

Ομοκυστεΐνη (ΟΚ) και Σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ)

Γ. Σκαραγκάς

Περίληψη

Το γεγονός ότι πολλοί ασθενείς με πρώιμη αθηρωμάτωση δεν είχαν κανένα από τους κλασικούς παράγοντες κινδύνου οδήγησε στην ανάγκη να αναγνωρισθούν και άλλοι παράγοντες κινδύνου με ιδιαίτερη αναφορά ιδίως τα τελευταία χρόνια στην υπερομοκυστεΐναιμία. Εξ άλλου είναι γνωστή η σχέση των ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη και της μακροαγγειοπάθειας. Στους ασθενείς αυτούς φαίνεται ότι η συνύπαρξη ΣΔ και υπερΟΚ αποτελεί έναν επικίνδυνο συνδυασμό με αποτέλεσμα την εμφάνιση βαρείας αγγειακής νόσου. Η υπερΟΚ πρόσφατα αναγνωρίστηκε ως παράγων κινδύνου για την εμφάνιση καρδιαγγειακής νόσου. Αν και οι μηχανισμοί με τους οποίους η υπερΟΚ προάγει την αθηροθρόμβωση δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι, υπάρχει μία έντονη επιδημιολογική συσχέτιση μεταξύ υπερΟΚ και αθηροθρόμβωσης. Φαίνεται δε ότι υπάρχει έντονη συσχέτιση μεταξύ υπερΟΚ και ΣΔ τύπου 2 όσον αφορά στην εμφάνιση της καρδιαγγειακής νόσου με μεγάλο κλινικό ενδιαφέρον αφού η θεραπεία της υπερΟΚ φαίνεται να είναι εύκολη και αποτελεσματική.

Εισαγωγή

Η καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί την συχνότερη αιτία θανάτου τόσο μεταξύ των διαβητικών όσο και μεταξύ μη διαβητικών ατόμων. Είναι δε γνωστό ότι τόσο η συνολική όσο και η καρδιαγγειακή θνητότης είναι 2-4 φορές υψηλότερη και στους δύο τύπους ΣΔ¹⁻⁴. Ιδιαίτερα ο ΣΔ τύπου 2 σχετίζεται και με άλλους παράγοντες κινδύνου, όπως είναι η υπερχοληστελαιμία και η υπέρταση οι οποίοι όμως δεν μπορούν να ερμηνεύσουν πλήρως την αυξημένη θνητότητα. Λογικό είναι ένα μεγάλο μέρος του κινδύνου να οφείλεται στον ίδιο τον ΣΔ, στο κακό μεταβολικό έλεγχο και σε άλλους παράγοντες οι οποίοι επί του παρόντος παραμένουν άγνωστοι. Η υπερομοκυστεΐναιμία(υπερΟΚ) έχει αναγνωρισθεί σχετικά πρόσφατα ως ανεξάρτητος παράγων καρδιαγγειακού κινδύνου το ίδιο ισχυρός όπως ο ΣΔ, η υπέρταση, η υπερχοληστερολαιμία και το κάπνισμα⁵⁻⁸. Αν και οι μηχανισμοί με τους οποίους η υπερΟΚ συμβάλλει στην αθηροθρόμβωση δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι, οι επιδημιολογικές μελέτες αποδεικνύουν μία ισχυρή συσχέτιση μεταξύ υπερΟΚ και αθηροθρόμβωσης^{5,6,9}. Εκτιμάται δε ότι η συχνότητα της υπερΟΚ (> 14 μmol/L) στον γενικό πληθυσμό είναι 5-30%¹⁰⁻¹³.

Μελέτες μετα-ανάλυσης έδειξαν ότι μία απλή θεραπεία με

Β' Παθολογική Κλινική
Π.Γ.Ν. «ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ»
Θεσσαλονίκη

φυλλικό οξύ (0,5-5 mg/ημ) μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της συνολικής ΟΚ εντός 6 εβδομάδων κατά 15-40%¹⁴. Παράλληλα βρέθηκε ότι ελάττωση της ολικής ΟΚ κατά 5 μmol/L μπορεί να ελαττώσει τον καρδιαγγειακό κίνδυνο κατά 10%⁶. Τα παραπάνω αποτελούν ενδιαφέροντα στοιχεία με την έννοια ότι ένας σημαντικός παράγων κινδύνου μπορεί να μειωθεί με απλή θεραπεία.

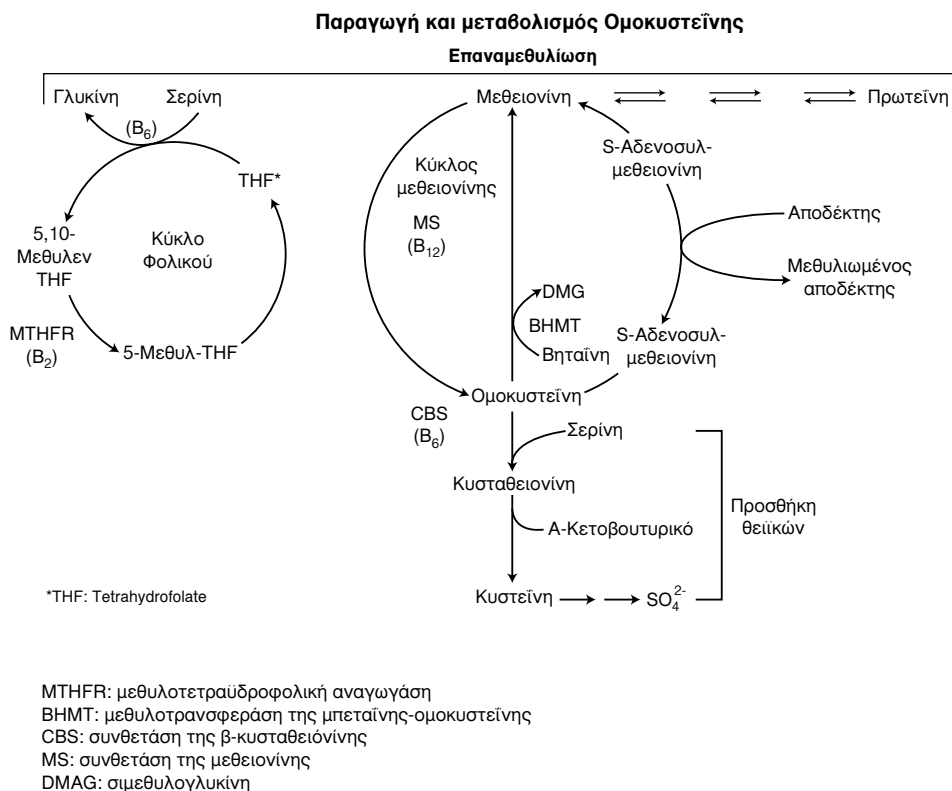
Οι κλασικοί παράγοντες κινδύνου της αγγειακής βλάβης φαίνεται ότι δεν μπορούν να συμπληρώσουν την πλήρη εικόνα της παθογένειας της βλάβης και αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι πολλοί ασθενείς με πρώιμη αθηρωμάτωση δεν είχαν κανέναν από αυτούς τους επιβαρυντικούς παράγοντες κινδύνου. Αυτό οδήγησε στην ανάγκη για αναγνώριση και άλλων παραγόντων κινδύνου για την πλήρη κατανόηση των μηχανισμών και έτσι τελευταία δόθηκε ιδιαίτερη σημασία στα αυξημένα επίπεδα της ΟΚ.

Το 1962 έγινε για πρώτη φορά ο προσδιορισμός της ΟΚ όταν περιγράφηκαν οι πρώτοι ασθενείς με συγγενή ομοκυστινουρία¹⁵ και το 1969 συσχετίστηκαν τα υψηλά επίπεδα της ΟΚ με τη μεγάλη συχνότητα της καρδιαγγειακής νόσου από τον McCully¹⁶.

Η ΟΚ είναι ένα θειούχο αμινοξύ το οποίο σχηματίζεται κατά τον μεταβολισμό ενός απαραίτητου αμινοξέος της μεθειονίνης. Οι πιο σημαντικοί παράγοντες οι οποίοι αυξάνουν τα επίπεδα της ΟΚ είναι γενετικοί, διατροφικοί και παθολογικοί. Η φυσική εξέλιξη, η χαρακτηριστική παθολογία και η παθοφυσιολογία της ομοκυστινουρίας ενός μεταβολικού συνδρόμου με διαταραχές στον μεταβολισμό της ΟΚ αποτελούν πρότυπο θρομβοεμβολικής νόσου και υψηλών επιπέδων ΟΚ.

Μεταβολισμός της ΟΚ

Η ΟΚ αποτελεί ενδιάμεσο μεταβολικό προϊόν το οποίο σχηματίζεται κατά την μετατροπή της μεθειονίνης (απαραίτητο θειούχο αμινοξύ το οποίο ο άνθρωπος προμηθεύεται από τις τροφές) σε κυστεΐνη. Οι ημερήσιες ανάγκες για μεθειονίνη είναι για τους ενήλικες 0.9g με ημερήσια πρόσληψη περίπου 2 g. Όπως φαίνεται στο σχήμα 1, το πρώτο βήμα στον μεταβολισμό της μεθειονίνης είναι ο σχηματισμός του ενδιάμεσου προϊόντος της S-αδενοσυλομεθειονίνης το οποίο είναι ισχυρός δότης μεθυλίων σε πολλές αντιδράσεις μεθυλίωσης. Η S-αδενοσυλομεθειονίνη απομεθυλιούται για να σχηματίσει την S-αδενοσυλομοκυστεΐνη η οποία στη



Σχήμα 1

συνέχεια υδρολύεται σε αδενοσίνη και ΟΚ. Η ΟΚ ακολούθως εισέρχεται είτε στη μεταβολική οδό της τρανσουλφορυλίωσης (μεταφοράς σουλφυδρυλίων) είτε στον κύκλο της επαναμεθυλίωσης. Περίπου 50% η ΟΚ εισέρχεται στην οδό της τρανσουλφορυλίωσης όπου συνδυάζεται με σερίνη αμετάστρεπτα παρουσία του B₆-εξαρτώμενου ενζύμου της β-συνθάσης της κυσταθειονίνης (CBS) για να σχηματίσει κυσταθειονίνη. Αυτή κατόπιν μεταβολίζεται σε κυστεΐνη και ακετοβουτυρικό παρουσία της ν-κυσταθειονάσης, ενός άλλου B₆ εξαρτώμενου ενζύμου. Σε περιπτώσεις περίσσειας μεθειονίνης η οδός της τρανσουλφορυλίωσης ευνοείται με υπερπαραγωγή β-συνθάσης της κυσταθειονίνης και υπολειπουργίας της οδού της επαναμεθυλίωσης. Η κυστεΐνη η οποία σχηματίζεται από την ΟΚ τελικά συνδέεται με θειική ομάδα και αποβάλλεται από τα ούρα.

