

ΔΟΧ. 477 . 014

A



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Δ/ντής: Δ. Α. Σιδεράς, Καθηγητής Καρδιολογίας

**Η ΥΠΕΡΟΜΟΚΥΣΤΕΙΝΑΙΜΙΑ ΩΣ ΠΑΡΑΓΩΝ
ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ.**

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ
ΟΞΕΑ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ.**

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΠΑΠΠΑΣ
ΙΑΤΡΟΣ - ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2000



264/2002.



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμών του συγγραφέα»

Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δ.Α. Σιδερής, Καθηγητής Καρδιολογίας, Επιβλέπων

Κ.Α. Μπουραντάς, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας/Αιματολογίας, Μέλος

Ι.Α. Γουδέβενος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, Μέλος



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δ.Α. Σιδερής, Καθηγητής Καρδιολογίας, Επιβλέπων

Κ.Λ. Μπουραντάς, Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας/Αιματολογίας, Μέλος

Ι.Α. Γουδέβενος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, Μέλος

Κ. Σιαμόπουλος, Καθηγητής Παθολογίας/Νεφρολογίας, Μέλος

Ο. Τσόλας, Καθηγητής Βιολογικής Χημείας, Μέλος

Λ. Μιχάλης, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, Μέλος

Α. Τσαλέπης, Αναπληρωτής Καθηγητής Χημικού Τμήματος, Μέλος



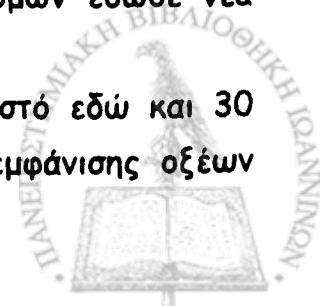
Πρόλογος

Η έρευνα για την εξακρίβωση της αιτίας των οξέων στεφανιαίων επεισοδίων αυξήθηκε τα τελευταία χρόνια, όχι μόνο επειδή η νοσηρότητα και η θνητότητα από τα σύνδρομα αυτά είναι μεγάλη για όλες τις ηλικίες, αλλά και επειδή φαίνεται ότι η λήψη προληπτικών μέτρων όσον αφορά τους παράγοντες κινδύνου μειώνει κατά πολύ την εμφάνιση αυτών. Έτσι στις αναπτυγμένες χώρες, η μείωση της συνήθειας του καπνίσματος, η υγιεινή διατροφή ως προς την πρόσληψη ζωικού λίπους, η αντιμετώπιση της υπέρτασης, του σακχαρώδη διαβήτη και της παχυσαρκίας με την αύξηση της σωματικής άσκησης, συνετέλεσαν όλα μαζί στην σημαντική μείωση της θνητότητας από στεφανιαία νόσο ανεξάρτητα από την ηλικία.

Είναι γεγονός όμως ότι στην πλειονότητα των ατόμων με οξέα στεφανιαία σύνδρομα, η παρουσία των γνωστών παραγόντων κινδύνου δεν διαφέρει από εκείνη στο γενικό πληθυσμό και ο σημαντικότερος παράγοντας εμφάνισης των συνδρόμων είναι η αύξηση της ηλικίας. Επίσης άτομα με αυτούς τους παράγοντες μπορεί να επιζήσουν πολλά χρόνια χωρίς εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Η δυνατότητα μέτρησης και ποσοτικοποίησης των διαφόρων παραγόντων κινδύνου βοήθησε στην εύρεση τιμών στόχων για θεραπεία στο γενικό πληθυσμό.

Ο σχεδιασμός προοπτικών μελετών επιβεβαίωσε για τους περισσότερους παράγοντες την σχέση τους με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, η μείωση όμως της εμφάνισης στεφανιαίας νόσου με την θεραπεία των προδιαθεσικών παραγόντων σε άτομα χωρίς αυτή και η κατανόηση των παθογενετικών μηχανισμών έδωσε νέα ώθηση στην έρευνα για νέους παράγοντες κινδύνου.

Τα αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης στο πλάσμα ήταν γνωστό εδώ και 30 χρόνια ότι σχετίζονται με την εμφάνιση αθηροσκλήρυνσης και εμφάνισης οξέων



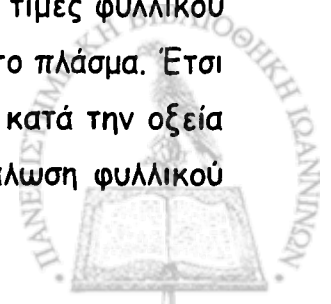
Θρομβωτικών επεισοδίων. Η αναγνώριση όμως της Θρόμβωσης ως βασικού μηχανισμού πρόκλησης οξέων στεφανιαίων επεισοδίων, έφερε τα τελευταία 10 χρόνια πάλι την ομοκυστεΐνη στο προσκήνιο του ερευνητικού ενδιαφέροντος. Ένας ιδιαίτερα ενθαρρυντικός παράγοντας στην έρευνα για την σχέση της ομοκυστεΐνης με τα καρδιαγγειακά νοσήματα, ήταν ότι η χορήγηση φυλλικού οξέος μειώνει τα επίπεδα αυτής χωρίς ανεπιθύμητες ενέργειες και με ασήμαντο κόστος σε σχέση με τα υπολοπιδαιμικά και αντιυπερτασικά φάρμακα.

Όμως, παρόλο που η ομοκυστεΐνη συμμετέχει στην αθηροθρομβογένεση, σύμφωνα και με πειραματικές εργασίες, μερικές προοπτικές μελέτες αμφισβητούν την αιτιολογική σχέση αυτής με την στεφανιαία νόσο και ενισχύουν την άποψη ότι πιθανόν η αυξημένη ομοκυστεΐνη αντιπροσωπεύει απλώς ένα δείκτη ύπαρξης αγγειοπάθειας και όχι αιτιολογικό παράγοντα κινδύνου. Πιθανολογείται πλέον, σύμφωνα με τελευταίες ανασκοπήσεις σε έγκυρα ιατρικά περιοδικά, ότι παράγοντας κινδύνου μπορεί να είναι η ένδεια φυλλικού οξέος που συνεπάγεται σχεδόν πάντα και αυξημένη ομοκυστεΐνη.

Η μέτρηση μίας μεταβλητής κατά την εμφάνιση μιας οξείας νόσου ενέχει πάντα τον κίνδυνο της εσφαλμένης τιμής προς τα άνω ή κάτω, λόγω παραγόντων που έχουν σχέση με τον αυξημένο μεταβολισμό που συνεπάγεται η νόσος και ιδιαίτερα όταν πρόκειται για οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου. Έτσι είναι γνωστό ότι μετά το πρώτο 24ωρο από την εμφάνιση εμφράγματος, όλοι οι γνωστοί παράγοντες κινδύνου επηρεάζονται (αυξάνονται η γλυκόζη, τα τριγλυκερίδια, οι δείκτες φλεγμονής, και η λιποπρωτεΐνη-α, και μειώνονται η ολική χοληστερόλη, η HDL και η ομοκυστεΐνη).

Για την Ομοκυστεΐνη το εύρημα είναι σχετικά πρόσφατο ,συγκεκριμένα δημοσιεύτηκε στα τέλη του 1996 όταν μου ανατέθηκε από τον Καθηγητή Κο Δ. Σιδερή η μελέτη παρόμοιου θέματος.

Η κυκλοφορία όμως την ίδια χρονιά μιας αξιόπιστης μεθόδου μέτρησης του φυλλικού οξέος των ερυθρών αιμοσφαιρίων μας έδωσε την ιδέα για τη μελέτη του επιπολασμού της ένδειας αυτού σε άτομα με οξέα στεφανιαία επεισόδια. Από παλαιότερα ήταν γνωστό ότι τα επίπεδα φυλλικού οξέος ερυθρών αιμοσφαιρίων αντιπροσωπεύουν τα επίπεδα αυτού σε κυτταρικό επίπεδο και δεν επηρεάζονται από παροδικές διακυμάνσεις του φυλλικού οξέος στο πλάσμα. Εξάλλου οι τιμές φυλλικού οξέος στα ερυθρά αιμοσφαίρια είναι 50 φορές μεγαλύτερες από ότι στο πλάσμα. Έτσι μπορέσαμε να παρακάμψουμε το πρόβλημα μελέτης ενός παράγοντα κατά την οξεία εκδήλωση μιας νόσου. Παραμένει βέβαια σαν ενδεχόμενο η κατανάλωση φυλλικού

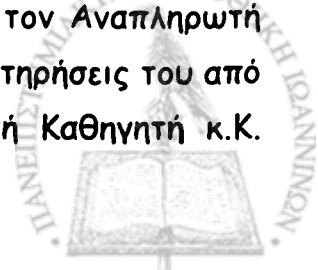


οξέος να γίνεται χρονίως, κατά την διαδικασία εξέλιξης της αθηροσκλήρυνσης και τα χαμηλά επίπεδα αυτού κατά την εκδήλωση του οξέος επεισοδίου να είναι τυχαίο εύρημα.

Ένθαρρυντικό για την σωστή κατεύθυνση της έρευνάς μας ήταν ότι μετά το 1996 άρχισαν να δημοσιεύονται σε έγκυρα ιατρικά περιοδικά εργασίες που επισημαίνουν την αξία της μέτρησης του φυλλικού οξέος, ιδιαίτερα στα ερυθροκύτταρα, σε σχέση με τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου επί υπερομοκυστεϊναιμίας ή γενετικών διαταραχών του μεταβολισμού της ομοκυστεϊνης, αλλά και ανεξάρτητα αυτών. Όμως δεν υπάρχουν εργασίες για τα επίπεδα αυτού σε διάφορες κλινικές εκδηλώσεις όπως τα οξέα στεφανιαία επεισόδια (οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου, ασταθή στηθάγχη).

Στο Γενικό μέρος αυτής της διατριβής γίνεται αναφορά στο ρόλο του φυλλικού οξέος σε κυτταρικό επίπεδο, όπου φαίνεται το πλήθος των σημαντικών αντιδράσεων που συμμετέχει, ιδιαίτερα στο μεταβολισμό του DNA-RNA και στο μεταβολισμό της Ομοκυστεϊνης και παρεμπόδισης συσώρευσης αυτής. Επίσης αναφέρονται τα νεώτερα δεδομένα για την κλινική σημασία της σχετικής ένδειας αυτού, που δεν σχετίζεται με αιματολογικά προβλήματα (εκεί υπάρχει απόλυτη ένδεια) αλλά με άλλες χρόνιες παθήσεις όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις. Γίνεται ακόμη αναφορά στις μεθόδους μέτρησης αυτού και στα προβλήματα που υπήρχαν παλαιότερα. Εδώ πρέπει να τονισθεί ότι σε μια ερευνητική εργασία, αν όλες οι μετρήσεις γίνονται με την ίδια ακριβώς μέθοδο και προκύπτουν διαφορές σημαντικές μεταξύ των εξεταζομένων ομάδων, η μη ευρεία αποδοχή της μεθόδου δεν μειώνει σημαντικά την αξία του αποτελέσματος που βρέθηκε. Μετά, εν συντομία αναφέρονται η σπουδαιότητα των γνωστών παραγόντων κινδύνου και οι κλινικές εκδηλώσεις της στεφανιαίας νόσου με έμφαση στην παθογένεση των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων. Τέλος αναφέρονται τα επιδημιολογικά και ερευνητικά δεδομένα για το ρόλο της ομοκυστεϊνης και του φυλλικού οξέος ως παραγόντων κινδύνου. Το ειδικό μέρος αποτελείται βασικά από την εργασία που δημοσιεύτηκε στην Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση και είναι υπό κρίση σε Διεθνή περιοδικά.

Για την εκτέλεση της διατριβής αυτής, τη διαμόρφωση και την ολοκλήρωσή της υπήρξε πολύτιμη βοήθεια από πολλούς, στους οποίους εκφράζω την βαθιά μου ευγνωμοσύνη. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ.Δ. Σιδερά για την συνεχή συμπαράσταση και καθοδήγηση κατά την εκπόνηση αυτής, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ.Ι. Γουδέβενο για την επίβλεψη και τις πολύτιμες παρατηρήσεις του από τον σχεδιασμό, μέχρι την ολοκλήρωσή της και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ.Κ.



Μπουραντά που ήταν από τους πρώτους που με παρότρυναν να μελετήσω τον παράγοντα αυτόν λόγω και της συναφούς προς το θέμα ειδικότητας. Οι ανωτέρω καθηγητές είναι και μέλη της Τριμελούς Επιτροπής. Θα ήταν παράλειψη να μη ευχαριστήσω επίσης τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ.Λ. Μιχάλη που βοήθησε στην ανακοίνωση των προκαταρκτικών αποτελεσμάτων της έρευνας στο Πανευρωπαϊκό Καρδιολογικό Συνέδριο και ανάδειξη της εργασίας αυτής στις 60 πιο ενδιαφέρουσες για το κοινό, από σύνολο 2.500 εργασίες. Ευχαριστώ θερμά επίσης τον Καθηγητή Στατιστικής κ.Σ. Λουκά για τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Όμως για την εκτέλεση του πρακτικού μέρους της διατριβής αυτής, είμαι βαθιά υποχρεωμένος στο νοσηλευτικό προσωπικό της Μονάδας Εμφραγμάτων του ΠΓΝ Ιωαννίνων «Γ.Χατζηκώστα», που φρόντιζε για την άμεση αιμοληψία με την εισαγωγή των ασθενών σ' αυτή, τον συνάδελφο Καρδιολόγο κ.Ε. Καζάκο που βοήθησε στην εξέταση ατόμων με σταθερή στεφανιαία νόσο και το προσωπικό του Βιοχημικού Εργαστηρίου που εξέταζε αμέσως τα δείγματα, με την σύμφωνη γνώμη του Διευθυντού αυτού κ.Α. Μαυρίδη, τον οποίο ευχαριστώ ιδιαίτερα.

Τελευταία, αλλά ουσιαστικά πρώτο σε σειρά, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Διευθυντή του Αιματολογικού Εργαστηρίου κ.Νικόλαο Κολαίτη που οργάνωσε το στήσιμο της μεθόδου μέτρησης του Φυλλικού οξέος στα ερυθρά αιμοσφαίρια και προσωπικά μέτρησε όλα τα δείγματα την ίδια ημέρα αιμοληψίας, πράγμα ουσιαστικό για την αξιοπιστία της μεθόδου. Οι βαθιές γνώσεις του επίσης στην Επιδημιολογία και οι συμβουλές του με βοήθησαν στην κατανόηση της ερευνητικής μεθοδολογίας.

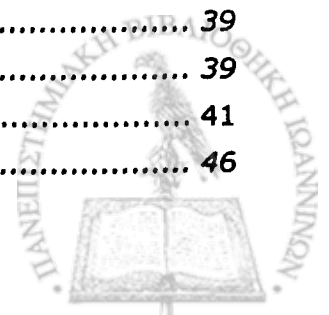
Η δομή και η εμφάνιση της συγγραφής έγινε από τον φίλο Γιώργο Παπανικολάου, τον οποίο ευχαριστώ θερμά.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	3
Χημικές δομές και τύποι φυλλικών οξέων.....	3
Ρόλος φυλλικού οξέος στην μεταφορά μονοανθρακικών ομάδων	4
Ομοιόσταση φυλλικού οξέος στον οργανισμό	6
Επίκτητη ένδεια Φυλλικού Οξέος	10
Γενετικές μεταβολές	11
Διάγνωση ένδειας φυλλικού οξέος	12
Κλινικές εκδηλώσεις ένδειας φυλλικών οξέων	15
Ο ρόλος του φυλλικού οξέος στην καρδιαγγειακή παθολογία	16
ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ	18
Παθοφυσιολογία	18
<i>Βλάβες αθηροσκλήρυνσης</i>	18
<i>Ρήξη πλάκας</i>	20
<i>Θρόμβωση</i>	20
<i>Αγγειοσύσπαση</i>	21
Οξεία στεφανιαία σύνδρομο.....	23
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ	25
Κάπνισμα	27
Υπερχοληστερολαιμία	28
Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας	30
Υπέρταση.....	30
Σακχαρώδης Διαβήτης	31
Παχυσαρκία.....	32
Έλλειψη Φυσικής Άσκησης	32
Υπερτριγλυκεριδαιμία.....	33
Αυξημένη Λιποπρωτεΐνη (α).....	33
Θρομβογόνοι Παράγοντες	34
Φλεγμονή και Λοιμώδη Αίτια	36
Η ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗ ΚΑΙ ΤΟ ΦΥΛΛΙΚΟ ΟΞΥ ΩΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	37
Βιοχημεία και μεταβολισμός.....	37
Αίτια υπερομοκυστεΐναιμίας	39
<i>Διαιτητικοί παράγοντες</i>	39
<i>Γενετικοί παράγοντες</i>	39
Επιδημιολογικά δεδομένα	41
<i>Περιφερική αγγειοπάθεια</i>	46



iv

Μτ
πα
κα
ευ
αν
Κε
Υι
Σ

Εγκεφαλική αγγειακή νόσος	
Στεφανιαία νόσος.....	
Φλεβοθρόμβωση.....	
Μηχανισμοί Επιδράσεων της Ομοκυστεΐνης.....	
Θρόμβωση	
Αθηροσκλήρυνση.....	
Βλάβη στο Ενδοθήλιο	
Λείες μυϊκές ίνες	4
Οξειδωτικές επιδράσεις	4
Σχέση με Υπέρταση	5
Επιπολασμός - Θεραπεία υπερομοκυστεΐναιμίας.....	5
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ	5

β
τ
ε
c
ε
ι

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ	5
ΥΛΙΚΟ	5
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ	61
Στατιστική ανάλυση	61
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	62
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	67
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	71
SUMMARY	73
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	75



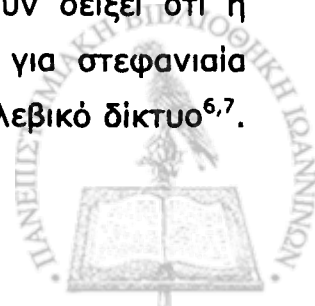
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Παρά τη συνεχιζόμενη κατά τα τελευταία 25 χρόνια, ύφεση της θνητότητας από στεφανιαία νόσο, τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα (ΟΣΣ) εξακολουθούν να βρίσκονται στο επίκεντρο της ερευνητικής δραστηριότητας, καθώς αποτελούν μία από τις κυριότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας των ατόμων της μέσης ηλικίας¹. Οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που ενέχονται στην εκδήλωση των συνδρόμων αυτών είναι η ρήξη αθηρωματικής πλάκας και ο σχηματισμός θρόμβου². Ιδιαίτερα σημαντικό θεωρείται ο σχηματιζόμενος θρόμβος να είναι σχετικά σταθερός³.

Διάφοροι παράγοντες συμμετέχουν στη δημιουργία θρόμβου. Αυτοί διακρίνονται σε τοπικούς, (βαθμός ρήξης της αθηρωματικής πλάκας, μέγεθος στένωσης του αγγείου, υπόστρωμα πλάκας πλούσιο σε λιπίδια) και συστηματικούς (υπερχοληστερολαιμία, αυξημένη Lp(a), υπερομοκυστεΐναιμία, αύξηση κατεχολαμινών λόγω καπνίσματος και stress, αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου, διαταραχές ινωδόλυσης, διαταραχές παραγόντων πήξεως και πιθανόν χρόνιες λοιμώξεις)^{1,3}.

Τα τελευταία χρόνια πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι η υπερομοκυστεΐναιμία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο^{4,5} και ισχυρό θρομβογόνο παράγοντα για το αρτηριακό και φλεβικό δίκτυο^{6,7}.



Η κυριότερη αιτία αύξησης των επιπέδων της ομοκυστεΐνης στο αίμα είναι η ένδεια φυλλικού οξέος και βιταμινών B₁₂, B₆^{8,9}.

Ο καλύτερος δείκτης των επιπέδων του φυλλικού οξέος στον οργανισμό είναι το φυλλικό οξύ των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Αντίθετα τα επίπεδα φυλλικού οξέος του πλάσματος αντικατοπτρίζουν προσωρινές διαιτητικές συνήθειες, και όχι την πληρότητα των αποθηκών του οργανισμού¹⁰. Οι διάφορες μέθοδοι προσδιορισμού του φυλλικού οξέος παρουσιάζουν μεταξύ τους μεγάλη μεταβλητότητα και δεν συστήνεται ακόμη η ευρεία χρήση τους¹¹. Τα επίπεδα φυλλικού οξέος στο πλάσμα σχετίζονται με την εμφάνιση εμφράγματος στους άνδρες αλλά και τις γυναίκες¹²⁻¹⁴. Υπάρχουν ενδείξεις ότι και τα χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις¹⁵. Πειραματικές εργασίες δείχνουν ότι η ένδεια φυλλικού οξέος προάγει τη θρόμβωση μέσω αύξησης της ομοκυστεΐνης, επίσης αυξάνει την παραγωγή υπεροξειδίων από το ενδοθήλιο και μειώνει την παραγωγή ενδοθηλιακού μονοξειδίου του αζώτου¹⁶. Δεν είναι γνωστή η σημασία της ένδειας φυλλικού οξέος στις διάφορες κλινικές εκδηλώσεις της στεφανιαίας νόσου.

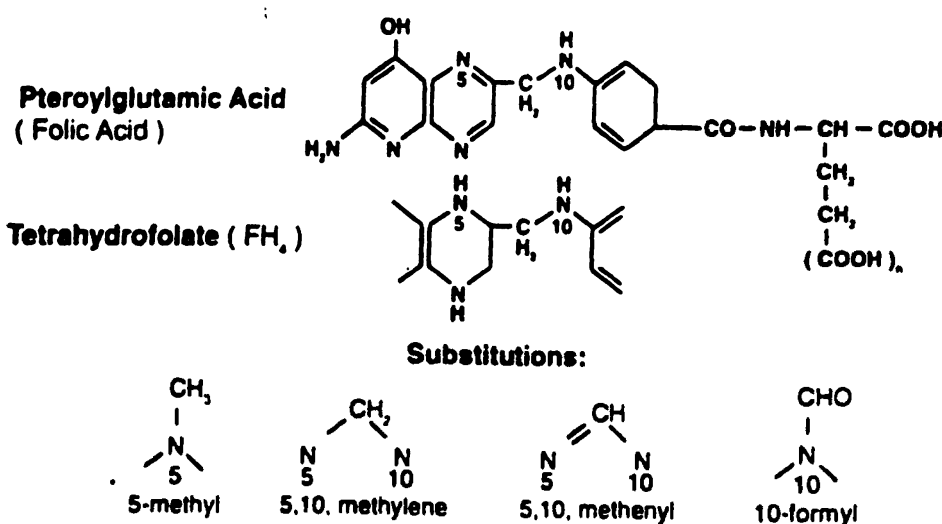
Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί αν τα επίπεδα του φυλλικού οξέος σχετίζονται με τις διάφορες εκδηλώσεις της στεφανιαίας νόσου και ειδικότερα με τα οξέα στεφανιαία επεισόδια όπου η θρόμβωση αποτελεί βασικό παθογενετικό μηχανισμό, συγκρίνοντας τις τιμές φυλλικού οξέος μεταξύ ασθενών με οξέα στεφανιαία σύνδρομα, ασθενών με σταθερή χρόνια στεφανιαία νόσο και υγιών μαρτύρων ίδιας ηλικίας.



ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

Χημικές δομές και τύποι φυλλικών οξέων

Τα φυλλικά είναι υδατοδιαλυτές βιταμίνες που συντίθενται από φυτά και μικροοργανισμούς, δεν παράγονται ενδογενώς, και έτσι λαμβάνονται αποκλειστικά από τις τροφές που εισέρχονται στο σώμα με απορρόφηση από το έντερο. Τα βιολογικά δραστικά παράγωγα φυλλικού προέρχονται από την αναγωγή του φυλλικού οξέος (πτεροϋλογλουταμινικού οξέος) που σχηματίζεται από την ένωση του πτερινικού οξέος (παράγωγο πτεριδίνης συνδεδεμένο με ένα μόριο παρααμινοβενζοϊκό οξύ) και του γλουταμινικού οξέος¹⁷ (εικ.1). Διαφέρουν το ένα από το άλλο από την κατάσταση αναγωγής του πτεριδινικού δακτυλίου, από τον τύπο των μονοανθρακικών ομάδων (μεθύλιο, μεθυλένιο, μεθενυλένιο, φορμύλιο, φορμυμινο) στην θέση N⁵ και/ή N¹⁰ του πτερινικού οξέος και από τον αριθμό των καταλοίπων γλουταμινικού που συνδέονται στο π-αμινοβενζοϊκό οξύ.



Εικόνα 1. Χημικοί τύποι φυλλικών.
[Προσαρμογή από Durant P et al, Clin Chem Lab Med 1998; 36(7): 419]

Οι διαιτητικές πηγές φυλλικών είναι τα λαχανικά, δημητριακά, φρούτα, γαλακτομικά και παράγωγα κρέατος (συκώτι). Η πλειονότητα αυτών (80%) είναι παράγωγα φολυ-πολυγλουταμινικών συνδεδεμένων με πρωτεΐνες, που έχουν υποστεί αναγωγή (μεθυλίωση τα 60% και φορμυλίωση τα 20%). Μόνο 20% υπάρχουν ως μη συνδεδεμένα παράγωγα. Επιπλέον, μια μικρή ποσότητα μπορεί να μεταφερθεί κατευθείαν με βακτηρίδια που βρίσκονται στον εντερικό σωλήνα¹⁸.

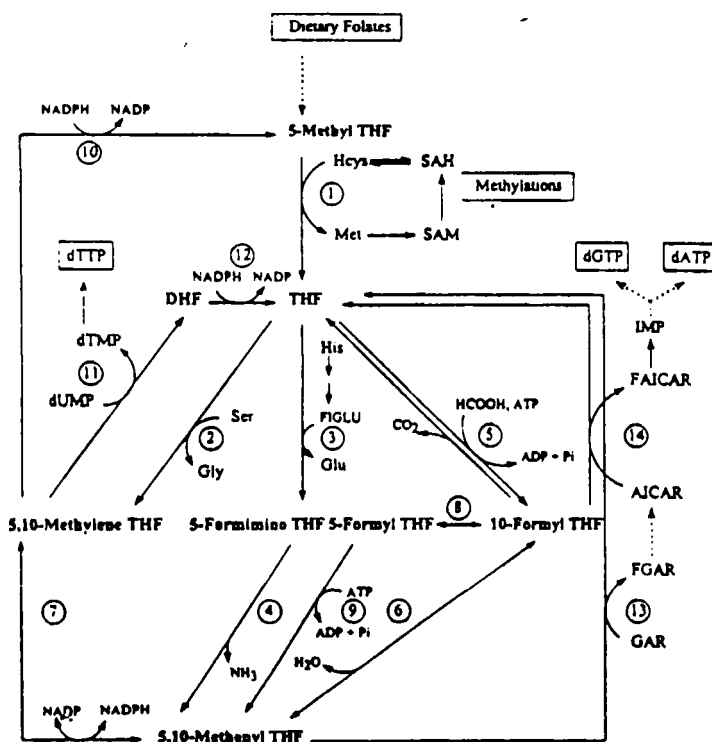


Ρόλος φυλλικού οξέος στην μεταφορά μονοανθρακικών ομάδων

Το φυλλικό οξύ είναι συνένζυμο του μεταβολισμού των μονοανθρακικών ομάδων, ειδικότερα της υδροξυμεθυλομάδας και της μυρμηκικής ομάδας. Συμμετέχοντας στην μεταφορά μονοανθρακικών ομάδων¹⁹, τα φυλλικά παίζουν σημαντικό ρόλο:

1. στη βιοσύνθεση των πουρινών και πυριμιδινών που χρειάζονται για την σύνθεση του DNA και RNA και νουκλεοτιδίων
2. στη ενδομετατροπή αμινοξέων (σερίνη σε γλυκίνη)
3. στη μετατροπή της ιστιδίνης σε γλουταμινικό οξύ
4. στην ολοκλήρωση πάνω από εκατό αντιδράσεων μεθυλίωσης (μεθυλίωση DNA και RNA, πρωτεϊνών, λιπιδίων μεμβράνης, και νευροδιαβιβαστών)
5. στην πρόληψη συσσώρευσης της ομοκυστεΐνης [**2 HS-CH₂-CH₂-CH(NH₂)COOH**] με μεθυλίωση αυτής και σχηματισμό μεθειονίνης.

Το φυλλικό οξύ κυκλοφορεί στον οργανισμό σαν μονογλουταμινικό, κυρίως σαν N⁵-μεθυλοτετραυδροφυλλικό (5-MTHF). Μέσα στα κύτταρα, το 5-MTHF ταχέως απομεθυλιώνεται σε τετραυδροφυλλικό (THF), το οποίο είναι το κύριο στοιχείο για την ενδοκυττάρια μετατροπή των παραγώγων των φυλλικών (εικ.2).



Τα ένζυμα που συμμετέχουν στις 14 ενδοκυττάριας αντιδράσεις

1. N⁵-Methyltetrahydrofolate (5-Methyl THF)-homocysteine (Hcys) methyltransferase ή methionine (Met) synthase
2. Serine (Ser) hydroxymethyltransferase.
3. Glutamate-formiminotransferase.
4. N⁵-Formiminotetrahydrofolate cyclodeaminase
5. N¹⁰-Formyltetrahydrofolate synthase
6. N^{5,10}-Methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase
7. N^{5,10}-Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase
8. Formyltetrahydrofolate isomerase
9. N⁵-Formyltetrahydrofolate cyclodeshydratase
10. N^{5,10}-Methylenetetrahydrofolate reductase
11. Thymidylate synthase.
12. Dihydrofolate (DHF) reductase
13. Glycinamide ribosylphosphate (GAR) formyltransferase.
14. Aminoimidazole-carboxamide ribosylphosphate (AICAR) formyltransferase.

[Προσαρμογή από: Durant P et al, Clin Chem lab Med 1998; 36(7): 419]

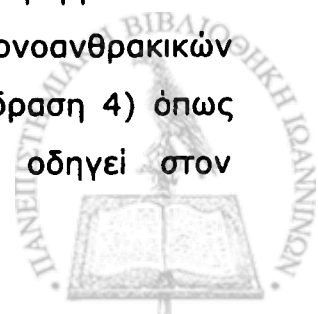
Εικόνα 2. Χημικές αντιδράσεις φυλλικού οξέος κατά την μεταφορά μονοανθρακικών ομάδων σε κυτταρικό επίπεδο. Οι αριθμοί στην εικόνα αντιστοιχούν σε ένζυμα που αναφέρονται στο κείμενο για κάθε χημική αντίδραση.



Αυτή η απομεθυλίωση που καταλύεται από την N⁵-μεθυλο THF-ομοκυστεΐνη μεθυλοτρανσφεράση (συνθάση μεθειονίνης), με την βιταμίνη B₁₂ σαν συνένζυμο, προλαμβάνει την συσσώρευση της ομοκυστεΐνης αφού έτσι επιτυγχάνεται η μεθυλίωση της ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη (αντίδραση 1).

Η απομεθυλίωση αυτή επίσης οδηγεί σε μια αναπαραγωγή της μεθειονίνης για τήν σύνθεση της S-αδενοσυλομεθειονίνης (SAM), το οποίο είναι ο κύριος δότης μεθυλομάδων (μονοανθρακική ομάδα) στο σώμα. Η μετατροπή του SAM σε S-αδενοσυλ-ομοκυστεΐνη (SAH), που καταλύεται από διάφορες μεθυλοτρανσφεράσες, είναι σημαντική για αρκετές ζωτικές αντιδράσεις διαμεθυλίωσης. Αυτές οι αντιδράσεις παίρνουν μέρος σε μετατροπές του DNA και RNA και τη βιοσύνθεση της κρεατινίνης. Επίσης συμμετέχουν στη βιοσύνθεση διαφόρων νευροδιαβιβαστών, επιτρέποντας την O-μεθυλίωση της σεροτονίνης και των κατεχολαμινών, όπως επίσης στη N-μεθυλίωση της φωσφατιδυλεθανολαμίνης σε φωσφατιδυλχολίνη.

Η μεταφορά διαφόρων τύπων μονοανθρακικών ομάδων, οι οποίες προέρχονται ειδικότερα από την γλυκίνη, σερίνη, ιστιδίνη και μυρμηκικό οξύ, επιτρέποντας έτσι την σύνθεση διαφόρων αλληλομετατροπομένων συνενζύμων φυλλικού, αντιπροσωπεύει ένα ιδιαίτερο βήμα για διάφορες βιολογικές αντιδράσεις. Οι πολυγλουταμινικοί τύποι φυλλικών που προέρχονται από το THF είναι προτιμότερα υποστρώματα για τα ένζυμα που συμμετέχουν στις αλληλομετατροπές των φυλλικών²⁰. Η μετατροπή του THF σε N^{5,10}-μεθυλενοTHF, που καταλύεται από την σερινική υδροξυμεθυλική τρανσφεράση με την παρουσία φωσφορικής πυριδοξίνης (προέρχεται από την βιταμίνη B₆), συμπληρώνεται με τήν μετατροπή της σερίνης σε γλυκίνη (αντίδραση 2). Η μετατροπή αυτή επίσης επιτρέπει το διαχωρισμό της γλυκίνης σε CO₂ και NH₃. Ο σχηματισμός του N⁵-φορμιμινοTHF από THF με την γλουταμινική φορμιμιτρανσφεράση συνδυάζεται και με την αποδόμηση του φορμιμινογλουταμινικού οξέος (FIGLU), που προέρχεται από τον καταβολισμό της ιστιδίνης σε L-γλουταμινικό (αντίδραση 3). Η σύνθεση του N¹⁰-φορμυλοTHF που καταλύεται από την N¹⁰-φορμυλοTHF συνθετάση με την παρουσία του ATP, χρησιμοποιεί κατάλοιπα φορμικού και επομένως επιτρέπει τον περιορισμό των επιπλέον καταλοίπων μονοανθρακικών (αντίδραση 5). Τελικά, η απαμίνωση του N⁵-φορμιμινοTHF (αντίδραση 4) όπως και η αφυδρογόνωση του N¹⁰-φορμυλοTHF (αντίδραση 6), οδηγεί στον

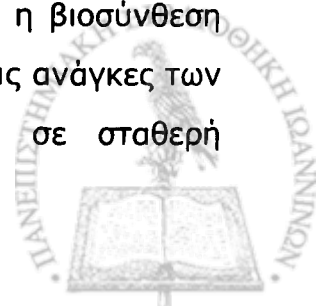


σχηματισμό του $N^{5,10}$ -μεθενυλοTHF το οποίο μετά από δύο αντιδράσεις αναγωγής οδηγεί σε $N^{5,10}$ -μεθυλενοTHF (αντίδραση 7) και μετά σε 5- MTHF (αντίδραση 10), συντελώντας έτσι στη διακίνηση της ενδοκυττάριας δεξαμενής πολυγλουταμινικών. Με τη φορμυλοτετραϋδροφυλλική ισομεράση, το 10-φορμυλοτετραϋδροφυλλικό γίνεται 5-φορμυλοτετραϋδροφυλλικό (αντίδραση 8). Η ενέργεια που απαιτείται δίνεται από το ATP με την αντίδραση 9. Επακόλουθο επομένως όλων αυτών των αντιδράσεων είναι ότι, όταν υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες, μπορούν να πραγματοποιηθούν κρίσιμες αντιδράσεις διαμεθυλίωσης και να προληφθεί η ενδοκυττάρια συσσώρευση ομοκυστεΐνης.

