

هموسیستئین و ترومبوز

Homocystein and Thrombosis

علی احمدی

دانشجوی کارشناس ارشد هماتولوژی
سازمان انتقال خون ایران

زیر نظر :

محمد رضا دیهیم

عضو هیئت علمی سازمان انتقال خون ایران

تهیه شده در مرکز تحقیقات
سازمان انتقال خون ایران

تایپ، صفحه آرایی و امور رایانه :
ربابه قبادی

بهمن ماه ۱۳۸۳

Homocystein and Thrombosis

هموسیستئین و ترومبوز

چکیده

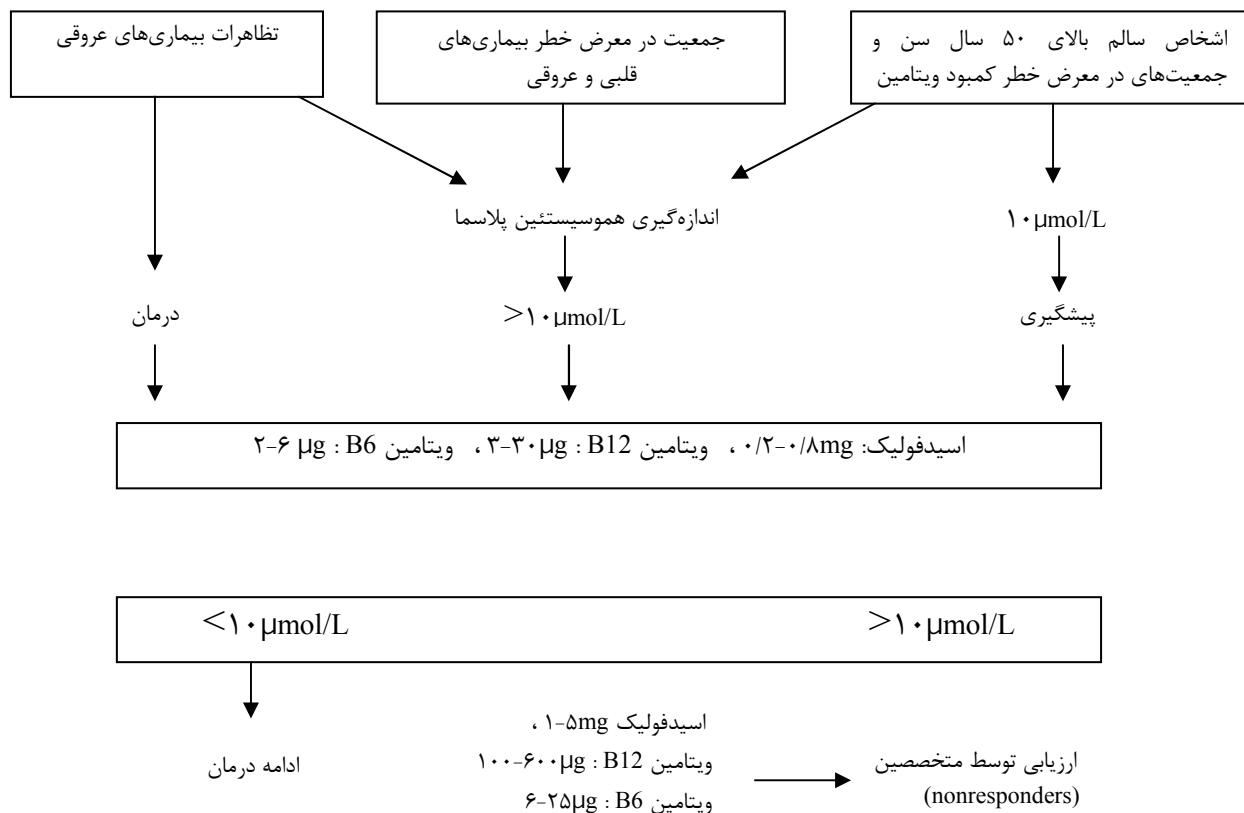
افزایش روزافزون ابتلا به بیماری‌های ترومبوز عروقی و ضرورت پیش‌گیری از بیماری نظر بسیاری از محققان در تحقیقات ترومبوز را به خود جلب کرده است. طبق آمار گرفته شده در اروپا سالیانه ۴ میلیون نفر بر اثر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و ترومبوز جان خود را از دست می‌دهند که این مسأله باعث شده در کشورهای توسعه یافته، بار اقتصادی آن جهت نگهداری بیماران قلبی و عروقی، عوارض بیماری و درمان آن روزبه‌روز سنگین‌تر شود. یکی از ریسک فاکتورهای جدید در ابتلا به ترومبوز و بیماری‌های عروقی هموسیستئین می‌باشد که تحقیقات پایه‌ای بر روی این پروتئین در حال انجام می‌باشد.

هموسیستئین یک ماده حدواسط حاوی سولفور (گوگرد) در متابولیسم طبیعی متیونین (اسید آمینه ضروری) می‌باشد. کمبود اسید فولیک و ویتامین‌های B6 و B12 و کاهش فعالیت آنزیم‌های مربوط به چرخه متیونین با مهار تجزیه هموسیستئین، غلظت داخل سلولی این ماده را افزایش می‌دهند. مطالعات گذشته‌نگر و آینده‌نگر بین بیماری‌های قلبی عروقی و مرگ و میر ناشی از آن با هیپره‌موسیستئینمای خفیف ارتباط مستقیمی را نشان می‌دهد. با افزایش غلظت پلاسمایی هموسیستئین از $10 \mu\text{mol/L}$ و بدون هیچ آستانه مخصوصی، با ریسک ابتلا به ترومبوز افزایش می‌یابد. تصور می‌شود که هیپره‌موسیستئینمایا به‌عنوان یک ریسک فاکتور مستقل جهت بیماری‌های قلبی عروقی و ترومبوز، حدود ۱۰٪ ریسک فاکتورهای کلی را تشکیل دهد.

مقادیر پلاسمایی هموسیستئین (بیشتر از $12 \mu\text{mol/L}$) (هایپره‌موسیستئینمای متوسط) سیتوتوکسیک بوده و در ۵ تا ۱۰ درصد جمعیت معمولی و ۴۰٪ بیماران مبتلا به اختلالات عروقی دیده می‌شود. ریسک فاکتورهای دیگر (نظیر سیگار کشیدن، فشار خون شریانی، دیابت، هایپرلیپیدها) ممکن است به‌طور فعالی یا با واکنش متقابل با هموسیستئین به صورت سینرژی (افزایش اثر یکدیگر) ریسک کلی را افزایش دهند. هایپره‌موسیستئینمایا با تغییرات مورفولوژی عروقی، عدم وجود اثر ضد ترومبوتیک اندوتلیال و القای یک محیط پیش انعقادی همراه است. بیشتر آسیب‌های عروقی در اثر استرس‌های اکسیداتیو ناشی از اکسیداسیون هموسیستئین می‌باشد. عوامل دیگری نیز می‌تواند به صورت مستقیم و غیرمستقیم بر روی

متابولیسم هموسیستئین اثر گذارد مانند داروها، بیماری‌ها و فاکتورهای وابسته به روش زندگی و عوامل بشمار دیگر. کمبود اسیدفولیک متداول‌ترین عامل هایپرهموسیستئینمیا غیر ارثی است که در این افراد مصرف روزانه $400\mu\text{g}$ فولات جهت جبران کمبود اسیدفولیک توصیه می‌گردد. بر اساس شواهد موجود، درخواست‌های رو به افزایش زیادی برای تشخیص و درمان مقدارهای بالای هموسیستئین مخصوصاً در افراد در معرض خطر و هم‌چنین در بیماران عروقی وجود دارد.