Στην οδό της επαναμεθυλίωσης η ΟΚ επανακυκλούςται σε μεθειονίνη με δύο διαφορετικές αντιδράσεις. Η πρώτη απαιτεί την παρουσία μεθυλοτρανσφεράσης της 5-μεθυλτετραϋδροφολικής ΟΚ (MS συνθάση της μεθειονίνης), Η μεθυλοκαβαλαμίνη και το μεθυλτετραϋδροφολικό παίζουν ρόλο συμπαραγόντα και υποστρώματος για το ένζυμο αυτό. Η οδός της επαναμεθυλίωσης ευνοείται σε περιόδους σχετικής έλλειψης της μεθειονίνης. Η επανακύκλωση αυτή και η συντήρηση των επιπέδων της ΟΚ εγγυώνται την επαρκή διατήρηση της μεθειονίνης. Η δεύτερη οδός επαναμεθυλίωσης της ΟΚ καταλύεται από το ένζυμο μεθυλοτρανσφεράση της μεταϊνής-ΟΚ (BHMT). Η ΟΚ ως εκ τούτου αποτελεί ένα είδος αντανακλαστικού για το μεταβολικό status της μεθειονίνης και η μεταβολική της τύχη μπορεί να επηρεασθεί από διαταραχές στις συγκεντρώσεις του φυλλικού, της B₆ της B₁₂ ή από τις δραστηριότητες πολλών ενζύμων τα οποία συμμετέχουν είτε στην οδό της τρανσουλφορυλίωσης είτε στην οδό της επαναμεθυλίωσης. Φυσιολογικά η ενδοκυττάρια συγκέντρωση της ΟΚ διατηρείται εντός στενών ορίων και κάθε αύξηση στην παραγωγή¹⁷ ή μείωση στον μεταβολισμό¹⁸, έχει ως αποτέλεσμα την έξοδό της από τα κύτταρα. Αντίστροφα όταν ο σχηματισμός ΟΚ ελαττώνεται, τότε ελαττώνεται και η έξοδός της από τα κύτταρα. Επομένως τα επίπεδα της ΟΚ στο αίμα αντανακλούν την συγκέντρωση της ΟΚ στα κύτταρα καθώς και την ακεραιότητα πολλών μεταβολικών οδών οι οποίες εμπλέκονται στον μεταβολισμό της.

Περίπου το 80% της ΟΚ στο αίμα είναι συν-

δεδεμένη με πρωτεΐνη μέσω δισουλφιδικών δεσμών. Η υπόλοιπη ΟΚ οξειδούται είτε δημιουργώντας διμερή ή ενώνεται με κυστεΐνη μέσω δισουλφιδικού δεσμού. Μόνο ένα μικρό ποσό κυκλοφορεί ως ελεύθερη ΟΚ. Όταν λαμβάνεται δείγμα αίματος η ελεύθερη ΟΚ συνδέεται και αυτή με πρωτεΐνη έτσι ώστε το ποσό της ελεύθερης ΟΚ ποικίλλει χωρίς όμως να μεταβάλλεται το ολικό ποσό της ΟΚ. Εν τούτοις το ολικό ποσό ΟΚ μπορεί να αυξηθεί όταν το δείγμα του αίματος κρατηθεί σε θερμοκρασία δωματίου εξ αιτίας της εξόδου ΟΚ από τα ερυθρά¹⁹.

Συγγενείς ελλείψεις των ενζύμων τα οποία απαιτούνται είτε στην οδό της επαναμεθυλίωσης είτε στην οδό μεταφοράς σουλφυδρυλικών ομάδων έχουν ως αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα ΟΚ όπως και στην επίκτητη έλλειψη συμπαραγόντων.

Συγγενείς αιτίες υπερομοκυστεϊναιμίας

Βαρεία υπερΟΚ (έως 400 μmol/l) συνήθως είναι αποτέλεσμα ομόζυγης έλλειψης του ενζύμου CBS. Ο γόνος για το ένζυμο αυτό κληρονομείται ως αυτοσωματικός υπολειπόμενος χαρακτήρας και δείχνει σημαντική γενετική ετερογένεια. Ο επιπολασμός της ομόζυγης έλλειψης εκτιμάται περίπου στο 1: 335.000 ζώσες γεννήσεις. Ασθενείς ομόζυγότες αναπτύσσουν το κλασικό σύνδρομο της ομοκυστεϊναιμίας (πρώιμη αγγειακή νόσος, θρόμβωση, διανοητική καθυστέρηση, έκτοποι φακοί και σκελετικές ανωμαλίες). Ο γόνος του ενζύμου βρίσκεται στο χρωμόσωμα 21. Ασθενείς με τρισωμία 21 έχουν υψηλή ενζυμική δραστηριότητα (166% του φυσιολογικού). Είναι ενδιαφέρον ότι οι ασθενείς αυτοί σπάνια αναπτύσσουν αθηρωμάτωση¹⁹. Η κληρονομικότητα ενός μόνον λειτουργικού γόνου μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα υπερΟΚ μέτριου βαθμού (20-40 μmol/l). Ο επιπολασμός της ετερόζυγης έλλειψης του ενζύμου είναι 0,3-1% του γενικού πληθυσμού²⁰.

Έλλειψη ενζύμων που συμμετέχουν στην οδό της επαναμεθυλίωσης μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα την υπερΟΚ. Η MTHFR (ρεδουκτάση μεθυλενοτετραϋδροφολικού) καταλύει την μετατροπή του 5,10-μεθυλενοτετραϋδροφολικού σε 5-μεθυλτετραϋδροφολικό. Η ομόζυγος έλλειψη συμβαίνει στο 1/10 της έλλειψης του CBS στο γενικό πληθυσμό²¹. Οι ασθενείς αυτοί δεν έχουν ενζυμική δραστηριότητα και αναπτύσσουν υπερΟΚ και ένα κλινικό σύνδρομο με νευρολογικές διαταραχές, ψυχοκινητικές διαταραχές, εγκεφαλικό επεισόδιο και περιφερική νευροπάθεια. Νεκροτομικές μελέτες δείχνουν υψηλό επιπολασμό αρτηριακής και

φλεβικής θρόμβωσης (70%)²². Η ετερόζυγος έλλειψη έχει ως αποτέλεσμα το 50% της δραστηριότητας του ενζύμου χωρίς νευρολογικές διαταραχές. Ακόμη υπάρχει και μία θερμοασταθής παραλλαγή του MTHFR χωρίς νευρολογική συμπτωματολογία²³.

Επίκτητες αιτίες υπερομοκυτεϊναιμίας

Ως επίκτητα αίτια αναφέρονται η έλλειψη βιταμινών όπως της B₁₂, της B₆ και του φυλλικού οξέος, είτε από ανεπαρκή πρόσληψη ή από δυσαπορρόφηση ή ακόμη και από διαταραχές του μεταβολισμού της B₁₂²⁴⁻²⁶. Η έλλειψη φυλλικού προκαλεί αύξηση της OK ως αποτέλεσμα μειωμένης επαναμεθυλίωσης, ενώ η έλλειψη της B₆ προκαλεί αθηρωματική νόσο με μηχανισμό ο οποίος παραμένει άγνωστος. Οι ανεπαρκείς συγκεντρώσεις μιας ή περισσότερων βιταμινών του συμπλέγματος B αποτελούν την αιτία για τα 2/3 των περιπτώσεων υπερόΚ²⁷. Συστηματικά νοσήματα τα οποία συνοδεύονται με αύξηση των επιπέδων OK είναι:

1. *Σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ)*. Στον ΣΔ η αύξηση της OK δυνατόν να οφείλεται στον αυξημένο μεταβολισμό των αμινοξέων από την χρήση της ινσουλίνης^{28,29}. Το NO αδρανοποιεί την B₁₂ από την οποία εξαρτάται η συνθάση της μεθειονίνης και ως εκ τούτου έχουμε αύξηση των επιπέδων της OK. Η ινσουλίνη αυξάνει ως γνωστό τα επίπεδα του NO.

2. *Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ)*. Στη ΧΝΑ υπάρχει θετική συσχέτιση επιπέδων OK και κρεατινίνης η οποία αποδίδεται στη διαταρχή του μεταβολισμού της OK από τους νεφρούς κυρίως και λιγότερο στην μειωμένη αποβολή της από τους νεφρούς^{28,29}. Η αύξηση μπορεί να φθάσει στο 4 πλάσιο του φυσιολογικού. Αυξημένα επίπεδα αναφέρθηκαν και μετά από νεφρική μεταμόσχευση. Τα αυξημένα επίπεδα δυνατόν να μειωθούν σε ασθενείς οι οποίοι υποβάλλονται σε τεχνητή αιμοκάθαρση. Στην υπερόΚ οφείλεται η εκτεταμένη αθηρωμάτωση στους ασθενείς αυτούς.

3. *Φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου*. Η δυσαπορρόφηση βιταμινών δημιουργεί ελλείμματα βιταμινών και αύξηση των επιπέδων της OK.

4. *Νεοπλάσματα*. Αυξημένα επίπεδα OK αναφέρθηκαν σε νεοπλάσματα ωοθηκών, παγκρέατος, μαστού και οφείλονται σε αδυναμία των καρκινικών κυττάρων να επαναμεθυλιώσουν την OK^{28,29}. Πολύ αυξημένα επίπεδα παρατηρούνται στην οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία τα οποία μειώνονται με την θεραπεία³⁰.

5. *Φάρμακα*. Τα επίπεδα της OK επηρεάζο-

νται από έναν μεγάλο αριθμό φαρμάκων. Η μεθοτρεξάτη εξαντλεί το 5-μεθυλτετραϋδροφολικό, το οποίο αποτελεί το υπόστρωμα της συνθάσης της μεθειονίνης με αποτέλεσμα μία παροδική αύξηση της OK³¹. Το NO αδρανοποιεί την B₁₂ από την οποία εξαρτάται η συνθάση της μεθειονίνης με το ίδιο αποτέλεσμα³². Αντιεπιληπτικά φάρμακα όπως η φενυτοΐνη και η καρβαμαζεπίνη παρεμβαίνουν στον μεταβολισμό του φυλλικού οξέος και αυξάνουν τα επίπεδα της OK. Η ισωνιαζίδη και η κυκλοσερίνη δρουν ως ανταγωνιστές της B₆²⁹. Το 1976 απαγορεύθηκε από τον FDA η αζαραμπίνη (ανταγωνιστής της B₆) η οποία χρησιμοποιήθηκε στη θεραπεία της ψωρίασης γιατί ενοχοποιήθηκε για αυξημένο κίνδυνο θρομβοεμβολικών επεισοδίων. Η χρήση διουρητικών³³ και υπολιπιδαιμικών (colestipol) σε συνδυασμό με νιασίνη σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα OK³⁴. Τα από του στόματος αντισυλληπτικά τα οποία περιέχουν οιστρογόνα μπορούν να επηρεάσουν τον μεταβολισμό θειούχων αμινοξέων, περιλαμβανομένης και της OK³¹. Αν και οι γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά συνήθως έχουν μειωμένα επίπεδα OK, σε μερικές δυνατόν να εμφανισθεί αύξηση της OK³⁵.

Η πενικιλλαμίνη ένα ανάλογο της κυστεΐνης με χηλικές ιδιότητες μπορεί να μειώσει τα επίπεδα της OK σχηματίζοντας προϊόν χαμηλού MB με δισουλφίδιο³¹.