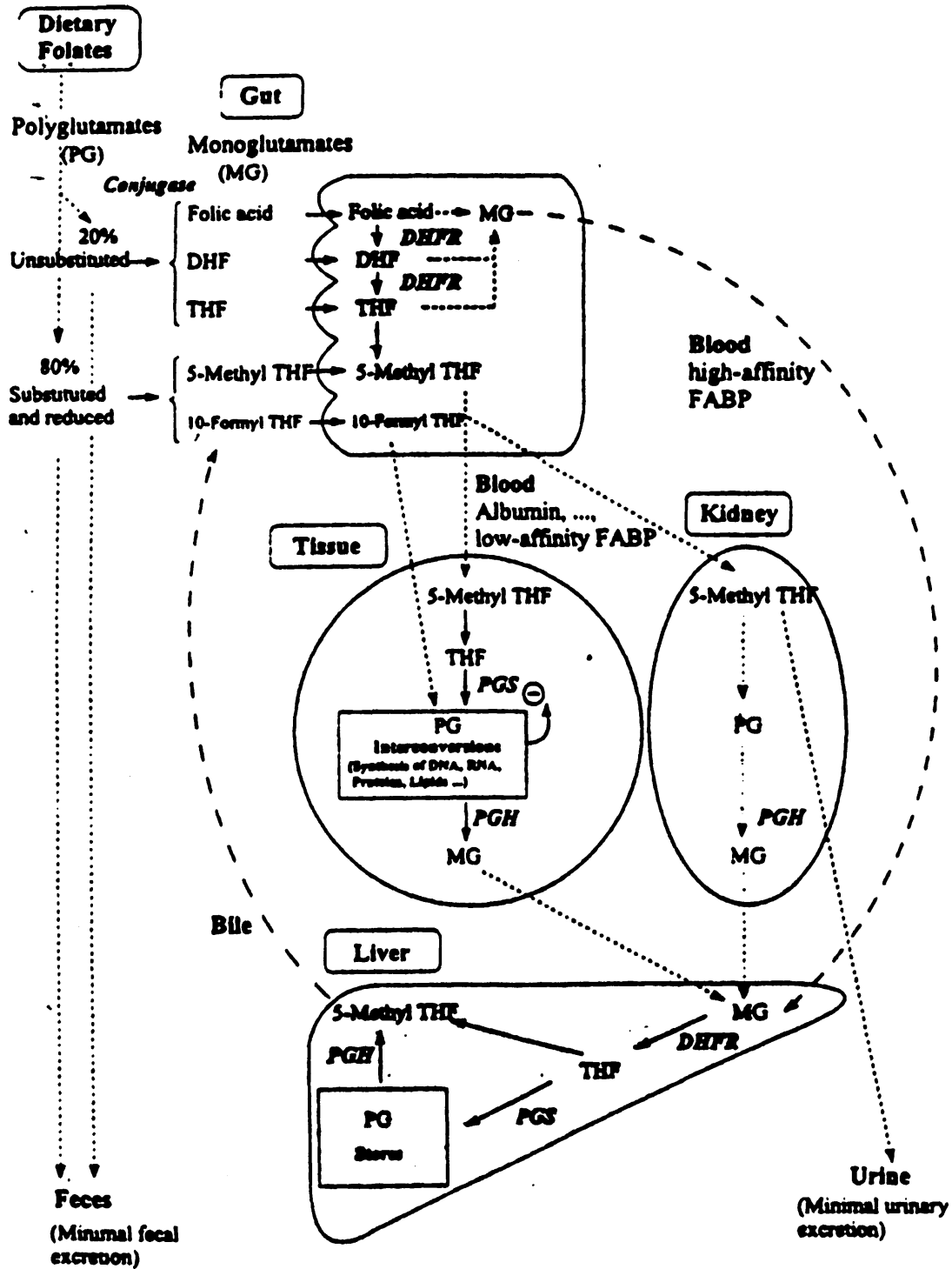
Τα παράγωγα των φυλλικών που σχηματίζονται ενδοκυττάρια παίζουν σημαντικό ρόλο στην σύνθεση των πουρινών και των προδρόμων της θυμιδίνης για τον σχηματισμό του DNA και του RNA. Είναι επομένως πολύ σημαντικά για την ανάπτυξη των κυττάρων και τη διαίρεσή τους. Η οξειδωση του $N^{5,10}$ -μεθυλενοTHF σε διυδροφυλλικό (DHF) (αντίδραση 11), το οποίο μετά ξαναγίνεται THF με τη συμβολή της διυδροφυλλικής αναγωγάσης (αντίδραση 12), οδηγεί στη μεθυλίωση της μονοφωσφορικής δεσοξουριδίνης (dUMP) με τη θυμιδινική συνθάση σε μονοφωσφορική δεσοξυθυμιδίνη (dTMP). Επιπλέον, το $N^{5,10}$ -μεθυλTHF και το N^{10} -φορμυλοTHF οδηγούν στη φορμυλίωση της γλυκινακίδης-ριβόζης (αντίδραση 13) και της 5-αμινο-ιμιδαζόλης 4-καρβοξαμίδης ριβόζης αντίστοιχα (αντίδραση 14). Αν και αυτά τα παράγωγα ανακυκλώνονται σε THF, αυτά επίσης συντελούν στη διατήρηση δύο βασικών βημάτων για την σύνθεση της μονοφωσφορικής ινοσίνης (IMP), την πρόδρομη μορφή της τριφωσφορικής αδενοσίνης και γουανοσίνης (dATP, dGTP). Επίσης το N^{10} -φορμυλοTHF απαιτείται επίσης για την φορμυλίωση του t-RNA, το οποίο είναι απαραίτητο για την έναρξη της σύνθεσης πεπτιδίων.

Ομοιόσταση φυλλικού στον οργανισμό

Ο τρόπος μεταβολισμού των φυλλικών που αναλύθηκε προηγουμένως, εγγυάται τη διαδικασία αυτορρύθμισης με την οποία ο οργανισμός διατηρεί σταθερή την συγκέντρωση του φυλλικού οξέος στους ιστούς (εικ.3). Η ενδοκυττάρια μεταφορά του κυκλοφορούντος φυλλικού οξέος και η βιοσύνθεση της δεξαμενής φολυπολυγλουταμινικών καθορίζονται ανάλογα με τις ανάγκες των ιστών. Επιπλέον, αυτή η δεξαμενή πολυγλουταμινικών είναι σε σταθερή



ανακύκλωση και τα μη χρησιμοποιούμενα φυλλικά, όπως και αυτά που προέρχονται από γηρασμένα κύτταρα, αμέσως ανακατανέμονται μέσω του εντεροηπατικού κύκλου.



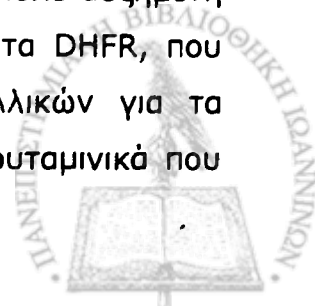
Εικόνα 3. Ομοίωση φυλλικού οξέος.

[Προσαρμογή από Durant P et al, Clin Chem lab Med 1998; 36(7): 419]



Τα φυλλικά απορροφώνται στο επίπεδο της εγγύς νήσιδας, αλλά σημαντικές απώλειες μετριάζονται από την απορρόφηση κατά μήκος όλου του λεπτού εντέρου. Τα πολυγλουταμινικά αρχικά απελευθερώνονται από τις πρωτεΐνες της διατροφής με τη δράση πεπτιδικών πρωτεασών και μετέπειτα υδρολύονται σε μονογλουταμινικά με την γ -γλουταμυλ-καρβοξυπεπτιδάση ή συζευκτικό ένζυμο που βρίσκεται στο εντερικό υγρό και/ή στην ψηκτροειδή παρυφή. Η απορρόφηση αυτή γίνεται κύρια με ένα ενεργό σύστημα μεταφοράς το οποίο μπορεί να κορεστεί, είναι ειδικό και πραγματοποιείται με την μεσολάβηση μιας πρωτεΐνης της μεμβράνης, που λέγεται folic acid- binding protein (FABP). Τα υποκατάστατα και αναχθέντα μονογλουταμινικά απορροφώνται ταχέως και μεταφέρονται στην πυλαία κυκλοφορία. Τα μη υποκατάστατα και οξειδωμένα μονογλουταμινικά ανάγονται πλήρως από την διυδροφυλλική αναγωγή (DHFR), μεθυλιώνονται σε 5-MTHF στα εντεροκύτταρα πριν την απελευθέρωσή τους στην κυκλοφορία ή μεταφέρονται κατευθείαν χωρίς τροποποίηση στην πυλαία κυκλοφορία. Πριν την πρόσληψη από τους περιφερικούς ιστούς, τα αναχθέντα και υποκατάστατα κυκλοφορούντα μονογλουταμινικά, κυρίως το 5-MTHF, ενώνονται με ένα μη ειδικό και με μικρή συγγένεια τρόπο, με διάφορες πρωτεΐνες όπως η αλβουμίνη, η α_2 -μακροσφαιρίνη και η τρανσφερρίνη. Αντιθέτως, η σύνδεση με την FABP γίνεται με μικρή ικανότητα αλλά με υψηλή ειδικότητα. Τα οξειδωμένα και μη υποκατάστατα μονογλουταμινικά που έχουν κυκλοφορήσει χωρίς τροποποίηση μέσω του εντερικού φραγμού, συνδέονται με την FABP ορού και μεταφέρονται κατευθείαν στο ήπαρ.

Η πρόσληψη από τα κύτταρα των μονογλουταμινικών γίνεται εν μέρει από ένα ενεργό σύστημα μεταφοράς, που πιθανόν διευκολύνεται από υποδοχείς φυλλικού στην μεμβράνη, που παρουσιάζουν τα ίδια χαρακτηριστικά με την FABP²¹. Ο ακριβής βιολογικός ρόλος του συστήματος αυτού, στην μεταφορά των διαφόρων ομοειδών φυλλικών είναι ακόμη άγνωστος. Υπάρχει ένας ειδικός μηχανισμός μεταφοράς του 5-MTHF με πρωτεΐνες συνδεδεμένες με την μεμβράνη, με προορισμό τον πλακούντα, όπου τα φυλλικά χρησιμοποιούνται δραστικά κατά την κύηση, και προς το κεντρικό νευρικό σύστημα, όπου η χαμηλή συγκέντρωση της DHFR στο χοριοειδές πλέγμα μπορεί να εμποδίσει την χρησιμοποίηση των μη αναχθέντων παραγώγων. Η πρόσληψη επίσης των φυλλικών είναι πολύ αυξημένη στα αναπαραγόμενα κύτταρα, τα οποία έχουν υψηλή δραστηριότητα DHFR, που επιτυγχάνει την συσσώρευση σημαντικών συγκεντρώσεων φυλλικών για τα αυξανόμενα και τα διαιρούμενα κύτταρα. Τα μεθυλοTHF μονογλουταμινικά που



βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις στα κύτταρα γρήγορα απομεθυλιώνονται με τη συνθάση της μεθειονίνης και μετά μετατρέπονται σε THF πολυγλουταμινικά από την φολυπολυγλουταμινική συνθετάση (PGS). Αυτή η διαδικασία, που είναι απαραίτητη για την κυτταρική χρησιμοποίηση των φυλλικών στη βιοσύνθεση των αμινοξέων και των νουκλεϊνικών οξέων, πραγματοποιείται στους περισσότερους ιστούς εκτός από τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η ενδοκυττάρια συγκέντρωση των πολυγλουταμινικών ρυθμίζεται με τον έλεγχο της πρόσληψης των μονογλουταμινικών αλλά ιδιαίτερα με προϊόντα αναστολής της PGS από νεοσυντιθέμενα πολυγλουταμινικά. Επίσης ρυθμίζεται από την περιεχόμενη από τους ιστούς SAM (S-Adenosyl-Methionine), τον κύριο δότη μεθυλομάδας, η οποία αναστέλλει την κινητοποίηση των πολυγλουταμινικών που απαιτούνται για την ακεραιότητα των ειδικών αντιδράσεων μεθυλίωσης²². Τα μη χρησιμοποιούμενα πολυγλουταμινικά υδρολύονται σε μονογλουταμινικά από ένα ένζυμο εξαρτώμενο από ψευδάργυρο, την φολυπολυγλουταμινική υδρολάση (PGH). Το ένζυμο αυτό επιτρέπει μια σταθερή ανακύκλωση της δεξαμενής πολυγλουταμινικών, ανεξάρτητα από την παροχή και την ενδοκυττάρια συγκέντρωση φυλλικών. Εκτός από τα φυλλικά που απελευθερώνονται από τα γηρασμένα κύτταρα, η διαδικασία αυτή αποτελεί μια πηγή φυλλικών κατά τη διάρκεια περιόδων στέρησης²³.

Τα φορμυλικά και μεθυλοτετραυδροφολικά μονογλουταμινικά τα οποία δεν χρησιμοποιούνται από τους περιφερικούς ιστούς, απορροφώνται στο ήπαρ, όπου κατά ένα μέρος μετατρέπονται και αποθηκεύονται σαν πολυγλουταμινικά. Η πλειονότητα όμως αυτών εκκρίνεται στην χολή και μετά επαναρροφάται στο λεπτό έντερο ανάλογα με τις ανάγκες διανομής στους ιστούς. Τα οξειδωμένα και μη υποκατάστατα μονογλουταμινικά τα οποία αντιπροσωπεύουν ελάχιστες ποσότητες, επίσης εν μέρει μετατρέπονται σε πολυγλουταμινικά, ή ανάγονται και μεθυλιώνονται στην μορφή 5-MTHF στο ήπαρ πριν απελευθερωθούν στους περιφερικούς ιστούς διαμέσου του εντεροηπατικού κύκλου. Το ήπαρ, το οποίο ρυθμίζει την ανακατανομή των φυλλικών, παίζει ένα κεντρικό ρόλο στη συγκράτηση της ομοιόστασης των φυλλικών σε όλο το σώμα. Είναι αξιοπρόσεκτο ότι η νεφρική απέκκριση, η οποία αντιπροσωπεύει την κύρια οδό απώλειας φυλλικών, είναι πολύ χαμηλή σε φυσιολογικές συνθήκες λόγω σωληναριακής επαναρρόφησης των φυλλικών. Η απέκκριση αυτή ελαττώνεται ακόμη περισσότερο κατά τη διάρκεια περιόδων στέρησης.



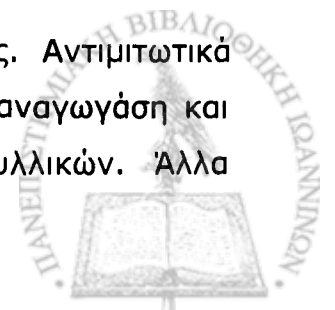
Αν και τα ενδοκυττάρια αποθέματα πολυγλουταμινικών συνεχώς επαναρρυθμίζονται, είναι δυνατόν να προκύψει ένδεια φυλλικού (οξεία-χρόνια):

- από μείωση της προσφοράς φυλλικών
- αύξηση στις απαιτήσεις φυλλικών
- γενετικές μεταβολές στην απορρόφηση, μεταβίβαση και χρησιμοποίηση των φυλλικών

Επίκτητη ένδεια Φυλλικού

Η συντήρηση και το μαγείρεμα των τροφών μειώνουν κατά πολύ τη βιοδιαθεσιμότητα των φυλλικών από τις τροφές. Το βράσιμο των τροφών επίσης με νερό συντελεί στην καταστροφή των φυλλικών. Τα φυλλικά είναι πολύ ασταθείς ενώσεις και πολύ γρήγορα καταστρέφονται από τη θέρμανση, το φως και την οξείδωση. Επιπλέον, το μήκος της πεπτιδικής πολυγλουταμινικής αλυσίδας, η παρουσία αναστολέων σύζευξης στην ψηκτροειδή παρυφή του εντέρου και άλλοι ακόμη άγνωστοι παράγοντες μπορεί να αλλάξουν την απορρόφηση των φυλλικών από την δίαιτα. Λαμβάνοντας υπόψη όλους αυτούς τους παράγοντες, η αληθινή βιοδιαθεσιμότητα θα έπρεπε να είναι γύρω στα 50% των φυλλικών που υπάρχουν στις τροφές²⁴. Η ένδεια φυλλικών είναι επομένως περισσότερο διαδεδομένη από ότι θα αναμενόταν. Η ανεπαρκής προσφορά μπορεί να αφορά όχι μόνο τις χώρες με προβλήματα υποσιτισμού αλλά επίσης και τις βιομηχανοποιημένες χώρες. Από δεδομένα που συγκεντρώθηκαν στις ΗΠΑ κατά την διάρκεια του Second National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES II), διαπιστώθηκε ότι 10% των κατοίκων των ΗΠΑ ηλικίας 20-44 ετών έχουν ένδεια φυλλικών όπως προσδιορίστηκε αυτή στα φυλλικά στο πλάσμα και τα ερυθρά αιμοσφαίρια με τιμές κάτω των 3ng/ml και 150ng/ml αντίστοιχα²⁵. Η ένδεια φυλλικών είναι συχνή στους υπερήλικες, τους καπνιστές και τους αλκοολικούς. Στους υπερήλικες και τους καπνιστές μπορεί να προέρχεται από μια αυξημένη αποδόμηση και στους αλκοολικούς, από υποσιτισμό, από μια αναστολή της χρησιμοποίησης αυτών από τα κύτταρα λόγω απενεργοποίησης της συνθάσης της μεθειονίνης ή από ένα αυξημένο διαχωρισμό φυλλικών. Η ένδεια φυλλικών μπορεί επίσης να είναι το αποτέλεσμα αυξημένων αναγκών όπως φαίνεται στις έγκυες γυναίκες, τα βρέφη και ειδικά στα πρόωρα βρέφη²⁶.

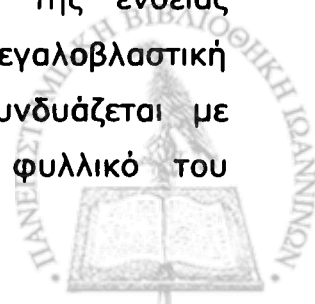
Επιπλέον η ένδεια φυλλικών μπορεί να είναι ιατρογενής. Αντιμιτωτικά φάρμακα, όπως η μεθοτρεξάτη, αναστέλλουν τη διυδροφυλλική αναγωγή και επακόλουθα μειώνουν την κυτταρική χρησιμοποίηση των φυλλικών. Άλλα



φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της φλεγμονής των εντέρων, όπως η σουλφασαλαζίνη, μειώνουν την απορρόφηση των φυλλικών. Τα αντιεπιληπτικά φάρμακα μπορεί να αναστέλλουν την απορρόφηση των φυλλικών, να αυξάνουν τον ηπατικό μεταβολισμό ή να βλάπτουν την N^{5,10}-μεθυλοτετραϋδροφυλλική αναγωγή (MTHFR) απαραίτητη για την ενδοκυττάρια κινητοποίηση των φυλλικών. Επίσης, τα από του στόματος αντισυλληπτικά έχουν ενοχοποιηθεί για μια έκπλυση των αποθεμάτων φυλλικών στους ιστούς με μηχανισμό που δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί. Στην τελευταία αυτή περίπτωση, η ένδεια μπορεί να οφείλεται σε μειωμένη εντερική απορρόφηση, σε μια αύξηση της FABP ορού που προκαλεί μείωση στην ενδοκυττάρια χρησιμοποίηση φυλλικών, σε μια πιο γρήγορη ανακύκλωση με την επαγωγή ηπατικών ενζύμων ή σε μια αυξημένη απέκκριση²⁷. Τα συνθετικά οιστρογονοπρογεστινικά σκευάσματα (αντισυλληπτικά) μπορεί να προκαλούν μια αυξημένη καταστροφή φυλλικών μέσω ελευθέρων ριζών²⁸.

Γενετικές μεταβολές

Ένα κληρονομικό έλλειμμα της DHFR έχει αναφερθεί σε τρία παιδιά, και διορθώθηκε με την χορήγηση N⁵-φορμυλοTHF (φυλλινικό οξύ). Επιπλέον, ένα έλλειμμα στη γλουταμινική φορμιμινοτρανσφεράση που σχετίζεται με μια υψηλή απέκκριση των FIGLU έχει περιγραφεί σε 13 παιδιά. Έχει παρατηρηθεί επίσης ένα συγγενές έλλειμμα στην απορρόφηση το οποίο φάνηκε να οφείλεται σε αλλαγές ειδικών πρωτεϊνών που μετέχουν στο ενεργό σύστημα μεταφοράς. Το πρόβλημα αυτό οδηγεί σε μεγαλοβλαστική αναιμία με νοητική καθυστέρηση και θα μπορούσε να διορθωθεί με ενδομυϊκές ενέσεις φυλλικού ή φυλλινικού οξέος. Μια λειτουργική ένδεια έχει αναφερθεί επίσης σε ένα μικρό αριθμό ασθενών και μπορεί να προέρχεται από συγγενή ελλείμματα ενζύμων που μετέχουν στον μεταβολισμό της κοβαλαμίνης. Ενζυματικές διαταραχές μπορεί να μεταβάλλουν είτε την σύνθεση της μεθυλκοβαλαμίνης, ενός απαραίτητου συνενζύμου της συνθάσης της μεθειονίνης (μεταλλάξεις Cbl E και G), η της συνθάσης της αδενосуλοκοβαλαμίνης, ενός συνένζυμου για την μεθυλομαλονυλική-CoA μούταση (μεταλλάξεις Cbl A και B), ή και ως δύο ενζύμων (μεταλλάξεις Cbl C, D και F). Οι κλινικές εκδηλώσεις είναι συγκρίσιμες με αυτές της ένδειας κοβαλαμίνης²⁹. Η έλλειψη σύνθεσης της κοβαλαμίνης οδηγεί σε μεγαλοβλαστική αναιμία και σε διανοητική και φυσική δυσλειτουργία που συνδυάζεται με υπερομοκυστεϊναιμία, υπομεθειοναιμία, και μια αύξηση στο φυλλικό του

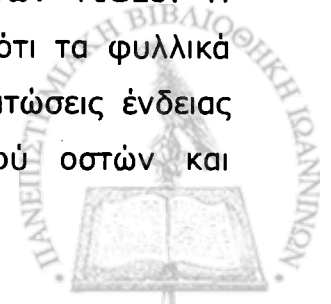


πλάσματος και των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Η αύξηση του φυλλικού οξέος μπορεί να εξηγηθεί με ένα έλλειμμα στην χρησιμοποίηση των φυλλικών ενδοκυττάρια και έτσι συσσωρεύεται με τη μορφή του 5-μεθυλοτετραυδροφυλλικό (η υπόθεση methyl trap). Το έλλειμμα στη σύνθεση αδενосуλοκοβαλαμίνης το οποίο σχετίζεται με μια αυξημένη συγκέντρωση στα ούρα του μεθυλομαλονικού οξέος οδηγεί σε σωματική και νοητική καθυστέρηση που είναι πολύ πιο σοβαρή επειδή μπορεί να συμβεί απομυελίνωση των νεύρων.

Η πιο συχνή συγγενής ανωμαλία του μεταβολισμού των φυλλικών είναι ένα αυτοσωματικό υπολειμματικό έλλειμμα στο γονίδιο της MTHFR με αποτέλεσμα το ένζυμο να έχει μόνο 2% της φυσιολογικής δραστηριότητάς του. Συνολικά, τα κλινικά συμπτώματα είναι αυτά της ομοκυστινουρίας, έκπλυση φυλλικού ιστών, υπερομοκυστεϊναιμία και υπομεθειοναιμία που συνδέονται με καθυστερημένη ψυχοσωματική ανάπτυξη και περιφερική νευροπάθεια. Η θεραπεία με βηταΐνη και/ή μεθειονίνη συνδυασμένη με συμπληρώματα φυλλικών, ιδιαίτερα 5-MTHF, φαίνεται ότι ήταν πολύ αποτελεσματική σε ορισμένες περιπτώσεις. Ο Kang και οι συνεργάτες του έχουν βρει μια θερμοευαίσθητη παραλλαγή του MTHFR που διατηρεί το 50% της φυσιολογικής του δραστηριότητας³⁰. Η ομάδα του Rosen³¹ έχει κλωνοποιήσει το γονίδιο που κωδικοποιεί το MTHFR και ο Frosst και συνεργάτες έχουν δείξει, ότι η σύνθεση της θερμοευαίσθητης παραλλαγής προέκυψε από την μετάλλαξη C₆₇₇T. Η ομόζυγος μορφή της μετάλλαξης αυτής που μπορεί να αφορά μεγάλο μέρος του πληθυσμού (άνω του 10% σε ΓαλλοΚαναδικό πληθυσμό) οδηγεί σε μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία που μπορεί να αντιμετωπισθεί με συμπληρώματα φυλλικού οξέος³². Πρόσφατες μελέτες προτείνουν ότι η έκφραση του θερμοευαίσθητου γονότυπου του MTHFR εξαρτάται από τη βιοδιαθεσιμότητα του φυλλικού. Όμως η πρόσληψη φυλλικών μπορεί απλά να είναι αναγκαία για τη ρύθμιση των επιπέδων ομοκυστεϊνης όταν υπάρχει η παραπάνω περιγραφείσα μετάλλαξη³³.

Διάγνωση ένδειας φυλλικού

Για την εύρεση της ένδειας φυλλικών χρησιμοποιούνται αρκετές μέθοδοι για τον ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων φυλλικών, όπως η δοκιμασία καταστολής της δεσοξουριδίνης και η νεφρική απέκκριση των FIGLU. Η δοκιμασία καταστολής της δεσοξουριδίνης βασίζεται στην αρχή ότι τα φυλλικά είναι αναγκαία για την σύνθεση του dTMP από dUMP. Σε περιπτώσεις ένδειας φυλλικών, η ενσωμάτωση της θυμιδίνης σε κύτταρα μυελού οστών και

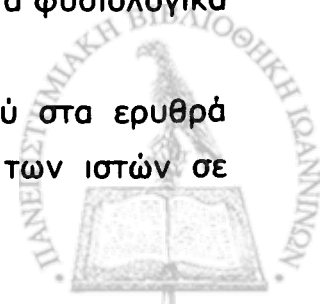


λεμφοκυττάρων εμποδίζεται από την ουριδίνη. Ο προσδιορισμός της νεφρικής απέκκρισης του FIGLU (φορμιμινογλουταμινικού) μετά από φόρτιση με ιστιδίνη ανιχνεύει την ένδεια φυλλικών επειδή τα φυλλικά είναι απαραίτητα για την μετατροπή του FIGLU σε γλουταμινικό οξύ. Η αποδόμηση της ιστιδίνης σταματάει στο πρόδρομο FIGLU και όχι γλουταμινικό που απεκκρίνεται και ανιχνεύεται μόνο όταν υπάρχει ένδεια φυλλικών.

Επιπρόσθετα με τις προαναφερθείσες δοκιμασίες, οι οποίες ανιχνεύουν ένδειες σε χρόνο που σχετίζεται με αιματολογικές διαταραχές, ο άμεσος προσδιορισμός των φυλλικών στο πλάσμα και τα ερυθρά αιμοσφαίρια επιτρέπει μια πρώιμη ανίχνευση ένδειας φυλλικών. Είναι αξιοπρόσεκτο ότι τα δείγματα που θα αναλυθούν πρέπει να φυλάσσονται σε -80°C και με την προσθήκη ενός αντιοξειδωτικού όπως το ασκορβικό οξύ, διαφορετικά πρέπει να γίνει η μέτρηση την ίδια ημέρα με τη λήψη του αίματος. Συγκέντρωση στο πλάσμα κάτω των 3 ng/ml (6.8 nmol/l) μπορεί να αντανakλά μια ανισορροπία στο μεταβολισμό και επομένως μια ήπια ένδεια φυλλικών, ενώ μια συγκέντρωση φυλλικών ερυθρών αιμοσφαιρίων κάτω των 150 ng/ml (340 nmol/l) δείχνει ένα άδειασμα των αποθεμάτων των ιστών και επομένως μια περισσότερο προχωρημένη ένδεια φυλλικών³⁴.

Τα επίπεδα φυλλικού οξέος στο πλάσμα μειώνονται μέσα σε λίγες μέρες με περιορισμό του φυλλικού στην διατροφή, αν και τα επίπεδα στους ιστούς μπορεί να είναι φυσιολογικά. Πιθανόν αυτή είναι η αιτία που περίπου το ένα τρίτο των ασθενών που παραμένουν μακροχρόνια στο νοσοκομείο έχουν χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος. Η ευαισθησία της μέτρησης φυλλικού στο πλάσμα για τη διάγνωση κλινικά σημαντικής ένδειας φυλλικού είναι αβέβαιη. Μερικοί ασθενείς με μεγαλοβλαστική αναιμία που οφείλεται σε ένδεια φυλλικού έχουν φυσιολογικές τιμές στο πλάσμα ή ελαφρά χαμηλές. Επίσης η μέτρηση στο πλάσμα δεν είναι ειδική, πολλοί ασθενείς με χαμηλές τιμές δεν έχουν άλλα ευρήματα ένδειας φυλλικού. Τα επίπεδα φυλλικού στο πλάσμα τείνουν να είναι αυξημένα σε ασθενείς με ένδεια κοβαλαμίνης, κυρίως επειδή η διαταραχή της οδού της συνθετάσης της μεθειονίνης οδηγεί σε συσσώρευση του μεθυλοτετραυδροφυλλικού, την κύρια μορφή φυλλικού στο πλάσμα. Σε 20% ασθενών με κακοήγη αναιμία τα επίπεδα φυλλικού είναι πάνω από τα φυσιολογικά όρια, αλλά για ανεξήγητο λόγο είναι χαμηλά μόνο σε 10% αυτών.

Εξαιτίας των περιορισμών αυτών, η μέτρηση του φυλλικού στα ερυθρά αιμοσφαίρια θεωρείται σαν καλύτερος δείκτης των αποθεμάτων των ιστών σε



φυλλικό. Τα ερυθροκύτταρα ενσωματώνουν φυλλικό όταν δημιουργούνται και τα επίπεδα παραμένουν σταθερά για όλη την υπόλοιπη ζωή τους, έτσι επηρεάζονται πολύ λιγότερο από αλλαγές διαιτητικές. Επιπλέον τα επίπεδα φυλλικού στα ερυθρά αιμοσφαίρια σχετίζονται καλύτερα από τα επίπεδα στο πλάσμα με την παρουσία μεγαλοβλαστών στο περιφερικό αίμα και τον μυελό. Όμως όπως και για το πλάσμα υπάρχουν περιορισμοί στην ευαισθησία και την ειδικότητα της μεθόδου. Σε μελέτη ατόμων με μεγαλοβλαστική ερυθροποίηση λόγω ένδειας φυλλικών μόνο 76% εγκύων γυναικών και 69% αλκοολικών είχαν χαμηλές τιμές φυλλικού ερυθρών αιμοσφαιρίων (<150 ng/ml ή 340 nmol/L). Οι περισσότερες φυσιολογικές τιμές ήταν μεταξύ 340-567 nmol/L ή 150-250 ng/ml. Στις μελέτες αυτές επίσης δεν βρέθηκε καλή ευαισθησία, 19% των εγκύων και 31% των αλκοολικών είχαν χαμηλό φυλλικό ερυθρών <150 ng/ml ή 340 nmol/L χωρίς να έχουν μεγαλοβλαστική ερυθροποίηση. Βέβαια μπορεί να ειπωθεί ότι αυτοί έχουν πρώιμη ένδεια φυλλικού πριν εκδηλωθεί κλινικά. Επίσης ψευδώς χαμηλό φυλλικό ερυθρών έχουμε σε ένδεια κοβαλαμίνης, 60% των ατόμων με κακοήθη αναιμία έχουν χαμηλό φυλλικό ερυθρών. Παλαιότερα χρησιμοποιούταν μικροβιολογικές μέθοδοι για την μέτρηση του φυλλικού, που πλέον δεν υπάρχουν στα εργαστήρια. Η μικροβιολογική ποσοτική ανάλυση φυλλικών χρησιμοποιεί το στέλεχος του βακτηριδίου *Lactobacillus casei*. Τώρα χρησιμοποιούνται ραδιοανοσολογικές μέθοδοι που αρχικά μετρούσαν μόνο φυλλικό στο πλάσμα, και η μέτρηση στα ερυθρά γινόταν με αναγωγή με βάση τον αιματοκρίτη, και έτσι τα αποτελέσματα δεν ήταν ακριβή³⁵. Νεώτερες όμως ανοσοενζυμικές μέθοδοι χρησιμοποιούν το αιμόλυμα από τα ερυθρά για τον προσδιορισμό φυλλικού και έχουν πιο ακριβή αποτελέσματα³⁶. Χρησιμοποιώντας high-performance liquid chromatography (HPLC) και ανίχνευση ηλεκτροχημική ή με φθορισμό έχουμε μια πιο αξιόπιστη και ευαίσθητη μέθοδο η οποία επίσης επιτρέπει το διαχωρισμό των διαφόρων παραγώγων φυλλικών³⁷. Μια τέτοια μέθοδος αναφοράς για ποσοτικό προσδιορισμό φυλλικών, χρησιμοποιώντας δείγματα αναφοράς, δεν είναι ακόμη διαθέσιμη σε ευρεία κλίμακα. Πιθανόν θα προσέφερε υψηλότερη ειδικότητα και αξιοπιστία σε δεδομένα που θα αποκτηθούν σε μελλοντικές μελέτες. Είναι γεγονός, ότι στις υπάρχουσες μεθόδους υπάρχει μεγάλη διακύμανση στη μεταβλητότητα των τιμών του φυλλικού οξέος και χρειάζεται προσοχή στη χρησιμοποίηση αυτών και την εξαγωγή συμπερασμάτων για τον γενικό πληθυσμό³⁸.



Κλινικές εκδηλώσεις ένδειας φυλλικών

Η μελέτη του Herbert, η οποία έγινε σε εθελοντές, έχει δείξει ότι μια στερητική δίαιτα σε φυλλικό (< 5μg/d) οδηγεί μετά από ένα μήνα σε μια πτώση στο φυλλικό πλάσματος και μετά σε μια αύξηση της νεφρικής απέκκρισης των FIGLU³⁹. Μείωση των αποθηκών φυλλικών των ιστών όπως μετράται στα ερυθροκύτταρα παρατηρήθηκε μετά από 3-4 μήνες. Η μείωση αυτή σχετιζόταν με διαταραχές στην αιμοποίηση που χαρακτηριζόταν από παθολογική δοκιμασία καταστολής της ουριδίνης πρώτα σε κύτταρα του μυελού των οστών και μετά στα κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα. Η προκαλούμενη από την ένδεια φυλλικών διαταραχή στην αιμοποίηση κατέληξε στην πολυκατάτμηση του πυρήνα των ουδετεροφίλων πολυμορφοκυττάρων, σε χαμηλό αριθμό λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων και σε μακροκυττάρωση. Όλα αυτά μπορεί να οδηγήσουν στην εκδήλωση μεγαλοβλαστικής αναιμίας που σχετίζεται με μείωση των επιπέδων αιμοσφαιρίνης (κάτω από 13g/dl στους άνδρες και κάτω από 12g/dl στις γυναίκες). Εκτός από αυτές τις αιματολογικές διαταραχές η ένδεια φυλλικών συχνά σχετίζεται με νευρολογικές διαταραχές που εκφράζονται σαν διανοητική και σωματική καθυστέρηση. Όμως αν και όλοι οι ασθενείς που παρουσιάζονται με μεγαλοβλαστική αναιμία έχουν παθολογικές συγκεντρώσεις φυλλικών στο πλάσμα και τα ερυθροκύτταρα, δεν έχουν αιματολογικά προβλήματα όλοι οι άνθρωποι με ένδεια φυλλικών. Μερικά άτομα χωρίς εμφανή κλινικά σημεία ένδειας έχουν πολύ χαμηλά επίπεδα ενδοκυτταρίων φυλλικών. Επομένως όπως αναφέρθηκε και ανωτέρω, η αναγκαιότητα για μια ποσοτική μέθοδο προσδιορισμού του φυλλικού των ιστών, και ιδιαίτερα του 5-MTHF το οποίο αποτελεί τη δραστική μορφή των παραγώγων φυλλικού, θα έπρεπε να παρακινήσει για έρευνα στο πεδίο αυτό.

Πιθανόν επομένως να υπάρχει η εξής αλληλουχία αλλαγών κατά την ανάπτυξη ένδειας φυλλικού από υποκλινικό σε κλινικό επίπεδο:

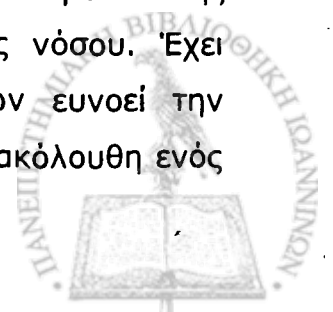
1. Αρνητικό ισοζύγιο φυλλικού
2. Πτώση στα επίπεδα φυλλικού πλάσματος, ερυθρών
3. Αύξηση ομοκυστεΐνης, εκδήλωση μη αιματολογικών διαταραχών
(νευροπάθειες, καρδιαγγειακή νόσος)
4. Παθολογικά επίπεδα φυλλικού πλάσματος και ερυθρών
5. Δομικές μεταβολές (μακροκυττάρωση, αναιμία)



Ο ρόλος του φυλλικού στην καρδιαγγειακή παθολογία

Δεδομένα από πειράματα *in vitro* και *in vivo* δείχνουν ότι η ένδεια φυλλικών συντελεί σε μια αυξημένη συγκέντρωση στο πλάσμα ομοκυστεΐνης λόγω αύξησης της εξόδου από το κύτταρο⁴⁰. Επιπλέον, αρκετές επιδημιολογικές μελέτες που έγιναν σε υγιείς ανθρώπους δείχνουν μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του διαιτητικού και φυλλικού πλάσματος και της υπερομοκυστεϊναιμίας. Οι συσχετίσεις αυτές έχουν επίσης παρατηρηθεί σε ασθενείς με αθηροσκλήρυνση και συνδέονται με την παρουσία καρδιαγγειακών διαταραχών⁴¹. Τα δεδομένα αυτά έχουν συνεισφέρει αρκετά στην πεποίθηση ότι εκτός από τη μερική συγγενή ένδεια της β-συνθάσης της κυσταθειονίνης⁴² και την επίκτητη ένδεια βιταμίνης Β₆, η χαμηλή συγκέντρωση φυλλικού αντιπροσωπεύει μια κύρια αιτία για την αυξημένη ομοκυστεΐνη στο πλάσμα. Η υπερομοκυστεϊναιμία αναγνωρίζεται τώρα σαν ένας ισχυρός και ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις και αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση. Τα επαρκή επίπεδα φυλλικού μπορούν να μειώσουν την επίπτωση της στεφανιαίας νόσου στις γυναίκες, όπως πρόσφατα ανακοινώθηκε στην Nurses' Health Study¹⁴. Όσον αφορά τα επίπεδα στο πλάσμα, έχει επίσης αναφερθεί ότι ο κίνδυνος για αγγειακές εγκεφαλικές επιπλοκές και στεφανιαία νόσο αυξάνεται σημαντικά όταν το φυλλικό είναι κάτω των 13.6 nmol/l. Μία πρόσφατη πολυκεντρική μελέτη (9 Ευρωπαϊκά κέντρα) που καθοδηγήθηκε από τον Robinson¹⁵ έδειξε ότι επίπεδα φυλλικού ερυθρών αιμοσφαιρίων κάτω των 513 nmol/l συντελούν σε αυξημένο κίνδυνο για αθηροσκλήρυνση που πιθανόν συνδέεται με αύξηση της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα. Επιπρόσθετα για τον αυξημένο αυτό κίνδυνο για αγγειακές παθήσεις, έχει προταθεί ότι η ένδεια φυλλικών είναι τουλάχιστον υπεύθυνη για την αύξηση των επιπέδων ομοκυστεΐνης που εξαρτάται από την θερμοευαίσθητη μετάλλαξη της MTHFR⁴³. Αρκετοί ερευνητές έχουν βρει μια αυξημένη επίπτωση ομοζυγωτών για την θερμοευαίσθητη μετάλλαξη της MTHFR σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Όμως μερικές μελέτες δεν βρήκαν συσχέτιση μεταξύ της μετάλλαξης και της επίπτωσης στεφανιαίας νόσου⁴⁴.