افراد در این دو گروه (بیماران عروقی و افراد در معرض خطر زیاد) می‌بایست هموسیستئین پایه در آنها ارزیابی شود. براساس روش‌های مختلف محاسبه، کاهش غلظت هموسیستئین پلاسما در افرادی که دچار هایپرهموسیستئینمی می‌باشند ممکن است حوادث قلبی و عروقی را تا حدود ۲۵٪ کاهش دهد. الحاق یا تکمیل فولات غذایی روزانه، ارزان، مؤثر و فاقد اثرات مضر بوده و ریسک خطر را کاهش می‌دهد. تکرار اندازه‌گیری هموسیستئین بعد از ۴-۶ هفته



۱- مقدمه

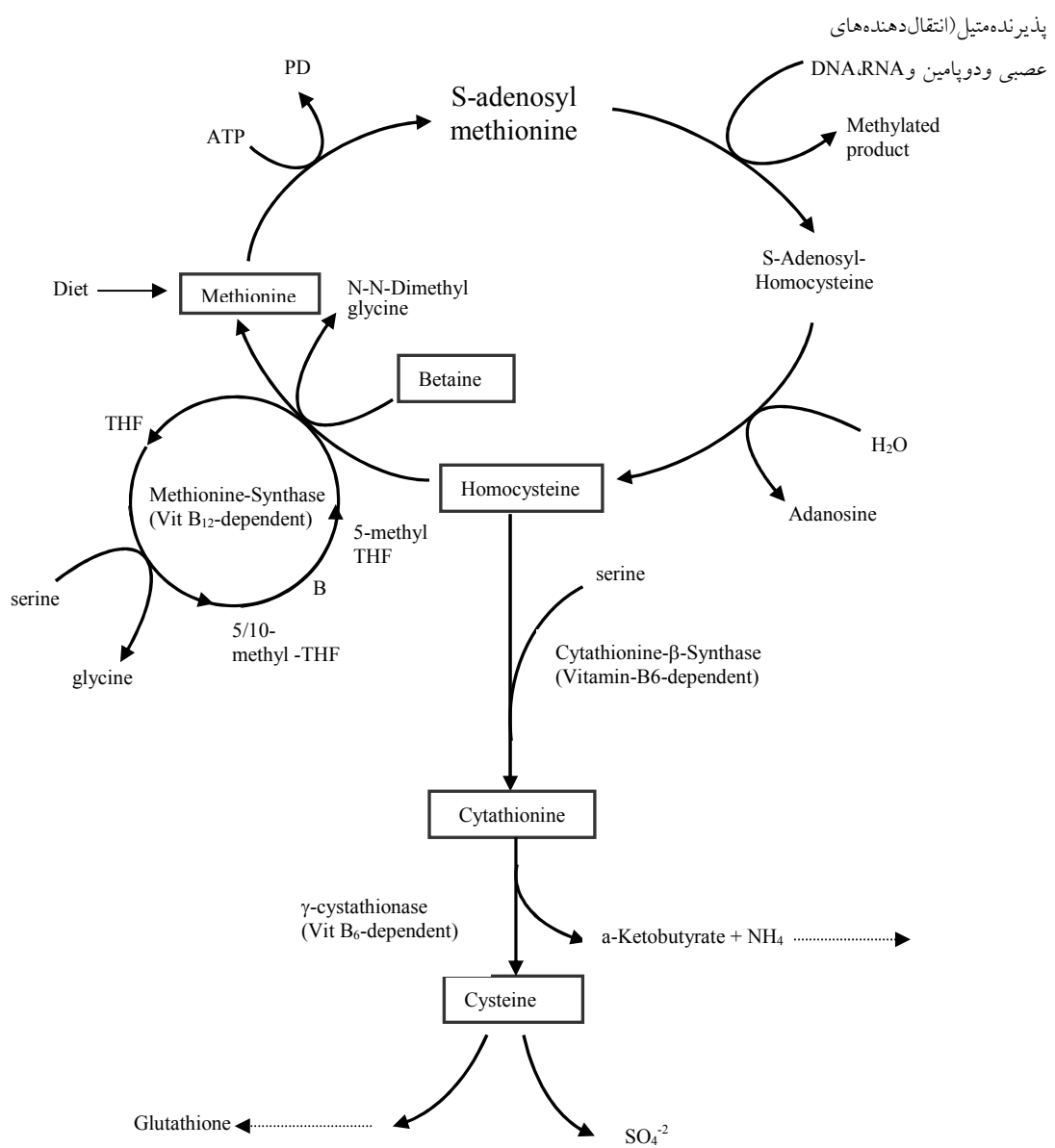
سالانه حدود ۴ میلیون اروپایی به علت بیماری‌های قلبی عروقی و عوارضی ناشی از آن (سکته قلبی، و ترومبوز وریدی) جان خود را از دست می‌دهند. در سال ۲۰۰۱ در سه کشور آلمان، اتریش و سوئد حدود ۴۴۳۴۹۸ مورد مرگ ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی گزارش گردید که این آمار ۶۵٪ تمام مرگ و میرها را در آن سه کشور تشکیل می‌دهد.

در کشورهای توسعه یافته، بار اقتصادی آن روی جامعه و سیستم‌های مراقبت بهداشتی ناشی از بیماری‌های قلبی و عروقی و عوارض و درمان آن روز به روز سنگین‌تر می‌گردد. امروزه تصلب شرائین یا آترواسکلروز به عنوان یک مسئله مزمن که بیشتر به شکل حملات مزمن بوده تا به شکل یک پروسه مداوم، در نظر گرفته می‌شود.

آترواسکلروز اغلب در سنین جوانی قابل شناسایی و بنابراین به پیش‌گیری مؤثر اولیه جواب می‌دهد. هایپره‌موسیستئینمیا به عنوان یک ریسک فاکتور مستقل جهت بیماری‌های قلبی عروقی تصور می‌شود که عامل حدود ۱۰٪ ریسک نهایی است. براساس مدل‌های مختلف محاسبه، کاهش غلظت‌های هموسیستئین پلاسما در مبتلایان به هایپره‌موسیستئینمی ممکن است از ۲۵٪ بیماری‌های قلبی عروقی و ترومبوز جلوگیری کند. بر اساس شواهد موجود یک نیاز رو به افزایش برای تشخیص و درمان مقادیر افزایش یافته هموسیستئین در جمعیت‌های در معرض خطر وجود دارد. صرف‌نظر از اهمیت هموسیستئین به عنوان یک ریسک فاکتور مستقل، این ماده یک اندیکاتور حساس تشخیصی کمبود فولات؛ ویتامین B12 و ویتامین B6 می‌باشد. تعیین غلظت پلاسمایی هموسیستئین هم‌چنین جهت تأیید جواب درمان با مصرف ویتامین‌ها می‌تواند مفید باشد.