6. *Άλλα νοσήματα*. Αυξημένα επίπεδα OK παρατηρήθηκαν και σε διάφορα άλλα νοσήματα όπως στην ψωρίαση εξ αιτίας του έντονου πολλαπλασιασμού των κυττάρων του δέρματος³¹ σε περιπτώσεις νευρολογικών και ψυχιατρικών νοσημάτων ιδιαίτερα στη νόσο Parkinson και στη νόσο Alzheimer^{36,37}. Υπάρχουν αρκετές αναφορές για την αύξηση της OK στον υποθυρεοειδισμό³⁸.

7. *Το κάπνισμα*. Δρα βλαπτικά στην σύνδεση της φωσφορικής πυριδοξάλης με συνέπεια την αύξηση της OK. Είναι ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς με τους οποίους το κάπνισμα συμβάλλει στη δημιουργία της αθηρωμάτωσης³⁹.

8. *Μεγαλοβλαστική αναιμία*. Η αύξηση της OK αναφέρεται στην κακοήγη αναιμία της οποίας αποτελεί διαγνωστικό στοιχείο^{11,12,40}.

9. *Άλλα αίτια*. Άλλες καταστάσεις οι οποίες συνδέονται με αύξηση της OK είναι το φύλο, η έλλειψη άσκησης και η ηλικία. Η μεγάλη ηλικία συνοδεύεται με αύξηση της OK και αυτό μπορεί να αντανακλά την ανεπάρκεια της B₁₂ ως αποτέλεσμα φτωχής διατροφής ή μειωμένης απορρόφησης ή προϋπάρχουσας νεφρικής ανεπάρκειας η οποία

παρατηρείται στις μεγάλες ηλικίες καθώς και μείωσης της δραστηριότητας της συνθάσης της κυσταθειονίνης η οποία επίσης συνοδεύει τις μεγάλες ηλικίες. Οι άνδρες έχουν υψηλότερα επίπεδα OK από τις γυναίκες. Με την πάροδο της ηλικίας και στα δύο φύλα η OK αυξάνεται. Στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση η OK μπορεί να αυξηθεί ή να μείνει αμετάβλητη. Οι διαφορές στα φύλα ερμηνεύονται από τις ορμόνες του φύλου. Όμως μπορούν να σχετίζονται με υψηλότερες τιμές κρεατινίνης ή την μεγαλύτερη μυϊκή μάζα στους άνδρες.

Μορφές OK στο πλάσμα. Η OK υπάρχει στο πλάσμα με πολλές μορφές. Για πρώτη φορά η OK ανιχνεύθηκε ως OK με κυστεΐνη συνδεδεμένες με δισουλφιδία (5-10% της ολικής⁴¹). Η αλβουμίνη είναι ο μεγαλύτερος πρωτεϊνικός μεταφορέας της OK και η συνδεδεμένη με αυτήν OK αποτελεί το 70-90% της ολικής OK⁴². Η OK μπορεί να συνδεθεί με άλλο μόριο OK μέσω δισουλφιδικού δεσμού (5-10% της ολικής). Άλλη μορφή που ανιχνεύεται είναι η αναχθείσα μορφή (1-2% της ολικής), ενώ έχει απόμονωθεί και η θειολακτονική OK. Τα φυσιολογικά επίπεδα OK σε κατάσταση νηστείας είναι 5-15 $\mu\text{mol/l}$. Τα αυξημένα επίπεδα OK ταξινομούνται ως ήπια (15-30 $\mu\text{mol/l}$), μέτρια (>3 $\mu\text{mol/l}$), και μεγάλη (>100 $\mu\text{mol/l}$).

Ομοκυστεΐνη και αγγειακή νόσος

Η σχέση ομόζυγης υπερOK με την αγγειακή νόσο και την θρόμβωση για πρώτη φορά περιγράφηκε το 1964⁴³. Από τότε πολλοί ερευνητές ασχολήθηκαν με το θέμα. Η μελέτη COMAC έδωσε σημαντικά ευρήματα και έδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα OK σε άνδρες και γυναίκες αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για αγγειακή νόσο, παρόμοιο με αυτόν της υπερχοληστερολαιμίας και του καπνίσματος. Μετα-ανάλυση 27 μελετών έδειξε ότι η υπερOK είναι ισχυρός ανεξάρτητος παράγων αγγειακού κινδύνου ανεξάρτητος της ηλικίας, του καπνίσματος, της υπέρτασης, της υπερλιπιδαιμίας και του ΣΔ⁴⁴. Βρέθηκε επίσης ότι τα επίπεδα της OK αποτελούν προγνωστικό παράγοντα σε σχέση με τη θνησιμότητα σε ασθενείς με έμφραγμα μυοκαρδίου. Έτσι η θνητότητα ήταν 4% όταν τα επίπεδα της OK ήταν <4 $\mu\text{mol/l}$ ενώ ήταν 24,7 % όταν ήταν >15 $\mu\text{mol/l}$.

Για κάθε αύξηση του επιπέδου της συνολικής OK κατά 5 $\mu\text{mol/l}$ αναμένεται αύξηση του κινδύνου για στεφανιαία νόσο κατά 40%⁴⁴.

Η μελέτη Framingham έδειξε ότι τα αυξημένα επίπεδα ολικής OK αποτελούν ανεξάρτητο παρά-

γοντα κινδύνου⁴⁵ και ότι ακόμη και ήπια αύξηση της OK αποτελεί παράγοντα κινδύνου για αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια σε ηλικιωμένα άτομα. Βρέθηκε ότι η υπερOK εκπροσωπεί το 10% του κινδύνου για στεφανιαία νόσο στον γενικό πληθυσμό⁴⁴. Η αυξημένη OK ενοχοποιήθηκε και για την περιφερική αγγειακή νόσο όπως επίσης και για τη φλεβική θρόμβωση. Βρέθηκε ότι επίπεδα OK >22 $\mu\text{mol/l}$ αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο για εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση. Παράλληλα με τον μεγάλο αριθμό μελετών οι οποίες ενοχοποιούν την υπερOK ως παράγοντα κινδύνου για αγγειακή νόσο υπάρχουν και άλλες με αντιφατικά αποτελέσματα.

Παθογένεια της αγγειακής νόσου. Αν και υπάρχει μεγάλος όγκος βιβλιογραφίας για τον ρόλο της υπερOK στην αγγειακή νόσο οι μηχανισμοί παραμένουν αδιευκρίνιστοι. Οι έρευνες εστιάστηκαν 1) στα αιμοπετάλια, 2) στο αγγειακό ενδοθήλιο και 3) στις πρωτεΐνες πήξεως.

Η υπερOK ευθύνεται για την αποφολίδωση των ενδοθηλιακών η οποία αποτελεί αιτία για την επιταχυνόμενη αγγειακή νόσο. Η OK ασκεί επίσης επιπρόσθετες δράσεις στη διαδικασία της αθηρωμάτωσης. Η OK και άλλες αναγωγικές θειούχες ουσίες όχι όμως και οξειδωμένες θειόλες προάγουν την οξείδωση των LDL με αποτέλεσμα την δημιουργία αθηρωματογόνου λιπο-πρωτεΐνης. Η OK σε συγκεντρώσεις μικρότερες του 1 mM αυξάνει την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο. Η OK προάγει τον σχηματισμό θρομβίνης στο αγγειακό τοίχωμα. Η θρομβίνη συνεισφέρει στην αθηρωμάτωση με άμεση δράση στη χημειοταξία των μονοκυττάρων και στην μίτωση απελευθερώνοντας αυξητικούς παράγοντες από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και από τα αιμοπετάλια.

1. Ομοκυστεΐνη και πρωτεΐνες πήξεως

Ήδη από το 1968 αναφέρθηκε ότι η ομοκυστεΐνη, το οξειδωμένο διμερές της OK έχει την δυνατότητα να ενεργοποιήσει τον παράγοντα XII⁴⁶. Επειδή η ομοκυστεΐνη είναι σχετικά αδιάλυτη, προτάθηκε ότι η εναπόθεσή της στο αγγειακό τοίχωμα θα μπορούσε να ξεκινήσει την εξ επαφής ενεργοποίηση της θρόμβωσης. Λίγες μελέτες ανέφεραν σε βάθος απόψεις για την πήξη σε μεγάλο αριθμό ασθενών. Οι περισσότεροι ασθενείς είχαν ομόζυγο ομοκυστινουρία. Οι Harker και συν από μελέτες σε τέτοιους ασθενείς και σε πειραματόζωα συμπεράναν ότι η ενεργοποίηση της πήξης δεν ήταν πρωτογενής μηχανισμός για την θρόμβωση στην ομοκυστεΐναιμία⁴⁷. Οι περισσότερες μελέτες

ανέφεραν φυσιολογικά επίπεδα των πρωτεϊνών της πήξης σε ασθενείς με υπερΟΚ. Δύο μόνο διαταραχές αναφέρθηκαν στις περισσότερες μελέτες, η ελάττωση του παράγοντα VII και της ΑΤΙΙΙ. Τα επίπεδα επανέρχονταν στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από θεραπεία με Β₆ και φυλλικό⁴⁸.

Η αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ αυξημένων επιπέδων ΟΚ και μειωμένης δραστηριότητας ΑΤΙΙΙ ερευνηθήκε από τους Bienvenu και συν. Μελέτησαν ασθενείς με μεταμόσχευση μυελού για αιματολογική κακοήθεια. Η μεταμόσχευση μυελού σχετίζεται με έλλειψη Β12 και φυλλικού και ποικίλλου βαθμού υπερΟΚ. Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ αυξημένων επιπέδων ΟΚ και μειωμένης δραστηριότητας ΑΤΙΙΙ⁴⁹. Περιγράφηκε μείωση του παράγοντα VII κατά 22-44% σε ασθενείς με ομόζυγο υπερΟΚ⁵⁰. Τα επίπεδα του FVII ομαλοποιήθηκαν με δίαιτα χαμηλή σε μεθειονίνη και θεραπεία με μεπαιτίνη. Με την διακοπή της θεραπείας οι ασθενείς επανεμφάνισαν την αυξημένη ΟΚ και τον μειωμένο FVII. Δεν βρέθηκαν μειωμένοι άλλοι βιταμινο-Κ εξαρτώμενοι παράγοντες. Οι ερευνητές υπέθεσαν είτε ότι ο FXII ο οποίος ενεργοποιείται από την ομοκυστίνη μπορεί να ενεργοποιήσει τον FVII είτε ότι η ΟΚ μπορεί να αυξήσει την ενδογενή πήξη προκαλώντας βλάβη στο αγγειακό ενδοθήλιο. Οι ίδιοι ανέπτυξαν την παράξενη υπόθεση ότι ασθενείς με κληρονομική έλλειψη FVII οι οποίοι εμφανίζουν παράδοξο θρόμβωση μπορεί να έχουν υπερΟΚ και ότι αυτή η μεταβολική διαταραχή μπορεί να ερμηνεύσει και την έλλειψη του FVII και τα θρομβωτικά επεισόδια στους ασθενείς αυτούς. Η υπόθεση αυτή πρέπει να ερευνηθεί. Χαμηλά επίπεδα FVII σε ασθενείς με υπερΟΚ επιβεβαιώθηκαν σε ιταλική μελέτη και τα οποία επανήλθαν στο φυσιολογικό μετά από θεραπεία με Β₆ και φυλλικό⁴⁸. Προτάθηκε ότι η υπερΟΚ έχει ως αποτέλεσμα την μειονεκτική σύνθεση ή ενεργοποίηση κάποιων πρωτεϊνών της πήξης ειδικά του FVII και της ΑΤΙΙΙ. Η επίδραση της ΟΚ σε άλλους παράγοντες οι οποίοι αφορούν το αγγειακό ενδοθήλιο θα αναφερθούν στο ειδικό κεφάλαιο