Εκτός από αυτά τα δεδομένα που δείχνουν ότι η ένδεια φυλλικών συνεισφέρει σημαντικά στην αθηρογένεση, υπάρχουν πειραματικά δεδομένα ότι η ιατρογενής ή διατροφική ένδεια φυλλικών επίσης σχετίζεται μέσω της υπερομοκυστεϊναιμίας με τη θρομβωτική πλευρά της αγγειακής νόσου. Έχει αποδειχθεί σε αρουραίους ότι η μακροχρόνια ένδεια φυλλικών ευνοεί την εμφάνιση μιας κατάστασης προάγουσας τη θρόμβωση που είναι επακόλουθη ενός



οξειδωτικού stress¹⁶. Η ανισορροπία της κατάστασης οξειδωσης-αναγωγής (redox status) που προκαλείται από την ένδεια φυλλικών, έχει προσδιοριστεί με διάφορους δείκτες οξειδωσης όπως η αύξηση των τελικών προϊόντων οξειδωσης λιπιδίων (ουσίες θειοβαρβιτουρικών οξέων, συζευγμένα διένια, υδρουπεροξειδία), αλλαγές στη σύσταση των λιπαρών οξέων με μια μείωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (κυρίως n-3 λιπαρά οξέα), και μικρότερη αντιοξειδωτική άμυνα όπως δείχνεται χρησιμοποιώντας την μέσω ελευθέρων ριζών προκαλούμενη δοκιμασία αιμόλυσης των ερυθροκυττάρων.

Σε κλινικό επίπεδο η ένδεια φυλλικών μπορεί επίσης να είναι ένας εναρκτήριο παράγοντας για νεοπλασματική εξαλλαγή και κίνδυνο για καρκίνο⁴⁵. Στην εγκυμοσύνη, η ένδεια φυλλικών φαίνεται να είναι υπεύθυνη για αυτόματες αποβολές και εμβρυϊκές ανωμαλίες του νευρικού συστήματος όπως η έλλειψη νευρικού σωλήνα⁴⁶.



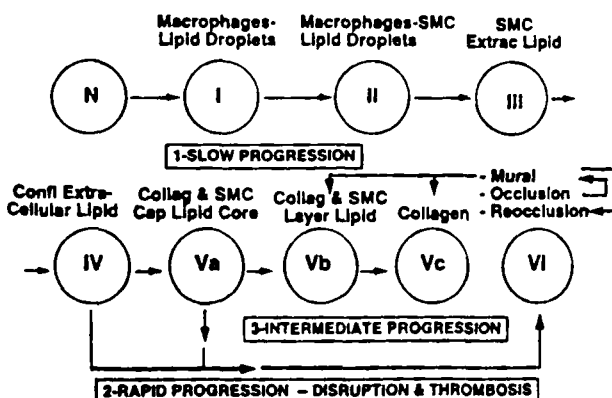
ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ

Τα τελευταία χρόνια, οι εντατικές κλινικές και παθολογοανατομικές έρευνες και οι μελέτες στο επίπεδο του κυττάρου και της μοριακής βιολογίας έχουν προσφέρει μεγάλη εξέλιξη στην κατανόηση της δημιουργίας της αθηροσκλήρυνσης και των συνακόλουθων κλινικών εκδηλώσεων αυτής όπως η στηθάγχη, το έμφραγμα, ο αιφνίδιος καρδιακός θάνατος, το εγκεφαλικό επεισόδιο και η περιφερική αρτηριοπάθεια⁴⁷. Μέχρι πρότινος πιστευόταν ότι η αθηροσκλήρυνση είναι μια σταθερά εξελισσόμενη διαδικασία στην οποία αδρανή υλικά συσσωρεύονται έως ότου η αρτηρία να αποφραχθεί. Τώρα είναι γνωστό ότι τα περισσότερα κλινικά συμβάντα ξεκινούν από βλάβες που προκαλούν μικρή έως μέτρια στένωση με ρήξη της αθηρωματικής πλάκας που οδηγεί σε θρόμβωση και επίσης είναι γνωστό ότι η εξέλιξη των βλαβών αυτών μπορεί να επιβραδυνθεί, να σταματήσει ή και να υποστρέψει. Το ενδοθήλιο που πρώτα θεωρούνταν απλώς μια ημιδιαπερατή μεμβράνη, τώρα θεωρείται το μεγαλύτερο ενδοκρινικό όργανο, με ενδοκρινείς, αυτοκρινείς και παρακρινείς δράσεις που είναι υπεύθυνες για αρκετές ρυθμιστικές και αντιαθηροσκληρυντικές δράσεις. Έχει αναγνωρισθεί ότι μια ποικιλία τύπων κυττάρων ανταλλάσσουν ενεργά μηνύματα που ρυθμίζουν λειτουργίες σημαντικές για τη δημιουργία και εξέλιξη των βλαβών, όπως και για την εκδήλωση των κλινικών συμβαμάτων.

Παθοφυσιολογία

ΒΛΑΒΕΣ ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗΣ

Σύμφωνα με τον Stary έχει προταθεί μια νέα ταξινόμηση των αθηρωματικών πλακών, από τις λιπώδεις γραμμώσεις μέχρι τις επιπλεγμένες βλάβες⁴⁸, βασισόμενη σε πέντε στάδια της εξέλιξης της αθηρωματικής πλάκας (εικ. 4).



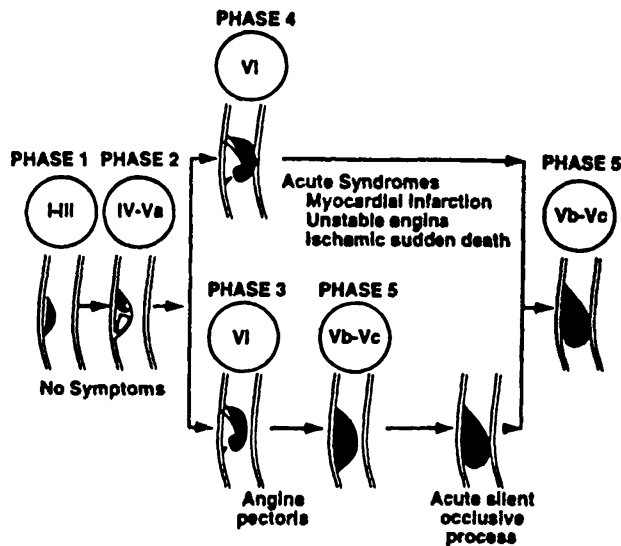
Εικόνα 4.

Εξέλιξη αθηροσκλήρυνσης ανάλογα με τύπους βλαβών.

Από Fuster V, et al^β



Στο **στάδιο 1** έχουμε μικρές βλάβες που τις συναντάμε συνήθως σε ηλικία κάτω των τριάντα. Αυτές οι βλάβες μπορεί να εξελιχθούν μετά από πολλά χρόνια και διακρίνονται σε βλάβες τύπου I (αποτελούνται από αφρώδη κύτταρα, προερχόμενα από τα μακροφάγα, και περιέχουν σταγονίδια λιπιδίων), βλάβες τύπου II (αποτελούνται από μακροφάγα και λεία μυϊκά κύτταρα με εναποθέσεις λιπιδίων, εξωκυττάρια) και βλάβες τύπου III που αποτελούνται κυρίως από λεία μυϊκά κύτταρα που περιβάλλονται από εξωκυττάρια λιπίδια (εικ. 5).



Εικόνα 5. Κλινικές εκδηλώσεις (στάδια) εξέλιξης αθηροσκλήρυνσης.
Από Fuster V, et al³

Στο **στάδιο 2** υπάρχουν πλάκες που δεν είναι απαραίτητα στενωτικές, έχουν όμως μεγάλη περιεκτικότητα σε λιπίδια και έτσι είναι ευάλωτες σε ρήξη. Διακρίνονται μορφολογικά σε τύπου IV (κυτταρική βλάβη που συνενώνεται με ευρέως καταμερισμένα εξωκυττάρια λιπίδια) και σε τύπου Va όπου τα εξωκυττάρια λιπίδια σχηματίζουν έναν πυρήνα που καλύπτεται από μία λεπτή ινώδη κάψα.

Από το **στάδιο 2** μπορεί να έχουμε το **στάδιο 3 ή 4** και από εκεί το **στάδιο 5**.

Στο **στάδιο 3** έχουμε βλάβες τύπου VI (οξείες επιπλεγμένες βλάβες που προκύπτουν από τη ρήξη ή διάβρωση βλαβών τύπου IV και Va, με συνακόλουθη δημιουργία τοιχωματικού θρόμβου που δεν αποφράσσει όμως την αρτηρία). Ο τύπος αυτός εξελίσσεται σε βλάβες τύπου Vb και Vc, πιο στενωτικές και ινώδεις, που συναντώνται στο **στάδιο 5**. Οι ασθενείς αυτοί κλινικά έχουν στηθάγχη, η



δημιουργία όμως παράπλευρης κυκλοφορίας συντελεί πολλές φορές στην κλινικά σιωπηλή πλήρη απόφραξη του αγγείου.

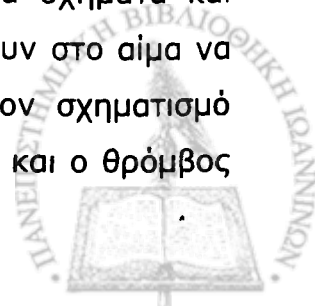
Στο **στάδιο 4** σε αντίθεση με το **στάδιο 3** η επιπλεγμένη βλάβη τύπου VI ακολουθείται από τοιχωματικό θρόμβο που αποφράσσει οξέως τον αυλό του αγγείου και προκύπτει το οξύ στεφανιαίο επεισόδιο. Ο αποφρακτικός αυτός θρόμβος αν δεν λυθεί φυσιολογικά ή με φάρμακα συντελεί στην δημιουργία των ινωτικών ή αποφρακτικών βλαβών τύπου Vb και Vc που συναντώνται στο **στάδιο 5**.

ΡΗΞΗ ΠΛΑΚΑΣ

Στη διαδικασία της αθηρογένεσης, η συσσώρευση λιπιδίων, ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων και η σύνθεση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας δεν εξελίσσονται γραμμικά με την πάροδο του χρόνου. Οι αγγειογραφικές μελέτες δείχνουν ότι η εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου στους ανθρώπους ούτε είναι γραμμική ούτε μπορεί να προβλεφθεί. Νέες μεγάλου βαθμού βλάβες εμφανίζονται σε τμήματα της αρτηρίας που ήταν φυσιολογικά λίγους μόνο μήνες νωρίτερα, σε αγγειογραφικές εξετάσεις. Πράγματι, έγινε πρόσφατα εμφανές ότι μικρές στεφανιαίες βλάβες μπορεί να σχετίζονται με σημαντική εξέλιξη σε σοβαρή στένωση ή ολική απόφραξη⁴⁹. Αυτές οι βλάβες μπορεί να αντιπροσωπεύουν μέχρι και τα δύο τρίτα των ασθενών που αναπτύσσουν ασταθή στηθάγχη ή άλλα στεφανιαία σύνδρομα. Αυτή η μη προβλέψιμη και κατά ώσεις εξέλιξη μάλλον προκαλείται από ρήξη της πλάκας με συνακόλουθη δημιουργία θρόμβου, ο οποίος αλλάζει την γεωμετρία της πλάκας και οδηγεί σε διαλείπουσα μεγέθυνση της πλάκας και οξέα αποφρακτικά στεφανιαία σύνδρομα⁵⁰. Αγγειοσκοπικές μελέτες που έγιναν in vivo επιβεβαίωσαν αυτή την θεωρία⁵¹.

ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Η ρήξη μιας ευάλωτης ή ασταθούς πλάκας με τη συνακόλουθη αλλαγή στη γεωμετρία της πλάκας και τη θρόμβωση συντελεί σε μία τύπου VI ή επιπλεγμένη βλάβη. Μια τέτοια ταχεία μεταβολή στην αθηρωματική πλάκα μπορεί να συντελέσει σε οξεία απόφραξη με στηθάγχη ή άλλο στεφανιαίο σύνδρομο. Παθολογοανατομικά, η ρωγμή της πλάκας περιλαμβάνει διάφορα σχήματα και μεγέθη. Η σχισμή μπορεί να είναι μικρή. Τέτοιες σχισμές επιτρέπουν στο αίμα να εισέρχεται και να εκτείνει την πλάκα, όμως δεν συντελούν στον σχηματισμό θρόμβου στον αρτηριακό αυλό. Η σχισμή μπορεί να είναι μεγάλη, και ο θρόμβος



που σχηματίζεται ενδοαυτικά να αποφράσσει το αγγείο⁵². Ένας τέτοιος θρόμβος μπορεί είτε να λυθεί μερικώς είτε να αντικατασταθεί κατά την διαδικασία της οργάνωσης από την απάντηση της επιδιόρθωσης του αγγείου, που εν μέρει σχετίζεται με τη θρομβίνη, τον αιμοπεταλιογενή αυξητικό παράγοντα (PDGF), και τον μεταλλαγμένο αυξητικό παράγοντα β, που συμμετέχουν στην εναπόθεση εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Είναι ενδιαφέρον ότι σε ένα αποφρακτικό θρόμβο μπορεί να δημιουργηθούν πολλοί δίαυλοι και να εμφανίζεται μερικώς ανοικτός στην αγγειογραφία.

Κατά τη στιγμή της ρήξης της πλάκας ένας αριθμός από τοπικούς και θρομβογόνους παράγοντες μπορεί να επηρεάσουν το βαθμό και τη διάρκεια της εναπόθεσης του θρόμβου.

1. Τοπικοί παράγοντες

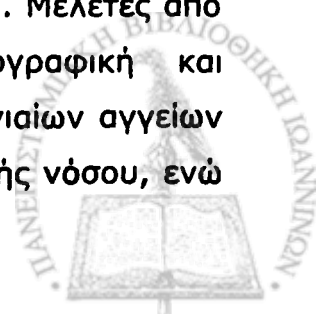
- Βαθμός ρήξης της πλάκας
- Βαθμός στένωσης
- Ιστικό υπόστρωμα
- Επιφάνεια υπολειπόμενου θρόμβου
- Αγγειοσύσπαση

2. Συστηματικοί παράγοντες

- Κατεχολαμίνες (κάπνισμα, stress)
- Σύστημα ρενίνης αγγειοτενσίνης
- Χοληστερόλη, λιποπρωτεΐνη (α) και άλλες μεταβολικές καταστάσεις (υπερομοκυστεΐναιμία, διαβήτης)
- Ινωδογόνο, διαταραχές ινωδόλυσης (αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου 1), ενεργοποίηση αιμοπεταλίων και πήξης (παράγοντας VII, παράγωγα θρομβίνης)

ΑΓΓΕΙΟΣΥΣΠΑΣΗ

Αν και τα περισσότερα επεισόδια ασταθούς στηθάγχης και οξέος εμφράγματος προκαλούνται από τη ρωγμή ή τη ρήξη μιας πλάκας με την εναπόθεση θρόμβου, και άλλοι μηχανισμοί οι οποίοι μεταβάλλουν την παροχή και τις ανάγκες του μυοκαρδίου σε οξυγόνο πρέπει να ληφθούν υπόψη. Μελέτες από τον Maseri⁵³ χρησιμοποιώντας αιμοδυναμική, ηλεκτροκαρδιογραφική και αγγειογραφική παρακολούθηση έδειξαν ότι η σύσπαση των στεφανιαίων αγγείων παίζει ένα σπουδαίο ρόλο στην παθογένεση της ισχαιμικής καρδιακής νόσου, ενώ



πιο πρόσφατες μελέτες δείχνουν έναν ιδιαίτερο ρόλο και στα οξέα στεφανιαία επεισόδια⁵⁴. Στα οξέα στεφανιαία επεισόδια, η αγγειοσύσπαση μπορεί να εμφανίζεται είτε: (1) σαν μια αντίδραση σε ένα ελαφρά δυσλειτουργούν ενδοθήλιο κοντά στην ένοχη βλάβη είτε (2) πιο πιθανόν να είναι μια αντίδραση σε μια βαθιά αρτηριακή βλάβη ή ρήξη της πλάκας της ίδιας της ένοχης βλάβης.

Ειδικότερα, το ενδοθήλιο μπορεί να επιδρά στον τόνο του αγγείου, εκκρίνοντας παράγοντες χάλασης, όπως η προστακυκλίνη και ο ενδοθηλιογενής παράγοντας χάλασης (EDRF) (γνωστός τώρα ως μονοξείδιο του αζώτου NO) και συσπαστικούς παράγοντες όπως η ενθοθηλίνη-1. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, επικρατεί η δράση του NO. Όμως, φαίνεται ότι μια μεταβολή στο ενδοθήλιο συμβαίνει στην πρώιμη αθηροσκλήρυνση, ειδικότερα κάτω από την επίδραση των παραγόντων κινδύνου η πιθανόν κοντά στη διαρηγμένη πλάκα ή την ένοχη βλάβη στην ασταθή στηθάγχη και τα άλλα οξέα στεφανιαία σύνδρομα. Αυτές οι μεταβολές μπορεί να προκαλούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα να παράγουν περισσότερους μεταβιβαστές που αυξάνουν τη σύσπαση και λιγότερους μεταβιβαστές που προκαλούν χάλαση. Τελευταίες εργασίες έδειξαν ότι οι καρδιαγγειακοί παράγοντες κινδύνου που είναι γνωστό ότι επιδρούν στα επικαρδιακά αγγεία, επιδρούν και στη στεφανιαία μικροκυκλοφορία, με μια τάση για αγγειοσύσπαση που οδηγεί σε ισχαιμία.

Φαίνεται επίσης, ότι στα οξέα στεφανιαία σύνδρομα υπάρχει μια προδιάθεση για αγγειοσύσπαση που εξαρτάται από τα αιμοπετάλια και τη θρομβίνη, στο σημείο ρήξης της πλάκας και δημιουργίας θρόμβου, που μπορεί να είναι πολύ σημαντική αλλά ευτυχώς προσωρινή. Έτσι η αγγειοσύσπαση που εξαρτάται από τα αιμοπετάλια και διαβιβάζεται με τη σεροτονίνη και τη θρομβοξάνη A₂, και αυτή που εξαρτάται από τη θρομβίνη συμβαίνουν αν το αγγειακό τοίχωμα έχει καταστραφεί σημαντικά, δείχνοντας μια άμεση αλληλεπίδραση αυτών των ουσιών με τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων. Συνοπτικά η εκδήλωση οξέος στεφανιαίου επεισοδίου ακολουθεί την εξής σειρά :

Ρήξη πλάκας → Θρόμβος → Οξέα στεφανιαία σύνδρομα
ασταθής στηθάγχη- έμφραγμα-αιφνίδιος θάνατος

Η έκβαση εξαρτάται από :

- την οξύτητα και το βαθμό απόφραξης με τον θρόμβο
- τη διάρκεια της απόφραξης



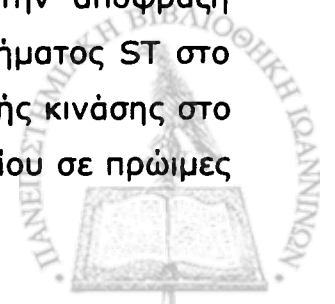
- την ικανότητα ανάπτυξης παράπλευρης κυκλοφορίας, τις μυοκαρδιακές ανάγκες.

Όξεία στεφανιαία σύνδρομα

Σε ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο, η στηθάγχη ή η σιωπηλή ισχαιμία συνήθως προκαλούνται από αύξηση των απαιτήσεων του μυοκαρδίου σε οξυγόνο η οποία ξεπερνάει την ικανότητα της στενωμένης στεφανιαίας αρτηρίας να αυξήσει την παροχή του. Αντιθέτως, η ασταθής στηθάγχη, το έμφραγμα χωρίς Q και το έμφραγμα με Q (σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να είναι και αυτά σιωπηλά) αποτελούν μια συνέχιση της προόδου της νόσου και συνήθως χαρακτηρίζονται από μια αιφνίδια μείωση της στεφανιαίας ροής. Έτσι, τοπικοί και συστηματικοί θρομβογόνοι παράγοντες τη στιγμή της ρήξης της αθηρωματικής πλάκας μπορεί να τροποποιήσουν την έκταση και τη διάρκεια της καθήλωσης του θρόμβου και ευθύνονται για την ποικιλία των παθολογοανατομικών και κλινικών εκδηλώσεων³.

Στην ασταθή στηθάγχη, μια σχετικά μικρή διάβρωση ή και ρήξη μιας αθηρωματικής πλάκας μπορούν να οδηγήσουν σε αιφνίδια αλλαγή στη δομή της πλάκας και μια μείωση στη στεφανιαία ροή, συντελώντας στην έναρξη ή την επιδείνωση της στηθάγχης. Μπορεί να συμβούν παροδικά επεισόδια απόφραξης με θρόμβο του αγγείου στην περιοχή της βλάβης της πλάκας με αποτέλεσμα τη στηθάγχη ηρεμίας. Ο θρόμβος αυτός συνήθως είναι ασταθής και συντελεί στην παροδική απόφραξη του αγγείου, διαρκώντας πιθανόν 10 έως 20 λεπτά. Επιπρόσθετα, η απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών από τα αιμοπετάλια και η αγγειοσύσπασση δευτεροπαθώς λόγω δυσλειτουργίας της ενδοθηλιακής χάλασης μπορεί να συμβάλουν στη μείωση της στεφανιαίας ροής⁵⁵. Γενικά, μεταβολές στην αιμάτωση και την παροχή οξυγόνου στο μυοκάρδιο πιθανόν να ευθύνονται για τα δύο τρίτα των επεισοδίων ασταθούς στηθάγχης, τα υπόλοιπα μπορεί να οφείλονται σε παροδικές αυξήσεις των αναγκών οξυγόνου του μυοκαρδίου.

Στα εμφράγματα μυοκαρδίου χωρίς Q, πιο σοβαρή βλάβη της πλάκας συντελεί σε περισσότερο σταθερή απόφραξη με θρόμβο, που πιθανόν να διαρκεί μέχρι 1 ώρα. Περίπου 25% των ασθενών με εμφράγματα μυοκαρδίου χωρίς Q έχουν απόφραξη του αγγείου που σχετίζεται με το έμφραγμα για περισσότερο από μια ώρα, αλλά η περιοχή που αρδεύεται από το αγγείο μετά την απόφραξη λαμβάνει αίμα από παράπλευρη κυκλοφορία. Η ανάρτηση του τμήματος ST στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, μια πρώιμη μεγίστη αύξηση της κρεατινικής κινάσης στο πλάσμα, και μια υψηλή συχνότητα βατότητας του υπεύθυνου αγγείου σε πρώιμες



αγγειογραφίες συνηγορούν για την άποψη αυτή. Η λύση επίσης του αγγειόσπασμου μπορεί να συμβάλλει παθογενετικά στα εμφράγματα χωρίς Q. Επομένως, η αυτόματη θρομβόλυση, η λύση του αγγειόσπασμου ή η παρουσία παράπλευρης κυκλοφορίας είναι σημαντικά στην δημιουργία εμφράγματος χωρίς Q μειώνοντας την ισχαιμία του μυοκαρδίου.

Στα εμφράγματα με Q, μεγαλύτερες διαβρώσεις στην πλάκα μπορεί να συντελούν σε ένα σταθερό και παραμένοντα θρόμβο. Αυτός συντελεί σε μια απότομη διακοπή της αιμάτωσης του μυοκαρδίου για περισσότερο από 1 ώρα, με αποτέλεσμα τη διατοιχωματική νέκρωση της περιοχής του μυοκαρδίου που αιματώνει το αγγείο. Η στεφανιαία βλάβη που είναι υπεύθυνη για το έμφραγμα είναι συνήθως ελαφρά έως μετρίως στενωτική πριν τη διάβρωση, πράγμα που δείχνει ότι η ρήξη της πλάκας με τον επικαθήμενο θρόμβο καθορίζουν την αιφνίδια απόφραξη του αγγείου και όχι η σοβαρότητα της υποκείμενης βλάβης του αγγείου. Υπάρχουν ενδείξεις ότι σε ασθενείς με σημαντική στένωση των στεφανιαίων αρτηριών, καλά αναπτυγμένο δίκτυο παράπλευρης κυκλοφορίας προλαμβάνει ή και μειώνει την έκταση του εμφράγματος. Πράγματι, σε σχεδόν άνω του 50% των ασθενών, η απόφραξη των στεφανιαίων, είτε σταδιακή είτε απότομη, συμβαίνει σε περιοχές με υψηλού βαθμού στένωση και δεν είναι κλινικά έκδηλη.

Μερικές περιπτώσεις αιφνίδιου καρδιακού θανάτου πιθανόν να οφείλονται σε ταχέως εξελισσόμενη στεφανιαία βλάβη στην οποία η ρήξη της πλάκας και η συνακόλουθη θρόμβωση οδηγούν σε ισχαιμία και θανατηφόρες κοιλιακές αρρυθμίες. Η απουσία παράπλευρης κυκλοφορίας στο μυοκάρδιο πέραν της απόφραξης ή και η παρουσία αιμοπεταλιακών μικροεμβόλων μπορεί να συμβάλουν στην εμφάνιση αιφνίδιου καρδιακού θανάτου³.



ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΝΟΣΟΥ

Η παθογένεση των οξέων στεφανιαίων επεισοδίων όπως προαναφέρθηκε οφείλεται σε ρήξη της αθηρωματικής πλάκας. Έχει βρεθεί όμως ότι μπορεί να μειωθεί ο κίνδυνος ρήξης της πλάκας με παρεμβάσεις επί των παραγόντων κινδύνου στεφανιαίας νόσου. Η διακοπή του καπνίσματος, η μείωση της αρτηριακής πίεσης και η μείωση της χοληστερόλης μειώνουν σημαντικά την εμφάνιση οξέων στεφανιαίων επεισοδίων. Έτσι η έννοια των παραγόντων κινδύνου έχει γίνει αναπόσπαστο στοιχείο στην κλινική εκτίμηση και την απόφαση που παίρνεται για ασθενείς που βρίσκονται σε κίνδυνο για εμφάνιση καρδιακού επεισοδίου ή υποτροπή.

Η θεωρία ότι μερικοί παράγοντες χρησιμεύουν σαν δείκτες κινδύνου για την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου προήλθε από πληθυσμιακές προοπτικές μελέτες, και κυρίως από τη μελέτη Framingham⁵⁶. Στη μελέτη αυτή όμως, 20% των ατόμων που έπαθαν έμφραγμα μυοκαρδίου δεν είχαν κανένα κύριο παράγοντα κινδύνου. Επίσης δεδομένα από την μελέτη United Kingdom Heart Disease Prevention Project δείχνουν ότι μέχρι και 50% των ατόμων που παθαίνουν στεφανιαία επεισόδια δεν έχουν κάποιον κύριο παράγοντα κινδύνου⁵⁷.

Οι παράγοντες κινδύνου αντιπροσωπεύουν συσχετίσεις με την νόσο, που μπορεί να είναι αιτιολογικές, μπορεί όμως και όχι. Η παρουσία τους σχετίζεται με μια αυξημένη πιθανότητα να εμφανισθεί η νόσος σύντομα ή και πολύ αργά. Μια μεγάλη σειρά ποικίλων παραγόντων επηρεάζει τον κίνδυνο αυτό, από προσωπικά χαρακτηριστικά έως εργαστηριακά ευρήματα. Ασφαλώς και δεν πρόκειται να εμφανίσει στεφανιαία νόσο ο καθένας που έχει παράγοντες κινδύνου. Ακόμη ο κίνδυνος εμφάνισης στεφανιαίας νόσου μπορεί να είναι πολύ μικρός ή πολύ μεγάλος σε απόλυτους όρους.

Η σπουδαιότητα ενός παράγοντα κινδύνου καθορίζεται:

1. από τη βιολογική σχέση του με τη διαδικασία της αθηροσκλήρυνσης
2. από τη στατιστική δύναμη της συσχέτισής του με μελλοντικά καρδιαγγειακά γεγονότα, δηλαδή το σχετικό κίνδυνο.
3. από το κατά πόσον μεταβολές αυτού (αυτόματες ή προκλητές) επηρεάζουν σημαντικά την κλινική πορεία της νόσου.

Σημαντικό θεωρείται το τρίτο σκέλος, και ιδιαίτερα αν τροποποίηση ή θεραπευτικές παρεμβάσεις στον παράγοντα κινδύνου, μειώνουν την επίπτωση των στεφανιαίων επεισοδίων.



Έτσι σύμφωνα με αυτό οι παράγοντες κινδύνου κατατάσσονται σε 4 κατηγορίες⁵⁸.

Κατηγορία I. *(Μειώνονται τα επεισόδια με τροποποίηση ή θεραπεία)*

- ✓ Κάπνισμα
- ✓ Χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας
- ✓ Υπέρταση
- ✓ Θρομβογόνοι παράγοντες

Κατηγορία II. *(Πιθανόν να μειώνονται τα επεισόδια με τροποποίηση ή θεραπεία)*

- ✓ Σακχαρώδης διαβήτης
- ✓ Μειωμένη φυσική δραστηριότητα
- ✓ Χοληστερόλη υψηλής πυκνότητας
- ✓ Παχυσαρκία
- ✓ Εμμηνόπαυση

Κατηγορία III. *(Άγνωστο αν μειώνονται τα επεισόδια με τροποποίηση ή θεραπεία)*

- ✓ Ψυχοκοινωνικοί παράγοντες
- ✓ Τριγλυκερίδια
- ✓ Λιποπρωτεΐνη (α)
- ✓ Ομοκυστεΐνη
- ✓ Οξειδωτικό stress
- ✓ Μέτρια κατανάλωση οινοπνεύματος

Κατηγορία IV. *(Μη τροποποιήσιμοι παράγοντες)*

- ✓ Ηλικία –Φύλο
- ✓ Οικογενειακό ιστορικό

Από την Αμερικάνικη Καρδιολογική Εταιρεία (ΑΗΑ) και το Αμερικάνικο Κολλέγιο Καρδιολόγων (ACC) εκδόθηκαν πρόσφατα οδηγίες προς τους γιατρούς για τον υπολογισμό του κινδύνου εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε ασθενείς με έναν ή περισσότερους παράγοντες κινδύνου⁵⁹. Οι παράγοντες κινδύνου ταξινομήθηκαν στις εξής κατηγορίες:



Κύριοι (αιτιολογικοί) παράγοντες κινδύνου

1. Κάπνισμα
2. Υπέρταση
3. Αυξημένη ολική και LDL χοληστερόλη
4. Μειωμένη HDL χοληστερόλη
5. Σακχαρώδης διαβήτης
6. Αυξημένη Ηλικία
7. Άρρεν φύλλο

Με βάση αυτούς τους παράγοντες και ανάλογα με τις τιμές τους υπολογίζεται ο κίνδυνος (απόλυτος και σχετικός) εμφάνισης στα επόμενα δέκα χρόνια στεφανιαίας νόσου.

Προδιαθεσικοί Παράγοντες κινδύνου

1. Παχυσαρκία
2. Κεντρική παχυσαρκία
3. Έλλειψη φυσικής άσκησης
4. Οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου
5. Εθνικοί παράγοντες
6. Κοινωνικοψυχολογικοί παράγοντες

Δυνητικοί παράγοντες κινδύνου

1. Αυξημένα τριγλυκερίδια
2. Μικρά μόρια LDL
3. Αυξημένη Ομοκυστεΐνη
4. Αυξημένη Lp(α)
5. Θρομβογόνοι παράγοντες (ινωδογόνο)
6. Φλεγμονώδεις δείκτες (C-αντιδρώσα πρωτεΐνη)

Κάπνισμα

Παρόλο που δεν αμφισβητείται η συσχέτιση του καπνίσματος με τις καρδιαγγειακές παθήσεις, εντούτοις δεν είναι γνωστοί πλήρως οι μηχανισμοί πρόκλησης αθηροσκλήρυνσης⁶⁰. Το κάπνισμα επιταχύνει την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας σύμφωνα με νεκροτομικές μελέτες^{61,62}. Είναι γνωστό ότι το κάπνισμα αυξάνει τα επίπεδα ινωδογόνου, τη δραστικότητα των αιμοπεταλίων και το ιξώδες του αίματος. Επίσης προκαλεί δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και αυξάνει τον αγγειακό τόνο⁶³. Επίσης μειώνει την HDL και προάγει την οξειδωση της LDL χοληστερόλης.

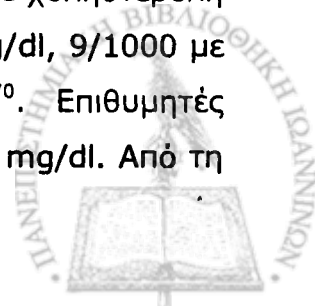
Ο κίνδυνος για καρδιαγγειακές παθήσεις στους καπνιστές έχει αναγνωρισθεί από την δεκαετία του 1960 όταν μελέτη των Γενικών Χειρουργών απέδειξε την



επιδημιολογική συσχέτιση. Η ίδια ομάδα το 1989 έδειξε δεδομένα από πολλές επιδημιολογικές μελέτες που δείχνουν ότι το κάπνισμα αυξάνει την καρδιαγγειακή θνησιμότητα κατά 50%. Το σημαντικό είναι ότι υπάρχει δοσοεξάρτηση. Ο σχετικός κίνδυνος για θανατηφόρα καρδιαγγειακή πάθηση είναι 5.5 φορές για τους βαρείς καπνιστές σε σχέση με τους μη καπνιστές. Ένας μέσος καπνιστής πεθαίνει 3 χρόνια νωρίτερα από ένα μη καπνιστή και ένας καπνιστής που είναι υψηλού κινδύνου για στεφανιαία νόσο πεθαίνει 10-15 χρόνια νωρίτερα. Το κάπνισμα ενισχύει τη δράση των άλλων παραγόντων κινδύνου, επιταχύνοντας την αθηροσκλήρυνση και επομένως την εμφάνιση καρδιαγγειακών επεισοδίων. Ειδικότερα από το κάπνισμα επηρεάζονται όλα τα επεισόδια που σχετίζονται με τη δημιουργία θρόμβου, την αστάθεια της πλάκας και αρρυθμίες. Κλινικές ενδείξεις των τελευταίων ετών δείχνουν ότι η διακοπή του καπνίσματος μειώνει τα καρδιαγγειακά συμβάμματα⁶⁴. Προοπτικές μελέτες δείχνουν ότι ο κίνδυνος για έμφραγμα μειώνεται γρηγορότερα από ότι ο συνολικός κίνδυνος για καρδιαγγειακά και μάλιστα τους πρώτους μήνες μετά τη διακοπή του καπνίσματος. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς που συνεχίζουν να καπνίζουν μετά το έμφραγμα έχουν αυξημένο κίνδυνο για θάνατο και επανέμφραγμα. Η αύξηση του κινδύνου κυμαίνεται από 22% μέχρι 47%. Παραδόξως αρκετές μελέτες πρώιμης θνητότητας σε οξύ έμφραγμα έχουν δείξει για τους καπνιστές καλύτερη επιβίωση. Αυτό ίσως οφείλεται στο ότι οι καπνιστές είναι νεώτεροι και έχουν μικρότερες βλάβες. Σημαντική επίσης θεωρείται η συμβολή του παθητικού καπνίσματος στην εμφάνιση καρδιαγγειακών νοσημάτων⁶⁵. Δεν υπάρχουν ωστόσο τυχαίοποιημένες μελέτες για τη διακοπή του καπνίσματος, καθώς θα ήταν αντιδεοντολογικό.

Υπερχοληστερολαιμία

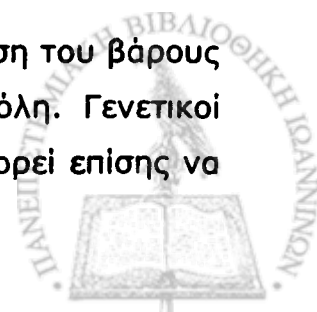
Η ολική χοληστερόλη σχετίζεται με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, μάλιστα με συνεχή και βαθμιαία μειούμενο κίνδυνο έως τιμές χοληστερόλης <180 mg/dl⁶⁶. Η εξήγηση για τον κίνδυνο αυτό αποδίδεται κυρίως στη συμμετοχή της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL) στην αθηρογένεση, ειδικά μέσω της οξειδωσής της^{67,68}. Οι επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν ότι για 1% διαφορά στα επίπεδα LDL αντιστοιχεί 2-3% διαφορά στον κίνδυνο για στεφανιαία νόσο⁶⁹. Από την μελέτη MRFIT προκύπτει ότι η συχνότητα θανάτου σε άνδρες με χοληστερόλη 140 mg/dl είναι 3.5/1000, γίνεται 5/1000 με χοληστερόλη 200 mg/dl, 9/1000 με χοληστερόλη 240 mg/dl και 18/1000 για τιμές 300 mg/dl⁷⁰. Επιθυμητές θεωρούνται τιμές ολικής χοληστερόλης <200 mg/dl και LDL <130 mg/dl. Από τη



μελέτη Framingham επίσης προκύπτει ότι μετά από 16 χρόνια παρακολούθησης η πλειονότητα των ατόμων που έπαθαν στεφανιαία νόσο είχε παρόμοιες τιμές ολικής χοληστερόλης με τα άτομα που δεν έπαθαν στεφανιαία νόσο (150-300 mg/dl). Το δεδομένο αυτό οδήγησε στην έρευνα της επίδρασης των διαφόρων λιποπρωτεϊνών στην αθηροσκλήρυνση και όχι μόνο της ολικής χοληστερόλης. Γενικά, οι λιποπρωτεΐνες αποτελούνται από ένα πυρήνα με χοληνεστερολικούς εστέρες και τριγλυκερίδια και ένα επιφανειακό στρώμα από μη εστεροποιημένη χοληστερόλη και φωσφολιπίδια, όπου μία ή περισσότερες απολιποπρωτεΐνες είναι εμπεδωμένες. Ανάλογα με την πυκνότητά τους κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες: λιποπρωτεΐνες χαμηλής πυκνότητας (VLDLs), λιποπρωτεΐνες ενδιάμεσης πυκνότητας (IDLs) και LDLs, HDLs. Οι λιποπρωτεΐνες αυτές μεταφέρουν τα ενδογενή λιπίδια. Άλλη μία λιποπρωτεΐνη, τα χυλομικρά, κυρίως μεταφέρουν τα τριγλυκερίδια από τη διατροφή, που καταβολίζονται ταχέως και φυσιολογικά δεν υπάρχουν στο πλάσμα νήστεως.