۲- متابولیسم و پاتوبیوشیمی

هموسیستئین یک محصول حد واسط حاوی سولفور (گوگرد) در متابولیسم طبیعی متیونین می‌باشد. S-آدنوزیل متیونین (SAM) مهم‌ترین دهنده گروه متیل در تعداد زیادی از واکنش‌های بیولوژیک می‌باشد (DNA، پروتئین‌ها، نوروترانسمیترها، هورمون‌ها و فسفولیپیدها). با کسب یک گروه متیل از ۵-تتراهیدروفولات (5-MTH) هموسیستئین به متیونین تبدیل می‌گردد. این واکنش توسط آنزیم متیونین سنتاز کاتالیز شده که در این واکنش ویتامین B12 به‌عنوان کوفاکتور عمل می‌کند. از ترکیب هموسیستئین با سرین



متابولیسم هموستتسین

THF : Tetrahydrofolate
A : Methyl Transferase
B : 5/10-Methylen-THF-reductase

توسط آنزیم سیستاتیونین β سنتاز سیستاتیونین تولید شده که به صورت غیر قابل برگشت تجزیه شده و به سیستئین و گلوتانین (ترانس سولفوراسیون) تبدیل می‌شود. فعالیت هر دو نوع آنزیم درگیر در این مسیر متابولیکی یعنی سیستاتیونین بتا سنتاز (CBS) و گاما-سیستاتیوناز به کوفاکتور ویتامین B6 وابسته است. ویتامین‌های B6، B12 و فولیک اسید علاوه بر اعمالشان به عنوان کوفاکتورهای آنزیم‌های دست‌اندرکار متابولیسم هموسیستئین، دارای خواص مستقل و مهم دیگری نیز می‌باشند. کمبود اسیدفولیک و ویتامین B6 ریسک فاکتورهای مستقلی برای بیماری‌های قلبی عروقی هستند. اگرچه ویتامین B12 به‌عنوان کوفاکتور آنزیم متیونین سنتاز عمل می‌کند و در متابولیسم فولات نیز درگیر است کمبود این ویتامین حتی با وجود دریافت فولات کافی ممکن است به کاهش متیلاسیون و هیپومتیلاسیون منجر شود. که این امر باعث افزایش غلظت پلاسمایی هموسیستئین می‌گردد.

کمبود ویتامین‌های اسید فولیک، B12 و B6 و کاهش فعالیت آنزیمی، تجزیه هموسیستئین را مهار کرده که در نتیجه غلظت داخل سلولی هموسیستئین افزایش می‌یابد. هموسیستئین علیرغم سمی بودن، از سلول خارج شده و در پلاسما قابل تشخیص می‌باشد. هموسیستئین، در پلاسما با اشکال مختلف و نسبت‌های گوناگون وجود دارد. فرم آزاد و احیاء شده کم‌تر از ۲٪ بوده در حالی که اکثر هموسیستئین موجود در پلاسما به شکل اکسید متصل به آلبومین یا به صورت دی‌سولفید دیده می‌شود. کلمه هموسیستئینوری باید برای خطاهای ذاتی متابولیسم که توسط مقادیر بالای هموسیستئین پلاسما و افزایش اساسی ترشح این ماده در ادرار مشخص می‌گردد به کار برود.

۳- هموسیستئین به‌عنوان فاکتور خطر

مطالعات فراوان گذشته‌نگر و آینده‌نگر یک رابطه مستقیم بین هایپرهموسیستئینمیای خفیف (ناشتا و یا با متیونین خوراکی) و بیماری‌های قلبی عروقی و ترومبوز و مرگ و میر ناشی از آنرا نشان می‌دهد. اهمیت هموسیستئین به‌عنوان یک ریسک فاکتور تقریباً معادل کشیدن سیگار و افزایش چربی‌های خون (هایپرلیپیدمی) می‌باشد. ریسک نسبی حداقل ۱/۳-۱/۷ برای افزایش $5\mu\text{mol/L}$ غلظت هموسیستئین پلاسما بوده که بیشتر قبل از بیماری عروقی افزایش می‌یابد.

متا آنالیز نشان داده که هموسیستئین، مسئول حداقل ۱۰٪ ریسک کلی برای بیماری‌های عروقی و آترو ترومبوتیک می‌باشد. ریسک فاکتورهای دیگر مانند کشیدن سیگار، فشار خون شریانی، دیابت و هایپرلیپیدمی ممکن است با واکنش‌های متقابل با هموسیستئین به‌طور سینرژی خطر ریسک را افزایش دهند. آنالیزهای متا نشان داده که کاهش $3-5 \mu\text{mol/L}$ هموسیستئین پلاسما ممکن است تا حدود ۲۵٪ مرگ و میر ناشی از ترومبوزهای وریدی و بیماری‌های قلبی شریانی را کاهش دهد.

۴- علل هایپرهموسیستئینمیا

۴-۱ سن و جنس

هموسیستئین پلاسما با بالا رفتن سن، افزایش می‌یابد و در مردان جوان‌تر به‌طور طبیعی مقدار آن بیشتر از زنان دارای سن مشابه می‌باشد. افزایش وایسته به سن در غلظت هموسیستئین می‌تواند با کاهش فیزیولوژیک عملکرد کلیه در سنین بالا در ارتباط باشد. سطح هموسیستئین پلاسما تا سن حدود ۶۰-۶۵ سالگی افزایش خطی نشان داده ولی بعد از این سنین با شدت بیشتری افزایش یافته که این افزایش تقریباً به ازای هر ۱۰ سال سن حدود ۱۹٪ یا ۱ میکرومول می‌باشد.

۴-۲ فاکتورهای ژنتیکی

آنزیم ۵ و ۱۰-متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز به شکل غیرقابل برگشت ۵ و ۱۰-متیلن تتراهیدروفولات را به ۵-متیل تتراهیدروفولات احیاء می‌کند. حدود ۱۵-۵ درصد جمعیت عمومی در آلمان، اتریش و سوئد ناقلان هموزیگوت یک واریانت حساس به دما از MTHFR^1 بوده که ناشی از یک موتاسیون نقطه‌ای در نوکلئوتید ۶۷۷ (MTHFR677C,T) می‌باشد. در افراد مبتلا به این موتاسیون فعالیت آنزیم MTHFR حدود ۷۰٪ کاهش می‌یابد. ناقلان این موتاسیون مخصوصاً به کمبود فولات حساس بوده و یک افزایشی ۲۵ درصدی در هموسیستئین پلاسما را دارا می‌باشند (حدود ۲/۶ میکرومول). تقریباً یک درصد جمعیت عمومی برای ژن CBS (سیستاتیونین β سنتاز) هتروزیگوت هستند. ناقلان این نوع موتاسیون بعد از تجویز خوراکی متیونین افزایش هموسیستئین خون را به‌همراه داشته که دارای افزایش ریسک بیماری‌های عروقی نیز می‌باشند. موتاسیون‌های دیگر با اثر بر روی متابولیسم

