin in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1989; 75:1-6
37. Ubbink JB, van der Merwe A, Vermaak WJ, and Delport R. Hyperhomocysteinemia and the response to vitamin supplementation. *Clin Investig* 1993; 71:993-998
38. Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ, and Delport R. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *J Nutr* 1994;124:1927-1933
39. Wald DS , Bishop L, Wald NJ, Law M, et al .Randomized trial of folic acid supplementation and serum homocysteine levels. *Arch Inter Med* 2001;. 161:695-700
- 40 Clarke R and Armitage J .Vitamin supplements and cardiovascular risk: review of the randomized trials of homocysteine-lowering vitamin supplements. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26:341-348)
- 41 .Rasmussen LB, Ovesen L, Bulow I, Knudsen N, et al .Folate intake, lifestyle factoes and homocysteine concentrations in younger and older women. *Am J Clin Nutr* 2000;. 72:1156-1163)

42. De Bree A, Verschuren WMM, Blom HJ, and Kromhout D . Association between B vitamin intake and plasma homocysteine concentration in the general Dutch population aged 20-65 years. *Am J Clin Nutr* 2001 c; 73: 1027-1033)
- 43 Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rich S, Rosenberg IH and Selhub J Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring Cohort. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:613-621
44. Shimakawa T, Nieto FJ, Malinow MR, Chambless LE, Schreiner PJ, and Szklo M Vitamin intake: a possible determinant of plasma homocysteine among middle aged adults. *Ann Epidemiol* 1997; 7: 285-293
- 45 Saw SM, Yuan JM, Ong CN, Arakawa K, Lee HP, Coetzee GA, and Yu MC Genetic , dietary and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and older Chinese men and women in Singapore. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:232-239.
46. Koehler KM, Baumgartner RN, et al. Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:628-637
47. Ubbink JB, Fehily AM, Pickering J, Elwood PC, and Vermaak WJH Homocysteine and ischaemic heart disease in the Caerphilly cohort. *Atherosclerosis* 1998; 140:349-356
48. Bates CJ, Mansoor MA, van der Pols J, Prentice A, Cole TJ, and Finch S. Plasma total homocysteine in a representative sample of 972 British men and women aged 65 and over. *Eur J Clin Nutr* 1997 ;51:691-697
49. Appel LJ, Miller ER III, Jee SH, et al. Effect of dietary patterns on serum homocysteine: Results of a randomized, controlled feeding study. *Circulation* 2000;102:852-857

50. Stolzenberg Solomon RZ, Miller ER, Maguire MG, Selhub J, and Appel LJ. Association of dietary protein intake and coffee consumption with serum homocysteine concentrations in an older population. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:467-475.
51. de Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, and Kromhout D. Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Epidemiol* 2001 d; 154:150-154)
52. Nieto FJ, Comstock GW, Chambless LE, and Malinow RM. Coffee consumption and plasma homocysteine: results from the atherosclerosis risk in communities study. *Am J Clin Nutr* 1997;66: 1475-1476.
53. Christensen B, Mosdol A, Retterstol L, et al. Abstinence from filtered coffee reduced the concentrations of plasma homocysteine and serum cholesterol- a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:302-307
54. Grubben MJ, Boers GH, Blom HJ, Broekhuizen R, de Jong R, van Rijt J, de Ruijter E, Swinkels DW, Nagengast FM, and Katan MB. Unfiltered coffee increases plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2000; 71:480-484
55. Urgert R, van Vliet T, Zock PL, and Katan MB .Heavy coffee consumption and plasma homocysteine: a randomized controlled trial in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 2000;. 72:1107-1110
56. Olthof MR, Hollman PC, Zock PL, and Katan MB. Consumption of high doses of chlorogenic acid, present in coffee, or of black tea increases plasma total homocysteine concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:532-538.
57. De Bree A, Verschuren WMM, Blom HJ, et al. The homocysteine distribution: (mis)judging the burden. *J Clin Epidemiol* 2001 e; 54: 462-469

58. Andersson A, Brattstrom L, et al.. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender and menopausal status. *Eur. J Clin Invest* 1992a; 22:79-87
59. Lussire-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, and Genest J, Jr. Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex –specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996; 64:587-593
60. Fukagawa NK, Martin JM, Wurthmann A, Prue AH, Ebenstein D, and O'Rourke B. Sex – related differences in methionine metabolism and plasma homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr* 2000 ;72:22-29
61. Norlund L, Grubb A, Fex G, Leksell H, Nilsson JE, Schenck H, and Hultberg B. The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36:175-178
62. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, Asscheman H, and Stehouwer CD .Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels: a study in transsexual males and females. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83:550-553.
63. Mijatovic V, Kenemans P, Jakobs C, van Baal MV, Peters-Muller ER, and van der Mooren MJ. A randomized controlled study of the effects of 17 beta-estradiol-dydrogesterone on plasma homocysteine in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 1998; 91:432-436
64. Ubbink JB, Vermaak WJH, Delport R, van der Merwe A, Becker PJ, and Potgieter H. Effective homocysteine metabolism may protect South African blacks against coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:802-808