Οι διαφορετικές κατηγορίες λιποπρωτεϊνών έχουν ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στη σύνθεσή τους που επηρεάζουν το μεταβολισμό τους. Οι VLDL είναι πλούσιες σε τριγλυκερίδια, αλλά μεταφέρουν και μικρή ποσότητα χοληστερόλης. Οι IDL είναι υπολείμματα της λιπόλυσης των VLDL, προσλαμβάνονται κυρίως από το ήπαρ ή καταβολίζονται περαιτέρω σε LDL. Οι LDL και HDL λιποπρωτεΐνες είναι πλουσιότερες σε χοληστερόλη σε σχέση με τα χυλομικρά και τις VLDL. Οι LDL μεταφέρουν την περισσότερη από τη χοληστερόλη στο πλάσμα, και τα επίπεδα LDL στο πλάσμα αντανakλούν την κατάσταση παραγωγής και καταβολισμού των VLDL και IDL και την ικανότητα κάθαρσης της LDL. Η κάθαρση της LDL συμβαίνει κυρίως μέσω της οδού των υποδοχέων LDL. Η πρόσληψη της LDL γίνεται με τη μεσολάβηση της σύνδεσης της απολιποπρωτεΐνης B ή E στον υποδοχέα LDL (που εκφράζεται σχεδόν σε όλα τα κύτταρα, αλλά κυρίως στο ήπαρ) και συντελεί σε καταστολή της κυτταρικής σύνθεσης χοληστερόλης με αρνητική ανάδραση. Το 1977 πάλι από τη μελέτη Framingham αναφέρθηκε ότι η LDL χοληστερόλη προβλέπει καλύτερα την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου από ότι η ολική χοληστερόλη⁷¹. Μερικοί ερευνητές επίσης ανέφεραν ότι ακόμη και η απολιποπρωτεΐνη B είναι καλύτερος δείκτης κινδύνου από την LDL. Αυτό όμως δεν επιβεβαιώθηκε με άλλες μελέτες⁷².

Η χοληστερόλη αυξάνει με την αύξηση της ηλικίας, την αύξηση του βάρους σώματος και με διαίτα υψηλή σε κορεσμένα λίπη και χοληστερόλη. Γενετικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στην ποικιλία τιμών στον πληθυσμό. Μπορεί επίσης να



είναι αυξημένη σε υποθυρεοειδισμό, νεφρωσικό σύνδρομο, ηπατοπάθειες, ένδεια οιστρογόνων και διαταραχές των σφαιρινών. Τελευταίες μελέτες δείχνουν ότι η μείωση της LDL με θεραπευτικά μέσα επιβραδύνει ή και μειώνει την εξέλιξη της αθηροσκλήρυνσης σε αγγειογραφικές μελέτες αλλά το πιο σημαντικό είναι ότι μειώνει τα επεισόδια στηθάγχης και εμφράγματος. Σε μελέτες και δευτερογενούς πρόληψης με υπολιπιδαιμικά φάρμακα φάνηκε ότι η μείωση της LDL μειώνει το σχετικό κίνδυνο στεφανιαίου θανάτου από 25-40%⁷³⁻⁷⁵. Πιθανόν να συμβάλλουν στη μείωση ρήξης της αθηρωματικής πλάκας. Σε μελέτες πρωτοπαθούς πρόληψης φάνηκε ότι η μείωση της LDL κατά 1 mg/dl μειώνει τον σχετικό κίνδυνο για στεφανιαία νόσο κατά 1-2%.

Λιποπρωτεΐνη Υψηλής Πυκνότητας

Ο συνδυασμός υψηλής LDL, αυξημένων τριγλυκεριδίων και χαμηλών τιμών υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL) αυξάνουν συνεργητικά τον κίνδυνο σύμφωνα με τις μελέτες του Ελσίνκι⁷⁶ και του Μονάχου⁷⁷. Δεδομένα Αμερικανικών μελετών δείχνουν ότι για κάθε 1-mg/dl μείωση της HDL έχουμε αύξηση κινδύνου από 2-3%⁷⁸.

Η ευεργετική επίδραση των υψηλών τιμών HDL (>35 mg/dl) πιθανόν οφείλεται στο ρόλο τους στην μεταφορά της χοληστερόλης πίσω στο ήπαρ (ανάστροφη μεταφορά) και την εξαγωγή από το σώμα. Άλλοι πιθανοί μηχανισμοί είναι η αναστολή οξειδωσης των λιπιδίων, η αναστολή προσκόλλησης κυττάρων στο ενδοθήλιο και η αναστολή διέγερσης των αιμοπεταλίων^{79,80}.

Οι τιμές της εξαρτώνται πολύ από το οικογενειακό ιστορικό, το κάπνισμα, την παχυσαρκία και την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας. Συχνά συνυπάρχει και αύξηση τριγλυκεριδίων, υπολειμμάτων VLDL, μικρών-πυκνών LDL. Πιθανόν η αθηρογόνος δράση της HDL να οφείλεται στη συνύπαρξη των δυσλιπιδαιμικών αυτών παραγόντων, που δεν μετρώνται σαν ρουτίνα⁸¹.

Δεν μπορεί να μεταβληθεί εύκολα η τιμή τους με φάρμακα, όμως η φυσική άσκηση, η διακοπή καπνίσματος και η απώλεια βάρους την αυξάνουν. Χρησιμεύει κυρίως η μέτρησή της σε συνδυασμό με αυξημένη LDL για θεραπευτικούς χειρισμούς.

Υπέρταση

Αν και υπάρχουν τιμές αναφοράς για τη φυσιολογική συστολική (<130 mmHg) και τη διαστολική (<85 mmHg) αρτηριακή πίεση, εντούτοις οι μελέτες



δείχνουν ότι υπάρχει μια συνεχής συσχέτιση μεταξύ της μείωσης της πίεσης και της μείωσης του καρδιαγγειακού κινδύνου. Η παρουσία επιπλοκών από την υπέρταση (υπερτροφία αριστερής κοιλίας, αμφιβληστροειδοπάθεια και μειωμένη νεφρική λειτουργία) συνεπάγεται μεγαλύτερο κίνδυνο και έτσι η υπέρταση δεν θεωρείται απλώς παράγοντας κινδύνου, αλλά νόσος. Επειδή συνυπάρχει με άλλους παράγοντες κινδύνου είναι συχνά δύσκολο να εκτιμηθεί ο ρόλος της σαν ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου. Σε μια μεταανάλυση από τον MacMahon⁸² που περιέλαβε 400000 ασθενείς φάνηκε ότι ο σχετικός κίνδυνος για ασθενείς με τις υψηλότερες τιμές αρτηριακής πίεσης φθάνει το 3.0. Ο μηχανισμός αύξησης των στεφανιαίων επεισοδίων λόγω υπέρτασης έχει σχέση με τη βλάβη στα αγγεία και τη βλάβη στο μυοκάρδιο (αυξημένες ανάγκες σε οξυγόνο και αυξημένο τοιχωματική φόρτιση). Υπάρχουν δεδομένα ότι η μείωση της πίεσης ελαττώνει τα καρδιαγγειακά επεισόδια. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για τα εγκεφαλικά επεισόδια. Στα στεφανιαία επεισόδια η μείωση είναι μικρότερη, πιθανόν λόγω αθηρογόνου δράσης των αντιυπερτασικών (διουρητικά) και μείωσης παροχής αίματος από μια σοβαρά στενωμένη στεφανιαία αρτηρία επί πτώσης της αρτηριακής πίεσης. Είχε υπολογιστεί ότι αύξηση της διαστολικής πίεσης κατά 6 mmHg αυξάνει τα εγκεφαλικά επεισόδια κατά 40% και τα εμφράγματα κατά 30%. Μελέτες μείωσης φαρμακευτικά της διαστολικής πίεσης κατά 6 mmHg έδειξαν μείωση των εγκεφαλικών επεισοδίων κατά 42% και των εμφραγμάτων μόνο κατά 14% σε διάστημα 5 ετών θεραπείας⁸³. Πιθανόν η μείωση των εμφραγμάτων χρειάζεται περισσότερη διάρκεια θεραπείας.

Η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας λόγω υπέρτασης σχετίζεται επίσης με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Σε μελέτη από το Framingham φάνηκε ότι η μείωση (ηλεκτροκαρδιογραφικά κριτήρια) της υπερτροφίας με θεραπευτικά μέσα σχετιζόταν και με μείωση των καρδιαγγειακών επεισοδίων⁸⁴. Δεν υπάρχουν ακόμη παρόμοιες μελέτες με υπερηχογραφικά κριτήρια για την υπερτροφία της αριστερής κοιλίας.

Σακχαρώδης Διαβήτης

Οι διαβητικοί ασθενείς έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σύμφωνα με τη μελέτη Framingham⁸⁵. Αναγνωρίζεται σαν κύριος παράγοντας κινδύνου επειδή 65% των διαβητικών πεθαίνουν από καρδιαγγειακά αίτια. Επίσης 25% των καρδιαγγειακών επεισοδίων συμβαίνουν σε διαβητικούς⁸⁶.



Δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένοι οι μηχανισμοί πρόκλησης αθηροσκλήρυνσης, ούτε και αν μειώνονται τα καρδιακά επεισόδια με τη ρύθμιση της υπεργλυκαιμίας. Οι διαβητικοί ασθενείς έχουν συνήθως και άλλους παράγοντες κινδύνου όπως υπέρταση, χαμηλή χοληστερόλη HDL και υπερτριγλυκεριδαιμία. Επίσης πολλοί ασθενείς τύπου 2 (μη ινσουλινοεξαρτώμενοι) έχουν αντίσταση στην ινσουλίνη, υπερινσουλιναίμια και δυσλιπιδαιμία, που αναγνωρίζονται επίσης ως παράγοντες κινδύνου.

Επίπεδα γλυκόζης >126 mg/dl μετά από νηστεία, θεωρούνται παθολογικά. Επίσης η παθολογική ανοχή στη γλυκόζη είναι παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο.

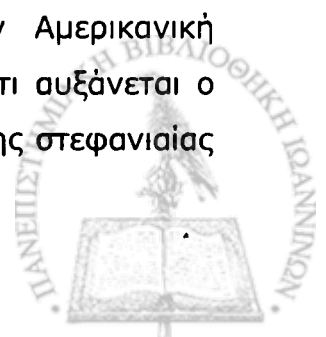
Οι διαβητικοί ασθενείς με στεφανιαία νόσο, έχουν μεγαλύτερη νοσηρότητα και θνησιμότητα από μη διαβητικούς ασθενείς. Στην μελέτη CASS οι διαβητικοί ασθενείς είχαν 57% αύξηση κινδύνου θανάτου από τους μη διαβητικούς. Η ρύθμιση των άλλων παραγόντων κινδύνου στους διαβητικούς, και ιδιαίτερα της χοληστερόλης, μειώνει σημαντικά την εμφάνιση στεφανιαίων επεισοδίων (μελέτη 4S, CARE, LIPID).

Παχυσαρκία

Η Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία καθορίζει την παχυσαρκία σαν κύριο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακό κίνδυνο, ιδιαίτερα όταν είναι κεντρογενούς κατανομής⁸⁷. Η παχυσαρκία τυπικά αυξάνει την αρτηριακή πίεση και τα επίπεδα χοληστερόλης^{88,89}. Επίσης μειώνει τα επίπεδα HDL, αυξάνει τα τριγλυκερίδια, προδιαθέτει σε διαβήτη τύπου 2, επηρεάζει τις μικρές πυκνές LDL, και παράγοντες που προάγουν την θρόμβωση⁹⁰. Η παχυσαρκία προδικάζει την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου ανεξάρτητα από άλλους παράγοντες. Άνδρες ηλικίας 40-65 ετών με δείκτη μάζας σώματος (BMI) 25-29 kg/m² (υπέρβαροι) παρουσίασαν στεφανιαία νόσο 72% πιο συχνά από μη παχύσαρκους⁹¹. Η παχυσαρκία ορίζεται ως BMI >30 Kg/m² και η κεντρογενής κατανομή στους άνδρες όταν η περιμέτρος της μέσης είναι άνω των 102cm.

Έλλειψη Φυσικής Άσκησης

Επίσης θεωρείται κύριος παράγοντας κινδύνου από την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία. Ακόμη και η μελέτη Framingham έδειξε ότι αυξάνεται ο καρδιαγγειακός κίνδυνος σε άτομα που δεν ασκούνται. Η μείωση της στεφανιαίας



νόσου με την άσκηση, πιθανόν να οφείλεται σε ευνοϊκή επίδραση σε άλλους παράγοντες κινδύνου.

Υπερτριγλυκεριδαιμία

Δεν θεωρείται κύριος παράγοντας κινδύνου, παρόλο που αρκετές μελέτες (και η Framingham) έδειξαν ότι είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου⁹². Σε μετα-ανάλυση 17 προοπτικών μελετών⁹³ σε 57000 άτομα βρέθηκε ότι η αύξηση των τριγλυκεριδίων κατά 88.6mg/dl σχετιζόταν με σχετικό κίνδυνο 1.32 για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου. Η υπερτριγλυκεριδαιμία συχνά συνυπάρχει με χαμηλά επίπεδα HDL, και μικρές πυκνές LDL. Προάγει τη θρόμβωση επειδή αυξάνονται οι παράγοντες I, VII, VIII, X και PAI-1. Οι πλούσιες σε τριγλυκερίδια λιποπρωτεΐνες είναι αθηρογόνες. Τα φάρμακα που μειώνουν τα τριγλυκερίδια και την LDL μειώνουν πολύ περισσότερο τα καρδιαγγειακά συμβάματα (Helsinki Heart Study), από ότι τα φάρμακα που μειώνουν μόνο την LDL (Lipid Research Clinics Study), πιθανόν λόγω αύξησης και της HDL. Η απώλεια βάρους, η μείωση κατανάλωσης θερμίδων, η φυσική άσκηση, η μείωση κατανάλωσης οινοπνεύματος και η διακοπή του καπνίσματος βοηθούν στη μείωση των τριγλυκεριδίων και πρέπει να συστήνονται στους ασθενείς.

Αυξημένη Λιποπρωτεΐνη (a)

Η λιποπρωτεΐνη (a) μοιάζει σε δομή με την LDL, αλλά έχει επιπρόσθετα μια γλυκοπρωτεΐνη, την απολιποπρωτεΐνη (a), που το μέγεθός της καθορίζεται γενετικά και διαφέρει μεταξύ των ανθρώπων. Οι τιμές Lp(a) δεν έχουν κανονική κατανομή και δεν επηρεάζονται από τη δίαιτα και την άσκηση. Λόγω ομοιότητας με το πλασμινογόνο το ανταγωνίζεται στις θέσεις σύνδεσης και μειώνεται έτσι η σύνθεση πλασμίνης και η ινωδολύση. Επίσης αυξάνει την εναπόθεση χοληστερόλης στα αγγεία, το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων, τη γένεση ελευθέρων ριζών οξυγόνου στα μονοκύτταρα και ευνοεί το χημειοτακτισμό των μονοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα⁹⁴. Όλες σχεδόν οι αναδρομικές μελέτες έχουν δείξει ότι η Lp(a) είναι συχνότερα υψηλή (>30mg/dl) στους ασθενείς από ότι στους μάρτυρες. Οι προοπτικές όμως μελέτες δεν συμφωνούν μεταξύ τους. Η μελέτη Framingham έδειξε⁹⁵ ότι η Lp(a) είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου. Άλλες μελέτες όμως, όπως η Physician Health Study δεν έδειξαν συσχέτιση με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου.



Η αδυναμία τυποποίησης των μεθόδων μέτρησης της $Lp(a)$, λόγω των διαφορετικών ισομορφών απολιποπρωτεΐνης (α) ίσως ευθύνεται για τα διαφορετικά αποτελέσματα των διαφόρων μελετών. Ελάχιστες μελέτες έχουν εξετάσει προοπτικά τη σχέση των ισομορφών $apo(a)$ και εμφάνισης στεφανιαίας νόσου⁹⁶. Η μέτρηση της $Lp(a)$ συστήνεται μόνο σε άτομα υψηλού κινδύνου και όχι στο γενικό πληθυσμό. Εξάλλου δεν υπάρχει τρόπος τροποποίησης με φάρμακα ή δίαιτα.

Θρομβογόνοι Παράγοντες

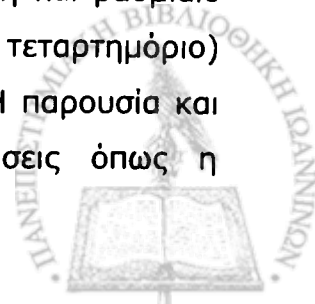
Είναι γνωστό ότι τα οξέα στεφανιαία επεισόδια οφείλονται σε θρόμβωση. Γνωρίζουμε επίσης ότι η θεραπεία με ασπιρίνη μειώνει τον κίνδυνο στεφανιαίων επεισοδίων και σαν πρωτογενής και σαν δευτερογενής πρόληψη. Όμως δεν έχει φανεί ότι η μείωση κάποιου θρομβογόνου παράγοντα μειώνει και τον κίνδυνο για εμφάνιση στεφανιαίου επεισοδίου. Το ότι οι θρομβογόνοι παράγοντες παίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση ενός εμφράγματος φαίνεται από το ότι οι γνωστοί παράγοντες κινδύνου (κάπνισμα, υπερχοληστερολαιμία, υπέρταση) ευθύνονται από μόνοι τους μόνο για το 1/3 των εμφραγμάτων.

Υπάρχουν παθήσεις που προδιαθέτουν για θρομβώσεις και έχει εντοπισθεί η υπεύθυνη ουσία, όπως η παρουσία αντιφωσφολιπιδιακών αντισωμάτων στον ερυθματώδη λύκο, η αυξημένη ομοκυστεΐνη σε ομοκυστινουρία, η έλλειψη αντιθρομβίνης III, πρωτεΐνης C και S. Η θεραπεία αυτών μειώνει τα θρομβωτικά επεισόδια (κυρίως στο φλεβικό δίκτυο).

Για τη στεφανιαία νόσο όμως φαίνεται ότι η δημιουργία θρόμβου έχει σχέση με πολύπλοκους μηχανισμούς και διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ μηχανισμών που προάγουν τη θρόμβωση και άλλων που οδώνουν τη λύση του θρόμβου.

Πολλοί αιμοστατικοί παράγοντες έχουν συσχετισθεί σε επιδημιολογικές μελέτες με τα στεφανιαία επεισόδια. Για όλες τις περιπτώσεις υπάρχει η αβεβαιότητα αν η παρατηρούμενη αύξηση των τιμών τους είναι πρωτογενής ανωμαλία ή δευτεροπαθής λόγω του επεισοδίου. Εξάλλου η δυσκολία μέτρησης αυτών δεν έχει επιτρέψει την καθιέρωσή τους στην καθημερινή κλινική πράξη.

Τα αυξημένα επίπεδα ινωδογόνου σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο στεφανιαίας νόσου σε προοπτικές μελέτες⁹⁷ και μάλιστα με συνεχή και βαθμιαίο κίνδυνο. Τα άτομα με τις υψηλότερες τιμές ινωδογόνου (ανώτερο τεταρτημόριο) έχουν διπλάσιο κίνδυνο από τα άτομα στο πρώτο τεταρτημόριο. Η παρουσία και αυξημένης χοληστερόλης εξαπλασιάζει τον κίνδυνο. Καταστάσεις όπως η



υπερτριγλυκεριδαιμία, η έλλειψη φυσικής δραστηριότητας και το κάπνισμα αυξάνουν το ινωδογόνο. Η άσκηση και η διακοπή του καπνίσματος μειώνουν το ινωδογόνο. Εν τούτοις το ινωδογόνο είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου. Η ασπιρίνη δεν μειώνει το ινωδογόνο, πιθανόν όμως να παρεμποδίζει την σύνδεσή του με το σύστημα πήξης.

Πόλλες μελέτες έχουν συσχετίσει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων με αγγειακή νόσο, και η παθολογική συσσώρευσή τους έχει συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο. Εν τούτοις η χορήγηση ασπιρίνης δεν έχει αιτιολογικά συσχετισθεί με αναστολή συσσώρευσης των αιμοπεταλίων.

Ο παράγοντας VII (η αυξημένη δραστηριότητά του) φαίνεται επίσης από προοπτικές μελέτες να είναι παράγοντας κινδύνου⁹⁸.

Άλλοι αιμοστατικοί παράγοντες είναι το αντιγόνο του αναστολέα του πλασμινογόνου 1, το αντιγόνο του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου ιστικού τύπου, ο παράγοντας von Willebrand, τα χαμηλά επίπεδα της πρωτεΐνης C και της αντιθρομβίνης III. Τα αντιπηκτικά πιθανόν να επηρεάζουν αυτούς τους παράγοντες.

Στον πίνακα 1 φαίνεται η προέλευση κάθε αιμοστατικού παράγοντα που συμμετέχει στην παθοφυσιολογία των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων⁹⁹.

Πίνακας 1. Θρομβογόνοι παράγοντες

Πήξη	F _{1,2} (τμήματα προθρομβίνης), σύμπλεγμα θρομβίνης αντιθρομβίνης (TAT), Ινωδοπεπτίδιο A (FPA), D-dimer
Ινωδολυτικό έλλειμμα	Αναστολέας ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI-1), σύμπλεγμα t-PA/PAI, πλασμίνη-α ₂ -αντιπλασμίνη
Αιμοπετάλια	Θρομβοξάνες, αιμοπεταλιακός παράγων -4, θρομβομοδουλίνη (TM), P-σελεκτίνη
Αγγειακή βλάβη	PAI-1, S-TM, προσκολλητικά μόρια (VCAM, ICAM), P, E, L selectins



Φλεγμονή και Λοιμώδη Αίτια

Η φλεγμονή είναι βασικός παθογενετικός μηχανισμός της αθηροθρόμβωσης και δείκτης προχωρημένης νόσου. Η αύξηση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης είναι ανεξάρτητος παράγοντας εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε προοπτικές μελέτες¹⁰⁰. Σε ασθενείς με μυοκαρδιακή νέκρωση υπάρχουν υψηλότερα επίπεδα CRP (20mg/dl) σε σχέση με την ασταθή στηθάγχη (0.3 mg/dl). Τα επίπεδα CRP σχετίζονται με την έκταση και τη σοβαρότητα της στεφανιαίας νόσου και με αιμοστατικούς, λιπιδαιμικούς και λοιμώδεις παράγοντες¹⁰¹. Λοιμώδη αίτια επίσης έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου όπως τα χλαμύδια πνευμονίας, ο κυτταρομεγαλοϊός και το ελικοβακτηρίδιο πυλωρού. Σε πειραματικά μοντέλα έχει προκληθεί αθηροσκλήρυνση με αυτά, και έχουν ανευρεθεί σε αθηρωματικές πλάκες ανθρώπων στελέχη τους¹⁰².

Ο ρόλος της χρόνιας λοίμωξης με *Helicobacter Pylori* παραμένει αβέβαιος για τη σχέση με στεφανιαία νόσο. Πολλές επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση¹⁰³, άλλες όμως δεν επιβεβαίωσαν τις προηγούμενες¹⁰⁴.

Πρόσφατα αναφέρθηκε από ερευνητές ότι και νεώτεροι δείκτες φλεγμονής, όπως η ιντερλευκίνη-6, ο παράγοντας νέκρωσης όγκων (TNF), προσκολλητικά μόρια ενδοθηλίου ICAM-1, είναι παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο. Δεν συστήνεται ακόμη η μέτρησή τους στο γενικό πληθυσμό¹⁰⁵.

Το κάπνισμα, η υπερχοληστερολαιμία, η υπέρταση και οι θρομβογόνοι παράγοντες είναι οι παράγοντες κινδύνου που θεωρούνται πλέον ότι έχουν αιτιολογική σχέση με τη στεφανιαία νόσο, μιας και η τροποποίησή τους επιδρά στην εξέλιξη της νόσου. Από τους υπόλοιπους παράγοντες των άλλων κατηγοριών, δηλαδή τον διαβήτη, την παχυσαρκία, τα χαμηλά επίπεδα HDL, την υψηλή Lp(a), τα υψηλά τριγλυκερίδια, τις χρόνιες λοιμώξεις και την υπερομοκυστεϊναιμία, ο μόνος παράγοντας που τροποποιείται εύκολα και χωρίς κόστος και παρενέργειες, είναι η υπερομοκυστεϊναιμία.

Η χορήγηση φυλλικού οξέος μειώνει τα επίπεδα ομοκυστεϊνης εύκολα και με ασφάλεια. Δεν είναι βέβαια γνωστό αν αυτό επηρεάζει την εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου.

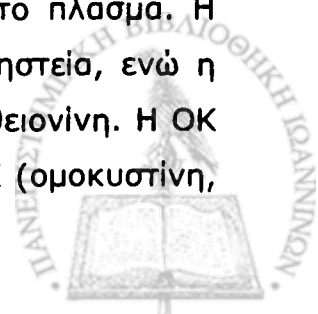


Η ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗ ΚΑΙ ΤΟ ΦΥΛΛΙΚΟ ΟΞΥ ΣΑΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.

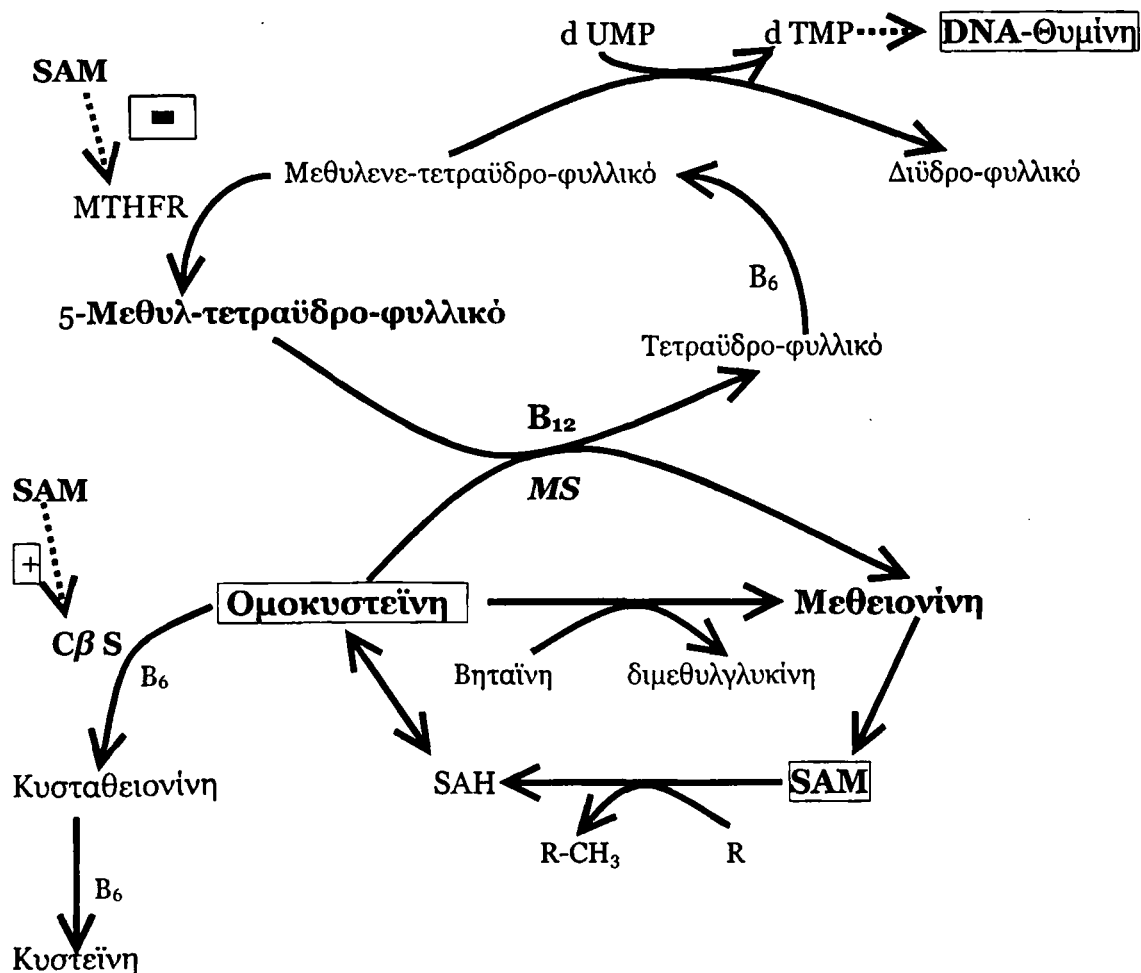
Η ομοκυστεΐνη (ΟΚ) είναι ένα αμινοξύ με θειική ομάδα που είναι ενδιάμεσος μεταβολίτης στον μεταβολισμό της μεθειονίνης. Η ομοκυστινουρία είναι μια διαταραχή του μεταβολισμού της ΟΚ, που συνήθως οφείλεται σε ένδεια της β-συνθάσης της κυσταθειονίνης και συνοδεύεται με τιμές ΟΚ πλάσματος άνω των 100 μμολ/L. Η ομοκυστινουρία προκαλεί επιπλοκές από το κεντρικό νευρικό σύστημα, τον σκελετό, τους οφθαλμούς και τα αγγεία¹⁰⁶. Η πρώτη υπόθεση ότι η ΟΚ μπορεί να προκαλεί αθηροσκλήρυνση έγινε το 1969 από τον McCully¹⁰⁷. Η αγγειακή νόσος σε ασθενείς με ομοκυστινουρία χαρακτηρίζεται από πρόωμη αθηροσκλήρυνση και θρόμβωση, με ένα ποσοστό 60% των ασθενών να παρουσιάζουν καρδιαγγειακά επεισόδια πριν την ηλικία των 40 ετών¹⁰⁶. Το γεγονός ότι η αθηροσκλήρυνση συμβαίνει επί ελλείψεως της β-συνθάσης της κυσταθειονίνης, της μεθυλοτετραϋδροφυλλικής αναγωγάσης (MTHFR) και της μεθυλενο-τεραϋδροφυλλικής -ομοκυστεΐνης μεθυλοτρανσφεράσης συνεπάγεται ότι τα υψηλά επίπεδα ΟΚ μάλλον και όχι η αυξημένη μεθειονίνη, προδιαθέτουν τους ασθενείς για αθηροσκλήρυνση¹⁰⁸. Τα τελευταία χρόνια υπάρχουν δεδομένα που δείχνουν ότι ακόμη και η μέτρια αύξηση της ΟΚ μπορεί να είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για αθηροσκλήρυνση στο γενικό πληθυσμό.

Βιοχημεία και μεταβολισμός

Η ΟΚ σχηματίζεται κατά το μεταβολισμό της Μεθειονίνης που είναι ένα απαραίτητο αμινοξύ με θειική ομάδα (σχ. 1). Η μεθειονίνη είναι ο κύριος δότης μεθυλομάδων στα θηλαστικά. Η ΟΚ μεταβολίζεται, με επαναμεθυλίωση, σε Μεθειονίνη, και με διαθείωση σε κυσταθειονίνη. Η επαναμεθυλίωση μπορεί να γίνει με το ένζυμο συνθάση της μεθειονίνης και δότη μεθυλομάδας, το 5-μεθυλοτετραϋδροφυλλικό (παράγωγο του φυλλικού οξέος), ή με μεθυλίωση με την βεταΐνη-ομοκυστεΐνική μεθυλοτρανσφεράση και δότη μεθυλομάδας σ' αυτή την περίπτωση τη βηταΐνη. Η βιταμίνη B₁₂ είναι απαραίτητο συνένζυμο της συνθάσης της μεθειονίνης. Η τρανσθείωση της ΟΚ σε Κυστεΐνη καταλύεται από την β-συνθάση της κυσταθειονίνης, η διαδικασία αυτή απαιτεί σαν απαραίτητο συνένζυμο την βιταμίνη B₆ (Πυριδοξίνη) (σχ.1)^{109,110}. Η επαναμεθυλίωση και η διαθείωση ευθύνονται εξίσου για την απομάκρυνση της ΟΚ από το πλάσμα. Η επαναμεθυλίωση καθορίζει κυρίως τα επίπεδα της ΟΚ μετά από νηστεία, ενώ η διαθείωση και οι διαταραχές της συνδυάζονται και με αυξημένη μεθειονίνη. Η ΟΚ βρίσκεται στο πλάσμα σαν ελεύθερη ΟΚ (1%), σαν δισουλφίδιο ΟΚ (ομοκυστίνη,



10%), σαν ΟΚ-Κυστεΐνη μικτό δισουλφίδιο (10%) και σε μορφή συνδεδεμένη με πρωτεΐνες (80%)¹¹¹. Οι σύγχρονες μέθοδοι μετρούν το άθροισμα και των 4 τύπων, και τα αποτελέσματα με αυτές τις μεθόδους αναφέρονται στην ομοκυστ(ε)ΐνη. Η συγκέντρωση της ΟΚ στο πλάσμα μετά από νηστεία ρυθμίζεται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες και είναι συνήθως σχεδόν 10 μμολ/L, με τιμές στο 95% των ασθενών έως 15 μμολ/L¹¹².



Σχήμα 1. Το Φυλλικό στον μεταβολισμό του DNA και της Ομοκυστεΐνης. Φαίνονται οι δύο κύριες μεταβολικές δράσεις του φυλλικού:
 α) η σύνθεση του DNA με το ρόλο του στην μετατροπή της μονοφωσφορικής δεσοξουριδίνης σε δεσοξυθυμιδίνη, και
 β) η σύνθεση της S-αδενοσυλμεθειονίνης (SAM) με τον ρόλο της στη μετατροπή της Ομοκυστεΐνης σε μεθειονίνη. Η αντίδραση αυτή καταλύεται από τη συνθάση της μεθειονίνης (MS) και απαιτεί σαν συνένζυμο την B₁₂.



Αίτια υπερομοκυστεϊναιμίας

Τα επίπεδα ΟΚ είναι αυξημένα στους άνδρες, στους ηλικιωμένους και στην εμμηνόπαυση¹¹³⁻¹¹⁵. Οι μαύροι έχουν μικρότερα επίπεδα ΟΚ από τους λευκούς¹¹⁶.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα ομοκυστεϊνης είναι οι ακόλουθοι.

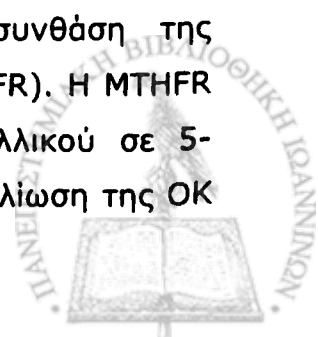
ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Το κάπνισμα, η κατανάλωση καφέ και το χαμηλό φυλλικό οξύ αυξάνουν τα επίπεδα ΟΚ^{115,117,118}. Η διαίτα παίζει σπουδαίο ρόλο στη ρύθμιση των επιπέδων της ΟΚ. Δίαιτα που συνίσταται σε πράσινα φυλλώδη λαχανικά, φρούτα, χυμό πορτοκαλιού και δημητριακά σχετίζεται με χαμηλή ΟΚ και υψηλά επίπεδα φυλλικού οξέος¹¹⁹. Αν και η απότομη λήψη μεθειονίνης αυξάνει οξέως τα επίπεδα της ΟΚ στο πλάσμα, η μακροχρόνια κατανάλωση διαίτας υψηλής σε πρωτεΐνες έχει φανεί ότι σχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα ΟΚ¹¹⁷. Αυτό ίσως να οφείλεται σε ένα πιο επαρκή καταβολισμό της ΟΚ με την ενεργοποίηση των ενζύμων που καταβολίζουν την ΟΚ. Το φυλλικό οξύ και η βιταμίνη Β₁₂ είναι απαραίτητα για την επαναμεθυλίωση της ΟΚ, η ένδεια αυτών ακόμη και υποκλινική μπορεί να αυξήσει τα επίπεδα της ΟΚ μέσω μειωμένης επαναμεθυλίωσης¹²⁰. Η βιταμίνη Β₆ είναι απαραίτητη για τη διαθείωση της ΟΚ με την β-συνθάση της κυσταθειονίνης, και η έλλειψή της επίσης προκαλεί υπερομοκυστεϊναιμία, ιδιαίτερα σε καταστάσεις φόρτισης με μεθειονίνη. Η ένδεια φυλλικών φαίνεται να είναι ο ισχυρότερος καθοριστής της μέτριας υπερομοκυστεϊναιμίας, αν και η ένδεια των βιταμινών Β₆ και Β₁₂ είναι επίσης σημαντικές. Ο ηλικιωμένος πληθυσμός είναι ιδιαίτερα επιρρεπής στην ανάπτυξη υποκλινικής ένδειας βιταμινών, και ένα ποσοστό 30-35% των ηλικιωμένων ασθενών έχει μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία^{121,122}.

Διατμητικές μελέτες έδειξαν ότι η πρόσληψη ΦΟ με τη διατροφή και τα επίπεδά του στο αίμα σχετίζονται αρνητικά με τα επίπεδα της ΟΚ στο πλάσμα^{122,123}.