2. Ομοκυστεΐνη και αιμοπετάλια

Οι μελέτες για τη δράση της ΟΚ στην κινητική των αιμοπεταλίων είναι αντιφατικές. Μελέτες με σημασμένα με ⁵¹I αιμοπετάλια σε ομόζυγους ασθενείς και σε πίθηκο έδειξαν ότι τα αιμοπετάλια δεν επηρεάζονται όσον αφορά στον αριθμό τους⁴⁷. Εν τούτοις οι ασθενείς εμφάνισαν 50% μείωση στην επιβίωση και το turnover των αιμοπεταλίων ήταν

τριπλάσιο. Υπήρξε μία δοσοεξαρτώμενη μείωση στην επιβίωση των αιμοπεταλίων στον πίθηκο. Οι λειτουργικές δοκιμασίες των αιμοπεταλίων ήταν φυσιολογικές. Η κατανάλωση των αιμοπεταλίων διεκόπη ύστερα από θεραπεία με Β₆ ή με φαρμακευτική αναστολή της λειτουργίας τους. Στον πίθηκο η έγχυση ΟΚ είχε ως αποτέλεσμα την πρωτογενή ενδοθηλιακή κυτταρική βλάβη η οποία οφείλεται σε υπερβολική συγκέντρωση της ΟΚ με δευτεροπαθή κατανάλωση αιμοπεταλίων, αυξημένο turnover αιμοπεταλίων και θρόμβωση⁴⁷.

Άλλες μελέτες κινητικής των αιμοπεταλίων σε ασθενείς με υπερΟΚ με χρήση σημασμένων με ⁵¹Cr αιμοπεταλίων έδωσαν φυσιολογική επιβίωση αιμοπεταλίων. Μία μετέπειτα αξιολόγηση από τους ίδιους τους συγγραφείς επιβεβαίωσε την σχέση μεταξύ ΟΚ και βράχυνσης της επιβίωσης των αιμοπεταλίων. Οι διαφορές αυτές οφείλονται στις διαφορετικές μεθόδους. Μία τρίτη ομάδα ερευνητών οι οποίοι χρησιμοποίησαν σημασμένα με ¹¹¹I αιμοπετάλια βρήκαν φυσιολογική κινητική και κατανομή των αιμοπεταλίων στο ήπαρ και στον σπλήνα. Υπέθεσαν ότι το παθολογικό turnover των αιμοπεταλίων δεν μπορεί να είναι το κριτήριο της αιμοστατικής διαταραχής στην υπερΟΚ⁵¹. Οι δράσεις της ΟΚ και της ομοκυστίνης στον μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος των αιμοπεταλίων βρέθηκε ότι αυξάνουν τα επίπεδα της TXA₂ περίπου κατά 30-40% σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Εν τούτοις η συσσώρευση των αιμοπεταλίων ήταν φυσιολογική υποδηλώνοντας ότι δεν συμβαίνει σημαντική ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων in vivo.

3. Ομοκυστεΐνη και αγγειακό ενδοθήλιο

Την βάση για το θέμα αυτό απετέλεσε μία αναφορά που περιέγραφε την αποφολίδωση των ενδοθηλιακών κυττάρων σε πειραματόζωα με υπερΟΚ⁴⁷. Προτάθηκε ότι παρατεταμένη ενδοθηλιακή βλάβη μπορεί να οδηγήσει σε αθηρωμάτωση και θρόμβωση. Έγχυση ΟΚ είχε ως αποτέλεσμα μία δοσοεξαρτώμενη απώλεια ενδοθηλιακών κυττάρων από την αορτή και αύξηση του δείκτη σημασης με θυμιδίνη του αγγειακού ενδοθηλίου. Η βλάβη του αρτηριακού ιστού έδωσε πάχυνση της εσωτερικής στιβάδας, δημιουργία λιποκυττάρων και πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων και αποφολίδωση⁵².

Ο μηχανισμός της κυτταροτοξικότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων από την ΟΚ μελετήθηκε από τους Starkebaum & Harlan. Παρατήρησαν ότι η χαλκοεξαρτώμενη οξειδωση της ΟΚ είχε ως α-

ποτέλεσμα την κυτταρική λύση. Αυτή η δράση δεν παρατηρήθηκε όταν η ομοκυστίνη αντικαταστάθηκε από OK και η κυτταροτοξικότητα μπορούσε να προληφθεί με καταλάση. Προτάθηκε ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ ελευθέρων σουλφυδριλικών ομάδων της OK, χαλκού και οξυγόνου είχε ως αποτέλεσμα την δημιουργία H_2O_2 το οποίο μεσολαβεί για την ενδοθηλιακή βλάβη⁵³. Η πρώτη ιδιότητα του ενδοθηλιακού κυττάρου που διαταράσσεται από την OK και η οποία αφορά στην πήξη είναι η δραστηριότητα του FV. Ο παράγων αυτός εκφράζεται στα αρτηριακά ενδοθηλιακά κύτταρα. Η OK δεν αυξάνει τα επίπεδα του αντιγονικού FV των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά αυξάνει την δραστηριότητα του FV με ενεργοποίηση του ενδοθηλιακού κυτταρικού FV⁵⁴. Η δράση αυτή δεν παρατηρήθηκε με ομοκυστίνη, μεθειονίνη ή κυστίνη. Εν τούτοις η κυστεΐνη η οποία έχει μία ελεύθερη σουλφυδριλική ομάδα είχε περίπου 50% της δραστηριότητας της OK. Ο ενεργοποιητής αυτός δεν σχετίζεται με την θρομβίνη ή τον FXa και αποδόθηκε ενιαία στα πεπτίδια Va. Όπως αναμένονταν η επεξεργασία με OK των ενδοθηλιακών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα αύξηση του Xa ο οποίος καταλύει την ενεργοποίηση της προθρομβίνης. Διατυπώθηκε η υπόθεση ότι η έκφραση αυτού του κυτταρικού ενεργοποιητή μπορεί να είναι ένας μηχανισμός με τον οποίο το ενδοθήλιο εκτίθεται στην εκκίνηση της πήξης απουσία θρομβίνης από την OK.

Επειδή η δημιουργία ενεργοποιημένης PrC μπορεί να αναστείλει τον FVa, η τροποποίηση της οδού της PrC από την OK θα έπρεπε να αναμένεται ουσιαστικά να επηρεάζει την έκφραση της αγγειακής πηκτικής δραστηριότητας. Η ρύθμιση της PrC από την OK ερευνήθηκε από 3 ομάδες ερευνητών. Η μελέτη έδειξε ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αρτηριών και φλεβών υπό την επίδραση της OK εμφάνισαν μείωση της ενεργοποίησης της PrC. Όταν τα επίπεδα της OK ήταν 7,5 mM η μείωση έφθανε το 50% ενώ όταν ήταν 0,6-1,5 mM η μείωση ήταν 12-33%⁵⁵. Η δράση της OK στην ενεργοποίηση της PrC ήταν ταχεία με 50% μείωση της δραστηριότητας εντός 30'.

Μελέτες έδειξαν ότι η OK δρα ως ανταγωνιστικός ανασταλτής της θρομβίνης. Εν τούτοις η ανταγωνιστική αναστολή της αλληλεπίδρασης θρομβίνης-θρομβομοδουλίνης από την OK δεν επεξηγεί πλήρως τις δράσεις της OK στη μείωση της ενεργοποίησης της PrC. Υπάρχουν επιπρόσθετοι μηχανισμοί οι οποίοι ερμηνεύουν τις δράσεις της OK στην ενεργοποίηση της PrC. Η OK βρέθηκε

ότι αναστέλλει την ενεργοποίηση της PrC με άμεση μείωση των δισουλφιδικών δεσμών ενός επιδερμικού αυξητικού παράγοντα ο οποίος επηρεάζει την ποσότητα της θρομβομοδουλίνης όπως και του μορίου της PrC^{56,57}. Η OK προάγει την αύξηση της θρομβομοδουλίνης και των επιπέδων του mRNA. Εν τούτοις αυτή η επαγόμενη θρομβομοδουλίνη δεν εκφράζεται στην επιφάνεια και δεν γλυκοζυλιούται πλήρως. Η δράση της OK έχει ως αποτέλεσμα την ταχεία μείωση της ενεργοποίησης της PrC των ενδοθηλιακών κυττάρων με συνέπεια τη δραματική απώλεια της αντιπηκτικής ικανότητας του αγγείου και την στροφή προς σχηματισμό θρομβίνης και θρόμβωσης. Η OK έχουσα στο μόριό της σουλφυδριλικές ομάδες παρεμβαίνει και στη ρύθμιση της ινωδόλυσης μέσω της λιποπρωτεΐνης α (Lpa)⁵⁸. Η Lpa αποσχίζει ομολογίες με το ινωδολυτικό ζυμογόνο, το πλασμινογόνο και υπετέθη ότι με τον ανταγωνισμό μέσω του πλασμινογόνου στη σύνδεση με την ινική, η Lpa θα μπορούσε να ελαττώσει την ινωδόλυση και να προτρέψει στην θρόμβωση. Η OK δραστηριοποιεί την Lpa στην σύνδεση με την ινική σε συγκεντρώσεις >8 μM πολύ χαμηλότερες από εκείνες που απαιτούνται για να μεταβάλλει κάθε άλλη αιμοστατική δραστηριότητα. Προτάθηκε ότι οι μειωμένοι δισουλφιδικοί δεσμοί της Lpa από τα αυξημένα επίπεδα της OK είχε ως αποτέλεσμα την αυξημένη συγγένεια της Lpa με την ινική και μία θρομβωτική τάση⁵⁸.

Η δράση της OK στο αγγειακό ενδοθήλιο αφορά και στον παράγοντα von Willebrand (vWF). Ο σχηματισμός πολυμερών του παράγοντα και η διαδικασία δράσης των ολιγοσακχαριδών αναστέλλεται από την OK από την μορφή του προπεπτιδίου⁵⁹. Μεταβολή στο ενδοκυττάριο οξειδωτικό δυναμικό από τις ελεύθερες θεικές ομάδες της OK πιστεύεται ότι αποτελούν τον μηχανισμό δράσης στον vWF, με αποτέλεσμα να καθιστούν την έκκρισή του και την προαγωγή της θρόμβωσης αβέβαια. Απώλεια των πολυμερών μεγάλου MB του παράγοντα θα είχε ως αποτέλεσμα την καταστολή της προσκόλλησης αιμοπεταλίων στο κατεστραμμένο αγγειακό τοίχωμα και μείωση της θρομβωτικής διάθεσης.