65. Dallongeville J, Marwcaux, N, Fruchart JC, and Amouyel P. Cigarette smoking is associated with unhealthy patterns of nutrient intake: a meta-analysis. *J Nutr* 1998;128:1450-1457
66. Piyathilake CJ, Hine RJ, Dasanayake AP, Richards EW, Freeberg LE, Vaughn WH, and Krumdieck CL. Effect of smoking on folate levels in buccal mucosal cells. *Int J Cancer* 1992; 52:566-569,
- 67 Bergmak C, Mansoor MA, Svardal A, and de Faire U. Redox status of plasma homocysteine and related aminothiols in smoking and non-smoking young adults. *Clin Chem* 1997; 43:1997-1999.
- 68 . Blom HJ . Determinants of plasma homocysteine . *Am J Clin Nutr* 1998;67:188-189.
69. Halsted CH .Lifestyle effects on homocysteine and an alcohol paradox. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:501-502
- 70.de Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, and Kromhout D. Alcohol consumption and plasma homocysteine : what's brewing? *Int J Epidemiol* 2001 b; 30:626-627.
71. Verhoef P, Kok FJ, Kruyssen DA, Schouten EG, Witteman JC, Grobbee DE, Ueland PM, and Refsum H. Plasma total homocysteine , B vitamins and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997b;17:989-995
72. Mayer JO, Simon J, and Rosolova H . A population study of the influence of beer consumption on folate and homocysteine concentrations. *Eur J Clin Nutr* 2001;55:605-609.
- 73.Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, Gaziano JM, Allen RH, Stabler SP, Reynolds RD, Kok FJ, Hennekens CH, and Willett WC .Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relation with vitamins B6, B12 and folate. *Am J Epidemiol* 1996;143:845-859.

74. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, Hess DL, and Davis CE . Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 1998;98:204-210
75. Blom HJ . Diseases and drugs associated with hyperhomocysteinemia, in *Homocysteine in Health and Disease* (Carmel R and Jacobsen, D Weds) 2001;pp 331-340, Cambridge University Press, Cambridge , UK.
76. Guttormsen AB, Ueland PM, Svarstad E, and Refsum H . Kinetic basis of hyperhomocysteinemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1997;52:495-502
77. Refsum H and Ueland PM . Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. *Trends Pharmacol Sci* 1990;11:411-416.
78. Schneede J, Refsum H, and Ueland PM . Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:263-279
79. Diekman MJ, van der Put NM, Blom HJ, Tijssen JG, and Wiersinga WM . Determinants of changes in plasma homocysteine in hyperthyroidism and hypothyroidism . *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 54: 197-204
80. Brattstrom L, Israelsson B, Olsson A, Andersson A, and Hultberg B . Plasma homocysteine in women on oral oestrogen-containing contraceptives and in men with oestrogen-treated prostatic carcinoma. *Scand J Clin Lab Investig* 1992;52:283-287.
81. Morris MS, Jacques PF, Selhub J, and Rosenberg IH . Total homocysteine and estrogen status indicators in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 2000; 152:140-148

82. Ueland PM and Refsum H . Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health , disease and drug therapy. *Lab Clin Med* 1989;114:473-501
83. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, and Rosenberg IH .Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270:2693-2698)
84. Ubbink JB. Vitamin nutrition status and homocysteine: An atherogenic risk factor. *Nutr Rev* 1994.; 52:383-387)
85. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277:1775-1781).
86. Ubbink JB, van der Merwe A, Delport R, Allen RH et al .The effect of a subnormal vitamin B6 status on homocysteine metabolism. *J Clin Invest* 1996; 98:177-184.
87. Mudd SH, Skovby F, Levy HL, Pettigrew KD, Wilcken B, Pyeritz RE, Andria G, Boers GH, Bromberg IL , et al . The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985; 37:1-31).
88. Yap S, Naughten ER, Wilcken B,et al.Vascular complications of severe hyperhomocysteinemia in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency:effects of homocysteine-lowering therapy. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26:335-340
89. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, and Scott CR . Homocysteine –induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58:731-741)
90. Malinow MR, (1994). Homocysteine and arterial occlusive diseases.