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η υπερομοκυστεϊναιμία μπορεί να συμβεί λόγω γενετικών ελλείψεων στα ένζυμα που καταβολίζουν την ΟΚ, με πιο συχνά την β-συνθάση της κυσταθειονίνης, και τη μεθυλοτετραυδροφυλλική αναγωγή (MTHFR). Η MTHFR είναι υπεύθυνη για την αναγωγή του 5,10-μεθυλοτετραϋδροφυλλικού σε 5-μεθυλοτετραυδροϋλλικό, που είναι απαραίτητο για την επαναμεθυλίωση της ΟΚ



(σχ.1). Επομένως η μειωμένη δραστηριότητα της MTHFR έμμεσα αποκλείει την επαναμεθυλίωση της OK. Η πιο συχνή αλλαγή στο γονίδιο της MTHFR είναι μια μετάλλαξη σημείου (C₆₇₇T) που προκαλεί αντικατάσταση της αλανίνης σε βαλίνη. Η συχνότητα του αλληλίου της μετάλλαξης του MTHFR C₆₇₇T είναι 35%, με την ομόζυγη μορφή σε συχνότητα 12% στους λευκούς της Βορείου Αμερικής¹²⁴. Η ομόζυγη μορφή της μετάλλαξης C₆₇₇T χαρακτηρίζεται από μια θερμοευαίσθητη MTHFR, της οποίας η ειδική δραστηριότητα μειώνεται στο ήμισυ. Μερικές μελέτες έχουν δείξει θετική συσχέτιση μεταξύ της MTHFR θερμοευαισθησίας και αθηροσκλήρυνσης¹²⁵, ενώ άλλες μελέτες δεν έχουν επιβεβαιώσει αυτή τη συσχέτιση¹²⁶⁻¹²⁸. Σε άτομα γενικού πληθυσμού βρέθηκε θετική συσχέτιση της υπερομοκυστεϊναιμίας με το πάχος της καρωτίδας αλλά όχι με την C₆₇₇T μετάλλαξη της MTHFR¹²⁹. Σε άτομα με το γονότυπο C₆₇₇T, η προδιάθεση για υπερομοκυστεϊναιμία εξαρτάται από την πρόσληψη φυλλικού^{130,131}. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρονται και από τη γειτονική μας Τουρκία¹³² και Ιταλία¹³³. Η αλληλεπίδραση αυτή μπορεί να εξηγεί τα αντικρουόμενα αποτελέσματα για τη σχέση του γονότυπου της MTHFR και της αθηροσκλήρυνσης. Σε νέα άτομα (<50 ετών) με στεφανιαία νόσο η μετάλλαξη αυτή, δεν σχετιζόταν από μόνη της με την ύπαρξη της νόσου, αλλά σε συνδυασμό και με χαμηλό φυλλικό οξύ¹³⁴. Σε μετα-ανάλυση 35 αναδρομικών εργασιών βρέθηκε ότι ο σχετικός κίνδυνος αγγειοπάθειας ήταν 1.12 στα άτομα με γονότυπο TT (ομόζυγοι 34% και στους ασθενείς και τους μάρτυρες)¹³⁵. Παρόμοια ευρήματα υπάρχουν και σε πρόσφατη μελέτη σε υγιή άτομα και άτομα με εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση¹³⁶.

Σε μια αντιπροσωπευτική μελέτη 39 ασθενών με περιφερική αγγειοπάθεια και μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία, η θερμοευαισθησία της MTHFR υπήρχε στο 28%, η ετερόζυγη μορφή της κυσταθειονίνης β-συνθάσης σε 10%, ένδεια φυλλικού πλάσματος σε 5% και ένδεια B₁₂ σε 3%, με το 54% των ασθενών να μην έχουν προφανή αιτία¹³⁷.

Αυξημένα επίπεδα OK παρατηρούνται σε αρκετές συστηματικές παθήσεις (Πίνακας 2). Πιθανόν η πιο σημαντική αιτία υπερομοκυστεϊναιμίας είναι η νεφρική δυσλειτουργία, στην οποία η συγκέντρωση OK στο πλάσμα μπορεί να φτάσει τα 40-50 μmol/L. Τα επίπεδα OK αυξάνονται με τη λήψη αρκετών φαρμάκων, όπως τα αντιεπιληπτικά και το νικοτινικό οξύ (Πίνακας 2).



Πίνακας 2. Αίτια υπερομοκυστεϊναιμίας

Φυσιολογικοί παράγοντες <ul style="list-style-type: none">✓ Αυξημένη ηλικία✓ Άνδρες✓ Εμμηνόπαυση✓ Μακροχρόνια δίαιτα υψηλή σε Μεθειονίνη	Γενετικοί παράγοντες <ul style="list-style-type: none">✓ Έλλειψη β-συνθάσης της κυσταθειονίνης✓ Μετάλλαξη C₆₇₇T της MTHFR✓ Έλλειψη της μεθειονίνης συνθάσης✓ Έλλειψη της μεθυλενο τετραϋδροφυλλικής ΟΚ μεθυλοτρανσφεράσης
Διαιτητικοί παράγοντες <ul style="list-style-type: none">✓ Κάπνισμα✓ Κατανάλωση καφέ	Συστηματικές παθήσεις <ul style="list-style-type: none">✓ Ηπατικές παθήσεις✓ Νεφρική ανεπάρκεια✓ Σακχαρώδης διαβήτης✓ Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος✓ Ψωρίαση✓ Νευρογενής ανορεξία✓ Υποθυρεοειδισμός✓ Κακοήθειες: μαστός, ωοθήκες, πάγκρεας✓ Οξεία λεμφοβλατική λευχαιμία✓ Μεταμοσχεύσεις συμπαγών οργάνων
Ένδεια βιταμινών <ul style="list-style-type: none">✓ Ένδεια φυλλικού οξέος✓ Ένδεια κοβαλαμίνης (B₁₂)✓ Ένδεια πυριδοξίνης (B₆)	
Φάρμακα <p>Μεθοτρεξάτη, φαινυτοΐνη, αντιεπιληπτικά, αζαθειοπρίνη, θεοφυλλίνη, μετμορφίνη, θειαζιδικά διουρητικά, κολεστιπόλη, νικοτινικό οξύ και αντισυλληπτικά από του στόματος.</p>	

Επιδημιολογικά δεδομένα

Σε μια μετα-ανάλυση⁴ που έγινε σε 29 εργασίες που δημοσιεύτηκαν μέχρι το 1995 βρέθηκε ότι ο σχετικός κίνδυνος της υπερομοκυστεϊναιμίας για στεφανιαία νόσο ήταν 1.7 (1.5-1.9) σε 15 εργασίες. Για αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ο σχετικός κίνδυνος ήταν 2.5 (2.0-3.0) σε 9 εργασίες και για περιφερική αγγειοπάθεια ήταν 6.8 (2.9-15.8) σε 5 εργασίες. Έκτοτε έχουν δημοσιευθεί μέχρι τώρα άλλες 25 εργασίες αναδρομικές, με παρόμοια αποτελέσματα (μόνο 4 εργασίες δεν επιβεβαίωσαν τη σχέση αυτή). Από τις εργασίες που έγιναν προοπτικά, και έχουν μεγαλύτερη αξία στην επιδημιολογική έρευνα, με μελέτη δηλαδή πληθυσμού χωρίς στεφανιαία νόσο, έξι εργασίες έδειξαν σχέση της υπερομοκυστεϊναιμίας με την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου, πέντε εργασίες όμως δεν ανέδειξαν τέτοια σχέση.

Στους πίνακες 3, 4, 5 και 6 που ακολουθούν φαίνονται οι κυριότερες μελέτες για τη σχέση της υπερομοκυστεϊναιμίας και της ένδειας των βιταμινών με τις εκδηλώσεις αθηροσκλήρυνσης.



Πίνακας 3. Υπερομοκυστεΐναιμία και Ανατομική Έκταση της Αθηροσκληρώσεως

Μελέτη	Σχεδιασμός	Κριτήριο	Συμμετοχή	Ηλικία	Έκβαση	Ομοκυστεΐνη (μέση τιμή)		Αποτέλεσμα
						Ασθενείς	Μάρτυρες	
Malinow ¹³⁸	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Δείγμα πληθυσμού (ARIC)	287 ασθενείς 287 μάρτυρες		Πάχος έσω χιτώνα καρωτιδας	9.26	8.32	OR 3.15 (CI 1.57-6.32)
Aronow ¹³⁹	Περιπτώσεις - μάρτυρες		121 άνδρες 79 γυναίκες	60-99	Στένωση έξω καρωτιδας (ασθενείς 40-100%, υγιείς 0-39%)	Άνδρες 19 Γυναίκες 17	Άνδρες 14 Γυναίκες 13	p=0.003 άνδρες p<0.001 γυναίκες
Tonstad ¹⁴⁰	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Παιδιά με οικογενειακό ιστορικό	90 ασθενείς 30 μάρτυρες	10-19	Πάχος καρωτιδας	Αγόρια 6.7 Κορίτσια 6.0	Αγόρια 6.3 Κορίτσια 6.3	r= 0.22 (συσχέτιση OK με πάχος)
Clarke ¹⁴¹	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Ετεροζυγώτες β-συνθάσης της κυσταθειονίνης - μάρτυρες	25 ασθενείς 21 μάρτυρες		Πάχος καρωτιδας	56	16	OR 1.04 (CI 1.0-1.07)
Selhub ¹⁴²	Διατημητικές	Framingham cohort	1041 ενήλικες	67-96	Στένωση καρωτιδος >25%			OR 2.0 (CI 1.4-2.9)
Verhoeve ¹⁴³	Περιπτώσεις - μάρτυρες	ΣΝ σε αγγειογραφία	131 ασθενείς 101 μάρτυρες	25-65	Στένωση στεφανιαίων	13.5	12.5	OR 1.3(CI 1.0-1.6)
Montalescot ¹⁴⁴	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Ασθενείς με ΣΝ, Περιφ.αγ	75 ασθενείς 75 μάρτυρες		Στένωση στεφανιαίων	11.7	9.9	r= 0.25 (συσχέτιση OK με έκταση ΣΝ)
Van den Berg ¹⁴⁵	Διατημητικές	Περιφερική αγγειοπάθεια	171 ασθενείς	<55	Αγγειογραφική Περ.αγ			OR 4.0 (CI 1.6-9.9)
Konecky ¹⁴⁶	Διατημητικές	Διοισοφάνιο υπερηχογράφημα	156 άτομα	30-89	Αθηρωματικές πλάκες σαρτής			r=0.63 (συσχέτιση OK και έκταση πλάκων)

ΣΝ= Στεφανιαία νόσος, CI= Διάστημα αξιοπιστίας, OR: Odds ratio (σχέση πιθανοτήτων, σχετικός κίνδυνος), OK: Ομοκυστεΐνη



Πίνακας 4. Πρόσφατες αναδρομικές μελέτες Ομοκυστεΐνης και καρδιαγγειακού κινδύνου.

Μελέτη	Σχεδιασμός	Επιλογή ασθενών	Συμμετέχοντες	Ηλικία	Ομοκυστεΐνη		Αποτέλεσμα
					Ασθενείς	Μάρτυρες	
Gratham ¹⁴⁷	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Καρδιαγγειακή νόσος	750 ασθενείς 800 μάρτυρες	47.2 ± 0.3	11.3	9.7	RR 2.2 (CI 1.6-2.9)
Markus ¹⁴⁸	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Ισχαιμικό ΑΕΕ	160 ασθενείς 75 μάρτυρες	65 (μέση τιμή)	1.32 (log OK)	1.27	P = 0.09
Lingren ¹⁴⁹	Περιπτώσεις - μάρτυρες	ΑΕΕ	162 ασθενείς 79 μάρτυρες	>50	13.4	13.8	P = NS
Hopkins ¹⁵⁰	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Στεφ. νόσος	304 ασθενείς 231 μάρτυρες	62 ± 11	Άνδρες 13.7 Γυναίκες 12.6	Άνδρες 11.3 Γυναίκες 8.9	OR 13.8 (CI 3.5-55) OR 12.8 (CI 2.0-82) OK >19 με OK<9
Dalery ¹⁵¹	Περιπτώσεις - μάρτυρες	ΣΝ με θετική στεφανιογραφία	420 ασθενείς 521 μάρτυρες	25-64	Άνδρες 11.7 γυναίκες 12.0	Άνδρες 9.7 γυναίκες 7.6	P<0.001 P<0.01
Robinson ¹⁵²	Περιπτώσεις - μάρτυρες	ΣΝ με θετική στεφανιογραφία	162 ασθενείς 155 μάρτυρες	38-68	Άνδρες 13.9 Γυναίκες 15.3	Άνδρες 11.2 Γυναίκες 10.1	OR 0.29(CI 1.7-4.7) OR 3.5(CI 1.4-8.5)
Malinow ¹⁵³	Περιπτώσεις - μάρτυρες	Εμφραγμα μυοκαρδίου	150 ασθενείς 584 μάρτυρες	20-59	Ιρλανδία 15.5 Γαλλία 16.7	Ιρλανδία 14.7 Γαλλία 12.9	OR 3.42 (CI 1.6-7.2) OR 5.18 (CI 2.9-9.3)
Alfthan ¹⁵⁴	Διατηρητικές	Υγιείς	1990 άνδρες	40-49	↑ OK όπου	↑ θνητότης καρδιαγγειακή	R=0.71 μεταξύ OK και καρδιαγγειακού θανάτου

ΣΝ= Στεφανιαία νόσος. CI= Διάστημα αξιοπιστίας. OR: Odds ratio (σχέση πιθανοτήτων, σχετικός κίνδυνος). OK: Ομοκυστεΐνη



Πίνακας 5. Προοπτικές μελέτες ομοκοστεινής και κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου

Μελέτη	Σχεδιασμός	Πληθυσμός	Συμμετέχοντες	Ηλικία (έτη)	Follow-up (έτη)	Τελικό συμβαμα	Ομοκοστεινή		Σχετικός κίνδυνος
							Ασθενείς	Μάρτυρες	
Stampfer ¹⁵⁵ Ph.Health S	Nested case-control	14916 άνδρες ιατροί	271 ασθενείς 271 μάρτυρες	40-84	5	Έμφραγμα καρδιακός θάνατος	11.1	10.5	3.4 (1.3-8.8)
Wald ¹⁵⁶	Nested case-control	21520 άνδρες	229 ασθενείς 1126 μάρτυρες	35-64	8.7	Καρδιακός θάνατος	>15.2	<10.3	2.9(2.04-4.1)
Arneson ¹⁵⁷	Nested case-control	10963 άνδρες 10863 γυναίκες	123 ασθενείς 492 μάρτυρες	12-61	3.5	ΣΝ	12.7	11.3	1.41(1.16-1.71)
Perry ¹⁵⁸	Nested case-control	5661 άνδρες	107 ασθενείς 118 μάρτυρες	40-59	12.8	AEE	13.7	11.9	2.8(1.3-5.9)
Nygaard ¹⁵⁹	Nested case-control	587 ανδ-γυν με ΣΝ	64 ασθενείς	62	4.6	Καρδιακός θάνατος	>20	<9.0	4.5(1.22-16.6)
Stehouwer ¹⁶⁰	Nested case-control	878 άνδρες	162 ασθενείς	64-84	10	Έμφραγμα AEE			1.81(1.07-3.08) 4.61(1.18-11.8)
Petri ¹⁶¹	Nested case-control	337 ασθενείς με Συα. Ερ. Λύκο	60 ασθενείς	34.9 ± 11.7	4.8	AEE Θρόμβωση			2.44(1.22-1.43) 3.49(0.97-12.5)
Bois ¹⁶²	Nested case-control	7983 άνδρες και γυναίκες	224 ασθενείς 533 μάρτυρες	>55	2.7	AEE Έμφραγμα	18.4 17.3	15.2	2.53(1.19-5.35) 2.43(1.11-5.35)
Chasan- Taber ¹⁶³	Nested case-control	14916 άνδρες ιατροί	333 ασθενείς 333 μάρτυρες	40-84	7.5	Έμφραγμα Καρδιακός θάνατος			1.7(0.9-3.3)
Verhoeff ¹⁶⁴ Ph.Health S	Nested case-control	14916 άνδρες ιατροί	109 ασθενείς 427 μάρτυρες	40-84	5	Ισχαιμικό AEE	11.4	10.6	1.2(0.7-2.0)
Verhoeff ¹⁶⁵ Ph.Health S	Nested case-control	14916 άνδρες ιατροί	149 ασθενείς 149 μάρτυρες	40-84	9	Στηθάγχη, CABG	10.9	10.4	1.0(0.4-2.4)
Alfthan ¹⁶⁶	Nested case-control	7424 άνδρες και γυναίκες	265 ασθενείς 269 μάρτυρες	40-64	9	Έμφραγμα AEE	Ανδ. 9.9 Γυν. 9.6	Ανδ. 9.8 Γυν. 9.3	1.05(0.56-1.95) 1.22(0.66-2.78)
Evans ¹⁶⁷ MRFIT	Nested case-control	12866 άνδρες	93 EM-186 μαρτ 147 θαν-286 μρ	35-57	11-17	Έμφραγμα Καρδιακός θάνατος	12.6 12.8	13.1 12.7	0.82(0.55-1.54)
Folsom ¹⁶⁸ ARIC	Nested case-control	15792 άνδρες	232 ασθενείς 537 μάρτυρες	45-64	3.3	Όλα Καρδιαγγειακά συμβάματα	8.9	8.5	1.28(0.5-3.2)

ΣΝ= Στεφανιαία νόσος, CI= Διάστημα αξιοπιστίας, OR: Odds ratio, Nested case-control: Ένθετες περιπτώσεις-μάρτυρες.

Πίνακας 6. Φυλλικό Οξύ, βιταμίνη Β₆, Β₁₂ και καρδιαγγειακός κίνδυνος

Μελέτη	Σχεδιασμός	Επιλογή	Συμμετέχοντες	Ηλικία (έτη)	Follow-up (έτη)	Αποτελέσματα
De Bree ¹⁶⁹	Προοπτική	5056 άτομα	165 καρδιακοί θάνατοι	35-79	15	RR 1.69 (1.11-2.61)
Verhoeff ¹⁷⁰	Προοπτική	14916 άνδρες ιατρούς	333 με Έμφραγμα	40-84	7.5	RR 1.4 (0.9-2.3)
Morrison ¹⁷¹	Προοπτική	15792 άτομα	232 με Στεφανιαία Νόσο	45-64	3.3	RR 0.66 (0.3-1.5) για υψηλό φυλλικό RR 0.28 (0.1-0.7) για υψηλή Β ₆ RR 0.81 (0.4-1.8) για υψηλή Β ₁₂
Giles ¹⁷²	Προοπτική	14407 άτομα	98 με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο	35-74	13	RR 1.37 (0.82-2.29) φυλλικό 9.2 μmol/L
Rimm ¹⁷³	Προοπτική	80082 γυναίκες	658 με Έμφραγμα και καρδιακό θάνατο	30-55	14	RR 0.69 (0.55-0.87) για υψηλό φυλλικό RR 0.67 (0.53-0.85) για υψηλή Β ₆
Robinson ¹⁷⁴	Αναδρομική Case-control		750 άνδ - γυν με καρδιαγγειακή νόσο 800 μάρτυρες	47.2±0.3		OR 1.50 (1.03-2.20) για χαμηλό φυλλικό OR 1.84 (1.39-2.42) για χαμηλή Β ₆ OR 1.19 (0.80-1.76) για χαμηλή Β ₁₂
Verhoeff ¹⁷⁵	Αναδρομική Case-control		130 ασθενείς με έμφραγμα	57.7±9.3		P=0.03 για φυλλικό P=0.005 για βιταμίνη Β ₆ P= NS για Β ₁₂

RR (relative risk): σχετικός κίνδυνος, OR: Odds ratio



ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΑΓΓΕΙΟΠΑΘΕΙΑ

Διατμητικές μελέτες έχουν δείξει μια συσχέτιση μεταξύ των υψηλών επιπέδων ΟΚ και περιφερικής αρτηριοπάθειας¹⁷⁶⁻¹⁷⁸. Ο αυξημένος κίνδυνος για αγγειοπάθεια από την υψηλή ΟΚ είναι παρόμοιος με αυτόν από τους άλλους κύριους παράγοντες κινδύνου και ανεξάρτητος από αυτούς τους παράγοντες^{179,180}. Ο σχετικός κίνδυνος για περιφερική αγγειοπάθεια έχει βρεθεί να είναι 1.7 για επίπεδα ΟΚ νήστεως άνω των 12μmol/L και 1.2 για επίπεδα ΟΚ άνω των 38μmol/L μετά φόρτιση με Μεθειονίνη, μετά από εξομάλυνση με τους συνήθεις παράγοντες κινδύνου¹³⁴. Όμως μερικές προοπτικές μελέτες δεν έχουν βρει καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ΟΚ και περιφερικής αγγειοπάθειας^{181,182}. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η επιδείνωση της συμπτωματικής περιφερικής αγγειοπάθειας και η θνητότητα από καρδιαγγειακά νοσήματα είναι πιο συχνή σε ασθενείς με αυξημένα επίπεδα ΟΚ¹⁸³.

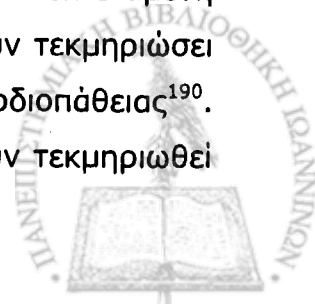
ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟΣ

Τα αυξημένα επίπεδα ΟΚ έχει δείχθει ότι σχετίζονται με εγκεφαλική αγγειακή νόσο σε τουλάχιστον έξι μελέτες case-control⁴. Πρόσφατες προοπτικές μελέτες επιβεβαίωσαν αυτή την σχέση^{184,185}.

Η υπερομοκυστεϊναιμία (άνω τεταρτημόριο του πληθυσμού) σχετίζεται με ένα σχετικό κίνδυνο 1.7 για ΟΚ νήστεως και 1.9 με ΟΚ μετά από φόρτιση με Μεθειονίνη. Έχει επίσης αναφερθεί θετική συσχέτιση μεταξύ ΟΚ και εξωκρανιακής αθηροσκλήρυνσης των καρωτίδων¹⁸⁶. Επίσης είναι παράγοντας κινδύνου για αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο σε παιδιά¹⁸⁷.

ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ

Τα αυξημένα επίπεδα ΟΚ σχετίζονται με ισχαιμική καρδιοπάθεια στους άνδρες και τις γυναίκες σύμφωνα με διατμητικές μελέτες^{4,188}. Μια μεταανάλυση έχει δείξει ότι μια αύξηση της ΟΚ κατά 5μmol/L σχετίζεται με 60% υψηλότερη επίπτωση στεφανιαίας νόσου, παρόμοια με μια αύξηση της χοληστερόλης κατά 20 mg/dl⁴. Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη, ο σχετικός κίνδυνος ήταν 2 για υπερομοκυστεϊναιμία με και χωρίς φόρτιση με μεθειονίνη¹³⁴. Η υπερομοκυστεϊναιμία σχετίζεται με περισσότερο σοβαρή και εκτεταμένη στεφανιαία αθηροσκλήρυνση¹⁸⁹. Λίγες διατμητικές μελέτες δεν έχουν τεκμηριώσει συσχέτιση μεταξύ της υπερομοκυστεϊναιμίας και της ισχαιμικής καρδιοπάθειας¹⁹⁰. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα ευρήματα των διατμητικών μελετών έχουν τεκμηριωθεί



και σε προοπτικές μελέτες, συμπεριλαμβανόμενης και της Physicians Health Study¹⁹¹, στην οποία συγκεντρώσεις OK άνω του 16 μmol/L προδικάζαν 3.4 φορές αύξηση της επίπτωσης εμφράγματος μυοκαρδίου. Στην πρόσφατη προοπτική μελέτη της British United Provident Association¹⁹², ο κίνδυνος για στεφανιαία νόσο στα άτομα του ανώτερου τεταρτημορίου τιμών OK ήταν 2.9 φορές μεγαλύτερος από τα άτομα στο κατώτερο τεταρτημόριο τιμών OK. Σε άλλη προοπτική μελέτη, τα αυξημένα επίπεδα OK σχετιζόνταν ισχυρά με την επίπτωση στεφανιαίας νόσου και τον κίνδυνο θανάτου από αυτήν, αλλά όχι με κίνδυνο για πρώτο έμφραγμα¹⁴⁰. Σε ηλικιωμένα επίσης άτομα φάνηκε ότι εκείνοι με αυξημένη ομοκυστεΐνη (>18 mmol/dl) είχαν σχετικό κίνδυνο 2.43 να πάθουν έμφραγμα και 2.53 αγγειακό εγκεφαλικό τα επόμενα 2 χρόνια από τη μέτρηση¹⁹³. Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε και άλλη μελέτη μετά από 10 χρόνια παρακολούθησης¹⁹⁴. Τα επίπεδα ομοκυστεΐνης σχετίζονται επίσης και με ολική θνησιμότητα πέραν της στεφανιαίας νόσου, σύμφωνα με τη μελέτη Framingham¹⁹⁵ και με μελέτη από το Ισραήλ¹⁹⁶. Και σε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αυξάνεται ο κίνδυνος καρδιακών επεισοδίων κατά 2 φορές επί υψηλής ομοκυστεΐνης σύμφωνα με την μελέτη Women's Health Study, που περιλαμβάνει παρακολούθηση 28263 γυναικών από το 1993¹⁹⁷. Ακόμη και σε παιδιά με οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου η ομοκυστεΐνη ήταν υψηλότερη από παιδιά υγιών γονέων¹⁹⁸. Τα επίπεδα της OK φαίνεται να είναι ο ισχυρότερος καθοριστής θνησιμότητας σε μια προοπτική μελέτη με αγγειογραφικά τεκμηριωμένη στεφανιαία νόσο και προηγούμενο έμφραγμα. Ο σχετικός κίνδυνος θανάτου (συγκρινόμενος με επίπεδα OK < 9 μmol/l) ήταν 1.9 για ασθενείς με επίπεδα OK 9-14.9 μmol/l, ήταν 2.8 για OK 15-19.9 μmol/l και 4.5 για επίπεδα OK άνω των 20 μmol/l¹⁹⁹. Στην μελέτη αυτή η OK ήταν περισσότερο στενά συνδεδεμένη με τις επιπλοκές της αθηροσκλήρυνσης παρά με την αγγειογραφική έκταση της αθηροσκλήρυνσης. Όμως, δύο πρόσφατες προοπτικές μελέτες δεν έχουν τεκμηριώσει μια συσχέτιση μεταξύ της OK και της στεφανιαίας νόσου^{200,201}.

Είναι πιθανόν ότι η σχέση μεταξύ της ομοκυστεΐνης και της στεφανιαίας νόσου υπάρχει επειδή η ομοκυστεΐνη είναι ένας δείκτης για έναν άλλο παράγοντα κινδύνου, π.χ έλλειψη βιταμινών Β, όπως αναφέρεται σε άρθρο σύνταξης με αφορμή τα αρνητικά αποτελέσματα για την σχέση της ομοκυστεΐνης με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου στη μελέτη ARIC¹⁶⁸.



ΦΛΕΒΟΘΡΟΜΒΩΣΗ

Μια μεταανάλυση της υπερομοκυστεϊναιμίας σαν παράγοντα κινδύνου για φλεβοθρόμβωση έδειξε σχετικό κίνδυνο για φλεβοθρόμβωση 2.2 φορές στα άτομα με αυξημένη ομοκυστεΐνη, που αυξάνεται σε μια μελέτη στα 4.4 όταν αποκλειστούν ασθενείς άνω των 60 ετών²⁰². Η αλληλεπίδραση και με άλλους παράγοντες (παράγοντας V Leiden) αυξάνει το σχετικό κίνδυνο σε 21.8, από 3.4 μόνη της, σύμφωνα με τη Physicians Health Study²⁰³.

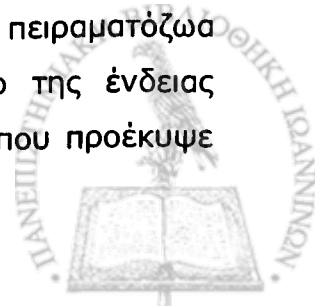
Μηχανισμοί Επιδράσεων της Ομοκυστεΐνης

Οι καταστροφικές επιδράσεις της OK στο καρδιαγγειακό σύστημα μπορούν να εξηγηθούν εν μέρει μέσω των δύο αλληλοσυνδεόμενων διαδικασιών: (1) θρόμβωσης και (2) αθηροσκλήρυνσης (Σχήμα 2).

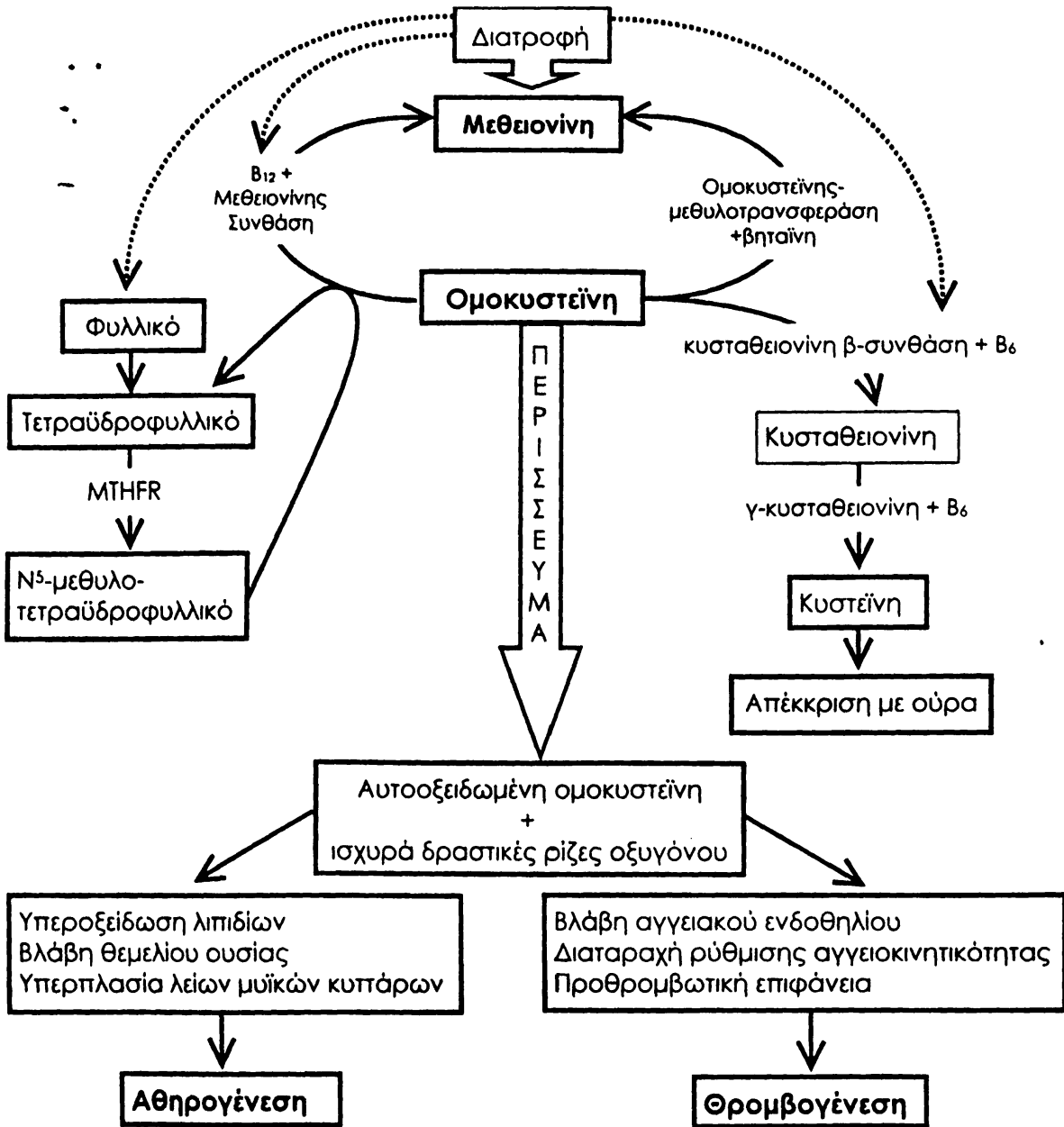
ΘΡΟΜΒΩΣΗ

Η έναρξη της πήξης μπορεί να ενισχυθεί με την OK επειδή σε υψηλές συγκεντρώσεις (300 μmol/l) προάγει την έκφραση και την ενεργοποίηση του ιστικού παράγοντα των ενδοθηλιακών κυττάρων *in vitro*²⁰⁴. Η OK επίσης έμμεσα αυξάνει την ενεργοποίηση του ενδοθηλιακού κυτταρικού παράγοντα 5 (θρομβογόνο)²⁰⁵ και απενεργοποιεί τις αντιπηκτικές ουσίες πρωτεΐνη C και θρομβομοδουλίνη, προάγοντας έτσι τον σχηματισμό του θρόμβου²⁰⁶. Επιπλέον, φυσιολογικές συγκεντρώσεις της OK (8 μmol/l) οδώνουν τη σύνδεση της λιποπρωτεΐνης (α) με το ινώδες, με αποτέλεσμα να μην ενεργοποιηθεί το πλασμινογόνο και να γίνει ινωδόλυση²⁰⁷. Τελικά η OK προάγει *in vitro* την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και μονοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Η OK δεν επηρεάζει σταθερά την παραγωγή από το ενδοθήλιο της προστακυκλίνης²⁰⁸, αν και φαίνεται να ερεθίζει τα αιμοπετάλια για παραγωγή της θρομβοξάνης A₂, αγγειοσυσπαστικής προστακυκλίνης που προάγει τη συσσώρευση αιμοπεταλίων¹⁵⁶. Τελευταία δεδομένα δείχνουν επίσης ότι η OK αναστέλλει άμεσα τη σύνδεση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου με την κυρίως αννεξίνη II²⁰⁹. Αυτό αναμένεται να αναστέλλει τη θρομβόλυση και επομένως να προάγει την θρόμβωση. Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες επίσης η υπερομοκυστεϊναιμία σχετίζεται με την ενδοθηλίνη και τον παράγοντα von Willebrand αλλά δε σχετίζεται με δυσλειτουργία ενδοθηλίου²¹⁰. Σε πειραματόζωα αρουραίους, όπως αναφέρθηκε και στο κεφάλαιο για το ρόλο της ένδειας φυλλικών στην καρδιαγγειακή παθολογία, η υπερομοκυστεϊναιμία που προέκυψε



από φόρτιση με μεθειονίνη και ένδεια φυλλικών ενίσχυσε τη συσσώρευση αιμοπεταλίων, τη σύνθεση θρομβοξαάνης και τη δραστικότητα του ιστικού παράγοντα από τα μακροφάγα^{16,211}.

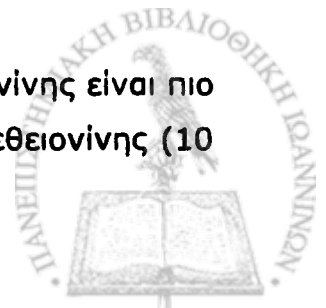


Σχήμα 2. Μεταβολισμός Ομοκυστεΐνης - Μηχανισμοί παθογόνου δράσης.

ΑΘΗΡΟΣΚΛΗΡΥΝΣΗ

Βλάβη στο Ενδοθήλιο

Τα κύτταρα με μέτρια έλλειψη της β-συνθάσης της κυσταθειονίνης είναι πιο ευαίσθητα στην καταστροφή σε έκθεση υψηλών συγκεντρώσεων μεθειονίνης (10

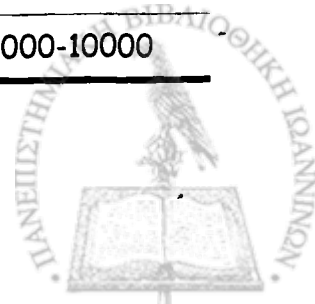


nmol/L)²¹². Υψηλή συγκέντρωση OK (10 nmol/L) καταστρέφει καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα²¹³. Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η OK αναστέλλει τη σύνθεση DNA σε ενδοθηλιακά αγγειακά κύτταρα και σταματάει την ανάπτυξη τους στη φάση G1 του κυτταρικού κύκλου²¹⁴. Η υψηλή συγκέντρωση OK (5 nmol/L) διαταράσσει την παραγωγή οξειδίου του αζώτου από καλλιέργεια ενδοθηλιακών κυττάρων²¹⁵. Αν και το οξείδιο του αζώτου που προέρχεται από το ενδοθήλιο φαίνεται να ρυθμίζει την καταστροφική επίδραση της OK με το σχηματισμό μιας αγγειοδιασταλτικής, αντισυσσωρευτικής ουσίας, της S-νιτροζοθειόλης, η βλάβη που προκαλείται από την OK τελικά προλαμβάνει τον σχηματισμό του απαραίτητου οξειδίου του αζώτου για προφύλαξη του ενδοθηλίου. Οι περισσότερες μελέτες σε καλλιέργειες κυττάρων χρησιμοποίησαν μεγάλες ποσότητες OK και έτσι τα αποτελέσματα αυτών ίσως δεν ανταποκρίνονται σε ότι συμβαίνει στον ζώντα οργανισμό και με μικρότερες τιμές OK.

Στον πίνακα 7 φαίνονται οι κυριότερες εργασίες και η συγκέντρωση OK που χρησιμοποιήθηκε.

Πίνακας 7. Επίδραση ομοκουστεΐνης σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων.

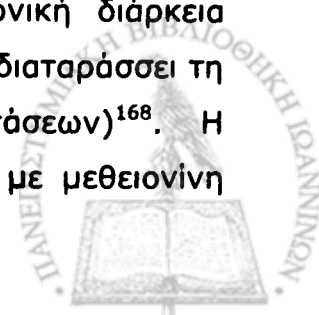
Μελέτη	Δράση	Συγκέντρωση OK
Rodgers ²⁰⁵	Ενεργοποίηση παράγοντα πήξης V	500-1000 μmol/L
Rodgers ²¹⁶	Διαταραχή ενεργοποίησης πρωτεΐνης C	1000-5000
Lentz ²⁰⁶	Διαταραχή ενεργοποίησης πρωτεΐνης C	1000-5000
Hayashi ²¹⁷	Διαταραχή ενεργοποίησης πρωτεΐνης C	1000-5000
Lentz ²¹⁸	Διαταραχή έκκρισης Von Willebrand	1000-5000
Fryer ²¹⁹	Ενεργοποίηση ιστικού παράγοντα	100-10000
Nishinaga ²²⁰	Διαταραχή σύνθεσης θειικής ηπαρίνης	100-1000
Hajjar ²²¹	Διαταραχή πρόσδεσης ιστικού πλασμινογόνου	100-7500
Stamler ²²²	Μείωση βιοδιαθεσιμότητας μονοξειδίου αζώτου	100-1000
Urchurch ²²³	Μείωση δραστηριότητας γλουταθειονικής υπεροξειδάσης	50-5000
Wang ²²⁴	Μείωση παραγωγής προστακυκλίνης	1000-10000
Kokame ²²⁵	Έκφραση γονιδίων σε απάντηση stress	3000-10000



Ο Lenz et al²²⁶ χρησιμοποιώντας δίαιτα εμπλουτισμένη με μεθειονίνη και ένδεια σε φυλλικά προκάλεσε μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία (10μmol/L) σε πιθήκους. Τα ζώα αυτά λαμβάνοντας για 4 εβδομάδες αυτή την δίαιτα χωρίς να υπάρχουν ενδείξεις αθηροσκλήρυνσης παρουσίασαν διαταραχή της αγγειοδιαστολής που εξαρτάται από το ενδοθήλιο *in vitro* και *in vivo*. Είναι ενδιαφέρον ότι, οι πίθηκοι που αναπτύσσουν αθηροσλήρυνση με δίαιτα πλούσια σε χοληστερίνη παρουσιάζουν υπερομοκυστεϊναιμία που μπορεί να αναστραφεί με την χορήγηση συμπληρώματος βιταμινών Β, όμως η επάνοδος στο φυσιολογικό της ΟΚ δεν βελτιώνει την δυσλειτουργία του ενδοθηλίου στο πειραματικό αυτό μοντέλο, επομένως η υπερχοληστεριναιμία ή η αθηροσκλήρυνση ίσως τροποποιούν τις επιδράσεις της ΟΚ.