Ένας άλλος ρόλος της OK στην έναρξη της πήξεως είναι αυτός που αφορά στη προαγωγή της δραστηριότητας του ενδοθηλιακού κυτταρικού ιστικού παράγοντα με τρόπο χρονο- και δόσοεξαρτώμενο⁶⁰. Πρόσφατες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι ο EDRF (Endothelium derived relaxing factor, παράγων χάλασης του αγγειακού ενδοθηλίου), το

γνωστό NO, προφυλάσσει το αγγειακό ενδοθήλιο από τις δυσμενείς δράσεις της OK. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα που έχουν επεξεργασθεί με OK απελευθερώνουν NO με αποτέλεσμα την παραγωγή ενός ανάλογου της OK, της S- νιτροζο-OK, αντίκα-νου να καταλύσει την παραγωγή H₂O₂. Προτάθηκε ότι η αγγειακή νόσος που προάγεται από την OK πρέπει να είναι αποτέλεσμα της προοδευτικής έκπτωσης του ενδοθηλίου να αδρανοποιεί την OK με το NO, οδηγώντας στην έκφραση των αθηρωματογόνων και θρομβογόνων ιδιοτήτων της.

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο η OK προκαλεί αγγειακή βλάβη δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος. Πιθανολογείται ότι η OK προκαλεί δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου και ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και σχηματισμό θρόμβου⁶¹. Το οξειδωτικό stress πιθανολογείται ως μηχανισμός βλάβης. Με την αυτοοξειδωση της OK παράγονται ελεύθερες ρίζες οξυγόνου οι οποίες ενοχοποιούνται για τον υποκείμενο μηχανισμό βλάβης σε πολλά επίπεδα^{62,63}. Άλλοι μηχανισμοί όπως η ενεργοποίηση παραγόντων της πήξης (FXII, FV), ενοχοποιούνται επίσης. Ένα προτεινόμενο μοντέλο λειτουργίας ξεκινά από την αυτοοξειδωση της OK με σχηματισμό ομοκυστίνης και θειολακτόνης της OK. Η τελευταία είναι ένα έντονα δραστικό άνυδρο προϊόν το οποίο συνδέεται με τις LDL και σχηματίζει συμπλέγματα τα οποία παραλαμβάνονται από τα μακροφάγα και σχηματίζουν τα αφρώδη κύτταρα (foam cells). Ξεκινά δηλαδή ο κλασικός μηχανισμός αθηρωμάτωσης ο οποίος συνεχίζει με την δυσλειτουργία του αγγειακού ενδοθηλίου, τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών, την οξείδωση των λιπιδίων και τον σχηματισμό της αθηρωματικής βλάβης.

Πότε γίνεται προσδιορισμός της ομοκυστίνης

Έχει προταθεί ότι ο προσδιορισμός της OK πρέπει να γίνεται στις εξής ομάδες ατόμων:

1. Σε άτομα τα οποία έχουν και άλλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (κάπνισμα, υπέρταση κ.ά.).
2. Σε ομοζυγώτες με θερμοασταθή μορφή του ενζύμου.
3. Σε ασθενείς με ιστορικό αγγειακής νόσου χωρίς άλλο παράγοντα κινδύνου παρά μόνο το θετικό κληρονομικό ιστορικό.
4. Σε ασθενείς με ιστορικό αυτομάτων αποβολών και παλίνδρομης κύησης.
5. Σε ασθενείς με μειωμένα επίπεδα βιταμινών B₆, B₁₂ και φυλλικού (μακροκυτταρικές αναι-

μίες, σύνδρομο δυσαπορρόφησης, γαστρεντερικές διαταραχές, μετά γαστρεκτομή, ανεπαρκής πρόσληψη, φάρμακα).

6. Σε ασθενείς με ΣΔ, νεφρική ανεπάρκεια, υποθυρεοειδισμό και ρευματοειδή αρθρίτιδα.

7. Σε ασθενείς με διάφορα υποκειμενικά συμπτώματα (σύνδρομο χρόνιας κόπωσης, νευρο-ψυχιατρικές διαταραχές).

8. Σε ασθενείς με άνοια και κατάθλιψη.

Διάγνωση της υπερομοκυστεϊναιμίας

Η υπερωΚ συμβάλλει στην παθογένεια της αθηρωμάτωσης με πολλούς μηχανισμούς. Το γεγονός ότι η αθηρωμάτωση και η αγγειακή νόσος έχουν μία πολυπαραγοντική αιτιολογία καθιστά τον έλεγχο της OK απαραίτητο.

Ο προσδιορισμός της OK είναι εύκολος, γρήγορος και φθηνός. Αν σκεφθούμε ότι και η θεραπεία είναι απλή και φθηνή, τότε η θεραπεία της υπερωΚ καθίσταται επιτακτική. Ο προσδιορισμός της OK γίνεται στον ορό ή το πλάσμα ενώ είναι απαραίτητη η σωστή επεξεργασία του δείγματος και η διατήρησή του. Τα κύτταρα του αίματος έχουν ταχύ μεταβολισμό μεθειονίνης και μπορούν να αυξήσουν τα επίπεδα της OK με έξοδο OK από τα ερυθρά όταν καθυστερήσει ο διαχωρισμός τους από τον ορό ή το πλάσμα. Το δείγμα πρέπει να λαμβάνεται σε συνθήκες νηστείας γιατί αλλιώς τα επίπεδα της OK είναι αυξημένα.

Φυσιολογικά επίπεδα OK θεωρούνται τα 5-15 μmol/l. Καταστάσεις όπως το κάπνισμα, η ηλικία, το φύλο και το επίπεδο των βιταμινών μεταβάλλουν τα επίπεδα της OK. Η προτεινόμενη ανώτερη τιμή για την OK της Αμερικανικής Καρδιολογικής Εταιρείας είναι τα 12 μmol/l πάνω από τα οποία απαιτείται θεραπεία.

Μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των επιπέδων της OK είναι χρωματογραφικές, φθορισμού, ηλεκτροχημικές, ανάλυσης αμινοξέων και μέθοδοι Elisa. Η μέθοδος την οποία χρησιμοποιούμε στο εργαστήριό μας είναι η ανοσοενζυμική FPIA (Fluorescence Polarisation Immuno Assay) της Abbott⁶⁴.

Θεραπεία της υπερομοκυστεϊναιμίας

Η θεραπεία της υπερωΚ έχει ως στόχο την μείωση των επιπέδων της OK του αίματος. Η όλη στρατηγική στηρίζεται στον μηχανισμό του μεταβολισμού της OK αξιοποιώντας θέσεις κλειδιά, εκεί όπου η παρουσία των βιταμινών που αναφέρο-

θηκαν και οι οποίες λειτουργούν ως συνένζυμα ή συμπαράγοντες και συμβάλλουν στη μείωση της ΟΚ. Η μείωση της ΟΚ σε ασθενείς με έλλειψη φυλλικού θα γίνει με λήψη φυλλικού από το στόμα⁶⁵. Σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια η θεραπεία με φυλλικό μείωσε τα επίπεδα της ΟΚ εντός δύο εβδομάδων με τα μεγαλύτερα αποτελέσματα εντός 4-6 εβδομάδων⁶⁶. Δεν έχει καθορισθεί η ελάχιστη δόση του φυλλικού. Δόσεις των 5-10mg από μόνες τους ή του 1mg σε συνδυασμό με B₁₂ είναι δραστικές. Ακόμη μικρότερη δόση των 0,65 mg μείωσε τα επίπεδα της ΟΚ κατά 42%. Μετά την διακοπή της θεραπείας τα επίπεδα της ΟΚ αυξάνονται. Η B₁₂ ως συμπαράγων στην επαναμεθυλίωση της ΟΚ και όχι ως υπόστρωμα θεωρητικά αναμένεται να μη μειώνει τα επίπεδα της ΟΚ, εκτός των περιπτώσεων που υπάρχουν μειωμένα επίπεδα B₁₂ ή αληθής έλλειψη B₁₂.

Τι συμβαίνει όμως με τους ασθενείς με αγγειακή νόσο; Μελέτες έδειξαν ότι η χορήγηση φυλλικού σε συνδυασμό με B₆ μείωσαν τα επίπεδα της ΟΚ κατά 53%⁶⁷. Η B₆ όταν χορηγήθηκε από μόνη της δεν είχε κανένα αποτέλεσμα παρά μόνο μετά από φόρτιση με μεθειονίνη. Πρόσφατη μελέτη με 2.5 και 10 mg φυλλικού έδειξε μείωση της ΟΚ σε ασθενείς μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου⁶⁸. Ο συνδυασμός χορήγησης ενδομυϊκά 1,1 mg φυλλικού, 1 mg B₁₂ και 5 mg B₆ μείωσε στο φυσιολογικό τα επίπεδα της ΟΚ στο 80% των ασθενών⁶⁹. Άλλες μελέτες δίνουν μικρότερα ποσοστά βελτίωσης των επιπέδων ΟΚ.

Μία στρατηγική για τη μείωση των επιπέδων της ΟΚ είναι να διευκολύνουμε τον καταβολισμό της ΟΚ σε κυστεΐνη μέσω της οδού της τρανσουλφορυλίωσης. Περίπου σε 50% των ασθενών η υπερΟΚ οφείλεται στην ομόζυγο έλλειψη CBS και θα ανταποκριθεί σε θεραπεία με B₆. Οι ασθενείς που απαντούν έχουν πιθανώς μία μετάλλαξη.

Μία άλλη στρατηγική για την μείωση της ΟΚ είναι να προωθηθεί η επαναμεθυλίωση της ΟΚ σε μεθειονίνη. Η θεραπεία με B₁₂, φυλλικό και μεπαιΐνη αποδείχθηκε χρήσιμη. Ασθενείς με υπερΟΚ ομαλοποιούν τα επίπεδα της ΟΚ λίγες ημέρες μετά την θεραπεία. Σε ασθενείς με υπερΟΚ που σχετίζεται με ΧΝΑ η θεραπεία με φυλλικό οξύ μειώνει την ΟΚ παρά το γεγονός ότι τα επίπεδα φυλλικού του ορού και των ερυθρών ήταν φυσιολογικά. Προτείνεται ότι μία δόση φυλλικού 20 mg ημερησίως μειώνει τα επίπεδα της ΟΚ κατά 4 μmol/l, μία μείωση που έχει επίδραση στη θνησιμότητα από καρδιαγγειακές επιπλοκές. Οι ασθενείς οι

οποίοι δεν απαντούν στην θεραπεία δυνατόν να απαντήσουν στη χορήγηση πενικιλλαμίνης η οποία μειώνει τα επίπεδα της ΟΚ σχηματίζοντας μίγμα δισουλφιδίων με ελεύθερες θειόλες και έτσι αυξάνει την απέκκρισή της από τους νεφρούς.

Το ενδιαφέρον λοιπόν ανάμεσα στον ΣΔ και την ΟΚ προέρχεται από το γεγονός ότι και στις δύο περιπτώσεις υπάρχει ως επιπλοκή η νόσος των αγγείων. Ο συνδυασμός τους αναμένεται να είναι πολύ επιβλαβής για τον ασθενή με ΣΔ όσον αφορά στην καρδιαγγειακή νόσο και παράλληλα μπορεί να δίνει απαντήσεις στα ερωτήματα που μέχρι τώρα έμεναν αναπάντητα, σε σχέση με την διευκρίνιση της παθογένειας της καρδιαγγειακής νόσου στους διαβητικούς ασθενείς.