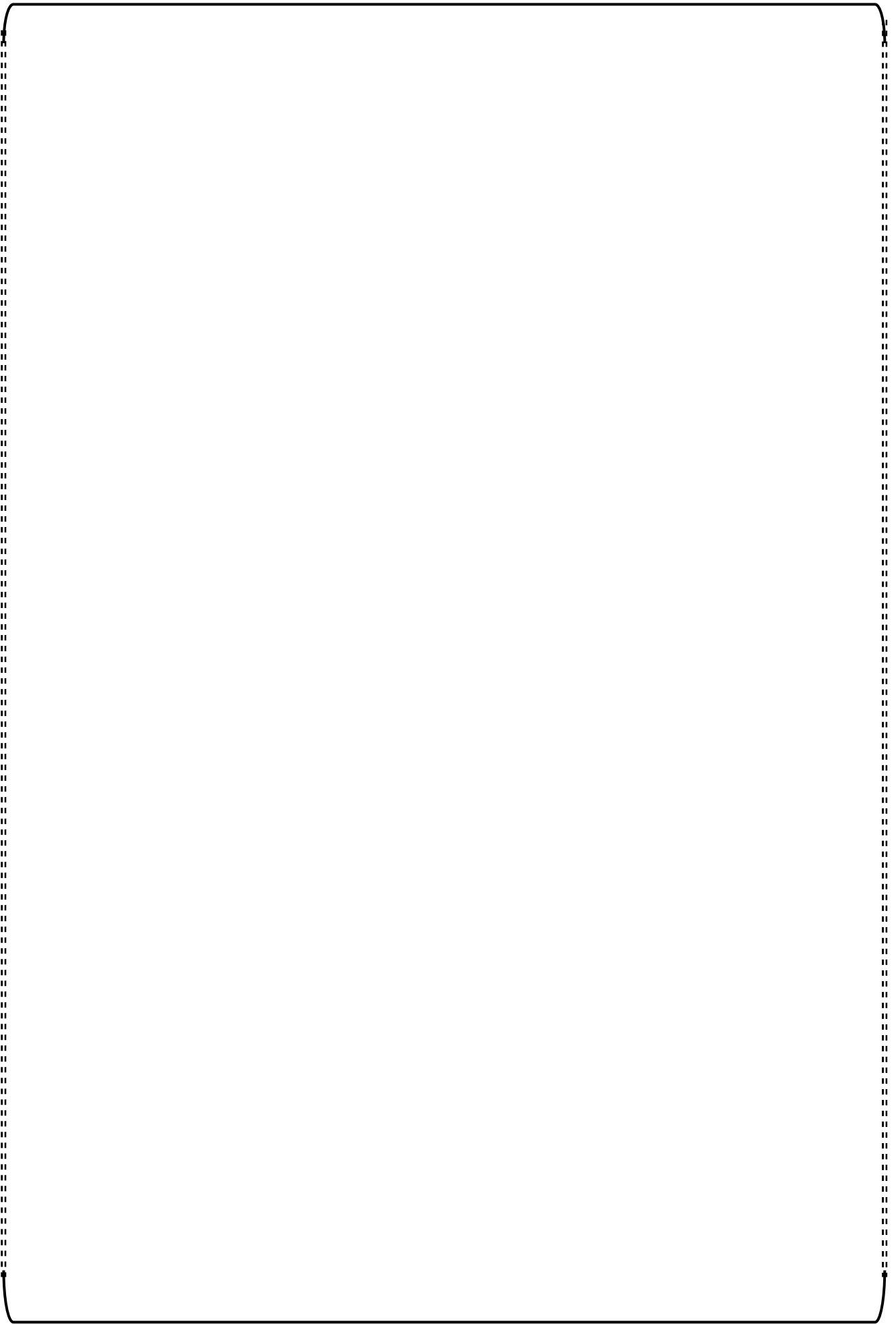
1 - MTHFR : Methylene tetrahydro folate reductase

هموسیستئین مانند تأثیر بر روی آنزیم‌های متیونین سنتاز و متیونین سنتاز ردوکتاز بسیار نادر بوده و اثر کلینیکی آنها هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است.

۳-۴ کمبود ویتامین

کمبود ویتامین عامل ایجادکننده هایپرهموسیستئینمیا است و ممکن است به علت دریافت ناکافی، کاهش جذب روده‌ای، تداخل دارویی روی دهد. کسانی که یک رژیم غذایی متعادل ندارند (مثلاً گیاه‌خواران)، افراد مسن، زنان باردار، بیماران مبتلا به بیماری کلیه، سوءجذب (بیماری التهابی روده) یا بیماری بدخیم در معرض خطر کمبود ویتامین قرار می‌گیرند. به علاوه خوردن الکل و داروهای معین (جدول ۱) ممکن است به کمبود ویتامین منجر شود. کمبود فولات در اروپا به علت فقدان سبزیجات و میوه‌های تازه متداول‌ترین کمبود ویتامین به‌شمار می‌رود. منابع غذایی فولات شامل سبزیجات، غلات، میوه‌ها، مخمرها و کبد می‌باشد. به هر حال حدود ۹۰٪ فولات ممکن است در طول عمل فرآوری غلات و غذاهای دیگر از بین برود. همچنین ممکن است به علت اینکه فولات به گرما و نور حساس است زود از بین رود. به هر حال دریافت متوسط فولات روزانه در آلمان، اتریش و سوئد زیر $300\mu\text{g}$ ($235\mu\text{g}$ تا 197 برای مردان و $214\mu\text{g}$ – 168 برای زنان) بوده بنابراین بخش بزرگی از جمعیت عمومی با ناتوانی در دریافت طبیعی فولات روبه‌رو هستند. معمولاً دریافت ویتامین B12 بیشتر از نیاز است با این حال جمعیت‌های در معرض خطر ممکن است با مشکلاتی دست و پنجه نرم کنند. در افراد مسن کمبود ویتامین B12 اغلب به علت جذب ناکافی در روده ناشی از کاهش وابسته به سن در ترشح اسید معده و یا یک افزایش جزئی در PH و یا کمبود فاکتور داخلی (برای جذب ویتامین B12 لازم است) بوده و ممکن است ۳۰ تا ۴۰ درصد افراد مسن را تحت تأثیر خود قرار دهد. غذاهای حیوانی مانند ماهی، گوشت، تخم مرغ و فرآورده‌های لبنیاتی تنها منابع خوب این ویتامین می‌باشند. برخلاف فولات، کوبالامین یک ویتامین نسبتاً با ثباتی بوده و در طی عمل فرآوری مقدار آن تغییری نمی‌کند. گوشت، فرآورده‌های لبنیاتی، غلات، میوه‌ها، سبزیجات غنی از ویتامین B6 می‌باشند.

اطلاعات حاصل از مطالعه قبلی، نشان می‌دهد که افزایش هموسیستئین پلاسما به دنبال دریافت روزانه به‌طور متوسط کمتر از $1/4\mu\text{g/day}$ ویتامین B6 رخ می‌دهد. این ویتامین از اسیدفولیک با ثبات‌تر است. کمتر از ۱۹ تا ۵۰ درصد این ویتامین در طی ذخیره‌سازی و پخت از بین می‌رود.



۴-۴ علل دیگری که باعث تغییر در غلظت هموسیستئین پلاسما می‌شود

عوامل زیادی از جمله داروها، بیماری‌ها، سبک زندگی دارای اثراتی روی متابولیسم هموسیستئین هستند مخصوصاً هنگامی که به صورت آنتاگوسیت‌های مستقیم و غیرمستقیم به‌عنوان کوفاکتورهای فعالیت آنزیمی عمل نمایند و هم‌چنین در نتیجه واکنش‌های مبادله دی‌سولفید آسیب به جذب و القای فعالیت آنزیمی برسانند.