Σε ανθρώπους, οι κυκλοφορούντες δείκτες καταστροφής του ενδοθηλίου (παράγων von Willebrand και θρομβομοδουλίνη) είναι αυξημένοι σε ασθενείς με αγγειοπάθεια και μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία, αν και αυτό θα αναμενόταν σε ασθενείς με προϋπάρχουσα αθηροσκλήρυνση²²⁷, όμως οι συγκεντρώσεις του παράγοντα von Willebrand και της θρομβομοδουλίνης μειώνονται μετά την επάνοδο της ΟΚ σε φυσιολογικές τιμές με την χορήγηση βιταμίνης Β₁₂ και φυλλικού. Η αγγειοδιαστολή της βραχιονίου αρτηρίας που προκαλείται από αυξημένη ροή (δείκτης ενδοθηλιακής λειτουργίας) διαταράσσεται σημαντικά σε ασθενείς με σοβαρή υπερομοκυστεϊναιμία που είναι ομόζυγοι στην έλλειψη της CBS κυσταθειονίνης β-συνθετάσης²²⁸. Ηλικιωμένοι ασθενείς με υπερομοκυστεϊναιμία παρουσιάζουν διαταραγμένη αγγειοδιαστολή της βραχιονίου αρτηρίας²²⁹. Η μείωση της ΟΚ με χορήγηση βιταμινών Β επαναφέρει στο φυσιολογικό την αγγειοδιαστολή της βραχιονίου αρτηρίας που προκαλείται από αυξημένη ροή²³⁰.

Πρόσφατες μελέτες έχουν περιγράψει λεπτομερώς τη σχέση μεταξύ της αυξημένης ΟΚ και της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας χρησιμοποιώντας τη χορήγηση μεθειονίνης πειραματικά για να προκαλέσουν μέτρια υπερομοκυστεϊναιμία. Η φόρτιση με μεθειονίνη αυξάνει τη συγκέντρωση της ΟΚ στο πλάσμα σχεδόν στα 25 μmol/L σε νέα άτομα, και διαταράσσει τη διάταση που εξαρτάται από το ενδοθήλιο επί αυξημένης ροής, σε μεγάλες αρτηρίες²³¹⁻²³³. Η χρονική διάρκεια της διαταραχής αυτής συμβαδίζει με τη χρονική διάρκεια αύξησης των συγκεντρώσεων ΟΚ. Η φόρτιση με μεθειονίνη επίσης διαταράσσει τη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου στα μικρά αγγεία (αντιστάσεων)¹⁶⁸. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου που προκαλείται από τη φόρτιση με μεθειονίνη



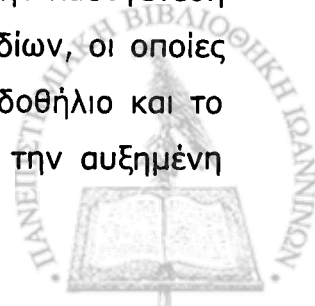
μπορεί να αναστραφεί με υψηλές δόσεις φυλλικού²³⁴⁻²³⁶ και βιταμίνης C^{237,238} πιθανόν λόγω της ύπαρξης αυξημένου οξειδωτικού stress. Επίσης και με βιταμίνη E διορθώνεται η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και των παραγόντων που προάγουν την θρόμβωση²³⁹. Όμως, πρόσφατη μελέτη σε πειραματόζωα δεν έδειξε ευνοϊκή επίδραση του φυλλικού σε αθηρωματικές βλάβες και συμβάμματα από υπερομοκυστεϊναιμία²⁴⁰.

Λείες μυϊκές ίνες

Η ομόζυγη ομοκυστινουρία σχετίζεται με υπερτροφία του αρτηριακού τοιχώματος των καρωτίδων και αθηροσκλήρυνση της αορτής, που αντανακλούν υπερπλασία των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων²⁴¹. Η OK διεγείρει τις οδούς που προάγουν την ανάπτυξη με σήματα π.χ. μιτογόνο-ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, προάγοντας τη μιτογένεση²⁴². Η OK επίσης αυξάνει την σύνθεση DNA στα ανθρώπινα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και αυξάνει έτσι την υπερπλασία αυτών και την έκφραση του κολλαγόνου^{243,244}. Επιπρόσθετα, η OK αυξάνει τη μιτογενή απόκριση του προερχόμενου από τα αιμοπετάλια αυξητικού παράγοντα κατά 4 φορές στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, πιθανό με διαταραχή των αντιοξειδωτικών ενζύμων²⁴⁵. Ακόμη η OK επηρεάζει τα ογκογονίδια c-fos και c-myc και αυξάνει τη σύνθεση DNA και την υπερπλασία των κυττάρων κατά 12 φορές στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων των νεύρων²⁴⁶. Τελικώς η OK διεγείρει την κινάση που εξαρτάται από την κυκλίνη στο πλάσμα και την αορτή, που πιθανόν συνεισφέρουν στην ανάπτυξη του λείου μυϊκού χιτώνα των αγγείων^{247,248}.

Οξειδωτικές επιδράσεις

Η OK έχει ιδιότητες που προάγουν την οξείδωση δημιουργώντας υπεροξειδίο του υδρογόνου με την παρουσία χαλκού και σερουλοπλασμίνης²⁴⁹. Το υπεροξειδίο του υδρογόνου που δημιουργείται από την OK μπορεί να καταστρέψει καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων, και η διαδικασία αυτή προλαμβάνεται με καταλάση. Η OK προκαλεί οξείδωση της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης²⁵⁰ και ίσως έτσι προάγει την πρόσληψη της τροποποιημένης χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL) από τα κύτταρα, μια σημαντική διαδικασία στην παθογένεση της αθηροσκλήρυνσης²⁵¹. Η OK επίσης δημιουργεί ρίζες υπεροξειδίων, οι οποίες αναστέλλουν τη διαστολή των αγγείων που εξαρτάται από το ενδοθήλιο και το οξειδίο του αζώτου αδρανοποιώντας αυτό^{252,253}. Επιπρόσθετα με την αυξημένη



παραγωγή υπεροξειδίων και ριζών οξειδίων, η ΟΚ έχει δείχθει πρόσφατα ότι αναστέλλει τα ενδοκυττάρια αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, μειώνοντας έτσι την ικανότητα των κυττάρων να εξουδετερώνουν τα οξειδία^{254,255}. Η ΟΚ δρα συνεργικά με το υπεροξειδιο για να προκαλέσει καταστροφή των μιτοχονδρίων και η ενδοκυττάρια γλουταθειόνη παίζει ένα προστατευτικό ρόλο να προλάβει την καταστροφή αυτή²⁵⁶, η ενδοκυττάρια γλουταθειόνη όμως, μειώνεται σημαντικά από την ΟΚ²⁵⁷.

Σχέση με Υπέρταση

Η ΟΚ μπορεί επίσης να επιδεινώνει την αθηροσκλήρυνση προάγοντας την υπέρταση. Μετά από εξομάλυνση προς άλλους κύριους παράγοντες κινδύνου, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της ΟΚ και της μεμονωμένης συστολικής υπέρτασης στους ηλικιωμένους²⁵⁸. Σε μικρούς χοίρους, η πειραματική υπερομοκουστεϊναιμία που προκαλείται από χρόνια χορήγηση μεθειονίνη αυξάνει και τη συστολική και τη διαστολική πίεση²⁵⁹. Αυτή η αύξηση συνοδεύεται από πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος, ρήξη του ελαστικού στοιχείου του αγγειακού τοιχώματος και υπερτροφία των ενδοθηλιακών κυττάρων και ρήξη. Η πρόσφατη παρατήρηση ότι η μέτρια υπερομοκουστεϊναιμία ταχέως προκαλεί δυσλειτουργία του ενδοθηλίου στα αγγεία αντιστάσεως μπορεί να βοηθήσει στην εξήγηση της συσχέτισης της ΟΚ με την υπέρταση.

Επιπολασμός - Θεραπεία υπερομοκουστεϊναιμίας

Η χρησιμοποίηση αυτοματοποιημένων μεθόδων μέτρησης της Ομοκουστεϊνης και του φυλλικού οξέος έδωσε την δυνατότητα μελέτης αυτών σε μεγάλα δείγματα πληθυσμού. Πρόσφατα ανακοινώθηκαν τα αποτελέσματα της NHANES III που καθορίζουν σαν υψηλά τα επίπεδα Ομοκουστεϊνης >11.4 μmol/L Επίσης επιβεβαιώθηκε ότι στα 2/3 των περιπτώσεων υψηλής Ομοκουστεϊνης υπήρχε χαμηλότερη συγκέντρωση κυρίως φυλλικού οξέος (<6.2 μmol/L για ενήλικες και <3.5 μmol/L για έφηβους)²⁶⁰. Προς το παρόν η Ομοκουστεϊνη πρέπει να μετράται σε άτομα υψηλού κινδύνου για καρδιαγγειακές παθήσεις και πάσχοντες, όταν δεν υπάρχουν άλλοι παράγοντες κινδύνου. Η επίπτωση στον γενικό πληθυσμό είναι 5%, ενώ σε πάσχοντες 13-47%.

Σε άτομα με οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου ή εγκεφαλικό επεισόδιο²⁶¹ οι τιμές ομοκουστεϊνης το πρώτο 24ωρο είναι κατά 40% μικρότερες από μετέπειτα



μετρήσεις²⁶². Δεν είναι γνωστό αν αυτό οφείλεται στο οξύ επεισόδιο (stress), ή η μετέπειτα αύξηση οφείλεται σε άλλους παράγοντες που έχουν σχέση με φυσιολογικές αλλαγές ή διαιτητικές συνήθειες. Η συσχέτιση υψηλής ομοκυστεΐνης και στεφανιαίας νόσου κυρίως από αναδρομικές μελέτες και όχι προοπτικές, ενισχύει την υπόθεση αυτή²⁶³.

Από το 1998 έχουν ξεκινήσει μελέτες θεραπείας της υπερομοκυστεΐναιμίας όπως φαίνεται και στον πίνακα 8.

Από το 1995 η υπηρεσία FDA στις ΗΠΑ έδωσε άδεια να προστεθεί στα δημητριακά που καταναλώνονται από τον πληθυσμό, φυλλικό οξύ με σκοπό την μείωση των γεννήσεων ατόμων με δισχιδή ράχη. Φαίνεται ότι το μέτρο απέδωσε και η μέση τιμή φυλλικού αυξήθηκε στον πληθυσμό²⁶⁸. Σε μελέτη που δημοσιεύτηκε πρόσφατα φάνηκε ότι με την προσθήκη του φυλλικού οξέος μειώθηκε, κατά 92% η επίπτωση ατόμων με φυλλικό οξύ <7 μmol/L και κατά 48% η επίπτωση ατόμων με Ομοκυστεΐνη >13 μmol/L²⁶⁹. Προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι δεν φτάνει η συνήθης φόρτιση για σημαντική μείωση της ομοκυστεΐνης σε στεφανιαίους ασθενείς και χρειάζεται επιπλέον φόρτιση²⁷⁰. Άλλη μελέτη επίσης έδειξε ότι ακόμη και χαμηλές δόσεις φυλλικού οξέος (250μg/day) μειώνουν την ομοκυστεΐνη και αυξάνουν το φυλλικό οξύ ερυθρών αιμοσφαιρίων που παραμένει υψηλό και 8 εβδομάδες μετά την διακοπή χορήγησης²⁷¹(μέθοδος μέτρησης φυλλικού, ίδια με αυτή που χρησιμοποιήθηκε στο ειδικό μέρος της διατριβής). Απομένει να δούμε αν θα επηρεαστεί μακροχρόνια και η επίπτωση καρδιαγγειακών συμβαμάτων στα άτομα αυτά.



Πίνακας 8. Τυχαιοποιημένες μελέτες μείωσης Ομοκυστεΐνης σε ασθενείς με αθηρωματική αγγειακή πάθηση^{264,265}

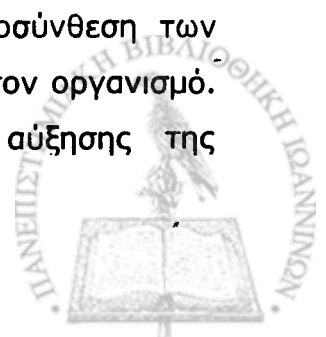
Μελέτη	Χώρα	Έναρξη	Νόσος	Φαρμακευτική αγωγή	Αριθμός ασθενών
Bergen Vitamin	Νορβηγία	1997	ΑΕΕ	Φυλλικό 5mg/d μετά από 2 εβδομάδες 0.8mg/d Βιταμίνη Β ₆ 40mg/d Σύγκριση με placebo (2X2)	2000
Cambridge Heart Antioxidant	Ηνωμένο Βασίλειο	1998	Έμφραγμα Στηθάγχη	Φυλλικό 5mg/d Σύγκριση με placebo	4000
HOPE-2 ²⁶⁶	Καναδάς	1999	Περιφ. Αρτηριοπάθεια	Φυλλικό 2.5mg/d + Β ₆ 50mg/d + Β ₁₂ 1mg/d	5000
NORVIT	Νορβηγία	1998	Έμφραγμα	Φυλλικό 5mg/μέρα μετά από 2 εβδομάδες 0.8mg/μέρα Βιταμίνη Β ₆ 40mg/μέρα Σύγκριση με placebo (2X2)	3000
PACIFIC	Αυστραλία	1998	Περιφ. Αρτηριοπάθεια	Φυλλικό 0.2 ή 2mg/μέρα Α-MEA Σύγκριση με placebo	10000
SEARCH	Ηνωμένο Βασίλειο	1998	Έμφραγμα	Φυλλικό 2 mg/μέρα + Β ₁₂ 1mg/μέρα Σύγκριση με placebo Σιμβαστατίνη 80 mg/d Σύγκριση με 20 mg/d Σχεδίαση 2X2	12000
VISP	ΗΠΑ	1998	ΑΕΕ	Φυλλικό 2.5 mg/d + Β ₆ 25 mg/d + Β ₁₂ 1mg/d συγκριτικά με 0.02 και 0.2 και 0.06 αντίστοιχα	3600
VITATOPS ²⁶⁷	Αυστραλία	1999	ΑΕΕ	Φυλλικό 2 mg/d + Β ₆ 25 mg/d + Β ₁₂ 0.4mg/d Σύγκριση με placebo	5000
WACS	ΗΠΑ	1998	Καρδιαγγειακή πάθηση	Φυλλικό 2.5 mg/d + Β ₆ 50 mg/d + Β ₁₂ 1mg/d Σύγκριση με placebo	8000

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ΓΕΝΙΚΟΥ ΜΕΡΟΥΣ

Τα μετρίως αυξημένα επίπεδα Ομοκυστεΐνης είναι παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία νόσο σύμφωνα με πολλές αναδρομικές, αλλά και μερικές προοπτικές μελέτες. Σε πειραματικό επίπεδο, *in vivo* και *in vitro* προάγουν την θρόμβωση και διαταράσσουν την λειτουργία του ενδοθηλίου, σε πειραματόζωα και σε ανθρώπους. Οι μηχανισμοί πρόκλησης αθηροσκλήρυνσης δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως. Στα 2/3 των περιπτώσεων υπερομοκυστεϊναιμίας υπάρχει ένδεια φυλλικού οξέος.

Λίγες σχετικά μελέτες έχουν δείξει ότι τα χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος σχετίζονται με την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου, και σχεδόν πάντα συνυπάρχει αύξηση της ομοκυστεΐνης. Επίσης συχνά αυτό συνδυάζεται με την παρουσία μιας μετάλλαξης του ενζύμου Μεθυλοτετραυδροφολική αναγωγή (MTHFR) που έχει σαν συνέπεια την μείωση του καταβολισμού της ομοκυστεΐνης. Η ύπαρξη της μετάλλαξης αυτής δεν αποτελεί από μόνη της παράγοντα κινδύνου για στεφανιαία νόσο, αλλά σύμφωνα με πρόσφατες δημοσιεύσεις, μόνο επί χαμηλών επιπέδων φυλλικού οξέος.

Το φυλλικό οξύ είναι απαραίτητο συνένζυμο για την βιοσύνθεση των δεσοξυριβονουκλεοτιδίων και πλήθος άλλες ζωτικές αντιδράσεις στον οργανισμό. Βοηθάει στον καταβολισμό της ομοκυστεΐνης. Πέραν της αύξησης της



ομοκυστεΐνης δεν γνωρίζουμε άλλο μηχανισμό με τον οποίο συμβάλλει στην αθηροσκλήρυνση. Μερικές ομάδες πληθυσμού (ηλικιωμένοι, καπνιστές, αλκοολικοί) έχουν ένδεια φυλλικού στον οργανισμό λόγω μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας και κακής διατροφής. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη φυλλικού οξέος, καλύπτεται με την συνήθη διατροφή δυτικού τύπου, όμως καταστάσεις που αλλοιώνουν την βιταμίνη αυτή ή εμποδίζουν την απορρόφησή της είναι αρκετά συχνές. Οι γυναίκες της αναπαραγωγικής ηλικίας χρειάζονται αυξημένη πρόσληψη φυλλικού λόγω αυξημένων αναγκών κατά την κύηση. Αυτός είναι και ο λόγος που γίνεται πλέον φόρτιση τροφών με φυλλικό στις ΗΠΑ. Αυξημένες ανάγκες φυλλικού οξέος υπάρχουν και σε πολλές συστηματικές παθήσεις (καρκίνος, ψωρίαση, κ.α).

Δεν είναι γνωστό αν η αθηροσκλήρυνση που είναι συστηματική νόσος, με κινητοποίηση φλεγμονωδών, υπερπλαστικών και ανοσολογικών μηχανισμών, ιδιαίτερα μάλιστα κατά την εκδήλωση οξέων συμβαμάτων, αποτελεί κατάσταση αύξησης αναγκών σε φυλλικό οξύ. Πιθανόν τα άτομα με αθηροσκλήρυνση να καταναλώνουν περισσότερο φυλλικό, ιδιαίτερα πριν την εκδήλωση ενός οξέος στεφανιαίου επεισοδίου, και η συνακόλουθη αύξηση της ομοκυστεΐνης με τις θρομβογόνες δράσεις αυτής, να συντελεί μαζί με όλους τους άλλους θρομβογόνους παράγοντες στη δημιουργία σταθερού θρόμβου.

Η διαπίστωση υψηλών τιμών ομοκυστεΐνης, και πιθανόν, χαμηλών επιπέδων φυλλικού οξέος, σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο, αποτελεί παράγοντα για λήψη προληπτικών θεραπευτικών μέτρων. Συστήνεται δίαιτα με φρέσκα λαχανικά, φρούτα, όσπρια και δημητριακά. Σε εξέλιξη βρίσκονται μελέτες χορήγησης μικρών δόσεων φυλλικού οξέος σε ασθενείς με καρδιαγγειακά νοσήματα.

Δεν υπάρχουν μελέτες για τα επίπεδα του φυλλικού οξέος κατά την εκδήλωση οξέος στεφανιαίου συνδρόμου, πιθανόν επειδή τα επίπεδα του φυλλικού οξέος, όπως και άλλων μεταβλητών μεταβάλλονται λόγω της οξείας νόσου, και επομένως η μέτρησή τους δεν ανταποκρίνεται στην πραγματική κατάσταση. Αυτό βέβαια ισχύει μόνο για επίπεδα μεταβλητών στο πλάσμα. Η δυνατότητα μέτρησης, με νέες αξιόπιστες μεθόδους, των επιπέδων φυλλικού οξέος σε επίπεδο κυττάρων, όπως τα ερυθρά αιμοσφαίρια, δίνει δεδομένα που αντικατοπτρίζουν τις αποθήκες φυλλικού του οργανισμού, άσχετα από διακυμάνσεις του φυλλικού στο πλάσμα.



Σε ασθενείς με οξέα στεφανιαία σύνδρομα δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα για την επίπτωση αυτών των διαταραχών, ιδιαίτερα της ένδειας φυλλικού οξέος, ούτε αν χρειάζεται άμεση αντιμετώπιση. Ήδη ακόμη και για αιτιολογικούς παράγοντες, όπως η υπερλιπιδαιμία, μόλις πρόσφατα άρχισε η χορήγηση αγωγής και κατά την εκδήλωση οξέος επεισοδίου.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να ελέγξει αν υπάρχει διαφορά στα επίπεδα φυλλικού οξέος ερυθρών αιμοσφαιρίων μεταξύ ασθενών με οξέα στεφανιαία σύνδρομα και ασθενών με χρόνια στεφανιαία νόσο, όπως και αν υπάρχουν διαφορές με άτομα χωρίς εκδήλωση στεφανιαίας νόσου.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ

ΥΛΙΚΟ

Το πρωτόκολλο της μελέτης προέβλεπε εξέταση 150 ανδρών με βάση στατιστική πρόβλεψη για τον απαιτούμενο αριθμό ατόμων ώστε να εξαχθούν σημαντικά αποτελέσματα. Από την τελική ανάλυση εξαιρέθηκαν 9 άτομα, καθώς δεν υπήρχαν όλα τα στοιχεία τους. Τελικά στην μελέτη μετέσχαν συνολικά 141 άτομα (141 άνδρες, μέση ηλικία \pm SD: 61,3 \pm 8,8 έτη). Συγκεκριμένα μελετήθηκαν 53 διαδοχικοί ασθενείς (μέση ηλικία \pm SD: 62,4 \pm 10,1 έτη) που νοσηλεύτηκαν στη στεφανιαία μονάδα με οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου (32 ασθενείς) ή ασταθή στηθάγχη με θετικό ηλεκτροκαρδιογράφημα (υψηλού κινδύνου για έμφραγμα), 41 διαδοχικοί ασθενείς του εξωτερικού καρδιολογικού ιατρείου (61,2 \pm 9,4 έτη) με γνωστή και σταθερή στεφανιαία νόσο (ιστορικό εμφράγματος, αγγειοπλαστικής ή αορτοστεφανιαίας παράκαμψης) που όμως δεν ανέφεραν οξύ στεφανιαίο επεισόδιο κατά τους τελευταίους 6 μήνες (ομάδα ΣΣΝ) και 47 άτομα (60,4 \pm 9,1 έτη) που δεν είχαν ποτέ εκδήλωση στεφανιαίας νόσου κλινικά (ερωτηματολόγιο Ross) και ηλεκτροκαρδιογραφικά (ομάδα ΜΑΡΤ). Οι τελευταίοι είτε είχαν προσέλθει στα εξωτερικά ιατρεία για έλεγχο υγείας ή ήταν ασθενείς που εξετάστηκαν προεγχειρητικά. Αποκλείστηκαν από τη μελέτη άτομα με αιματολογικά προβλήματα, μεγαλοβλαστική αναιμία, γαστρεκτομή και ιστορικό



λήψης φυλλικού οξέος ή βιταμίνης B₁₂. Όλοι οι ασθενείς ελάμβαναν τη συνήθη αγωγή, δηλαδή ασπιρίνη, β-αποκλειστές και α-MEA. Επίσης ποσοστό περίπου 20% και από τις τρεις ομάδες λάμβανε υπολιπιδαιμική φαρμακευτική αγωγή με στατίνες. Κανείς δεν λάμβανε φάρμακα που επηρεάζουν τη συγκέντρωση φυλλικού οξέος και ομοκυστεΐνης.

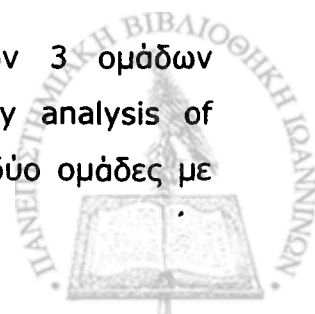
ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΙ

Σε όλους τους ασθενείς προσδιορίστηκαν αιματολογικοί δείκτες (γενική αίματος - αριθμός αιμοπεταλίων), βιοχημικοί δείκτες (σάκχαρο, ουρία, κρεατινίνη, ουρικό οξύ, σίδηρος, φεριπτίνη) καθώς και ολική χοληστερόλη, HDL χοληστερόλη και τριγλυκερίδια ορού. Με ειδική ανοσοενζυμική μέθοδο (ion capture) μετρήθηκε σε Imx αναλυτή (Abbott) το φυλλικό οξύ ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΦΟΕ) και πλάσματος (ΦΟΠ)³⁶. Επίσης προσδιορίστηκαν η βιταμίνη B₁₂, (αναλυτής Imx, Abbott), η Lp(a), η Apo-A και η Apo-B (μέθοδος νεφελομετρίας σε αναλυτή Beckman). Η λήψη αίματος διενεργήθηκε την ημέρα της εισαγωγής και οι προσδιορισμοί των παραπάνω παραγόντων περατώθηκαν αυθημερόν. Σε όλους τους ασθενείς καταγράφηκε η ύπαρξη ιστορικού καπνίσματος (νυν και πρώην καπνιστές), υπέρτασης και σακχαρώδη διαβήτη.

Η μέθοδος μέτρησης φυλλικού οξέος στα ερυθρά αιμοσφαίρια βασίζεται σε πολωμένο ανοσοφθορισμό. Ως αντιδραστήριο χρησιμοποιείται μια πρωτεΐνη που συνδέει το φυλλικό (folate binding protein) συνδεδεμένη με μονοκλωνικά αντισώματα. Η ανάλυση γίνεται από ολικό αίμα (γενική αίματος) μέσα σε 24 ώρες από την αιμοληψία. Για κάθε μέτρηση γίνεται ερυθρό αιμόλυμα και υπολογίζεται ο αιματοκρίτης. Οι αναμενόμενες τιμές σύμφωνα με εξέταση σε υγιή πληθυσμό είναι για το πλάσμα 7.3 ng/ml (μέση τιμή) με διακύμανση τιμών από 3.1-12.4 (95% πληθυσμού) και για φυλλικό ερυθρών αιμοσφαιρίων μέση τιμή 297.5 ng/ml με διακύμανση τιμών στο 95% πληθυσμού 148.8-645.4 ng/ml. Σε άτομα με απόλυτη ένδεια φυλλικού (αιματολογικές διαταραχές) οι τιμές κυμαίνονταν από 1.2-4.1 ng/ml στο πλάσμα και 60-196 ng/ml στα ερυθρά, σύμφωνα με το έντυπο του εργαστηρίου Abbott Laboratories, 1997, List No 2220.

Στατιστική ανάλυση

Οι στατιστικές διαφορές των συνεχών μεταβλητών των 3 ομάδων ελέγχθηκαν με τη μέθοδο ANOVA μιας κατεύθυνσης (one way analysis of variance). Όπου υπήρχαν σημαντικές διαφορές ελέγχθηκαν ανά δύο ομάδες με



την δοκιμασία Student (Student t-test). Ο έλεγχος των στατιστικών διαφορών των κατηγορικών μεταβλητών έγινε με την μέθοδο χ^2 (chi-square test). Σε όλους τους ασθενείς συνολικά αναζητήθηκε αν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των διαφόρων μεταβλητών και υπολογίστηκαν οι συντελεστές συσχέτισης κατά Pearson. Χρησιμοποιήθηκε πολλαπλή λογιστική παλινδρόμηση (multiple logistic regression analysis) με σκοπό να εξακριβωθούν οι ανεξάρτητοι και στατιστικά σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για την εκδήλωση ΟΣΣ. Κατά την εφαρμογή της πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης σαν ανεξάρτητες μεταβλητές θεωρήθηκαν όλοι οι συμβατικοί παράγοντες κινδύνου στεφανιαίας νόσου καθώς επίσης το ΦΟΕ, ΦΟΠ, η βιταμίνη B₁₂, η Lp(a), η ApoA και η ApoB. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας καθορίστηκε σε $p < 0,05$ σε κάθε περίπτωση.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο επιπολασμός και οι τιμές των γνωστών παραγόντων κινδύνου για την στεφανιαία νόσο στις 3 ομάδες που μελετήθηκαν (ΟΣΣ, ΣΣΝ, ΜΑΡΤ) παρουσιάζονται στον Πίνακα 9. Διαφορές μεταξύ ομάδων παρατηρήθηκαν μόνον όσον αφορά τα λιπιδαιμικά χαρακτηριστικά. Συγκεκριμένα στην ομάδα των ΟΣΣ οι τιμές HDL-χοληστερόλης ήταν σημαντικά χαμηλότερες σε σύγκριση με εκείνες των ομάδων ΣΣΝ και ΜΑΡΤ (t-test, $p < 0,005$ και $p < 0,0001$ αντίστοιχα) ενώ οι τιμές των τριγλυκεριδίων σημαντικά υψηλότερες συγκρινόμενες με εκείνες της ομάδας των ΜΑΡΤ (t-test, $p < 0,005$). Μεταξύ των ομάδων ΣΣΝ και ΜΑΡΤ δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές ως προς τους παραπάνω παράγοντες.

Πίνακας 9. Γνωστοί Παράγοντες Κινδύνου για Στεφανιαία Νόσο.

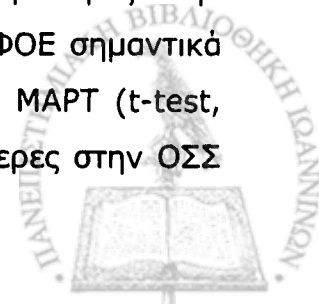
	ΟΣΣ (n=53)	ΣΣΝ (n=41)	ΜΑΡΤ (n=47)
Ηλικία (\pm SD)(έτη)	61,7 \pm 9,9	61,3 \pm 8,8	60,4 \pm 9,1
Νυν Καπνιστές	26 (49.1%)	12 (29.2%)	17 (36.2%)
Πρώην Καπνιστές	4(7.5%)	14 (34.1%)	10 (21.3%)
Υπέρταση	12 (22.6%)	10 (24.4%)	13 (27.6%)
Σακχ.Διαβήτης	8 (15%)	5 (12.2%)	9 (19.1%)
Ολ. Χοληστερόλη (\pm SD) (mg/dl)	238,2 (\pm 47,0)	241,6 (\pm 38,4)	238,3 (\pm 52,4)
LDL-χοληστερόλη (\pm SD) (mg/dl)	162,4 (\pm 42,0)	167,2 (\pm 37,2)	167,3 (\pm 48,3)
HDL-χοληστερόλη (\pm SD) (mg/dl)	36,5 (\pm 6,3)	41,3 (\pm 10,0) [#]	43,1 (\pm 7,2) ^{##}
Τριγλυκερίδια (\pm SD) (mg/dl)	195,1(\pm 111,5)	164,4 (\pm 77,3)	144,5 (\pm 62,3) [*]

[#] $p < 0,005$ μεταξύ ΟΣΣ / ΣΣΝ,

^{*} $p < 0,005$ μεταξύ ΟΣΣ / ΜΑΡΤ

^{##} $p < 0,0001$ μεταξύ ΟΣΣ / ΜΑΡΤ

Οι τιμές των νεώτερων παραγόντων κινδύνου στεφανιαίας νόσου [ApoA, ApoB, Lp(a), ΦΟΕ, ΦΟΠ και βιταμίνης B₁₂] παρουσιάζονται στον πίνακα 10. Διαφορές μεταξύ των ομάδων παρατηρήθηκαν ως προς την Apo-A, το ΦΟΕ και την Lp(a). Συγκεκριμένα οι τιμές της ApoA ήταν σημαντικά χαμηλότερες στην ομάδα ΟΣΣ συγκριτικά με την ομάδα ΜΑΡΤ (t-test $p < 0,05$), του ΦΟΕ σημαντικά χαμηλότερες στην ομάδα ΟΣΣ συγκριτικά με τις ομάδες ΣΣΣ και ΜΑΡΤ (t-test, $p < 0,005$ και $p < 0,05$ αντίστοιχα) και της Lp(a) σημαντικά υψηλότερες στην ΟΣΣ



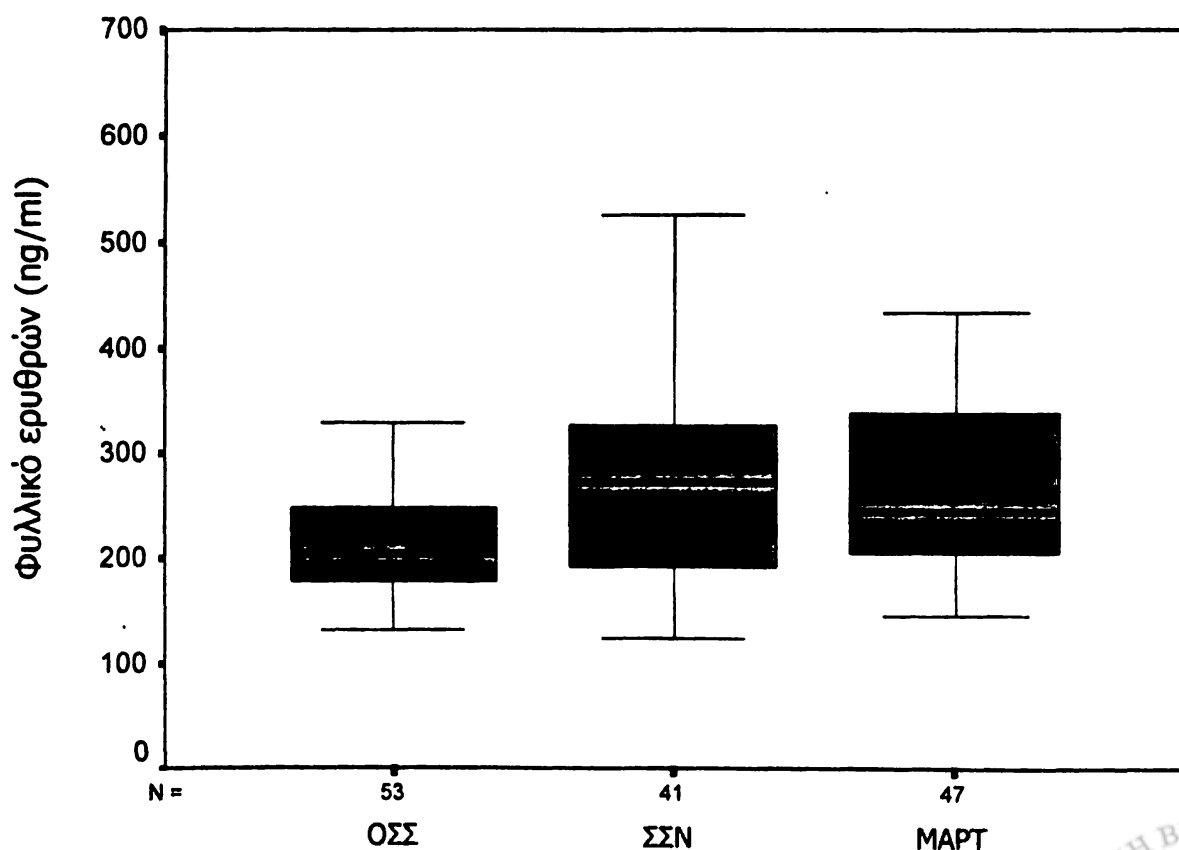
από τους ΜΑΡΤ (t-test, $p < 0,05$). Μεταξύ των ομάδων ΣΣΝ και ΜΑΡΤ δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές ως προς τους παραπάνω παράγοντες (Σχήματα 3-5).

Πίνακας 10. Νεώτεροι Παράγοντες Κινδύνου για Στεφανιαία Νόσο.