Οι μελέτες που αφορούν στην ΟΚ σε διαβητικούς ασθενείς είναι σχετικά λίγες. Αυτό καθιστά δύσκολη την ερμηνεία γεγονότων μέσω των οποίων η υπερΟΚ συμβάλλει στη παθογένεια της μακροαγγειοπάθειας στους διαβητικούς ασθενείς. Φαίνεται όμως ότι και η υπερΟΚ και ο ΣΔ αυτός ο ίδιος ακολουθούν και συμμετέχουν σε κοινούς δρόμους με κοινή κατάληξη την μακροαγγειοπάθεια.

Οι περισσότερες μελέτες αφορούν στον ΣΔ τύπου 2. Είναι πλέον παραδεκτό ότι η αντίσταση στην ινσουλίνη αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην παθογένεια της μακροαγγειοπάθειας⁷⁰, όπως και το γεγονός ότι η υπερΟΚ αποτελεί παράγοντα κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 2¹³. Βρέθηκε λοιπόν ότι η ινσουλίνη συνεισφέρει ανεξάρτητα και σημαντικά στα επίπεδα της ΟΚ του πλάσματος⁷¹.

Αρχικά υπήρξαν αντιφατικά δεδομένα ως προς την σημασία της ινσουλίνης στον μεταβολισμό της ΟΚ η οποία πιθανώς σχετιζόταν με το επίπεδο της νεφρικής λειτουργίας. Βρέθηκε ότι σε ασθενείς με ΣΔ τύπου 1 οι οποίοι είχαν φυσιολογικά επίπεδα κρεατινίνης είχαν μειωμένα επίπεδα ΟΚ⁷², σε αντίθεση με τα αυξημένα επίπεδα ΟΚ σε διαβητικούς με νεφροπάθεια⁷³. Από την άλλη η υπερινσουλιναιμία μειώνει τα επίπεδα της ΟΚ σε μη διαβητικούς ενώ δεν φαίνεται να έχει δράση στα επίπεδα της ΟΚ σε διαβητικούς τύπου 2⁷⁴. Επίσης η αντίσταση στην ινσουλίνη απεδείχθη να σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ΟΚ σε μη παχύσαρκα υγιή άτομα⁷⁵. Σε συμφωνία με την υπόθεση ότι η υπερινσουλιναιμία συμβάλλει στην αύξηση της ΟΚ οι Jacobs και συν⁷⁶ απέδειξαν μία αυξημένη δραστηριότητα των ενζύμων της τρανσουλφορυλίωσης και ακολούθως μείωση των επιπέδων της ΟΚ σε διαβητικά ποντίκια με στρεπτοζοτοκίνη.

Στην ίδια μελέτη υποδηλώνεται ότι οι γόνιμοι για τα ένζυμα της τρανσουλφορυλίωσης θα μπορούσαν να ρυθμίζονται από τα επίπεδα της ινσουλίνης και/ή τις αντιρροπιστικές ορμόνες. Από την άλλη η σχέση θα μπορούσε να ήταν έμμεση επειδή τα επίπεδα της ινσουλίνης αντανακλούν δείκτες παχυσαρκίας όπως ο ΒΜΙ και η μάζα λίπους οι οποίοι εμφανίζουν σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα της ΟΚ.

Επειδή τα επίπεδα της ΟΚ δεν σχετίζονται με διαφορές στην μέσω ινσουλίνης διάθεση της γλυκόζης σε υγιή άτομα, θα πρέπει να ανακαλυφθούν βιολογικοί μηχανισμοί οι οποίοι θα μπορούσαν να ερμηνεύσουν την σχέση της ινσουλίνης και ΟΚ⁷⁷.

Έχει αναφερθεί η σχέση της ΟΚ με το οξειδωτικό stress. Κύρια χαρακτηριστικά του ΣΔ είναι η υπεργλυκαιμία και η υπερινσουλιναιμία, τα οποία αποτελούν ταυτόχρονα και τις κύριες αιτίες παραγωγής ελεύθερων ριζών. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα υψηλά επίπεδα γλυκόζης είναι ο πιο ενδιαφέρων παράγοντας για την ανάπτυξη και εξέλιξη της διαβητικής μικρο- και μακροαγγειοπάθειας⁷⁸ και παράλληλα ευρέως γνωστή αιτία αύξησης ελευθέρων ριζών στο πλάσμα⁷⁹. Υπάρχουν πολλοί τρόποι με τους οποίους η υπεργλυκαιμία αυξάνει την παραγωγή ελευθέρων ριζών με κυριότερο αυτόν της αυτοοξειδωσίας της γλυκόζης και οι οποίοι περιγράφονται αλλού. Η υπερινσουλιναιμία είναι γνωστό ότι προάγει την παραγωγή των ελευθέρων ριζών με τους εξής μηχανισμούς: 1) από μία υπερδραστικότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος⁸⁰, 2) από την αύξηση των ελευθέρων λιπαρών οξέων⁸¹. Ιδιαίτερα αναφέρεται ο ρόλος του NO. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν NO αυξάνοντας την παραγωγή του c-GMP. Οι ελεύθερες ρίζες αδρανοποιούν το NO με συνέπεια αγγειοσύσπαση και μείωση της δράσης της ινσουλίνης. Δημιουργείται δηλαδή ένας φαύλος κύκλος για τα επίπεδα της ινσουλίνης της παραγωγής ελευθέρων ριζών και την μείωση του NO. Από την άλλη η c-GMP αποτελεί τον δεύτερο αγγειοφόρο την ινσουλίνης και έτσι η μείωσή του λόγω μειωμένων επιπέδων NO προκαλεί αύξηση της ινσουλिनoαντίστασης.

Ο ρόλος του μεταβολισμού της ΟΚ από τους νεφρούς σε μοριακό και κυτταρικό επίπεδο παραμένει σε πολύ μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστος. Σύμφωνα με όσα γνωρίζουμε για τον μεταβολισμό της ΟΚ αυτός περιλαμβάνει δύο μεταβολικούς δρόμους. 1) της επαναμεθυλίωσης σε μεθειονίνη και 2) της τρανσουλφορυλίωσης σε κυσταθειονίνη

και κυστεΐνη. Τα επίπεδα της ΟΚ νηστείας αντιπροσωπεύουν κυρίως την οδό της επαναμεθυλίωσης⁸². Υπάρχουν δύο τρόποι επαναμεθυλίωσης. Από αυτούς ο πρώτος χρησιμοποιεί ως δότη μεθυλικών ομάδων το μεθυλοτετραϋδροφολικό το οποίο σχηματίζεται από την δράση της μεθυλενοτετραϋδροφολικής ρεδουκτάσης. Η Β₁₂ μεταφέρει την μεθυλική ομάδα στην ΟΚ για να σχηματίσει μεθειονίνη σε μία αντίδραση που καταλύεται από το ένζυμο συνθάση της μεθειονίνης. Μία επιπρόσθετη αντίδραση επαναμεθυλίωσης χρησιμοποιεί την μεταΐνη ως δότη μεθυλικών ομάδων σε μία διαδικασία οποία καταλύεται από το ένζυμο μεθυλοτρανσφεράση της μεταΐνης-ΟΚ. Και οι δύο διαδικασίες επαναμεθυλίωσης φαίνεται να είναι ισοδύναμες όσον αφορά στην μετατροπή της ΟΚ σε μεθειονίνη. Ενώ τα ένζυμα συνθάση και ρεδουκτάση του μεθυλενοτετραϋδροφολικού είναι ευρέως διαθέσιμα στους διάφορους ιστούς, η μεθυλοτρανσφεράση της μεταΐνης-ΟΚ περιορίζεται στον άνθρωπο μόνο στο ήπαρ και στους νεφρούς⁸³⁻⁸⁵. Ως εκ τούτου είτε η μία είτε η άλλη ή και οι δύο αντιδράσεις επαναμεθυλίωσης δυνατόν να διαταραχθούν σε ασθενείς με ΣΔ και νεφροπάθεια. Μία εξήγηση είναι ότι η νεφρική βλάβη επηρεάζει την σύνθεση αυτών των ενζύμων. Η συσχέτιση των επιπέδων της ΟΚ με την απέκκριση της λευκωματινής από τα ούρα υποδηλώνει ότι η κυτταρικού τύπου διαταραχή η οποία προκαλεί υπερΟΚ εδράζεται στο νεφρικό σωληνάριο. Σήμερα υπάρχει σχετικά λίγη πληροφόρηση για την έκφραση του mRNA της ρεδουκτάσης του μεθυλενοτετραϋδροφολικού και της μεθυλοτρανσφεράσης της μεταΐνης-ΟΚ σε διαφορετικούς ιστούς και τύπους κυττάρων γιατί μόλις τελευταία βρέθηκε η αλληλουχία του και κλωνοποιήθηκε. Μία δεύτερη ερμηνεία είναι η πιθανότητα, η νεφροπάθεια να επηρεάζει την ικανότητα των υποστρωμάτων των δοτών μεθυλιών, όπως του φυλλικού, της μεταΐνης ή της Β₁₂ η οποία είναι συμπαράγον της συνθάσης της μεθειονίνης. Ως εκ τούτου η μείωση στην ικανότητα της διαθεσιμότητας της μεταΐνης στους νεφρούς ασθενών με ΣΔ και νεφροπάθεια παραμένει μία πιθανότητα, ειδικά αφού η μεταΐνη του πλάσματος έχει δείχθει ότι σχετίζεται αρνητικά με την μικρολευκωματινουρία σε διαβητικούς ασθενείς⁸⁶.

Ένα ενδιαφέρον πεδίο έρευνας και συζήτησης αποτελεί ο ΣΔ με ήδη εγκατεστημένη επιπλοκή (μικρο- και/ή μακροαγγειοπάθεια). Το ενδιαφέρον προκαλείται από το γεγονός ότι ήδη επί εγκατεστημένης επιπλοκής συνυπάρχει και άλλη αι-

τία όπως αυτή της υπερΟΚ η οποία επιβαρύνει ακόμη περισσότερο ή και επιταχύνει την προϋπάρχουσα βλάβη.

Για τους διαβητικούς τύπου 1 οι μελέτες είναι λιγότερες φαίνεται δε να επιβεβαιώνεται όλο και περισσότερο ότι τόσο η μακροαγγειοπάθεια όσο και η μικροαγγειοπάθεια (αμφιβληστροειδοπάθεια, νεφροπάθεια, νευροπάθεια) παρατηρούνται συχνότερα σε ασθενείς με αυξημένα επίπεδα ΟΚ.