جدول ۱: علت‌های تغییرات هموسیستئین پلاسما

Cause Drugs (داروها):	HCY*	Mechanism
Theophylline	↑	آنتاگوسیت‌های ویتامین B6 مهار پرودوکسان کیناز
Nitrous oxide (N ₂ O) : داروهای کاهش دهنده لیپید	↑	اکسیداسیون کوبالت، کوبالامین و غیرفعال‌سازی MS
Fibrates	↑	عمل کلیه؟ فعال شدن PPARα
Niacin	↑	آنتاگوسیت ویتامین B6، مهار پرودوکسان کیناز
Colestipol/cholestyramine Antifolates:	↑	آسیب به جذب اسید فولیک و کوبالامین
Methotrexate	↑	آنتاگوسیت اسیدفولیک، مهار دی‌هیدروفولات ردوکتاز
Trimethoprim Hormons :	↑	آنتاگوسیت اسیدفولیک، مهار دی‌هیدروفولات ردوکتاز
Postmenopausal HRT	↓	اثر استروژنی
Oral contraceptives	↑(?)	تداخل با اسید فولیک (?)
Antiepileptic drugs	↑	آنتاگوسیت اسید فولیک، تعدیل آنزیم
Metformin	↑	مهار جذب ویتامین B12، اتصال به کلسیم
Omeprazole	↑	آسیب به جذب ویتامین B12
Levodopa	↑	لوودوپایک سوبسترات جهت میتلاسیون وابسته به SAM
D-Penicillamine	↓	بتادل دی‌سولفید
Mensa	↓	بتادل دی‌سولفید
N-Acetylcystein	↓	بتادل دی‌سولفید
Tamoxifen Anti Estrogens :	↓	آنتاگوسیت دی‌استروژن، القای آنزیم؟
Raloxifene	↓	آنتاگوسیت دی‌استروژن، القای آنزیم؟
Aminoglut Thiomide	↑	آنتاگوسیت دی‌استروژن، القای آنزیم؟
Cyclosporin A	↑	عمل کلیه؟
Sulfasalazine	↑	مهار دی‌هیدروفولات ردوکتاز و جذب فولات
Isoniazid (Hyper)Proliferative conditions :	↑	از طریق ایجاد کمپلکس آنتاگوسیت ویتامین B6 می‌باشد
Psoriasis	↑	تکثیر سلول
acutelymphocytic leukemia	↑	تکثیر سلول
Rheumatoid Arthritis Thyroid Disorders :	↑	تکثیر سلول

Cause Drugs (داروها):	HCY	Mechanism
Hypothyroidism	↑	القای آنزیم
Hyperthyroidism	↓	القای آنزیم
Renal Impairment	↑↑	آسیب به ریمتیلایسون
Smoking	↑	تداخل با ویتامین‌های B6 ، B12 و فولات، redox
Coffee/caffeine	↑	آنتاگونیست ویتامین B6 ، نیاز به گروه متیل را افزایش می‌دهد
Alcohol	↑	تداخل با ویتامین‌های B6 ، B12 و فولات، مهار آنزیم

*HCY: Homocysteine

بنابراین باید در هنگام تفسیر آزمایش تمام تغییرات حاصله و مهم کلینیکی مدنظر قرار بگیرد. به‌علاوه سطح هموسیستئین پلاسما یک اندیکاتور و معرف مناسب جهت ارزیابی نتیجه بعضی درمان‌ها می‌باشد.

۵- مکانیسم آسیب‌های عروقی ناشی از هموسیستئین (Athero Thrombosis)

متابولیسم هموسیستئین در سلول‌های قلبی و عروقی منحصراً بر متیلاسیون مجدد وابسته به ویتامین B12 و فولات متکی است و در سلول‌های اندوتلیال عروق خونی انسان ترانس سولفوراسیون (گرفتن و انتقال دادن سولفور) ثابت شده است. به‌علت عدم تجزیه غیرقابل برگشت هموسیستئین به سیستئین و افزایش هموسیستئین منجر به آسیب‌های خاص سلولی در حد مرگ سلول می‌گردد. در مقایسه با سیستم ارگان‌های دیگر، سیستم قلبی عروقی مخصوصاً به افزایش هموسیستئین حساسیت بیشتری دارد. هایپرهموسیستئینمیا ممکن است مورفولوژی سلول‌های عروقی را تغییر دهد. التهاب را تحریک، اندوتلیوم و آبشار انعقادی را فعال و فیبرینولیز را مهار کند. در نتیجه هایپرهموسیستئینمیا با از بین رفتن عمل ضدترومبوز اندوتلیال و القای محیط پیش انعقادی همراه است. غالب اشکال شناخته شده آسیب‌ها به علت استرس‌های اکسیدانیو ناشی از اکسیداسیون هموسیستئین می‌باشد. در میان این تغییرات، تغییر در پتانسیل Redox (کاهش در اثر سوختن و اکسید شدن) داخل سلولی، تداخل با سیستم NO، فعال شدن فاکتورهای نسخه‌برداری و تحریک ظهور ژن را می‌توان نام برد. مکانیسم‌های زیادی توسط مطالعات *invivo* و مدل‌های کمبود فولات القاء شده غذایی و افزایش فیزیولوژیک هموسیستئین مورد تأیید می‌باشد.

جدول ۲: اثرات آتروژنیک هموسیستئین (انتخاب)

Vascular Architecture		(Proliferative) Fibrous plaques	↑
Endothelial damage	↑	Cell structure damage	↑
VSMC proliferation	↑	Mitochondnal damage	↑
Collagen synthesis, Fibrosis of media	↑	ER stress	↑
Constrictive remodeling	↑	Metalloproteinases	↑
Foam cell formation	↑	Elastolysis	↑
HSP-70 expression	↓	Chemotaxis (IL-8, MCP-1), vWF	↑
Endothelial Dysfunction	↑	Clothing activation	↑
No system	↑↓	Tissue factor	↑
No bioavailability	↓	Inactivation of protein C	↑
ADMA	↑	Thrombin (Thrombin-crthithrombin complex)	↑
Transcription factors		D-Dimer	↑
Activation of NF-KB, SREBP, PKC	↑	Fibrinolysis	↓
Gene expression	↑↓	Heparin sulfate	↓
HMG-COA reductase	↑	Anexin II	↓
Lipid biosynthesis	↑	Thrombomodulin	↓
Inactivation of PPARa and	↑	PAI-1, t-PA antigen	↑
Oxidative stress	↑	Prothrombin fragment F ₁₊₂	↑
Production of peroxinitnte, H ₂ O ₂	↑	Inactivation of factor V	↓
Antioxidative enzyme (SOD, GPX)	↑	Platelet aggsegation	↑
Lipid peroxidation	↑	Fibronectin (function)	↓
Chemtaxis, Leukocyte adhesion	↑	COX, Production of	
Leukocyte adhesion	↑	TZA2 and TXB2	↑
SICAM-1, VCAM-1	↑		

VSMC=Vascularsmooth Muscle cell, ER= endoplasmic retical, HSP=heat shock protein, NO=nitric oxide, ADMA=asymmetric dimethylarginine, SREBP=sterol regulatory element binding protein, PLC=protein kinase C, PPAR=peroxidase proliferator-activator-seceptor, H₂O₂=hydrogen peroxide, SOD=super oxide dismutase, GPX=glutathione peroxidase, SICAM=soluble intercellular adhesion molecule, VCAM=vascular cell adhesion molecule, IL=interleukin, MCP=Monocyte chemotactic protein, vWF=von willebrand factor, PAI-1=plasminogen activator inhibitor 1, t-PA=tissue plasminogen activator, COX=cyclooxygenase, TxA2=Thromboxane A2.