J Intern Med 236:603-617)

91. Dudman NPB, Hicks C, Wang J, and Wilcken DEL . Human arterial endothelial cell detachment in vitro: Its promotion by homocysteine and cysteine, Atherosclerosis 1991;91:77-83)
- 92 Harpel RC, Zhang XX, and Borth W Homocysteine and hemostasis: Pathogenetic mechanisms predisposing to thrombosis. J Nutr 1996; 126:1285S-1289S) .
- 93 Wang J, Dudman NPB and Wilcken DEL . Effects of homocysteine and related compounds on prostacyclin production by cultured human vascular cells. Thromb Haemost 1993; 70:1047-1052)
- 94 Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, and Loscalzo J . Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium –derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. J Clin Invest 1993; 91:308-318.).
- 95 Khajuria A and Huston DS . Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: A possible mechanism for thrombosis. Blood 2000; 96:966-972)
96. Dardik R, Varon D, Tamarin I, Zivelin A, Salomon O, Shenkman B, and Savion N . Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions: Distinct mechanisms of thrombogenic modulation. Thromb Haemost 2000; 83:338-344).
97. Lentz SR, Malinow MR, Piegors DJ, Bhopatkar-Teredesai M, Faraci FM, and Heistad DD . Consequences of hyperhomocysteinemia on vascular function in atherosclerotic monkeys. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17:2930-2934).

98. Undas A, Williams EB, Butenas S, Orfeo T, and Mann KG . Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C. *J Biol Chem* 2001;276:4389-4397.)
- 99 . Nishinaga M, Ozawa T, and Shimada K . Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparine sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Clin Invest*1993;92:1381-1386)
100. Hajjar KA . Homocysteine-induced modulation of plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor. *J Clin Invest* 1993;91:2873-2879
101. Hajjar KA, Mauri L, Jacovina AT, Zhong FM, Mirza UA, Padovan JC, and Chait BT. Tissue plasminogen activator binding to the annexin II tail domain. Direct modulation by homocystein. *J Biol Chem* 1998;273:9987-9993
- 102 . Midorikawa S, Sanada H, Hashimoto S, and Watanabe T, Enhancement by homocysteine of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and secretion from vascular endothelial and smooth muscle cells. *Bioch Biophys Res Commun* 2000; 272:182-185
103. Den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, Gerrits WB, and Bos GM . Hyperhomocysteinemia and venous Thrombosis : a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998; 80:874-877
104. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, and Stampfer MJ . Interrelation of hyperhomocysteinemia, factor V Leiden and risk of future venous thromboembolism. *Circulation* 1997; 95:1777-1782
105. Petri M, Roubenoff R, Dallal GE, Nadeau MR, Selhub J, and Rosenberg IH . Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1996; 348:1120-1124

106. Eichinger S, Stumpflen A, Hirschl M, Bialonczyk C, Herkner K, Stain M, Schneider B, Pabinger I, Lechner K, and Kyrle PA . Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemostasis* 1998;80:566-569
107. Vychytil A, Fodinger M, Wolfl G, et al. Major determinants of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 1998; 53:1775-1782
108. Di Minno G, Davi G, Margaglione M, et al. . Abnormally high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. Evidence for platelet involvement and probucol-sensitive mechanism. *J Clin Investig* 1993; 92:1400-1406
109. Blom HJ, Kleinvelde HA, Boers GH, Demacker PN, et al. Lipid peroxidation and susceptibility of low density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinemia. *Eur J Clin Investig* 1995;25:149-154
110. Brown AA and Hu FB . Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2001;73:673-686
111. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, et al. Long –term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000; 101:948-954
112. Nappo F, De Rosa N, Marfella R, De Lucia D, et al. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *J Am Med Assoc* 1999; 281:2113-2118
113. Boushey CJ, Beresford SA, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *J Am Med Assoc* 1995; 274:1049-1057
114. Christen W.G., Ajani U.A. , et al. Blood Levels of Homocysteine

and increased risks of cardiovascular disease. Arch Intern Med / VOL 160, Feb 28, 2000: 422-434

115. Evans RW, Shaten BJ, et al. Homocysteine and risk of cardiovascular disease in the multiple risk factor intervention trial. Atheroscler Thromb Vasc Biol 1997;17:1947-1953

116. Vermeulen EGJ, Stehouwer CDA, Twisk JWR, et al. Effect of homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebo-controlled trial. Lancet 355:517-522