Μέση τιμή±SD	ΟΣΣ (n=53)	ΣΣΝ (n=41)	ΜΑΡ (n=47)
Apo-A (mg/dl)	112,1 (±17,2)	119,7 (±16,2)	121,2 (±22,1) #
Apo-B (mg/dl)	131,1 (±34,3)	124,3 (±24,5)	122,7 (±36,2)
Lp(a) (mg/dl)	33,5(±34,5)	23,8 (±27,4)	21,6 (±22,4) #
ΦΟΕ (ng/ml)	225,1 (±78,4)	281,7 (±116,6) ##	271,3 (±85,3) #
ΦΟΠ (ng/ml)	5,8 (±1,7)	6,4 (±2,3)	6,5 (±2,3)
B12 (ng/ml)	318,7 (±154,3)	326,3 (±149,7)	351,5 (±128,4)

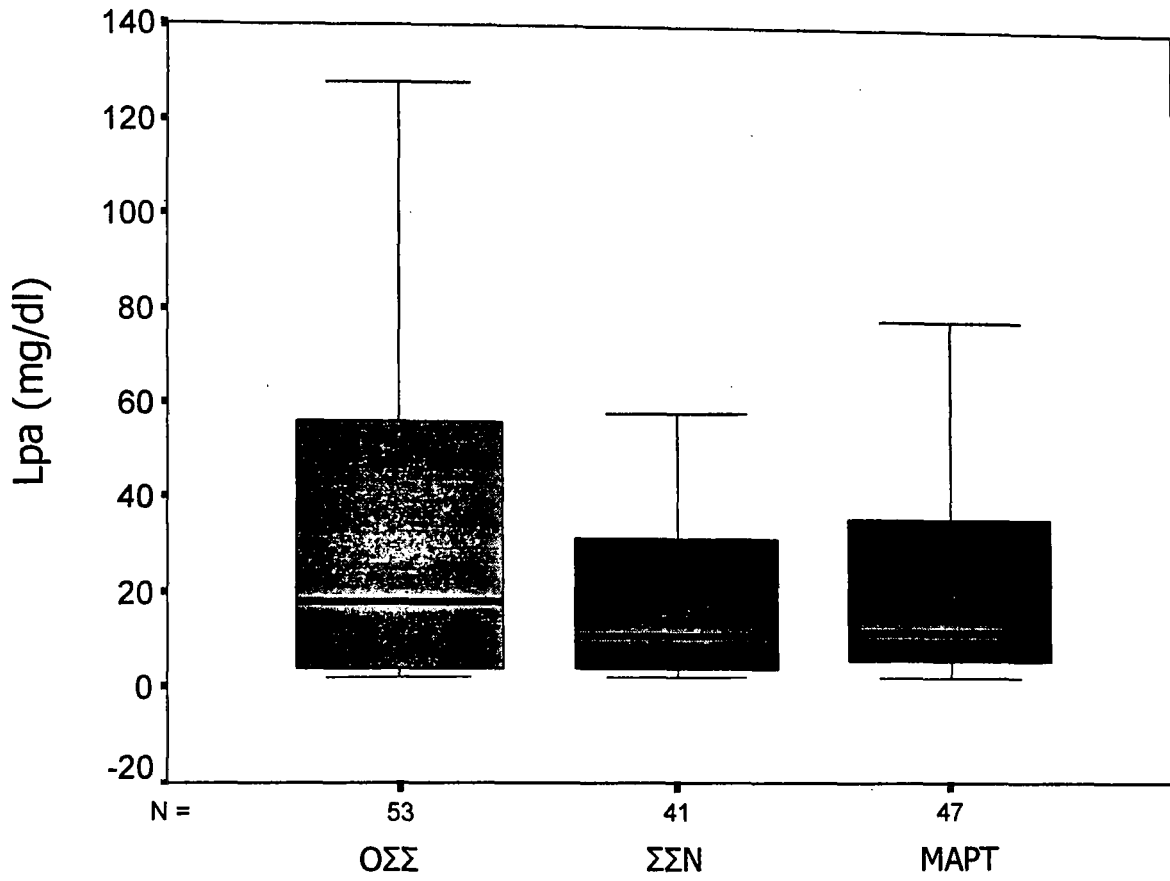
$p < 0,05$ μεταξύ ΟΣΣ / ΜΑΡΤ,

$p < 0,005$ μεταξύ ΟΣΣ / ΣΣΝ

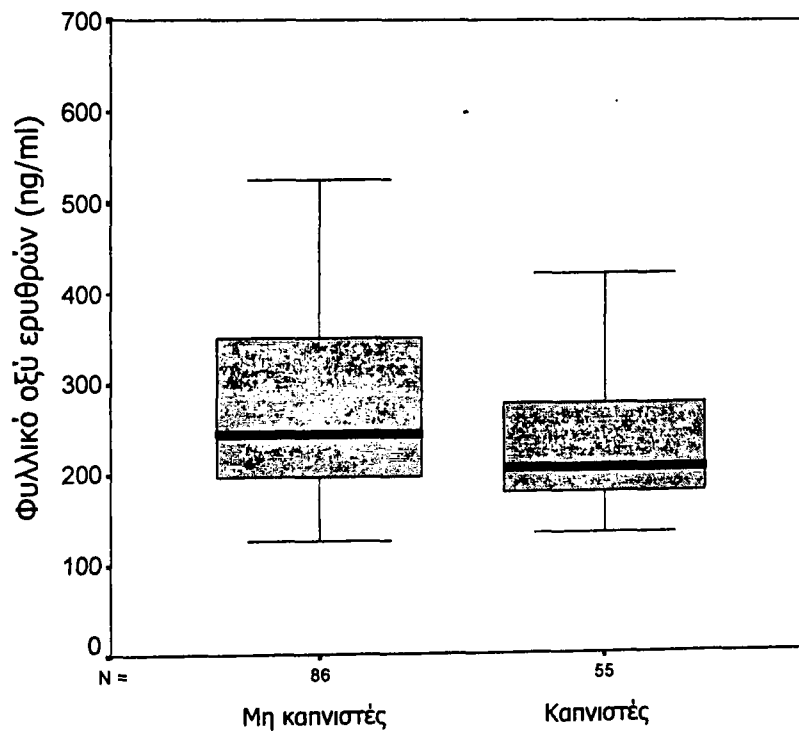


Σχήμα 3. Τιμές φυλλικού οξέος ερυθρών αιμοσφαιρίων στις τρεις ομάδες ασθενών.





Σχήμα 4. Τιμές Lp(a) στις τρεις ομάδες ασθενών.



Σχήμα 5. Τιμές φυλλικού οξέος ερυθρών στις ομάδες καπνιστών και μη.



Τα σχήματα 3, 4 και 5 αποτελούν γραφικές παραστάσεις της κατανομής των τιμών φυλλικού οξέος και Lp(a) με τη μορφή κυτίων (box plots). Οι παχιές οριζόντες γραμμές εντός των κυτίων παριστάνουν τη διάμεση τιμή (50^η). Το πάνω όριο του κυτίου αντιστοιχεί στην 75^η τιμή και το κάτω όριο του κυτίου την 25^η τιμή (σε εκατοστημόρια). Η πάνω εξέχουσα οριζόντια γραμμή αντιστοιχεί στην ανώτερη τιμή και η κάτω εξέχουσα οριζόντια γραμμή στην κατώτερη τιμή.

Στο σχήμα 3 φαίνονται οι τιμές φυλλικού οξέος ανάλογα με την ομάδα. Οι ασθενείς της ομάδας των ΟΣΣ έχουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές.

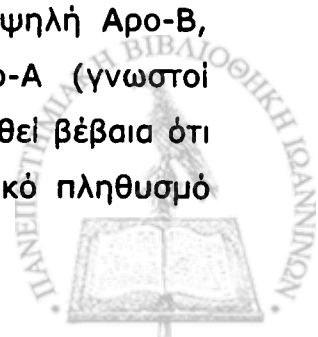
Στο σχήμα 4 οι τιμές λιποπρωτεΐνης(a) είναι υψηλότερες στην ομάδα των οξέων στεφανιαίων επεισοδίων. Να σημειωθεί όμως ότι οι περισσότεροι ασθενείς έχουν χαμηλή τιμή Lp(a).

Στο σχήμα 5 φαίνονται οι τιμές φυλλικού οξέος ανάλογα με το αν οι ασθενείς κάπνιζαν ή όχι. Οι ασθενείς που κάπνιζαν έχουν τιμές 231.9 ± 83.5 ενώ οι μη καπνιστές έχουν τιμές 276.9 ± 106 ($p = 0.007$)

Με τη μέθοδο της πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης βρέθηκε ότι οι τιμές ΦΟΕ ήταν ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για εκδήλωση ΟΣΣ σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο ($p = 0,011$). Επίσης υπολογίστηκε, με βάση το μοντέλο της πολλαπλής λογιστικής παλινδρόμησης που χρησιμοποιήθηκε, ότι μείωση του ΦΟΕ κατά 78 ng/ml (μία σταθερή απόκλιση) αυξάνει τον κίνδυνο εκδήλωσης οξέος στεφανιαίου συνδρόμου κατά 1.7 φορές. Το ΦΟΕ συσχετιζόταν θετικά με τα επίπεδα του ΦΟΠ και της B₁₂ ($r = 0,43$ $p < 0,001$ & $r = 0,188$ $p < 0,05$ αντίστοιχα).

Αναλύοντας τα αποτελέσματα των μετρήσεων και λαμβάνοντας ως παθολογικές τιμές για όλες τις παραμέτρους, τις τιμές που έχει το ανώτερο ή κατώτερο 10% των μαρτύρων, έχουμε τα αποτελέσματα που φαίνονται στον Πίνακα 11.

Και από την ανάλυση αυτού του τύπου (με δεκατημόρια) φαίνεται ότι το φυλλικό οξύ ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι σε μεγάλο ποσοστό των ασθενών με οξέα στεφανιαία σύνδρομα χαμηλό. Οι τιμές αυτές (177 ng/ml) δίνονται και από τον κατασκευαστή της μεθόδου ανάλυσης του φυλλικού οξέος σαν ενδεικτικές ένδειας φυλλικού στον γενικό πληθυσμό. Το ποσοστό αυτό είναι παρόμοιο με το ποσοστό των ασθενών με ΟΣΣ που έχει υψηλή χοληστερόλη, υψηλή Apo-B, υψηλά τριγλυκερίδια, υψηλή Lp(a) και χαμηλή HDL και Apo-A (γνωστοί παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου). Να σημειωθεί βέβαια ότι οι τιμές αυτές των λιπιδίων είναι πολύ παθολογικές. Για τον γενικό πληθυσμό



έχουμε άλλα παθολογικά όρια στην καθ' ημέρα πράξη. Επίσης, φαίνεται ότι οι ασθενείς με ΧΣΝ έχουν σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τους μάρτυρες χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Β₁₂.

Πίνακας 11. Αποτελέσματα μετρήσεων με δεκατημόρια.

	ΜΑΡΤΥΡΕΣ	ΟΞΕΑ ΣΣ	ΧΡΟΝΙΑ ΣΝ
Φυλλικό οξύ ερυθρών <177 ng/ml	10%	30.5%**	12.5%
Φυλλικό οξύ ορού <3.4 ng/ml	10%	8.5%	7.5%
Βιταμίνη Β12 <173 ng/ml	10%	17%	20.6%*
Lp(a) > 53 mg/dl	10%	27%**	13%
Cholesterol >291 mg/dl	10%	16%#	5.2%
HDL <34 mg/dl	10%	34.5%**	12%
Triglycerides >245 mg/dl	10%	17.5%	10.5%
Apo-A <104 mg/dl	10%	29.5%**	8.3%
Apo-B>167 mg/dl	10%	22.7%*	11%

*p<0.05, **p<0.001 μεταξύ ΟΣΣ ή ΧΣΣ και μαρτύρων

#p<0.05 μεταξύ ΟΣΣ και ΧΣΣ



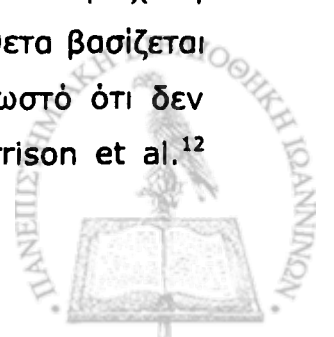
ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η διαπίστωση ότι τα ΟΣΣ οφείλονται κυρίως στη σταθερότητα του θρόμβου που σχηματίζεται κατά τη ρήξη αθηρωματικής πλάκας έδωσε ώθηση στην έρευνα για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων όσον αφορά την αντιμετώπιση της θρόμβωσης αλλά και για τον προσδιορισμό νέων αθηροθρομβογόνων παραγόντων κινδύνου. Τέτοιοι νεώτεροι παράγοντες έχει αποδειχθεί ότι είναι τα αυξημένα επίπεδα της Lp(a) και της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα. Ο κίνδυνος εμφάνισης καρδιαγγειακού κινδύνου λόγω υπερομοκυστεϊναιμίας έχει πιθανά γενετική βάση, και εκδηλώνεται όταν υπάρχει ένδεια φυλλικού οξέος²⁷². Δεν έχουν βρεθεί ακόμη τρόποι μείωσης των αυξημένων τιμών Lp(a) ενώ είναι δυνατή η μείωση των επιπέδων ομοκυστεΐνης με τη χορήγηση φυλλικού οξέος²⁷³.

Το φυλλικό οξύ είναι μια βιταμίνη της ομάδας Β που υπάρχει σε διάφορες τροφές (ήπαρ, όσπρια, πράσινα λαχανικά, πορτοκάλια, μπανάνες, χυμό από πορτοκάλια). Συμμετέχει στη σύνθεση λιπιδίων, πρωτεϊνών, ορμονών, νευροδιαβιβαστών και πουρινών δίνοντας μία μεθυλομάδα. Ο άνθρωπος δεν συνθέτει φυλλικό οξύ και εξαρτάται από την δίαιτα του για την κάλυψη των αναγκών του σε αυτό. Το φυλλικό οξύ καταστρέφεται κατά το μαγείρεμα και γι' αυτό η κατανάλωση μόνο μαγειρεμένων τροφών, συντελεί στην ανεπαρκή πρόσληψη φυλλικού οξέος. Από μελέτες στις ΗΠΑ έχει φανεί ότι 70% των ενηλίκων δεν λαμβάνει την απαραίτητη ποσότητα φυλλικού οξέος (200μg/ημέρα)¹⁷.

Η μέτρηση φυλλικού οξέος ερυθρών αιμοσφαιρίων αποτελεί τον πλέον αξιόπιστο δείκτη των αποθεμάτων του οργανισμού. Η μέτρηση του απαιτούσε μέχρι πρότινος μικροβιολογικές ή χρωματογραφικές μεθόδους και γι' αυτό ήταν πολύ δυσχερής η πραγματοποίηση επιδημιολογικών μελετών με βάση το φυλλικό οξύ. Τα τελευταία χρόνια αναπτύχθηκαν ανοσοενζυμικές μέθοδοι μέτρησης του φυλλικού οξέος πλάσματος και ερυθρών αιμοσφαιρίων που έκαναν δυνατή την μέτρησή του από όλα τα βιοχημικά εργαστήρια^{11,36}.

Λόγω των παραπάνω προβλημάτων η βιβλιογραφία που μελετά τη σχέση φυλλικού οξέος και στεφανιαίας νόσου είναι περιορισμένη. Επιπρόσθετα βασίζεται σε μετρήσεις του φυλλικού οξέος στο πλάσμα που όμως είναι γνωστό ότι δεν αντικατοπτρίζει με ακρίβεια τα αποθέματα του οργανισμού. Οι Morrison et al.¹²



παρακολούθησαν σε προοπτική μελέτη 5056 Καναδούς χωρίς ιστορικό στεφανιαίας νόσου. Μετά 15 χρόνια παρακολούθησης είχαν συμβεί 165 καρδιακοί θάνατοι. Τα άτομα που είχαν χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος στο πλάσμα είχαν 1,69 φορές περισσότερους θανάτους σε σχέση με τα άτομα που είχαν υψηλά επίπεδα φυλλικού οξέος. Στην επίσης προοπτικά σχεδιασμένη Physician Health Study¹³ βρέθηκε ότι τα άτομα με επίπεδα φυλλικού οξέος πλάσματος χαμηλότερα από την τιμή του 20ου εκατοστημόριου των μαρτύρων είχαν 1,4 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να πάθουν οξύ έμφραγμα σε σχέση με εκείνους που είχαν υψηλότερα επίπεδα φυλλικού οξέος. Πρόσφατα ευρωπαϊκή πολυκεντρική μελέτη έδειξε ότι τα χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για στεφανιαία, περιφερική και εγκεφαλική αγγειακή νόσο¹⁵. Επομένως ενώ το φυλλικό οξύ θεωρείται παράγοντας κινδύνου για την εκδήλωση στεφανιαίας νόσου δεν είναι γνωστό αν η ένδεια σ' αυτό επηρεάζει την κλινική πορεία προϋπάρχουσας σταθερής στεφανιαίας νόσου.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν ασθενείς με ΟΣΣ, ασθενείς με ΣΣΝ και άτομα της ίδιας ηλικίας και φύλου χωρίς εκδηλώσεις στεφανιαίας νόσου. Κανένας παράγοντας που εξετάστηκε δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων ΣΣΝ και ΜΑΡΤ, ενώ παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ ΟΣΣ και ΜΑΡΤ όσον αφορά τα επίπεδα HDL, τριγλυκεριδίων, ApoA και Lp(a). Η δεύτερη κατηγορία ευρημάτων συμφωνεί με προηγούμενες μελέτες ενώ η πρώτη βρίσκεται σε αντίθεση. Πιθανές εξηγήσεις για την μη εύρεση διαφορών μεταξύ ΣΣΝ και ΜΑΡΤ όσον αφορά τους παράγοντες που μελετήθηκαν είναι ο μικρός αριθμός ατόμων που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη, το γεγονός ότι η ομάδα των μαρτύρων αποτελούνταν από άτομα χωρίς κλινικές εκδηλώσεις στεφανιαίας νόσου, αλλά με παράγοντες κινδύνου, καθώς επίσης και η διαιτητική και φαρμακευτική αγωγή που ακολουθούν άτομα με ιστορικό στεφανιαίας νόσου (διακοπή καπνίσματος, υπολιπιδαιμική αγωγή, δίαιτα φτωχή σε λιπαρά και πλούσια σε φρέσκα λαχανικά και φρούτα). Ενδεικτικό της συμμόρφωσης των ασθενών που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη, στις παραπάνω συστάσεις αποτελεί το υψηλό ποσοστό ατόμων με ΣΣΝ που είχαν διακόψει το κάπνισμα σε σύγκριση με εκείνους που είχαν ΟΣΣ και τους ΜΑΡΤ. Η διακοπή του καπνίσματος ίσως προσφέρει μια παραπέρα εξήγηση για την μη ύπαρξη διαφορών τουλάχιστον όσον αφορά το ΦΟΕ μεταξύ ατόμων με ΣΣΝ και ΜΑΡΤ διότι το κάπνισμα συσχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα ΦΟΕ²⁷⁴.

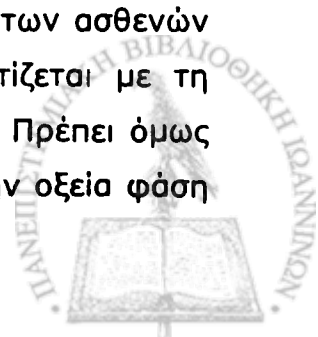


Μία από τις διαφορές όσον αφορά την παθογένεια των ΟΣΣ από την ΣΣΝ έγκειται στην παραμένουσα θρόμβωση που παρατηρείται στα ΟΣΣ. Ελάχιστες μελέτες έχουν ασχοληθεί με το ρόλο της ένδειας φυλλικού οξέος στη θρομβογένεση και αυτές μόνο σε πειραματικό επίπεδο. Έχει βρεθεί ότι η ένδεια φυλλικού οξέος σε ποντικούς προάγει την θρόμβωση¹⁶. Στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα ΦΟΕ ήταν χαμηλότερα στην ομάδα ΟΣΣ σε σύγκριση με τις ομάδες ΣΣΝ και ΜΑΡΤ, ενώ τα χαμηλά επίπεδα ΦΟΕ ήταν ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΟΣΣ σε άτομα με ΣΣΝ. Υπολογίστηκε ότι τα χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος στον οργανισμό (μείωση κατά 1 σταθερή απόκλιση) αυξάνουν την πιθανότητα εκδήλωσης ΟΣΣ σε άτομα με ΣΣΝ κατά 1,7 φορές. Παρόμοιου μεγέθους κίνδυνος για ένδεια φυλλικού, που αφορά εκδήλωση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου σε υγιή όμως πληθυσμό αναφέρεται σε προοπτικά σχεδιασμένες μελέτες^{12,13}. Είναι πιθανόν η συσχέτιση που παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη μεταξύ χαμηλών επιπέδων φυλλικού οξέος και ΟΣΣ να οφείλεται στον προθρομβωτικό ρόλο της ένδειας του φυλλικού οξέος¹⁶.

Μείωση των τιμών του ΦΟΠ αντικατοπτρίζει το αρχικό στάδιο αρνητικού ισοζυγίου του φυλλικού οξέος και προηγείται της μείωσης των επιπέδων του στους ιστούς. Αντίθετα μείωση των τιμών του ΦΟΕ αντικατοπτρίζει το επόμενο στάδιο του αρνητικού ισοζυγίου του φυλλικού οξέος και σχετίζεται με σημαντική μείωση του σε ιστικό επίπεδο. Επομένως η πιθανότητα, οι χαμηλές τιμές ΦΟΕ σε ασθενείς με ΟΣΣ που βρέθηκε στην μελέτη μας, να οφείλονται σε αυξημένες ανάγκες του οργανισμού λόγω του οξέος στεφανιαίου επεισοδίου μάλλον δεν ευσταθεί καθώς όπως θα αναμενόταν πρώτα θα ήταν σημαντικά μειωμένες οι τιμές ΦΟΠ σ' αυτούς τους ασθενείς. Επίσης έχει προηγουμένα⁸ περιγραφεί ότι το ΦΟΠ παραμένει σταθερό σε μετρήσεις που έγιναν κατά τη διάρκεια οξέος εμφράγματος και 2 μήνες μετά. Τα παραπάνω αποτελούν έμμεσες ενδείξεις ότι η μείωση του ΦΟΕ είναι πιθανόν αιτία για την εμφάνιση ΟΣΣ και όχι αποτέλεσμα αυτών.

Επίσης στην παρούσα εργασία βρέθηκε ότι οι ασθενείς που κάπνιζαν είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές ΦΟΕ από τους μη καπνιστές. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με τη μελέτη των Mansoor et al²⁷⁴.

Οι περιορισμοί της παρούσας μελέτης είναι ο μικρός αριθμός των ασθενών και η μη μέτρηση της ομοκυστεΐνης που είναι γνωστό ότι σχετίζεται με τη στεφανιαία νόσο ιδιαίτερα σε καταστάσεις ένδειας φυλλικού οξέος. Πρέπει όμως να επισημανθεί ότι τα επίπεδα ομοκυστεΐνης μεταβάλλονται κατά την οξεία φάση



του εμφράγματος του μυοκαρδίου²⁶² και επακόλουθα δεν είναι δυνατή η μελέτη του ρόλου της στα ΟΣΣ σε αναδρομικά σχεδιασμένες μελέτες.

Τη σχέση του φυλλικού οξέος, πλάματος και ερυθροκυττάρων με την εκδήλωση οξέος στεφανιαίου συνδρόμου εξετάζουν και δύο πρόσφατες περιλήψεις ανακοινώσεων που παρουσιάστηκαν στο 21^ο Πανερωπαϊκό Καρδιολογικό Συνέδριο, ενώ γινόταν η συγγραφή της εργασίας^{275,276}.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή

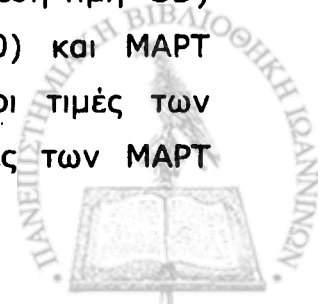
Τα οξέα στεφανιαία σύνδρομα (ΟΣΣ) οφείλονται σε ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και συνακόλουθη θρόμβωση. Τα αυξημένα επίπεδα της Lp(a) και της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα, αποτελούν νεώτερους παράγοντες, που θεωρείται ότι συμμετέχουν στην παθοφυσιολογία των ΟΣΣ. Τα χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος σχετίζονται με αυξημένες τιμές ομοκυστεΐνης είναι όμως άγνωστη η σημασία του φυλλικού οξέος στην εκδήλωση ΟΣΣ. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί ο πιθανός ρόλος των επιπέδων φυλλικού οξέος ερυθρών αιμοσφαιρίων στην παθογένεση των οξέων στεφανιαίων συνδρόμων(ΟΣΣ).

Υλικό-Μέθοδος

Συνολικά μελετήθηκαν 141 άτομα [53 ασθενείς με οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου ή ασταθή στηθάγχη, 41 ασθενείς με γνωστή σταθερή στεφανιαία νόσο (ομάδα ΣΣΝ) και 47 μάρτυρες (ΜΑΡΤ)]. Σε όλους τους ασθενείς προσδιορίστηκαν οι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για στεφανιαία νόσο και το φυλλικό οξύ ερυθρών (ΦΟΕ), το φυλλικό οξύ πλάσματος (ΦΟΠ), η βιταμίνη B₁₂, η Lp(a), η Apo-A και η Apo-B. Οι προσδιορισμοί των παραπάνω παραγόντων έγιναν την ημέρα της εισαγωγής.

Αποτελέσματα

Στην ομάδα των ΟΣΣ οι τιμές HDL-χοληστερόλης (36.5 ± 6.3 , μέση τιμή \pm SD) ήταν χαμηλότερες συγκριτικά με εκείνες των ΣΣΝ (41.3 ± 10.0) και ΜΑΡΤ (43.1 ± 7.2) (t-test, $p < 0,005$ και $p < 0,0001$ αντίστοιχα) ενώ οι τιμές των τριγλυκεριδίων (195.1 ± 111.5) υψηλότερες συγκριτικά με εκείνες των ΜΑΡΤ



(144.5±62.3) (t-test, $p < 0,005$). Οι τιμές της Apo-A (112.1±17.2) ήταν σημαντικά χαμηλότερες στην ομάδα ΟΣΣ συγκριτικά με την ομάδα ΜΑΡΤ (121.2±22.1) (t-test $p < 0,05$), του ΦΟΕ σημαντικά χαμηλότερες στην ομάδα ΟΣΣ (225.1±78.4) συγκριτικά με τις ομάδες ΣΣΣ (281.7±116.6) και ΜΑΡΤ (271.3±85.3) (t-test, $p < 0,005$ και $p < 0,05$ αντίστοιχα) και της Lp(a) σημαντικά υψηλότερες στην ΟΣΣ (33.5±34.5) από τους ΜΑΡΤ (21.6±22.4) (t-test, $p < 0,05$). Μεταξύ των ομάδων ΣΣΝ και ΜΑΡΤ δεν παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές ως προς κανένα από τους εξετασθέντες παράγοντες.

Οι τιμές ΦΟΕ ήταν ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για εκδήλωση οξέος στεφανιαίου συνδρόμου σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο ($p = 0,011$). Τιμές ΦΟΕ κατά 78 ng/ml (1 σταθερή απόκλιση) μικρότερες συνδέονται με αύξηση της πιθανότητας οξέος στεφανιαίου συνδρόμου κατά 1.7 φορές σε άτομα με ΣΣΝ. Το ΦΟΕ συσχετιζόταν θετικά με το ΦΟΠ ($r = 0,43$ $p < 0,001$), την B₁₂ ($r = 0,188$ $p < 0,05$) και αρνητικά με το κάπνισμα ($r = -0,240$ $p < 0,005$). Οι καπνιστές είχαν χαμηλότερες τιμές ΦΟΕ από τους μη καπνιστές ($p = 0,007$).

Συμπεράσματα

Οι ασθενείς με ΟΣΣ έχουν σημαντικά χαμηλότερες τιμές ΦΟΕ και HDL από ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο και μάρτυρες, ενώ έχουν υψηλότερες τιμές Lp(a) και τριγλυκεριδίων σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Τα χαμηλά επίπεδα ΦΟΕ ήταν ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την εμφάνιση ΟΣΣ.

ΟΣΣ: οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, ΦΟΕ: φυλικό οξύ ερυθρών, S.E.: standard error.



SUMMARY

Red Cell Folate In Acute Coronary Syndromes.

Konstantine Pappas

Cardiologist

Introduction

Acute coronary syndromes (ACS) are caused by atherosclerotic plaque disruption and subsequent thrombosis. Elevated levels of Lp(a) and homocysteine are new emerging risk factors in the pathogenesis of coronary artery disease. Low folate levels correlate negatively with homocysteine levels. It is not known if there is any relation of folate levels with acute coronary syndromes. The purpose of this study was to investigate the possible role of folate levels and especially red cell folate levels in the pathogenesis of acute coronary syndromes.

Methods

We studied 53 patients with acute myocardial infarction or unstable angina, 41 patients with stable angina (SA) and 47 controls with no history of CAD and a normal ECG. In all subjects all known risk factors were determined and red cell folate (RCF), plasma folate (PF), vitamin B₁₂, Lp(a), Apo-A and Apo-B were measured. All biochemical parameters were determined on the day of admission.



Results

Patients with ACS had significantly lower RCF levels (225.1 ± 78.4 ng/ml) than either patients with SA (281.7 ± 116.6 ng/ml $p < 0,005$) or controls (271.3 ± 85.3 $p < 0,05$). They also had significantly lower levels of HDL-cholesterol (36.5 ± 6.3 mg/dl) than patients with either SA (41.3 ± 10.0 mg/dl, $p < 0,005$) or controls (43.1 ± 7.2 mg/dl, $p < 0,0001$), and lower levels of Apo-A (112.1 ± 17.2 mg/dl) than controls (121.2 ± 22.1 mg/dl, $p < 0,05$). Patients with ACS had significantly higher levels of triglycerides (195.1 ± 111.5 mg/dl) and of Lp(a) (33.5 ± 34.5 mg/dl) than controls (144.5 ± 62.3 mg/dl, $p < 0,005$) and (21.6 ± 22.4 mg/dl $p < 0,05$), respectively. No differences between patients with SA and controls were observed in any parameter examined. Red cell folate was the only independent risk factor for acute coronary syndrome in patients with coronary artery disease after analysis by multiple logistic regression. It was calculated that a decrease of 78 ng/ml in RCF is associated with an increased risk for acute coronary syndrome by 1.7 times. There was also a positive correlation of RCF with PF ($r = 0.43$, $p < 0,001$), B₁₂ ($r = 0,188$ $p < 0,05$). Smokers had lower RCF than nonsmokers ($p = 0.007$).

Conclusion

Patients with ACS have significantly lower levels of RCF and HDL than patients with stable angina and controls, while they have higher levels of Lp(a) and triglycerides than controls. Patients with SA had no significant difference with controls. RCF levels was the only independent risk factor for acute coronary syndrome.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Theroux P, Fuster V. Acute coronary syndromes. *Circulation* 1998;97:1195-1206
2. Burke AP, Farb A, Malcolm GT. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med.* 1997; 336: 1276-1281
3. Fuster V, Lewis A. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation.* 1994; 90: 2126-2146.
4. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057
5. Eikelboom J, Lonn E, Genest J, Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular Disease: A critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med.* 1999; 131: 363-375.
6. Welch G, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-1050.
7. Angelo A, Selhub J. Homocysteine and thrombotic disease. *Blood* 1997; 90: 1-11



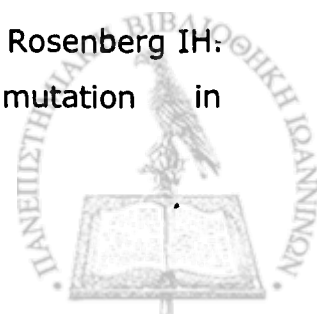
8. Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relationship with vitamins B₆, B₁₂ and folate. *Am J Epidemiol* 1996; 143: 845-859.
9. Selhub J, Jacques P, Wilson P. Vitamin status and intake as primary determinants of Homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-2698.
10. Zittoun J, Zittoun R. Modern clinical testing strategies in Cobalamin and Folate deficiency. *Seminars in Hematology*, 1999; 36: 35-46
11. Gunter E, Bowman B, Caudill S. Results of an international round robin for serum and whole-blood folate. *Clin Chem* 1996; 42: 1689-1694
12. Morrison H, Schaubel D, Desmeules M. Serum folate and risk of fatal coronary heart disease. *JAMA* 1996; 275: 1893-1896
13. Chasan-Taber L, Selhub J, Rosenberg I. A prospective study of folate and vitamin B₆ and risk of myocardial infarction in US physicians. *J Am Coll Nutr* 1996; 15: 136-143
14. Rimm E, Willet W, Hu F. Folate and vitamin B₆ from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women. *JAMA* 1998; 279: 359-364.
15. Robinson K, Arheart K, Refsum H. Low circulating folate and vitamin B₆ concentrations. Risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. *Circulation* 1998; 97: 437-443.
16. Durand, P, Prost M, 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; 121: 231-243.
17. Shane B. Folate chemistry and metabolism. In: Folate in health and disease. L. B. Bailey (editor). New York: Marcel Dekker Inc., 1995: 1-21.
18. Camilo E, Zimmerman J, Mason JB, Golner B, Russell R, Selhub J. Folate synthesized by bacteria in the human upper small intestine is assimilated by the host. *Gastroenterology* 1996; 110: 991-8.



19. Wagner C. Biochemical role of folate in cellular metabolism. In: Folate in health and disease. L. B. Bailey (editor). New York: Marcel Dekker Inc., 1995: 23-42.
20. Appling DR. Compartmentation of folate-mediated one-carbon metabolism in eukaryotes. *FASEB J* 1991; 5: 2645-51.
21. Antony AC. Folate receptors. *Ann Rev Nutr* 1996; 16:501-21.
22. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem* 1990; 1: 228-37.
23. Steinberg SE. Mechanisms of folate homeostasis. *Am J Physiol* 1984; 246: G319-24.
24. Gregory III JF. The bioavailability of folate. In: Folate in health and disease. L. B. Bailey (editor). New York: Marcel Dekker Inc, 1995: 195-236.
25. Senti FR, Pilch SM. Analysis of folate data from the second National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *J Nutr* 1985; 115: 1398-1402.
26. Sauberlich H. Folate status of U. S. Population groups. In: Folate in health and disease. L. B. Bailey (editor). New York: Marcel Dekker Inc., 1995; pp. 171-194.
27. Shojania AM. Oral contraceptives: effects on folate and vitamin B12 metabolism. *Can Med Assoc J* 1982; 126: 244-7.
28. Durand P, Prost M, Blache D. Folic acid deficiency enhances oral contraceptive-induced platelet hyperactivity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1939-46.
29. Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Metabolic abnormalities in cobalamin and folate deficiency. *FASEB J* 1993; 7: 1344-53.
30. Kang SS, Wong PWK, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 536-45.
31. Rozen R: Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Thromb Haemost* 1997; 78:523-526.



32. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Mathews RG. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methyltetrahydrofolate reductase. *Nature Genet* 1995; 10: 111-3.
33. Molloy AM, Daly S, Mills JK, Kirke PN, Whitehead AS, Ramsbottom D. Thermolabile variant of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications for folate intake recommendations. *Lancet* 1997; 349: 1591-3.
34. Snow FC. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1289-98.
35. Lindenbaum J, Allen RH. Clinical spectrum and diagnosis of folate deficiency. In: *Folate in health and disease*. L. B. Bailey (editor). New York: Marcel Dekker Inc., 1995; pp. 43-73.
36. Wilson DH, Herrmann R, Hsu S. Ion capture assay for folate with the Abbott IMx Analyser. *Clin Chem* 1995; 41: 1780-1.
37. Pfeiffer CM, Gregory JF, III. Enzymatic deconjugation of erythrocyte polyglutamyl folates during preparation for folate assay: investigation with reversed-phase liquid chromatography. *Clin Chem* 1996; 42: 1847-54.
38. Jacobsen DW. Serum and erythrocyte folate: a matter of life and premature death. *Clin Chem* 1996; 42: 1579-81.
39. Herbert V. Recommended dietary intakes (RDI) of folate in humans. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 661-70.
40. Kang SS, Wong PWK, Norusis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987; 36: 458-62.
41. Jacob RA, Wu M-M, Henning SM, Swendseid ME. Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction. *J Nutr* 1994; 124: 1072-80.
42. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-55.
43. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH. Relation between folate status, a common mutation in

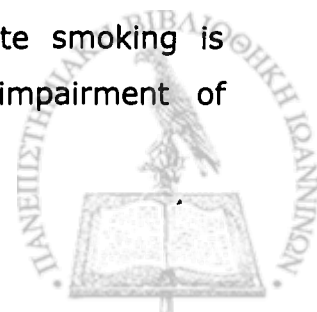


methyltetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93: 7-9.

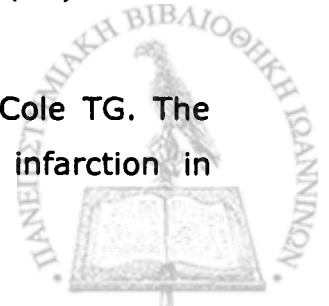
44. Brättstrom L, Wilcken D, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease. The result of a meta-analysis. *Circulation* 1998; 98: 2520-2526.
45. Glynn SA, Albanes D. Folate and cancer: a review of the literature. *Nutr Cancer* 1994; 22: 101-19.
46. Mills JL, Raymond E. Effect of recent research on recommendations for periconceptional folate supplement use. *Ann NY Acad ScieUSA* 1993; 678: 137-54.
47. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J med* 1992; 326: 242-250.
48. Stary HC, Chandler AB, Dinmore RE. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on vascular lesions of the council on arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995; 92: 1355-1374.
49. Ambrose J, Tannenbaum M, Alexopoulos D. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1988; 12: 56-62.
50. Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J* 1993; 69(5): 377-81.
51. Sherman CT, Litvack F, Grundfest W. Coronary angiography in patients with unstable angina pectoris. *N Engl J Med* 1986; 315(15): 913-9.
52. De Wood MA, Spores J, Notske R. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med* 1980; 303(16): 897-902.



53. Maseri A, L'Abbate A, Baroldi G. Coronary vasospasm as a possible cause of myocardial infarction. A conclusion derived from the study of preinfarction angina. *N Engl J Med* 1978; 299(23): 1271-7.
54. Bogaty P, Hackett D, Davies G, Maseri A. Vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation* 1994; 90(1): 5-11.
55. Willerson JT, Golino P, Eidt J, Campbell WB, Buja LM. Specific platelet mediators and unstable coronary artery lesions. Experimental evidence and potential clinical implications. *Circulation* 1989; 80(1): 198-205.
56. Grundy SM, Balady GJ, Criqui MH. Primary prevention of coronary heart disease: guidance from Framingham. A statement for healthcare professionals from the AHA Task Force on Risk Reduction. *Circulation* 1998; 97: 1876-1887.
57. Heller RF, Chinn S, Tunstall Pedoe HD, Rose G. How well can we predict coronary heart disease? Findings in the United Kingdom Heart Disease Prevention Project. *BMJ* 1984; 288: 1409-1411.
58. Pasternak RC, Grundy SM, Levy D, Thompson PD. Spectrum of risk factors for coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 970-990.
59. Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk factor assessment equations. A statement for Healthcare Professionals from AHA/ACC. *Circulation* 1999; 100: 1481-1492.
60. McBride PE. The health consequences of smoking. *Cardiovascular diseases. Med Clin North Am* 1992; 76: 333-53.
61. McGill HC, McMahan A, Malcom GT, Oalmann MC, Strong JP, for the Pathobiological determinants of atherosclerosis in Youth (PDAY) research group. Effects of serum lipoproteins and smoking on atherosclerosis in young men and women. *Arterioscler Tromb Vasc Biol.* 1997; 17: 95-106.
62. Solberg LA, Strong JP. Risk factors and atherosclerotic lesions: a review of autopsy studies. *Arteriosclerosis.* 1983; 3: 187-198.
63. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of



- endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149-55.
64. Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrich SP, Shapiro S. The risk of myocardial infarction after quitting smoking in men under 55 years of age. *N Engl J med* 1985; 313: 1511-1514.
 65. Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking and heart disease. Mechanisms and risk. *JAMA* 1995; 273: 1047-53.
 66. Neaton JD, Wentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. Overall findings and differences by age for 316,099 white men. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group. *Arch Intern Med* 1992; 152: 56-64.
 67. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-809.
 68. Steinberg D. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation* 1997; 95: 1062-1071.
 69. Summary of the second report of the National Cholesterol Education Programm (NCEP) Expert panel on detection, evaluation and treatment of High Blood Cholesterol in adults. *JAMA* 1993; 269: 3015-23.
 70. Martin MJ, Hulley SB, Browner WS. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361, 662 men. *Lancet* 1986; 2: 933-936.
 71. Gordon T, Castelli WR, Hjortland MC. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: the Framingham study. *Am J Med.* 1977; 62: 707-714.
 72. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1991; 325: 373-381.
 73. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study(4S). *Lancet* 1994; 344: 1383-1389.
 74. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in



patients with average cholesterol levels. N Engl J med 1996; 335: 1001-1009.