۶-۱ Methods and sample handling

جهت اندازه‌گیری هموسیستئین در پلاسما روش‌های متفاوتی وجود دارد. تکنیک‌های معمول ارزیابی بر پایه HPLC (کروماتوگرافی مایع با فشار بالا) و روش‌های ایمنولوژیک مستقر می‌باشد. این دو روش در بیماران هم‌آهنگی خوبی را نشان می‌دهند اما ممکن است که در اشخاص تفاوت‌های قابل توجهی داشته باشد. اما رویکرد معمول این است که بعد از مرحله احیاء، هموسیستئین توتال پلاسما را که شامل شکل آزاد و شکل متصل به آلبومین است اندازه‌گیری شود.

۶-۲ کنترل کیفی

یک استاندارد بین‌المللی جهت بهبود تغییرات بین آزمایشگاه‌ها و افزایش کیفیت نتایج آزمایشات لازم است. پس شرکت در برنامه ارزیابی بین آزمایشگاه‌ها جهت کنترل کیفی خارجی مفید و مناسب خواهد بود.

۳-۶ آماده‌سازی نمونه

بیمار می‌بایست ناشتا بوده و نمونه خون گرفته شده در لوله‌های EDTA باید برای اندازه‌گیری هموسیستئین پلاسما به کار رود. نمونه خون بعد از جمع‌آوری جهت جدا نمودن پلاسما باید فوراً سانتریفوژ گردد. در صورتی که امکان سانتریفوژ کردن فوری عملی نیست، نمونه خون حداکثر به مدت یک ساعت روی یخ نگهداری شود. عدم انجام سانتریفوژ فوری و جدا نمودن پلاسما از سلول‌های خونی باعث افزایش در هموسیستئین پلاسما می‌گردد (حدود ۱۰٪ در ساعت). بعد از جداسازی، هموسیستئین در درجه حرارت اطاق به مدت ۲۴ ساعت و در دمای 4°C به مدت یک هفته و در دمای 20°C برای چندین ماه پایدار است. از آنجائی که سرم قبل از انعقاد کامل نمونه قابل جدا شدن با سانتریفوژ نیست پس نباید از نمونه‌های سرم استفاده شود.

۴-۶ تغییرات هموسیستئین در یک فرد

تغییرات هموسیستئین در یک فرد محدود است. اندازه‌گیری‌های مکرر بعد از ۱۸-۶ ماه در داوطلبان سالم، تغییرات ناچیزی را حدود $1/2-0/85\ \mu\text{mol/L}$ نشان می‌دهد. علیرغم تغییرات کم در ارزیابی‌های هموسیستئین، آزمایش‌های مکرر می‌تواند قابلیت تشخیص محدوده میزان هموسیستئین هنگامی که باید تصمیم به معالجه گرفته شود یا از معالجه صرف نظر شود را بهبود بخشد.

با یک بار اندازه‌گیری، ریسک واقعی حدود ۱۵-۱۰ درصد کم‌تر برآورد می‌شود. بدون تصحیح مناسب، خطر بعد از ۲ سال حدود ۲۰ درصد و بعد از ۱۰ سال حدود ۵۰ درصد کم‌تر برآورد می‌شود. این حالت با گذشت زمان افزایش می‌یابد و فرمول تصحیح باید برای برآورد مناسب خطر در آزمایشات بالینی آینده‌نگر به کار برده شود. بنابراین روشن می‌گردد که چرا مطالعات گوناگون آینده‌نگر نسبت به مطالعات گذشته‌نگر تمایل دارند که خطر نسبی را کم‌تر برآورده نمایند.

۵-۶ بار خوراکی متیونین

هموسیستئین پلاسما قبل و بعد از ۴ و یا ۶ ساعت بعد از متیونین خوراکی ($100\ \text{mg}$) متیونین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) اندازه‌گیری می‌گردد. مقدار اندازه‌گیری شده بعد از

بار خوراکی متیونین عمدتاً فعالیت CBS (سیستاتیونین β سنتاز) و یا در دسترس بودن ویتامین B6 را منعکس می‌نماید. غلظت هموسیستئین ناشتا اندازه‌گیری شده بدون بار خوراکی متیونین معرف خوبی برای کمبود ویتامین B6 نمی‌باشد. افرادی که هموسیستئین ناشتای پلاسمای آنها بین ۱۵-۱۲ میکرومول در لیتر است اغلب تست متیونین خوراکی غیرطبیعی دارند (بیشتر از $38 \mu\text{mol/L}$). تست متیونین خوراکی نسبت به هموسیستئین ناشتا بیشتر می‌تواند اشخاص دارای هایپرهموسیستئینمیا را مشخص نماید. با وجود این، جهت تفسیر نتایج تست متیونین خوراکی مقیاس پذیرفته شده کلی وجود ندارد. بنابراین نمی‌توان این تست را برای تشخیص روتین توصیه کرد و مورد استفاده آن فقط در مطالعات تحقیقاتی است.

۷- جمعیت‌های در معرض خطر زیاد و محدوده خطر هموسیستئین پلاسما

هایپرهموسیستئینمای متوسط (بیشتر از ۱۲ میکرومول در لیتر) در ۱۰-۵ درصد جمعیت عمومی و تا حدود ۴۰ درصد در بیماران عروقی یافت شده است. هایپرهموسیستئینمیا با افزایش خطر بیماری‌های آتروترومبوتیک همراه است. بنابراین اندازه‌گیری هموسیستئین ناشتا باید بخشی از نمودار خطر برای بیماران قلبی عروقی در نظر گرفته شود. اثرات سینرژی هموسیستئین با ریسک فاکتورهای دیگر نسبت به مجموع خطرات هر کدام به تنهایی با دیگری ریسک بیشتری را ایجاد می‌نماید. بنابراین تشخیص اشخاص یا بیماران در معرض خطر زیاد بیماری‌های عروقی دارای اهمیت خاصی می‌باشد. جمعیت‌های هدف از درمان‌های پایین‌آورنده هموسیستئین نفع زیادی را خواهند برد. اشخاصی که دارای سابقه خانوادگی بیماری‌های قلبی عروقی هستند، به احتمال زیاد در یک مقطع زمانی از تظاهرات عروقی رنج خواهند برد. غربالگری‌های اولیه برای هایپرهموسیستئینمیا برای اقوام نزدیک بیماران در معرض خطر توصیه می‌گردد. حدود ۵۰٪ مردان بالای ۴۰ سال سن و ۳۳٪ زنان بالای ۴۰ سال نیز در معرض خطر ابتلا به CAD (cardiac artery disease) می‌باشند.

پس به این دلیل است که در اشخاص ۵۰ سال به بالا، باید غلظت هموسیستئین پلاسما اندازه‌گیری شود. جمعیت‌های هدف مورد نظر دیگر برای غربالگری هموسیستئین شامل افراد در معرض خطر برای بروز عوارض عروقی (آتروترومبوتیک) و اشخاص دارای کمبود ویتامین می‌باشد.