117. Τριχόπουλος Δ. Ιατρική Στατιστική 1975

118. Hosmer D, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. John Wiley & Sons; New York, 1991, 106 – 118.

119. Lee BJ, Lin PT, et al. Homocysteine and risk of coronary artery disease: Folate is the important determinant of plasma homocysteine concentration. Nutrition 2003; 19:577-583

120. Toole JF., Malinow MR, Chambless Lloyd, Stampfer M. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death. The vitamin intervention for stroke prevention (VISP) randomized controlled trial. JAMA , Feb 4, 2004; Vol 291, No 5: 565-575

121. Ubbink JB, Vermaak WJH, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B12, vitamin B6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. Am J Clin Nutr 1993; 57: 47

122. Bosy- Westphal A, Holzapfel A, Czech N, Muller MJ. Plasma folate but not vitamin B12 or homocysteine concentrations are reduced after short-term vitamin B6 supplementation. Ann Nutr Metab 2001; 45:255

123. de Bree A, Verschuren WMM, Blom H, Nadeau M, Trijbels J.M.F, Kromhout D. Coronary heart disease mortality, plasma homocysteine, and B-vitamins: a prospective study. *Atherosclerosis* 2003; 166: 369-377

Παράρτημα : ερωτηματολόγια και φόρμα συμπλήρωσης αποτελεσμάτων στεφανιογραφίας

Ερωτηματολόγιο

Ημερομηνία

A/A

Ονοματεπώνυμο.....

1. Φύλο

2. Ηλικία

3. ΣΔ
4. Θεραπεία ΣΔ
5. ΔΜΣ Σ.Β. ΥΨΟΣ
6. W/H Περ. Μέσης Περ. Περιφέρειας
7. ΑΠ Συστολική
8. ΑΠ Διαστολική
9. Αλκοολ – σπανίως /ποτέ
10. Αλκοόλ – μηνιαίως
11. Αλκοόλ- εβδομαδιαίως
12. Αλκοόλ- καθημερινώς
13. Κάπνισμα- πρώην καπνιστής
14. Κάπνισμα- καπνιστής
15. Κάπνισμα - -ποτέ
16. Οικογενειακό Ιστορικό Σ.Ν.
17. Οικογενειακό Ιστορικό ΣΔ
18. Οικογενειακό Ιστορικό Υπερτασης
19. Οικογενειακό Ιστορικό Α.Ε.Ε.
20. Ιστορικό Σ.Ν.
21. Ιστορικό PTCA
22. Ιστορικό Α.Ε.Ε.
23. Ιστορικό by – pass
24. Ιστορικό Περιφ. Αρτηριοπάθειας
25. Ιστορικό Δυσλιπιδαιμίας
26. Θεραπεία με φιμπράτες
27. Θεραπεία με στατίνες

28. Ιστορικό Υπέρτασης
29. Θεραπεία με β -blockers
30. Θεραπεία με α -MEA
31. Θεραπεία με αναστολείς ασβεστίου
32. Θεραπεία με διουρητικά
33. Λήψη βιταμινών <6 μήνες
34. Λήψη Νιτρωδών
35. Λήψη ASA
36. Λήψη αντι-PLT
37. Λήψη αντι-E
38. Λήψη ορμονών

Φόρμα αποτελεσμάτων στεφανιογραφίας

ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΣΤΕΦΑΝΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

CAD SCORE

Αριθμός στενωμένων αγγείων $\geq 50\%$

93. 0 στενωμένα αγγεία

94. 1. στενωμένο αγγείο Δ.Σ.Α. / Π.Κ. / Π.Α.

95. 2 στενωμένα αγγεία Δ.Σ.Α.+Π.Κ. / Α.Σ..Α+ Π.Α. / Π.Κ. +Π.Α.

96. 3 στενωμένα αγγεία

97. 3 αγγεία + στέλεχος

98. Στέλεχος

ΠΟΣΟΣΤΟ ΣΤΕΝΩΜΕΝΟΥ ΚΛΑΔΟΥ

99. Δ.Σ..Α. $\geq 50\%$ 75% 90% 100%

100. Π.Κ. $\geq 50\%$ 75% 90% 100%

101. ΠΕΡΙΣΠΩΜΕΝΗ $\geq 50\%$ 75% 90% 100%

102. ΣΤΕΛΕΧΟΣ $\geq 50\%$ 75% 90% 100%

Επίπεδα φρουστέιους
πλάσματος, βιταμινών...

ΠΤΥ ΔΗΜ

Δημητρίου Κ.

12975

10168

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



★ 1 2 9 7 5 ★