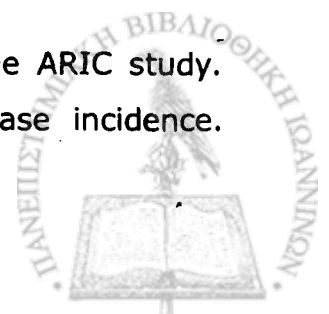
75. The Long-term Intervention Pravastatin in Ischemic Disease (LIPID) study group: Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. N Engl Med 1998; 339: 1349-1357.
76. Manninen V, Tenkanen T, Koskinen P. Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. Circulation 1992; 85: 37-45.
77. Assmann G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease. Prospective Cardiovascular Munster study (PROCAM). Am J Cardiol 1992; 70(7): 733-7.
78. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ. High density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. Circulation 1989; 79: 8-15.
79. Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. Atherosclerosis. 1995; 115: 243-253.
80. Sugatini J, Miwa M, Komiyama Y, Ito S. HDL inhibits the synthesis of platelet-activating factor in human vascular endothelial cells. J Lipid Mediat Cell Signal. 1996; 13: 73-88.
81. Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Ordovas JM, Cohn SD, Castelli WP, Wilson PW. Factors associated with low and elevated plasma high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-1 levels in the Framingham Offspring Study. J Lipid Res 1994; 35: 871-882.
82. MacMahon S, Peto R, Cutler J. Blood pressure, stroke and coronary heart disease. Part 1, prolonged differences in blood pressure: prospective observation studies corrected for the regression dilution bias. Lancet 1990; 335: 765-74



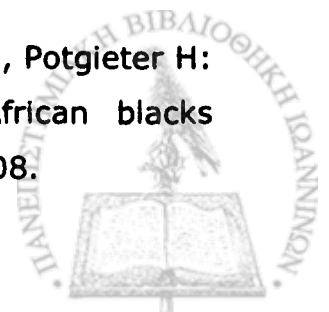
83. Hebert PR, Moser M, Mayer J, Glynn RJ, Hennekens CH. Recent evidence on drug therapy of mild to moderate hypertension and decreased risk of coronary heart disease. *Arch Intern Med*. 1993; 153: 578-581.
84. Levy D, Salomon M, D'Agostin RB, Belanger AJ, Kannel WB. Prognostic implications of baseline electrocardiographic features and their serial changes in subjects with left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994; 90: 1786-93.
85. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease: the Framingham study. *JAMA* 1979; 241: 2035-2038.
86. Butler WJ, Ostrander LD, Carman WJ, Lamphiear DE. Mortality from coronary heart disease in the Tecumseh study. Long-term effect of diabetes mellitus, glucose tolerance and other risk factors. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 541-7.
87. NHLBI Obesity education initiative expert panel. Clinical guidelines on identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults: the evidence report. Bethesda, Md: National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute: 1998.
88. Krieger DR, Landsberg L. Mechanisms in obesity-related hypertension: role of insulin and catecholamines. *Am J Hypertens* 1988; 1: 84-90.
89. Denke MA, Sempos CT, Grundy SM. Excess body weight: an underrecognized contributor to dyslipidemia in white American men. *Arch Intern Med* 1993; 153: 1093-1103.
90. Giltay EJ, Eibers JM, Gooren LJ, Emeis JJ, Kooistra T, Asscheman H, Stehouwer CD. Visceral fat accumulation is an important determinant of PAI-1 levels in young, nonobese men and women: modulation by cross-sex hormone administration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1716-1722.
91. Rimm EB, Stampfer MJ, Giovannuci E, Ascherio A, Spiegelman D, Colditz GA, Willett WC. Body size and fat distribution as predictors of coronary heart disease among middle-aged and older US men. *Am J Epidemiol* 1995; 142: 677-685.



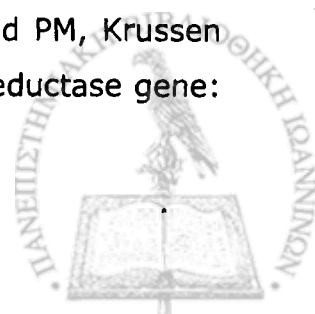
92. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol.* 1998; 81: 7B-12B.
93. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk.* 1996; 3: 213-9.
94. Scanu AM. Atherothrombogenicity of Lipoprotein(a): The Debate. *Am J Cardiol* 1998; 82: 26Q-33Q.
95. Marcovia SM, Koschinsky ML. Lipoprotein(a) as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998; 82: 57U-66U.
96. Marcovia SM, Koschinsky ML. Lipoprotein(a) concentration and Apolipoprotein(a) size. A synergistic role in advanced atherosclerosis? *Circulation* 1999; 100: 1151-1153.
97. Ernst E, Resch KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a metaanalysis and review of the literature. *Ann Intern Med* 1993; 118: 956-63.
98. Poller L, MacCallum PK, Thomson JM, Kerns W. Reduction of factor VII coagulant activity, a risk factor for ischaemic heart disease, by fixed dose warfarin: a double blind crossover study. *Br Heart J* 1990; 63: 231-233.
99. Christenson R, Azzazy H. Biochemical markers of the Acute Coronary Syndromes. *Clinical Chemistry* 1998; 44:1845-1853.
100. Lagrand wk, Visser CA, Hermens W. C-Reactive protein as a cardiovascular risk factor. More than epiphenomenon? *Circulation* 1999; 100: 96-102
101. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C-reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ* 1996; 312: 1061-1065.
102. Gupta S. Chronic infection in the aetiology of atherosclerosis-focus on Chlamydia pneumoniae. *Atherosclerosis* 1999; 143: 1-6.
103. Danesh J, Youngman L, Clark S, Parish S, Peto R, Collins R for the ISIS Collaborative Group. *BMJ* 1999; 319: 1157-62.
104. Folsom A, Nieto J, Sorlie P, Chambles L, Graham D for the ARIC study. Helicobacter pylori seropositivity and coronary heart disease incidence. *Circulation* 1998; 98: 845-850.



105. Libby P, Ridker P. Novel Inflammatory markers of coronary risk. Theory versus practice. *Circulation* 1999; 100: 1148-1150.
106. Mudd SH, Levy HL, Scovby F: Disorders of transsulfuration. In *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, edn 6. Edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. New York: McGraw-Hill; 1989:693-734
107. McCully KS: Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56:111-128.
108. Rosenblatt DS: Inherited disorders of folate transport and metabolism. In *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, edn 6. Edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. New York: McGraw-Hill; 1989:2049-2064.
109. Finkelstein JD: The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998; 157(suppl): 40-44.
110. Miner SE , Evrovski J, Cole DE: Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: an update. *Clin Biochem* 1997; 30:189-201.
111. Boers GHJ: State of the art. In *Homocystinuria: A Risk Factor of Premature Vascular Disease*, edn 1. Edited by Boers GHJ. Amsterdam: Foris; 1986: 7-10.
112. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett MC, Mewcomer LM, Upson B, Ullman D, et al: A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268: 877-881.
113. Jacques PF, Rosenberg IH, Rogers G, Selhub J, Bowman BA, Gunter EW, et al.: Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third national health and nutrition examination survey. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 482-489.
114. Rossi E Beilby JP, McQuillan BM, Hung J: Biological variability and reference intervals for total plasma homocysteine. *Ann Clin Biochem* 1999; 36:56-61.
115. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdaf A, Nordrehaug JE, et al: Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile: The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274:1526-1 533.
116. UbbinkB, Vermaak WJ, Delpont R, van der Merwe A, Becker PJ, Potgieter H: Effective homocysteine metabolism may protect South African blacks against coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:802-808.

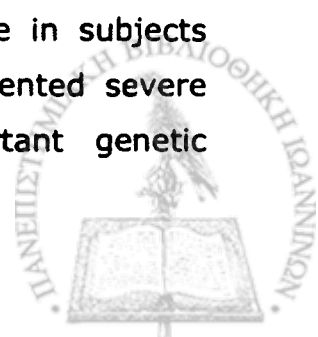


117. Stolzenberg-Solomon RZ, Miller ER III, Maguire MG, Selhub J, Appel U. Association of dietary protein intake and coffee consumption with serum homocysteine concentrations in an older population. *Am J Clin Nutr* 1999; 69:467-475.
118. Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE: Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 1998; 67:263-270.
119. Tucker KL, Selhub J Wilson PW, Rosenberg IH: Dietary intake pattern relates to plasma folate and homocysteine concentrations in the Framingham Heart Study. *J Nutr* 1996; 126: 3025-3031.
120. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270:2693-2698.
121. Naurath HJ, Joosten E, Riezler R, Stabler SP, Allen RH, Lindenbaum J: Effects of vitamin B12, folate and vitamin B6 supplements in elderly people with normal serum vitamin concentrations. *Lancet* 1995; 346:85-89.
122. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D`Agostino RB, Wilson PWF, Belanger AJ, et al. Relationship between plasma homocysteine, vitamin status and extracranial carotid-artery stenosis in the Framingham Study Population. *J Nutr* 1996; 126: 1258S-1265S.
123. Tucker KL, Mahnken B, Wilson PWF, Jacques P, Selhub J. Folic acid fortification of the food supply. Potential benefits and risks for the elderly population. *JAMA* 1996; 276: 1879-1885
124. Rozen R: Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Thromb Haemost* 1997; 78:523-526.
125. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, Sugiyama T, Hamada C, Kurihara Y, et al: Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1465-1469.
126. Verhoef P, Kok FJ, Kluijtmans LA, Blom HJ, Refsum H Ueland PM, Krussen A: The 677C~T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene:

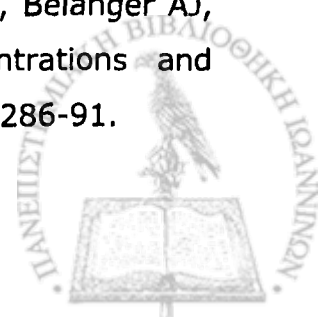


associations with plasma total homocysteine levels and risk of coronary atherosclerotic disease. *Atherosclerosis* 1997; 132:105-113.

127. Dunn J, Title LM, Bata I, Johnstone DE, Kirkland SA, O'Neill BJ, et al: Relation of a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase to plasma homocysteine and early onset coronary artery disease. *Clin Biochem* 1998; 31: 95-100.
128. Markus HS, Ali N, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J: A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* 1997; 28: 1739-1743.
129. McQuillan B, Beilby J, Nidorf M, Thompson P, Hung J. Hyperhomocysteinemia but not the C677T mutation of MTHFR is an independent risk determinant of carotid wall thickening. *Circulation* 1999; 99: 2383-2388.
130. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, et al: Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996; 93:7-9.
131. De Jong SC, Stehouwer CDA, van den Berg M, Kostense PJ, Alders D, Jakobs C, Pals G, Rauwerda JA. Determinants of fasting and post-methionine homocysteine levels in families predisposed to hyperhomocysteinemia and premature vascular disease. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1316-1324.
132. Tokgozoglou SL, Alikasifoglou M, Unsal J, Atalar E, Aytermir K, Ozer N, Ovunc K, Usal O, Kes S, Tuncbilek E. Methylenetetrahydrofolate reductase genotype and the risk and extent of coronary artery disease in a population with low plasma folate. *Heart* 1999; 81: 518-522.
133. Girelli D, Friso S, Trabetti E, Oliviero O, Russo C, Pessoto R, Faccini G, Franco Pignatti, Mazzucco A, Corrocher R. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation, plasma homocysteine, and folate in subjects from Northern Italy with or without angiographically documented severe coronary atherosclerotic disease: evidence for an important genetic-environmental interaction. *Blood* 1998; 91: 4158-4163.



134. Verhoeff BJ, Trip MD, Prins MH, Kastelein JJP, Reitsma PH. The effect of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation on levels of homocysteine, folate, vitamin B12 and on the risk of premature atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998; 141: 161-166.
135. Brattstrom L, Wilcken D, Ohrvik J, Brudin L. Common MTHFR gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease. The result of a Meta-analysis. *Circulation* 1998; 98: 2520-2526.
136. Gemmati D, Previati M, Serino M, Moratelli S, Guerra S, Capitani S, Forini E, Ballerini G, Scapoli G. Low folate levels and thermolabile MTHFR as primary determinant of mild hyperhomocysteinemia in normal and thromboembolic subjects. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1761-1767.
137. Engbersen AMT, Franken DG, Boers GHJ, Stevens EMB, Trijbels FJM, Blom HJ: Thermolabile 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 142-150.
138. Malinow MR, Nieto FJ, Szklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocyst(e)ine in asymptomatic adults. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*. 1993; 87: 1107-13.
139. Aronow WS, Ahn C, Schoenfeld MR. Association between plasma homocysteine and extracranial carotid arterial disease in older persons. *Am J Cardiol*. 1997; 79: 1432-33.
140. Tonstad S, Joakimsen O, Stensland-Bugge E, Leren TP, Ose L, Russell D, et al. Risk factors related to carotid intima-media thickness and plaque in children with familial hypercholesterolemia and control subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996; 16: 984-91.
141. Clarke R, Fitzgerald D, O'Brien C, O'Farrell C, Roche G, Parker RA, et al. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for extracranial carotid artery atherosclerosis. *Ir J Med Sci*. 1992; 161: 61-5.
142. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med*. 1995; 332: 286-91.



143. Verhoef P, Kok FJ, Kruyssen DA, Schouten EG, Grobbee DE, Ueland PM, et al. Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 989-95.
144. Montalescot G, Ankri A, Chadeaux-Vekemans B, Blacher J, Phillippe F, Drobinski G, et al. Plasma homocysteine and the extent of atherosclerosis in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol.* 1997; 60: 295-300.
145. van den Berg M, Stehouwer CD, Bierdrager E, Rauwerda JA. Plasma homocysteine and severity of atherosclerosis in young patients with lower-limb atherosclerotic disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996; 16: 165-71.
146. Konecky N, Malinow MR, Tunick PA, Freedberg RS, Rosenzweig BP, Katz ES, et al. Correlation between plasma homocyst(e)ine and aortic atherosclerosis. *Am Heart J.* 1997; 133: 534-40.
147. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA.* 1997; 277: 1775-81.
148. Markus HS, Ali N, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke.* 1997; 28: 1739-43.
149. Lindgren A, Brattstrom L, Norrving B, Hultberg B, Andersson A, Johansson BB. Plasma homocysteine in the acute and convalescent phases after stroke. *Stroke.* 1995; 26: 795-800.
150. Hopkins PN, Wu LL, Wu J, Hunt SC, James BC, Vincent GM, et al. Higher plasma homocyst(e)ine and increased susceptibility to adverse effects of low folate in early familial coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995; 15: 1314-20.
151. Dalery K, Lussier-Cacan S, Selhub J, Davignon J, Latour Y, Genest J Jr. Homocysteine and coronary artery disease in French Canadian subjects: relation with vitamins B12, B6, pyridoxal phosphate, and folate. *Am J Cardiol.* 1995; 75: 1107-11.



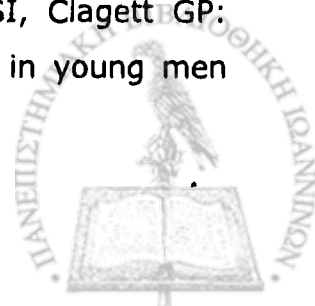
152. Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, van Lente F, Gupta A, et al. Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate. Common and independent reversible risk factors for coronary artery disease. *Circulation*. 1995; 92: 2825-30.
153. Malinow MR, Ducimetiere P, Luc G, Evans AE, Arveiler D, Cambien F, et al. Plasma homocyst(e)ine levels and graded risk for myocardial infarction: findings in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 1996; 126: 27-34.
154. Alfthan G, Aro A, Gey KF. Plasma homocysteine and cardiovascular disease mortality [Letter]. *Lancet*. 1997; 349: 397.
155. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA*. 1992; 268: 877-81.
156. Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM. Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med*. 1998; 158: 862-7.
157. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol*. 1995; 24: 704-9.
158. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet*. 1995; 346: 1395-8.
159. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1997; 337: 230-6.
160. Stehouwer CD, Weijnenberg MP, van den Berg M, Jakobs C, Feskens EJ, Kromhout D. Serum homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men: a 10-year follow-up. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998; 18: 1895-901.
161. Petri M, Roubenoff R, Dallal GE, Nadeau MR, Selhub J, Rosenberg IH. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 1996; 348: 1120-4.



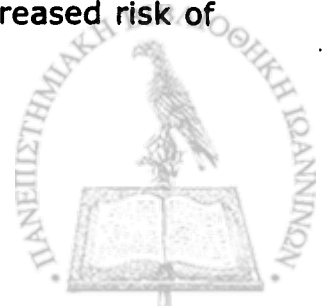
162. Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, Hoes AW, Hofman A, Witteman JC, et al. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: the Rotterdam study. *Arch Intern Med.* 1999; 159: 38-44.
163. Chasan-Taber L, Selhub J, Rosenberg IH, Malinow MR, Terry P, Tishler PV, et al. A prospective study of folate and vitamin B6 and risk of myocardial infarction in US physicians. *J Am Coll Nutr.* 1996; 15: 136-43.
164. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, Kok FJ, Willett WC, Stampfer MJ. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke.* 1994; 25: 1924-30.
165. Verhoef P, Hennekens CH, Allen RH, Stabler SP, Willett WC, Stampfer MJ. Plasma total homocysteine and risk of angina pectoris with subsequent coronary artery bypass surgery. *Am J Cardiol.* 1997; 79: 799-801.
166. Alfthan G, Pekkanen J, Jauhiainen M, Pitkaniemi J, Karvonen M, Tuomilehto J, et al. Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis.* 1994; 106: 9-19.
167. Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, Cutler JA, Kuller LH. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1947-53.
168. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, et al. 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: 204-10.
169. de Bree A, van Dusseldorp M, Brouwer IA, van het Hof KH, Steegers-Theunissen RP. Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake. *Eur J Clin Nutr.* 1997; 51: 643-60.
170. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, Kok FJ, Willett WC, Stampfer MJ. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke.* 1994; 25: 1924-30.
171. Morrison HI, Schaubel D, Desmeules M, Wigle DT. Serum folate and risk of fatal coronary heart disease. *JAMA.* 1996; 275: 1893-6.



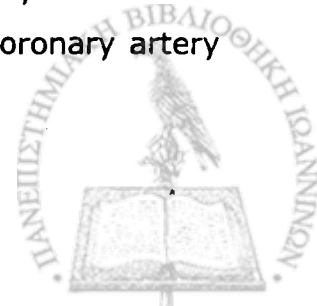
172. Giles WH, Kittner SJ, Anda RF, Croft JB, Casper ML. Serum folate and risk for ischemic stroke. First National Health and Nutrition Examination Survey epidemiologic follow-up study. *Stroke*. 1995; 26: 1166-70.
173. Rimm EB, Willett WC, Hu FB, Sampson L, Colditz GA, Manson JE, et al. Folate and vitamin B6 from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women. *JAMA*. 1998; 279: 359-64.
174. Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattstrom L, Boers G, Ueland P, et al. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European COMAC Group. *Circulation*. 1998; 97: 437-43.
175. Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, Gaziano JM, Allen RH, Stabler SP, et al. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relation with vitamins B6, B12, and folate. *Am J Epidemiol*. 1996; 143: 845-59.
176. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, et al. : Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 286-291.
177. Cheng SW, Ting AC, Wong J: Fasting total plasma homocysteine and atherosclerotic peripheral vascular disease. *Ann Vasc Surg* 1997; 11: 217-223.
178. Aronow WS, Ahn C: Association between plasma homocysteine and peripheral arterial disease in older persons. *Coron Artery Dis* 1998; 9: 49-50.
179. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, et al: Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997, 277: 1775-1781.
180. Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattstrom L, Boers G, Ueland P, et al: Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. *Circulation* 1998; 97: 421-424.
181. Valentine RJ Kaplan HS, Green R, Jacobsen DW, Myers SI, Clagett GP: Lipoprotein (a), homocysteine, and hypercoagulable states in young men



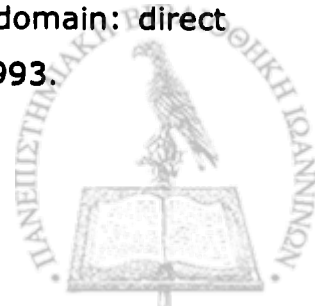
- with premature peripheral atherosclerosis: a prospective, controlled analysis. *J Vasc Surg* 1996; 23: 53-61.
182. Amundsen T, Ueland PM, Waage A: Plasma homocysteine levels in patients with deep venous thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1321-1323.
183. Taylor LM Jr, Moneta GL, Sexton GJ, Schuff RA, Porter JM: Prospective blinded study of the relationship between plasma homocysteine and progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1999; 29: 8-19.
184. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG: Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995; 346: 1395-1398.
185. Stehouwer CD, Weijenberg MP, Van den Berg M, Jakobs C, Feskens EJ, Kromhout D: Serum homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men: a 10-year follow-up. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1895-1901.
186. Voutilainen S, Alfthan G, Nyyssonen K, Salonen R, Salonen JT: Association between elevated plasma total homocysteine and increased common carotid artery wall thickness. *Ann Med* 1998; 30: 300-306.
187. Van Beyman IM, Smeitink JAM, Heijer M, Pothoff P, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia. A risk factor for ischemic stroke in children. *Circulation* 1999; 99: 2070-2072.
188. Aronow WS, Ahn C: Association between plasma homocysteine and coronary artery disease in older persons. *Am J Cardiol* 1997; 80: 1216-1218.
189. Montalescot G, Ankri A, Chadeaux-Vekemans B, Blacher J, Philippe F, Drobinski G, et al: Plasma homocysteine and the extent of atherosclerosis in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 1997; 60: 295-300.
190. Donner MG, Schwandt P, Richter WO: Homocysteine and coronary heart disease: is slight or moderate homocysteinemia related to increased risk of coronary heart disease? *Fortschr Med* 1997; 115: 24-30.



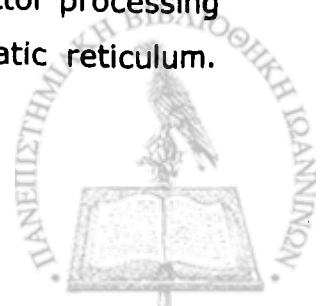
191. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, et al.: A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268: 877-881.
192. Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM: Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med* 1998; 158: 862-867.
193. Bots M, Launer L, Lindemans J, Hoes A, Hofman A, Witteman J, Koudstaal P, Grobbee D. Homocysteine and short term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly. The Rotterdam study. *Arch Intern Med* 1999; 159: 38-44.
194. Stehouwer C, Weijenberg M, Van den Berg M, Jakobs C, Feskens E, Kromhout D. Serum Homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1895-1901.
195. Bostom AC, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhub J, D'Agostino RB, Wolf PA, Jacques PF, Wilson PW. Nonfasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. *Arch Intern MED* 1999; 159: 1077-80.
196. Kark J, Selhub J, Adler B, Gofin J, Abramson J, Friedman G, Rosenberg I. Nonfasting plasma total homocysteine level and mortality in middle aged and elderly men and women in Jerusalem. *Ann Intern Med* 1999; 131: 321-320.
197. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women. *JAMA* 1999; 281: 1817-21.
198. Greenlund KJ, Sathanur R, Ji-Hua Xu, Dalferes E, Myers L, Pickoff A, Berenson G. Plasma homocysteine distribution and its association with parental history of coronary artery disease in black and white children. The Bogalusa Heart study. *Circulation* 1999; 99: 2144-2149.
199. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE: Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1 997; 337: 230-236.



200. Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, Cutler JA, Kuller LH: Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 1947-1953.
201. Alfthan G, Pekkanen J, Jauhiainen M, Pitkaniemi J, Karvonen M, Tuomilehto J, et al: Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994; 106: 9-19.
202. Ray JG: Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease. *Arch Intern Med* 1998; 158: 2101-2106.
203. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocysteinemia, factor V Leiden and risks of future thrombosis. *Circulation* 1997; 95: 1777-1782.
204. Rodgers GM, Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA: Homocysteine, a risk factor for vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells [abstract]. *Clin Res* 1993, 41: 19.
205. Rodgers GM, Kane WH: Activation of endogenous factor V by a homocysteine induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 1986; 77: 1909-1916.
206. Lentz SR, Sadler JE: Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991; 88: 1906-1914.
207. Harpel PC, Chang VT, Borth W: Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of lipoprotein(a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis and sulfhydryl compound metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992, 89: 10193-10197.
208. Graeber IE, Slott JH, Ulane RE, Schulman JD, Stuart MJ: Effect of homocysteine and homocystine on platelet and vascular arachidonic acid metabolism. *Pediatr Res* 1982; 16: 490-493.
209. Hajjar KA, Mauri L, Jacovina AT, Zhong F, Mirza UA, Padovan JC, Chait BT: Tissue plasminogen activator binding to the annexin II tail domain: direct modulation by homocysteine. *J Biol Chem* 1998; 273: 9987-9993.



210. De Valk-deRoo GW, Stehouwer CD, Lambert J, Schikwijk CG, van der Mooren MJ, Kluft C, Netelenbos C. Plasma homocysteine is weakly correlated with plasma endothelin and von Willebrand factor but not with endothelium-dependent vasodilation in healthy postmenopausal women. *Clin Chem* 1999; 45: 1200-5.
211. Durand P, Lussier-Cacan S, Blache D: Acute methionine load-induced hyperhomocysteinemia enhances platelet aggregation, thromboxane biosynthesis, and macrophage-derived tissue factor activity in rats. *FASEB J* 1997; 11: 1157-1168.
212. De Groot PG, Willems C, Boers GHJ, Gonsalves MD, Van Aken WG, Van Mourik JA: Endothelial cell dysfunction in homocystinuria. *Eur J Clin Invest* 1983; 13: 405-410.
213. Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE: Homocysteine-induced endothelial cell injury in vivo: a model for the study of vascular injury. *Thromb Res* 1980; 18: 113-121.
214. Wang H, Yoshizumi M, Lai K, Tsai JC, Perrella MA, Haber E, Lee ME: Inhibition of growth and p21 ras methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. *J Biol Chem* 1997; 272: 25380-25385.
215. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, 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.
216. Rodgers GM, Conn MT: Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. *Blood* 1990; 75: 895-901.
217. Hayasi T, Honda G, Suzuki K. An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin and enhances thrombomodulin expression in human umbilical vein endothelial cells. *Blood* 1992; 79: 2930-2936.
218. Lentz SR, Sadler JE. Homocysteine inhibits von Willebrand factor processing and secretion by preventing transport from the endoplasmic reticulum. *Blood* 1993; 81: 683-689.



219. Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA, Rodgers GM. Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1327-1333.
220. Nishinaga M, Ozawa T, Shimada K. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 1381-1386
221. Hajjar KA. Homocysteine induced modulation of tissue plasminogen activator binding to its endothelial cell membrane receptor. *J Clin Invest* 1993; 91:2873-2879.
222. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, 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.
223. Upchurch GR, Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Loscalzo J. Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272: 17012-17017.
224. Wang J, Dudman NPB, Wilcken DEL. Effects of homocysteine and related compounds on prostacyclin production by cultured human vascular endothelial cells. *Thromb Haemost* 1993; 70: 1047-1052.
225. Kokame K, Kato H, Miyata T. Homocysteine respondent genes in vascular endothelial cells identified by differential display analysis: GRP7/BIP and novel genes. *J Biol Chem* 1996; 271: 29659-29665.
226. Lentz SR, Malinow MR, Piegors DJ, Teredesai MB, Faraci FM, Heistad DD: Consequences of hyperhomocyst(e)inemia on vascular function in atherosclerotic monkeys. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2930-2934.
227. Van den Berg M, Boers GH, Franken DG, Blom HJ, Van Kamp GJ, Jakobs C, et al: Hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 176-181.



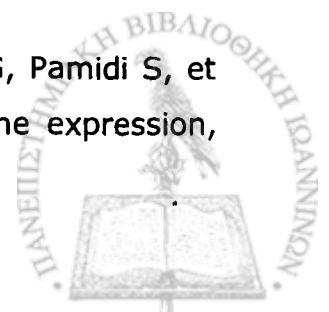
228. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, Robinson J, Thomas O, Leonard JV, Deanfield JE: Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 854-858.
229. Takawol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA: Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilatation in humans. *Circulation* 1997; 95: 1119-1121.
230. Izzo MR, Feldman MD, Wu CC, Jafar MZ, Jacobs K, Hussan S, et al: Lowering plasma homocysteine improves brachial artery vasoreactivity in patients with coronary artery disease [abstract]. *Circulation* 1995; 92(suppl I): 708.
231. Haynes WG, Sinkey CA, Kanani P: Acute methionine loading produces endothelial dysfunction in humans [abstract]. *J Invest Med* 1997; 45: 210.
232. Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, Brownlee M, Bones C, Newcombe RG, Lewis MJ: Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation* 1998; 98: 1848-1852.
233. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Kooner JS: Acute hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction. *Lancet* 1998; 351: 36-37.
234. Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T: Endothelial dysfunction by acute hyperhomocyst(e)inemia: restoration by folic acid. *Clin Sci* 1999; 96: 235-239.
235. Woo KS, Chook P, Lolin Y, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocysteinemia. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 2002-6.
236. Bellamy MF, W Mc Dowell IF, Ramsey MW, Brownlee M, Newcombe RG, Lewis MJ. Oral folate enhances endothelial function in hyperhomocysteinaemic subjects. *Eur J Clin Invest* 1999; 29(80): 659-62.
237. Kanani PM, Sinkey CA, Browning LR, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG: Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999; 100: 1161-1168.



238. Chambers JC, McGregor, Jeff Jean-Marie, Obeid OA, Kooner JS. Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia. An effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation* 1999; 99: 1156-1160.
239. Nappo F, De Rosa N, Marfella R, De Lucia D, Ingrosso D, Perna AF, Farzati B, Giugliano D. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA* 1999; 281: 2113-8.
240. Ambrosi P, Rolland P, Bodard H, Barlatier A, Charpiot P, Guigand G, Friggi A, Ghiringhelli O, Habib G, Bouvenot G, Garcon D, Luccioni R. Effects of folate supplementation in hyperhomocysteinemic pigs. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 274-9.
241. Megnien JL, Gariépy J, Saudubray JM, Nuoffer JM, Denarie N, Levenson J, Simon A: Evidence of carotid artery wall hypertrophy in homozygous homocystinuria. *Circulation* 1998; 98: 2276-2281.
242. Brown JC, Rosenquist TH, Monaghan DT: ERK2 activation by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 251: 669-676.
243. Majors A, Ehrhart LA, Pezacka EH: Homocysteine as a risk factor for vascular disease: enhanced collagen production and accumulation by smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2074-2081.
244. Tang L, Mamotte CD, Van Bockxmeer FM, Taylor RR: The effect of homocysteine on DNA synthesis in cultured human vascular smooth muscle. *Atherosclerosis* 1998; 136: 169-173.
245. Nishio E, Watanabe Y: Homocysteine as a modulator of platelet-derived growth factor action in vascular smooth muscle cells: a possible role for hydrogen peroxide. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 269-274.
246. Dalton ML, Gadson PF Jr, Wrenn RW, Rosenquist TH: Homocysteine signal cascade: production of phospholipids, activation of protein kinase C, and the induction of c-fos and ϵ -myb in smooth muscle cells. *FASEB J* 1997; 11: 703-711.



247. Lubec B, Labudova O, Hoeger H, Muehl A, Fang-Kircher S, Marx M, et al: Homocysteine increases cyclin-dependent kinase in aortic rat tissue. *Circulation* 1996; 94: 2620-2625.
248. Fritzer-Szekeres M, Blom HJ, Boers GH, Szekeres T, Lubec B: Growth promotion by homocysteine but not by homocysteic acid: a role for excessive growth in homocystinuria or proliferation in hyperhomocysteinemia? *Biochim Biophys Acta* 1998; 1407: 1-6.
249. Starkebaum G, Harlan JM: Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 1993; 77: 1370-1376.
250. Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A: The role of sulfur-containing amino acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1987; 262: 10098-10103.
251. Voutilainen S, Morrow JD, Roberts LJ, Alfthan G, Alho H, Nyyssonen K, Salonen JT. Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1263-6.
252. Zhang F, Slungaard A, Vercellotti GM, Ladeola C: Superoxide-dependent cerebrovascular effects of homocysteine. *Am J Physiol* 1998; 274: R1704-R1711.
253. Emsley AM, Jeremy JY, Gomes GN, Angelini GD, Plane F: Investigation of the inhibition effects of homocysteine and copper on nitric oxide-mediated relaxation of rat isolated aorta. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1034-1040.
254. Upchurch GR Jr, Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF Jr, Loscalzo J: Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272: 17012-17017.
255. Outinen PA, Sood SK, Liaw PC, Sarge KD, Maeda N, Hirsh J, et al: Characterization of the stress-inducing effects of homocysteine. *Biochem J* 1998; 332: 213-221 .
256. Austin RC, Sood SK, Dorward AM, Singh G, Shaughnessy SG, Pamidi S, et al: Homocysteine-dependent alterations in mitochondrial gene expression,

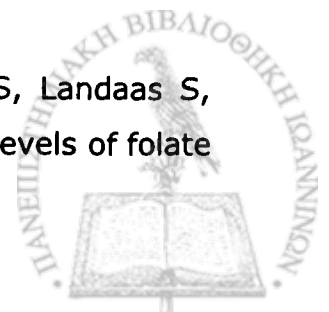


function and structure. Homocysteine and H₂O₂ act synergistically to enhance mitochondrial damage. *J Biol Chem* 1998; 273: 30808-30817.

257. Hultberg B, Andersson A, Isaksson A: The cell-damaging effects of low amounts of homocysteine and copper ions in human cell line cultures are caused by oxidative stress. *Toxicology* 1997; 123: 33-40.
258. Satton-Tyrrell K, Bostom A, Selhub J, Zeigler-Johnson C: High homocysteine levels are independently related to isolated systolic hypertension in older adults. *Circulation* 1997; 96: 1745-1749.
259. Rolland PH, Friggi A, Barlatier A, Piquet P, Latrille V, Faye MM, et al: Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig: captopril-hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. *Circulation* 1995; 91: 1161-1174.
260. Selhub J, Jacques P, Rosenberg IH, Rogers G, Bowman B, Gunter E, Wright J, Johnson C. Serum total homocysteine concentrations in the third national health and nutrition examination survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Ann Intern Med.* 1999; 131: 331-339.
261. Lindgren A, Brattstrom L, Norrving B, Hultberg B, Andersson A, Johansson BB. Plasma homocysteine in the acute and convalescent phases after stroke. *Stroke* 1995; 26: 795-800.
262. Egerton W, Silberberg J, Crooks R, Ray c, Xie L, Dudman N. Serial measures of plasma homocysteine after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1996; 77: 759-61.
263. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354: 407-413.
264. Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, Gaziano JM, Allen RH, Stabler SP, et al. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relation with vitamins B₆, B₁₂, and folate. *Am J Epidemiol.* 1996; 143: 845-59.
265. Clarke R, Collins R. Can dietary supplements with folic acid or vitamin B₆ reduce cardiovascular risk? Design of clinical trials to test the homocysteine hypothesis of vascular disease. *J Cardiovasc Risk.* 1998; 5: 249-55.



266. Lonn E, Genest J, Yusuf S, Pogue J, Liu P, McQueen M, Title L, et al. Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE-2) Study, McMaster University, Canada. Medical Research Council of Canada Grant number MT-15428.
267. VITATOPS Study Group. Vitamins to Prevent Stroke (VITATOPS) Study. Stroke Unit, Royal Perth Hospital, University of Western Australia, Australia.
268. Lawrence JM, Petitti DB, Watkins M, Umekubo M. Trends in serum folate after food fortification. *Lancet* 1999; 354: 915.
269. Jacques P, Selhub J, Bostom A, Wilson P, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; 340: 1449-54.
270. Malinow MR, Duell PB, Hess DL. Reduction of plasma homocysteine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1998; 338: 1009-15.
271. Brouwer I, Dusseldorp, Thomas C, Duran M, Hautvast J, Eskers T, Steegers-Theunissen R. Low dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 99-104.
272. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH. MTHFR polymorphism, plasma folate, homocysteine and the risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996; 94: 2410-2416.
273. Stampfer M, Rimm E. Folate and cardiovascular disease. Why we need a trial now. *JAMA* 1996; 275: 1893-1896.
274. Mansoor M, Kristensen O, Hervig T. Low concentrations of folate in serum and erythrocytes of smokers: Methionine loading decreases folate concentrations in serum of smokers and nonsmokers. *Clin Chem* 1997; 43:2192-4.
275. Voutilainen S, Lakka TA, Rissanen T, Porkkala E, Kaplan GA, Salonen JT. Low serum folate levels are associated with an excess risk of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease risk factor study (KIHD). *Eur Heart J*. 1999: 20 (abstract Suppl)
276. Thelle D, Christensen B, Ringstad j, Retterstol L, Djurovic S, Landaas S, Stensvold I, Berg K. University of Oslo. Relation between the levels of folate



in whole blood, homocysteine in serum, and risk for first acute myocardial infarction. Eur Heart J. 1999; 20 (abstract Suppl).