Οι μελέτες οι οποίες έχουν γίνει σε ομάδες διαβητικών πρέπει να σχολιαστούν με προσοχή για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων αφού πάντα τα συμπεράσματα δεν είναι ξεκάθαρα και μερικές φορές είναι αντιφατικά ή αφορούν επιμέρους εκδηλώσεις οι οποίες οπωσδήποτε δεν μπορούν να γενικευθούν. Παρά τα αντιφατικά αποτελέσματα φαίνεται ότι στον ΣΔ τύπου 2 ακόμη και ήπια διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων της ΟΚ⁸⁷. Ενώ αρχικές μελέτες έδειξαν πολύ μικρή συσχέτιση των επιπέδων ΟΚ σε διαβητικούς τύπου 1 και 2, πιο πρόσφατες μελέτες που έγιναν σε διαβητικούς τύπου 1 έδειξαν έντονη συσχέτιση μεταξύ επιπέδων ΟΚ και επιπέδων κρεατινίνης και επιπέδων έκκρισης λευκωματίνης από τους νεφρούς⁸⁸. Άλλη μελέτη έδειξε επιπλέον συσχέτιση των επιπέδων ΟΚ και με την διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια⁸⁹. Υπάρχουν όμως και μελέτες σε διαβητικούς τύπου 1 με αντίθετα συμπεράσματα^{90,91}. Πρόσφατη μελέτη έδειξε έντονη συσχέτιση των επιπέδων της ΟΚ με τα επίπεδα της μικρολευκωματινουρίας⁹². Φαίνεται λοιπόν ότι για τον ΣΔ τύπου 1 τα ευρήματα από την διεθνή βιβλιογραφία είναι αντιφατικά. Ακόμη και για τον ΣΔ τύπου 2 υπάρχουν αναφορές που έδειξαν υψηλότερα επίπεδα ΟΚ σε ασθενείς με μακροαγγειοπάθεια, ενώ δεν υπήρχε καμία συσχέτιση μεταξύ ΟΚ και αμφιβληστροειδοπάθειας ή νεφροπάθειας⁹³. Αντίθετα πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι σε διαβητικούς τύπου 2 συσχέτιση των επιπέδων της ΟΚ με την μικρολευκωματινουρία^{13,94}. Μία τελευταία μελέτη⁹⁵ έδειξε ότι: 1) η ΟΚ εμφανίζει έντονη συσχέτιση με την ΑΕΡ (albumin excretion rate), την Scr (serum creatinine) και την Ccr (clearance creatinine) σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2. 2) Τα επίπεδα της ΟΚ δεν επηρεάζονται από τα επίπεδα της λευκωματινουρίας όταν η νεφρική λειτουργία είναι φυσιολογική ($Ccr \geq 80 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$). 3) ασθενείς με $Ccr < 80 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$ έχουν υψηλότερα επίπεδα ολικής ΟΚ από εκείνους με φυσιολογική Ccr και αυτό είναι ιδιαίτερα αληθινό στους ασθενείς με μικρολευκωματινουρία. 4) σε

αναλύσεις με πολλές μεταβλητές η Ccr αλλά όχι η ΑΕΡ ούτε και η παρουσία λευκωματινουρίας είναι ανεξάρτητος προγνωστικός παράγων της ΟΚ. Πιθανές ερμηνείες για τα διαφορετικά αποτελέσματα στα επίπεδα της ΟΚ και την συσχέτισή τους με τα ευρήματα μικροαγγειοπάθειας μπορεί να είναι 1) το μικρό δείγμα ασθενών, 2) η διαφορετική εθνικότητα των ασθενών και 3) το επίπεδο της ΟΚ πάνω από το οποίο αυξάνεται η μικρολευκωματινουρία και 4) οι διαφορετικές μέθοδοι⁹⁶.

Τα πρακτικά συμπεράσματα τα οποία μπορούν να βγουν και τα οποία αφορούν στην ΟΚ είναι ότι σε ασθενείς οι οποίοι εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα ΟΚ και αγγειακές επιπλοκές ακόμη και σε πρώιμο στάδιο (π.χ. αρχικό στάδιο νεφροπάθειας) θα πρέπει να χορηγούνται βιταμίνες (B_{12} , φυλλικό, B_6) στα ανώτερα επίπεδα χορήγησης. Όπως επίσης και ότι πρέπει να γίνεται έλεγχος για υπερΟΚ σε τέτοιους ασθενείς. Φαίνεται ότι η θεραπεία της υπερΟΚ είναι απλή, εύκολη και φθηνή με μία από τις παραπάνω βιταμίνες ή σε συνδυασμό με πολύ καλά αποτελέσματα στους διαβητικούς όπως και στον γενικό πληθυσμό⁸⁷.

Πρέπει όμως να τονισθεί η ανάγκη για προοπτικές μελέτες για να διαπιστωθεί αν οι θεραπευτικές παρεμβάσεις οι οποίες βοηθούν στην μείωση των επιπέδων της ΟΚ μπορούν να μειώσουν την καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνητότητα.

Σκέψεις για το μέλλον

Ένας μεγάλος αριθμός cross-sectional μελετών δείχνουν ότι η υπερΟΚ είναι ένας ανεξάρτητος παράγων κινδύνου. Μένει όμως να διευκρινισθούν ορισμένες πτυχές του θέματος. Γιατί αν ο σχετικός κίνδυνος αγγειακής νόσου είναι αυξημένος, οι αλληλοεξαρτώμενες σχέσεις με άλλους παράγοντες κινδύνου παραμένουν ακόμη αδιευκρινιστες χωρίς να αποκλείεται η συνέργεια με αυτούς⁹⁸. Όπως επίσης πρέπει να διευκρινισθεί επαρκώς ο ρόλος της υπερΟΚ στις γυναίκες το ίδιο με τους άνδρες καθώς και μεταξύ των διαφόρων εθνοτήτων. Ένα ανοιχτό θέμα παραμένει ο μηχανισμός της αγγειακής νόσου σε ασθενείς με μεταμόσχευση οργάνων και υψηλών επιπέδων ΟΚ που εμφανίζουν οι ασθενείς αυτοί παρόλο που φαίνεται να ευθύνονται τα χαμηλά επίπεδα φυλλικού και B_{12} .

Η θέση του κλινικού γιατρού

Ο κλινικός γιατρός πρέπει να ξεκαθαρίσει μέσα του μερικές βασικές αρχές που αφορούν στην άποψη ότι τα αυξημένα επίπεδα ΟΚ αποτε-

λούν παράγοντα κινδύνου για αγγειακή νόσο και τι σημαίνει αυτό στην πράξη.

Πρέπει να υπάρξει κοινή συμφωνία οδηγιών παρά τις επιμέρους συμφωνίες που υπάρχουν (π.χ. της Αμερικανικής Καρδιολογικής Εταιρείας) για θέματα όπως ποιοι ασθενείς θα ελέγχονται (θα ελέγχονται οι ασθενείς με αγγειακή νόσο;), με ποια μέθοδο θα ελέγχονται, ποια επίπεδα ΟΚ είναι επικίνδυνα για αγγειακή νόσο. Για τους λόγους αυτούς απαιτούνται καλά σχεδιασμένες προοπτικές μελέτες πρωτογενούς και δευτερογενούς πρόληψης επειδή το θέμα των υψηλών συγκεντρώσεων ΟΚ παρουσιάζει έτσι ή αλλιώς έντονο ενδιαφέρον.

Summary

Skaragkas G. Homocysteine and diabetes mellitus.
Hellen Diabetol Chron 2002; 2: 111 - 125.

Hyperhomocysteinemia is a recently recognized factor for cardiovascular disease. Although the mechanisms by which homocysteine promotes atherothrombosis are not entirely clear the epidemiological evidence for the association of hyperhomocysteinemia with atherothrombotic disease is strong. The interaction between hyperhomocysteinemia and especially diabetes type 2 with regard to cardiovascular risk may be clinically important as it implies that homocysteine lowering treatment may be effective in diabetes mellitus.

Βιβλιογραφία

1. Tunstall-Pedoe H, Woodward M, Tavendale R, et al. Comparison of the prediction by 27 different factors of coronary heart disease and death in men and women of the Scottish heart health study: cohort study. *BMJ* 1997; 315: 722-9.
2. Eastman RC, Keen H. The impact of cardiovascular disease on people with diabetes: the potential for prevention. *Lancet* 1997; 350: 29-32[suppl 1].
3. Balkau B, Pyorala M, Shipley M, et al. Non-cardiovascular disease mortality and diabetes mellitus. *Lancet* 1997; 350: 1680[letter].
4. Stengard JH, Tuomilehto J, Pekkanen J, et al. Diabetes mellitus, impaired glucose tolerance and mortality among elderly men: the Finnish cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetologia* 1992; 35: 760-5.
5. Ueland PM, Refsum H, Brattstrom L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. In: Francis RBB Jr, ed. *Atherosclerotic Cardiovascular Disease, Hemostasis and Endothelial Function*. New York, NY: Marcel Dekker Inc; 1992; 2: 183-236.
6. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS et al. A quantitative assesment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995; 274: 1049-57.
7. Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and

coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 517-27.

8. Stehouwer CDA, Gall M-A, Hougaard P, et al. Plasma homocysteine concentration predicts mortality in non-insulin-dependent diabetic patients with and without albuminuria. *Kidney Int* 1999; 55: 308-14.
9. Welch GN, Loscalzo J. Mechanisms of disease: homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-50.
10. Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, et al. Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 587-93.
11. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile: the Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274: 1526-33.
12. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, et al. Vitamin status and intake at primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-8.
13. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ et al. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus: a population-based study. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 133-8.
14. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 1998; 316: 894-8.
15. Gerritsen T, Vaughn JG, Weisman HA. The identification of homocysteine in the urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1962; 9: 493-6.
16. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-28.
17. Cristensen B, Refsum H, Vintermyr O et al. Homocysteine export from cells cultured in the presence of physiological or superfluous levels of methionine: methionine loading of non-transformed, transformed, proliferating and quiescent cells in culture. *J Cell Physiol* 1991; 146: 52-62.
18. Refsum H, Christensen B, Djurhuus R, et al. Interaction between methotrexate, «rescue» agents and cell proliferation as modulators of homocysteine export from cells in culture. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 258: 559-66.
19. Malinow MR, Axthelm MK, Meredith MJ, et al. Synthesis and trasulfuration of homocysteine in blood. *J Lab Clin Med* 1994; 123: 421-9.
20. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: *The metabolic basis of inherited Disease*. 6th ed CR Scriver, AL Beaudet, WS Sly and D Valle(eds). McGraw-Hill, New York 1969: 693-734.
21. Kang SS, Wong PWK, Bock HG, et al. Intermediate hyperhomocysteinemia resulting from compound heterozygosity of methylenetetrahydrofolate reductase mutations. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 546-51.
22. Skovby F. Inborn errors of metabolism causing homocysteinemia and related vascular involvement. *Haemostasis* 1989; 19: 4-9[suppl].
23. Kang SS, Zhou J, Wong PWK, et al. Intermediate homo-

- cysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 414-21.
24. Kang SS, Wong PWK, Susmano A, et al. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 536-45.
 25. Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, et al. Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 1988; 81: 466-74.
 26. Kang S, Wong P, Norousis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987; 36: 458-62.
 27. Selhun J, Jacques P, Wilson, P et al. Vitamins status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-8.
 28. Guba S, Fonseca V, Fink, L. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 1999; 225: 291-304.
 29. Anderson A, Brattstrom L, Israelsson B, et al. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender and menopausal status. *Eur J Invest* 1992; 22: 79-87.
 30. Refsum H, Wesenberg F, Ueland PM. Plasma homocysteine in children with acute lymphoblastic leukemic changes during a chemotherapeutic regimen including methotrexate. *Cancer Res* 1991; 51: 828-35.
 31. 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.
 32. Ueland PM, Refsum H, Brattstrom L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease In: Francis RB Jr, editor. *Atherosclerotic Cardiovascular Disease, Hemostasis and Endothelial Function*. New York: Marcel Dekker 1992: 183-236.
 33. Taylor LM Jr, Fefrang RD, Harris, et al. The association of elevated plasma homocysteine with progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1991; 13: 128-36.
 34. Blankenhorn DH, Malinow R, Mack WJ. Colestipol plus niacin therapy elevates plasma homocysteine levels. *Coron Art Dis* 1991; 2: 357-60.
 35. Wong PWK, Kang SS. Accelerated atherosclerosis. *Am J Med* 1988; 84: 1093-4.
 36. Nilsson et al. Hyperhomocysteinemia: a common finding in a psychogeriatric population. *Eur J Invest* 1996; 26: 853-9.
 37. Joosten et al. Is metabolic evidence for vitamin B12 and folate deficiency more frequent in elderly patients with Alzheimer's disease? *J Gerontol* 1997; 52: 76-9.
 38. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996; 2: 386-9.
 39. Vemaak W, Ubbink J, Barnard, et al. Vitamin B6 nutrition status and cigarette smoking. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 1058-61.
 40. Stabler S, Marcell P, Podell E, et al. Serum homocysteine(Hcy) is a sensitive indicator of cobalamin and folate deficiency. *Blood* 1985; 66: 50a(suppl).
 41. Gupta VJ, Wilcken DEL. The detection of cysteine-homocysteine mixed disulfide in plasma of normal fasting man. *Eur J Clin Invest* 1978; 8: 205-7.
 42. Refsum H, Helland S, Ueland PM. Radioenzymic determination of homocysteine in plasma and urine. *Clin Chem* 1985; 31: 624-8.
 43. Gibson JB, Carson NAI, Nell DW. Pathological findings in homocystinuria. *J Clin Pathol* 1964; 17: 427-37.
 44. Boushey C, Beresford S, Omenn G, et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-57.
 45. Genest JJ Jr, McNamara JR, Salem DN, et al. Plasma homocyst(e)in levels in men with premature coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1990; 16: 1114-9.
 46. Ratnoff OD. Activation of Hageman factor by L-homocystine. *Science* 1968; 162: 1007-9.
 47. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, et al. Homocysteinemia: vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974; 291: 537-43.
 48. Palareti G, Salardi S, Piazzi S, et al. Blood coagulation changes in homocystinuria: Effects of pyridoxine and other specific therapy. *J Pediatr* 1986; 109: 1001-6.
 49. Bienvenu T, Chadeaux B, Ankri A, et al. Antithrombin III activity is not related to plasma homocysteine concentrations. *Hemostasis* 1991; 21: 65-7.
 50. Munnich A, Saudubray JM, Dautzenberg MD, et al. Diet-responsive proconvertin(factor VII) deficiency in homocystinuria. *J Pediatr* 1983; 102: 730-4.
 51. Hill-Zobel RL, Pyeritz RE, Scheffel U, et al. Kinetics and distribution of ¹¹¹Indium-labeled platelets in patients with homocystinuria. *N Engl J Med* 1982; 307: 781-6.
 52. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, et al. Homocystine-induced arteriosclerosis: The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58: 731-41.
 53. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 1986; 77: 1370-6.
 54. Rodgers GM, Kane WH. Activation of endogenous factor V by homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 1986; 77: 1909-16.
 55. Rodgers GM, Conn MT. Homocysteine an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. *Blood* 1990; 75: 7001-5.
 56. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991; 88: 1906-14.
 57. Hayashi T, Honda G, Suzuki K. An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin and enhances thrombomodulin expression in human umbilical vein endothelial cell. *Blood* 1992; 79: 2930-6.
 58. Harpel PC, Chang VT, Borth W. Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of lipoprotein a to fibrin: A potential biochemical link between throm-

- bosis, atherogenesis and sulfhydryl compound metabolism. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 10193-7.
59. *Lentz SR, Sadler JE.* Homocysteine inhibits vonWillebrand factor processing and secretion by preventing transport from the endoplasmic reticulum. Blood 1993; 81: 683-9.
 60. *Rodgers GM, Fryer RH, Wilson BD et al.* Homocysteine a risk factor for vascular disease and thrombosis induces tissue factor activity in endothelial cells. Clin Res 1993; 41: 19A.
 61. *James TN.* The spectrum of disease of small coronary arteries and their physiologic consequences. J Am Coll Cardiol 1990; 15: 763-74.
 62. *Misra H.* Generation of superoxide free radical during the autooxidation of thiols. J Biol Chem 1974; 249: 2151-5.
 63. *Rowly D, Halliwell B.* Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of thiol compounds. FEBS Lett 1982; 138: 33-6.
 64. *Sundrehagen E.* Axis Biochemicals ASA. Enzymatic Assay for homocysteine and a hit therefor EP 6223174/US 56311127.
 65. *Stabler SP, Maerzell PD, Podell ER et al.* Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. J Clin Invest 1988; 81: 466-74.
 66. *Wilcken DEL, Gupta VJ, Bets AK.* Homocysteine in the plasma of renal transplant recipients: Effects of cofactors for methionine metabolism. Clin Sci 1981; 61: 743-9.
 67. *Brattstrom L, Israelsson B, Norving B, et al.* Impaired homocysteine metabolism in earlyonset cerebral and peripheral occlusive arterial disease: effects of pyridoxine and folic acid treatment. Atherosclerosis 1990; 81: 466-74.
 68. *Graham IM.* Homocysteinemia and vascular disease in: Vuylstreek K, Hallen M editors. Epidemiology. Luxembourg: Commission of the European Community, los Press 1994: 332-53.
 69. *Naurath HJ, Joosten E, Reizler R, et al.* Effects of vitamin B12, folate and vitamin B6 supplements in elderly people with normal serum vitamin concentrations. Lancet 1995; 346: 85-9.
 70. *Reaven GM.* Banting lecture 1988: role of insulin resistance in human disease. Diabetes 1988; 37: 1595-1607.
 71. *Emoto M, Kanda H, Shoji T, et al.* Diabetes Care 2001; 24: 533-8.
 72. *Robillon JF, Canjvet B, Candito M, et al.* Type 1 diabetes mellitus and homocyst(e)ine. Diabetes Metab 1994; 20: 494-6.
 73. *Hofmann MA, Kohl B, Zumbach MS et al.* Hyperhomocyst(e)inemia and endothelial dysfunction in IDDM. Diabetes Care 1998; 21: 8411-9.
 74. *Fonseca VA, Mudaliar S, Schmidt B, et al.* Plasma homocysteine concentrations are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. Metabolism 1998; 47: 686-9.
 75. *Giltay EJ, Hoogeven EK, Elbers JM, et al.* Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy nonobese subjects. Atherosclerosis 1998; 139: 197-8.
 76. *Jacobs RL, House JD, Brosnan ME, et al.* Effects of streptozotocin-induced diabetes and of insulin treatment on homocysteine metabolism in rat. Diabetes 1998; 47: 1967-70.
 77. *Abbasi F, Facchini E, Humphreys MH, et al.* Plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers are not related to differences in insulinmediated glucose disposal. Atherosclerosis 1999; 146: 175-8.
 78. *Turner RC, Millns H, Neil HAW et al.* Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus :United Kingdom Prospective Diabetes Study Br Med J 1998; 316: 823-8.
 79. *Hunt JV, Dean RT, Wolf SP.* Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation. Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. Biochem J 1988; 256: 205-12..
 80. *Rowe JW, Young JB, Minaker KL, et al.* Effect of insulin and glucose infusion on sympathetic nervous system activity in normal men. Diabetes 1981; 30: 219-25.
 81. *Randle PJ, Priestman DA, Mistry S, Halsall A.* Mechanisms modifying glucose oxidation in diabetes mellitus. Diabetologia 1994; 37[Suppl 2]: S155-S161.
 82. *Miller JW, Nadeau MR, Smit D, et al.* Vitamin B6 deficiency vs folate deficiency: comparison of responses to methionine loading in rats. Am J Clin Nutr 1994; 59: 1033-9.
 83. *Goyete P, Summer JS, Milos R et al.* Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, Mapping and mutation identification. Nature Genet 1994; 7: 195-200.
 84. *Chen LH, Liu ML, Hwang HY, et al.* Human methionine synthase. CDNA cloning, gene localization and expression. J Biol Chem 1997; 272: 3268-634.
 85. *Garrow TA.* Purification kinetics properties and cDNA cloning of mammalian betainehomocysteine methyltransferase. J Biol Chem 1996; 271: 22831-8.
 86. *Lever M, Sizeland PCB, Bason LM, et al.* Abnormal glycine betaine content of the blood and urine of diabetic and renal patients. Clin Chim Acta 1994; 230: 69-79.
 87. *Smulders Y, Rakic M, Slaats E, et al.* Fasting and post-methionine homocysteine levels in NIDDM. Diabetes Care 1999; 22: 125-32.
 88. *Hultberg B, Agardh E, Andersson A, et al.* Increased levels of plasma homocysteine are associated with nephropathy but not severe retinopathy in type 1 diabetes mellitus. Scand J Clin Lab Invest 1991; 51: 277-82.
 89. *Vaccro O, Ingrosso D, Rivellesse A, et al.* Moderate hyperhomocysteinaemia and retinopathy in insulin dependent diabetes. Lancet 1997; 349: 1102-3.
 90. *Agardh CD, Agardh E, Andersson A.* Lack of association between plasma homocysteine levels and microangiopathy in type 1 diabetes mellitus. Scand J Clin Lab Invest 1994; 54: 637-41.
 91. *Hultberg B, Agardh CD, Agardh E, et al.* Poor metabolic

control, early age at onset and marginal folate deficiency are associated with increasing levels of plasma homocysteine in insulin-dependent diabetes mellitus: a five-year follow-up study. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57: 595-600.

92. *Chico A, Perez A, Contoba A, et al.* Plasma homocysteine is related to albumin excretion rate in patients with diabetes mellitus: a new link between diabetic nephropathy and cardio-vascular disease? *Diabetologia* 1998; 41: 684093.
93. *Araki A, Sako Y, Ito H.* Plasma homocysteine concentrations in Japanese patients with non-insulin-dependent

diabetes mellitus: effect of parenteral methylcobalamin treatment. *Atherosclerosis* 1993; 103: 149-57.

94. *Hoogeven EK, Kostense PJ, Jager A, et al.* Serum homocysteine level and protein intake are related to the risk of microalbuminuria: the Hoorn study. *Kidney Int* 1998; 54: 203-9.
95. *Basc LD, Wilmsshurst EG, McElduff, A et al.* The relationship among homocysteine creatinine and albuminuria in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1805-9.
96. *Robinson K, Mayer E, Jacobsen DW.* Homocysteine and coronary artery disease. *Clev Clin J Med* 1999; 61: 438-50.

Λέξεις κλειδιά:

Ομοκυστεΐνη
Σακχαρώδης διαβήτης

Key words:

Homocysteine
Diabetes mellitus