جدول ۳: ارزیابی هموسیستئین پلاسما برای جمعیت‌های در معرض خطر براساس ریسک

اشخاص در معرض خطر کمبود ویتامین	اشخاص در معرض خطر بیماری‌های قلبی	تظاهر بیماری عروقی
اشخاص مسن	سابقه خانوادگی CVD (بیماری قلبی عروقی)	بیماری شریان کرونر
گیاه‌خواران	فشار خون شریانی	سکته قلبی
موارد التهاب روده‌ای معده‌ای (سوء جذب، گاستریت)	عادت به سیگار کشیدن	آترواسکلروز شریان کاروتید
پره‌اکلامپسی (مسمومیت حاملگی)	هایپرلیپیدمی	بیماری انسدادی شریان‌های محیطی
بیماری کلیوی	نارسایی کلیوی	آترواسکلروز شریان مغزی (حمله مغزی) Stroke
رژیم غذایی نامتعادل	سندرم متابولیک	ترومبوز عروقی
Drugs (جدول ۱)	-	آمبولیسم شریان کرونر

افزایش یک میکرومول در لیتر در غلظت پلاسمایی هموسیستئین با یک افزایش ریسک ۶-۷ برابری همراه است. به هر حال محدوده خطر ریسک رامی‌توان برای بیماری قلبی عروقی و کارهای بالینی تعریف کرد. برای سادگی، غلظت هموسیستئین پلاسما بین ۳۰-۱۲ میکرومول در لیتر، هایپرهموسیستئینمیای متوسط معمولاً در اشخاص دارای کمبود ویتامین‌های B12 و فولات یافت می‌شود غلظت ۳۰ تا ۱۰۰ میکرومول در لیتر، هایپرهموسیستئینمیای اینترمدیت معمولاً در اشخاص هموزیگوت نقص آنزیمی و هم‌چنین در بیماران مزمن کلیوی دیده می‌شود، غلظت بیشتر از $100 \mu\text{mol/L}$ هایپرهموسیستئینمیای شدید (به‌طور تپیک در اشخاص دارای اختلالات مادرزادی شدید هموسیستئین دیده می‌شود).

۸- اهداف مداخله

۸-۱- پیشگیری

گرچه به‌طور واضح نیاز به بهبود دریافت اسیدفولیک توسط جمعیت عمومی وجود دارد تا کنون هیچ مدرک متقاعدکننده‌ای دال بر ترسیم دستورالعمل‌هایی برای تکمیل یا الحاق ویتامین در اشخاص سالم و افراد در معرض خطر وجود ندارد. مطالعاتی باید انجام شود تا به‌طور قطع برای تکمیل ویتامین‌ها به مواد غذایی تصمیم‌گیری شود. دوزهای پیشگیرانه در

شکل ۲ نشان داده شده است (تکمیل با دوز کم اسیدفولیک ۰/۸-۰/۲ میلی گرم در روز، ویتامین B12، ۱۰۰-۳ μmol/day ویتامین B6، ۲-۲۵ μmol/day). هم چنین توصیه می شود افراد غذای غنی از ویتامین مصرف کند. گرچه تا کنون نتایج حاصل از مطالعات مداخله گرانه درباره اثر الحاق ویتامین B روی کاهش مرگ و میر در دسترس نیست، کاهش هموسیستئین پلاسما (از طریق الحاق غذایی) باید در اشخاص سالم و افراد در معرض خطر زیاد، مخصوصاً در بیماران عروقی مدنظر قرار گیرد. چرا که نتایج مطالعات قبلی توصیه بر انجام این کار را دارد.

۸-۲ درمان

هماهنگ با نظر گروه ها و احزابی که در این زمینه کار می کنند توصیه می شود که هموسیستئین هدف پلاسما کم تر از ۱۰ میکرومول در لیتر برای بیماران دارای تظاهرات عروقی و افراد در معرض خطر بالا حفظ شود. آسیب های کلیوی و اختلالات تیروئیدی و هم چنین کمبود ویتامین ها باید به عنوان علل های پره هموسیستئینیا در افرادی که دارای هموسیستئین پلاسما بیشتر از ۱۲ میکرومول در لیتر باشند رد شود. فاکتورهای لیست شده در جدول شماره ۱ همیشه باید هنگام تفسیر یافته ها مدنظر قرار گیرند.

۸-۳ نیاز به فولات و اختیارات درمانی

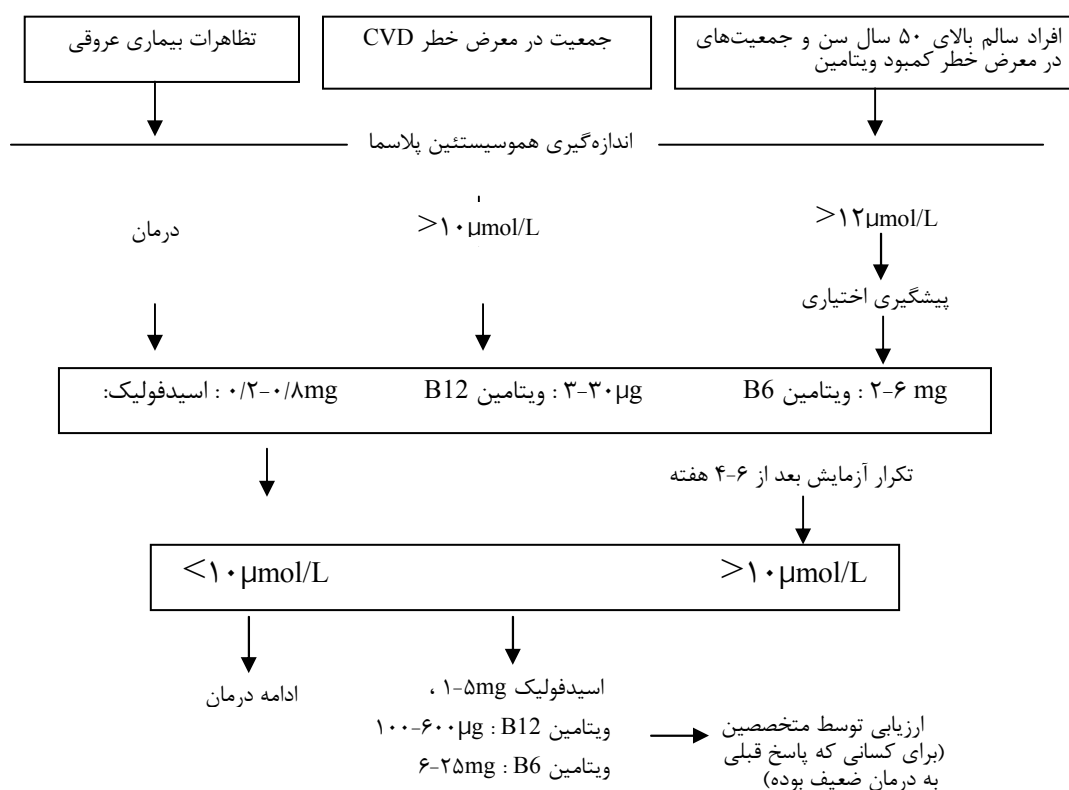
مصرف یک رژیم غذایی سالم دارای اثر ناچیز یا محدودی بر روی هموسیستئین بالا بوده بنابراین مواد غذایی غنی شده با فولات و ویتامین ها توصیه می گردد. دریافت ۶۵۰-۶۰۰ میکروگرم فولات در روز ممکن است غلظت هموسیستئین را کاهش دهد که تأمین این مقدار معمولاً با خوردن غذاهای تقویت شده با فولات و ویتامین ها عملی است. محدوده جذب اسیدفولیک اضافه شده به مواد غذایی ۹۵-۹۰ درصد و اسیدفولیک موجود در قرص ها ۱۰۰ درصد است. فراهم زیستی اسیدفولیک سنتتیک دو برابر فولات طبیعی است. RDAS برحسب معادل غذایی فولات (DFE) Dietary folate equivalents بیان می شود. ۱ میکروگرم DFE معادل ۱ میکروگرم فولات غذایی یا ۰/۵ μg اسید فولیک سنتتیک می باشد.

۸-۴ توصیه برای تکمیل یا الحاق ویتامین ها

کاهش مطلق یا نسبی هموسیستئین پلاسما که با مصرف ویتامین قابل تحقق می‌باشد. بستگی به غلظت هموسیستئین پایه دارد. اسیدفولیک تکمیلی ۵mg-۰/۲ در روز انتظار می‌رود که هموسیستئین پلاسما را ۱۶-۳۹ درصد کاهش دهد (کاهش متوسط برای غلظت استاندارد پایه ۱۲ میکرومول در لیتر تقریباً ۲۵٪ می‌باشد). برای پیشگیری از کمبود نسبی فولات الحاق ویتامین B12 نیز توصیه می‌شود.

برای جلوگیری از آسیب نورودژنراتیو، (ناهنجاری است که مخصوصاً در بزرگسالان دیده می‌شود) دریافت ویتامین B12 الحاقی توصیه می‌گردد. با توجه به این ملاحظات، الحاق اسیدفولیک در درازمدت به تنهایی توصیه نمی‌شود. در عوض باید الحاق ویتامین B12 همراه با فولات صورت گیرد. ویتامین B6 دارای اثر کم‌تری روی هموسیستئین ناشتای پلاسما است اما این ماده یک کوفاکتور ضروری در ترانس سولفوراسیون هموسیستئین بوده بنابراین الحاق آن توصیه می‌گردد.

شکل ۲: سیر قطعی تشخیص و پیشگیری و درمان هایپرهموسیستئینمیا (در بیمارانی که مشکل کلیوی ندارند)



۸-۴-۱ الحاق ویتامین در هایپرهموسیستئینمیای متوسط

اگر هموسیستئین پلاسما پیشنهادکننده هایپرهموسیستئینمیای متوسط است برای تأیید تشخیص بعد از ۴-۶ هفته آزمایش باید تکرار شود. به محض تشخیص قطعی، مصرف ویتامین باید شروع شود بدین ترتیب $0.2-0.8\text{mg}$ اسید فولیک، $100-300\text{ }\mu\text{g}$ ویتامین B12، $2-25\text{mg}$ ویتامین B6. اگر این رژیم ویتامینی در عرض ۴ هفته، هموسیستئین پلاسما را به کم‌تر از 10 میکرومول در لیتر کاهش دهد، باید اندازه‌گیری هموسیستئین پلاسما در ابتدا هر ۶ ماه یکبار و بعد از آن سالی یک بار تکرار شود. اگر هنوز جوابی به درمان وجود ندارد، دوز اسیدفولیک را باید به $5-1\text{mg}$ در روز افزایش داد (در حالی که الحاق ویتامین B12 و B6 ادامه دارد) و اندازه‌گیری هموسیستئین پلاسما باید ۴ هفته یک بار انجام شود.

۸-۴-۲ دیگر دلایل احتمالی افزایش نیاز به ویتامین

اگر علیرغم خوردن ویتامین‌ها، هموسیستئین پلاسما به‌طور مطلوبی کاهش پیدا نکرد، بیمار باید جهت کمبود ویتامین و هم‌چنین جهت آسیب کلیوی و اختلالات تیروئیدی ارزیابی شود. باید به‌خاطر سپرد که غلظت ویتامین B12 در حداقل مرز طبیعی کمبود داخل سلولی این ویتامین را رد نمی‌کند. اسیدمتیل مالونیک و هولوترانس کوبالامین II نسبت به غلظت ویتامین B12 سرم شاخص‌های مطمئن‌تری هستند که جهت ارزیابی کمبود ویتامین B12 به‌کار می‌روند. موتاسیون ژن‌هایی که آنزیم‌های دخیل در متابولیسم هموسیستئین را کد می‌نمایند منجر به افزایش نیازبه ویتامین می‌گردد. بهترین مثال شناخته‌شده پولی‌مورفیسم $677\text{C}\rightarrow\text{T}$ MTHFR می‌باشد. از دیگر علل ممکن در هایپرهموسیستئین در جدول ۱ مشخص شده‌اند. اندازه‌گیری متابولیت‌ها از جمله اسیدمتیل مالونیک، اسید ۲-متیل سیتریک، سیستاتیونین، سیستئین و گلوتاتیون ممکن است اطلاعات خوبی را در مورد نوع خاصی اختلال در بیمار در دسترس ما قرار دارد.

۸-۴-۳ تکمیل ویتامین‌ها در بیماران کلیوی و کمبود آنزیم

بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی ثابت شده ممکن است به دوزهای بیشتری از ویتامین نیاز داشته باشند و علی‌رغم این در کاهش هموسیستئین پلاسما به حد نرمال ناتوان می‌باشند. بیمارانی که مشکل کلیوی ندارند و هموسیستئین پلاسمایشان بیشتر از ۳۰ میکرومول در لیتر است ممکن است بعضی از اشکال مادرزادی کمبود آنزیم‌هایی را داشته باشند که در گذشته شیوع آن کم‌تر برآورده شده‌است. اگر علی‌رغم دوزهای دارویی گفته‌شده یعنی ۱-۵mg اسیدفولیک، ۱mg ویتامین B12 و بیشتر از ۲۰mg ویتامین B6 برای کاهش هموسیستئین پلاسما، این کاهش تحقق نیافت باید برای بررسی‌های بیشتر، بیمار به یک متخصص ارجاع داده شود.

۸-۵ ایمنی

مسمومیت با اسیدفولیک علی‌رغم دوزهای بالا و طولانی مدت خیلی کم است، بنابراین تجویز ۱۰mg/day برای مدت ۵ سال بدون هیچ‌گونه عارضه‌ای تحمل می‌شود. در بعضی موارد خاص، دوزهای بالاتر با علائم روده‌ای معده‌ای، بی‌خوابی، کج خلقی، تحریک‌پذیری و افسردگی همراه است. از لحاظ تئوری به دلیل ریسک پنهان ماندن آنمی مگالوبلاستیک و ایجاد اختلالات نورولوژیک غیرقابل برگشت، دوزهای بالای اسیدفولیک به تنهایی و بدون رد کردن کمبود ویتامین B12 مخصوصاً در افراد مسن نباید تجویز شود (۸۱). به همین خاطر است که انجمن تغذیه و غذایی ایالات متحده، مصرف حدود یک میلی‌گرم اسیدفولیک که قابل تحمل بوده و با تجویز دراز مدت مطمئن و ایمن است را تعریف کرده است. ویتامین B12 از دهه‌های گذشته برای درمان آنمی و عمدتاً از طریق غیرخوراکی استفاده شده است. در این حالت، بیماران دوزهای استاندارد چند صد میکروگرمی را اغلب برای بقیه عمرشان دریافت می‌نمایند. بر اساس این تجارب درمانی وسیع، ویتامین B12 (سیانوکوبالامین و هیدروکسی کوبالامین) را می‌توان بدون سمیت در نظر گرفت. ویتامین B6 برای سالیان سال در درمان بعضی از بیماری‌ها استفاده شده که حتی دوزهای خیلی بالای آن به‌خوبی قابل تحمل است. دوز ۱۰۰mg/day آن حتی در تجویز طولانی مدت انتظار نمی‌رود که با عوارضی همراه باشد. تکمیل ویتامین B6 در هایپره‌موسیستئینمیای خفیف مقدار ۲۰-۲mg بوده و به‌ندرت به دوزهای ۱۰۰ و بالاتر از آن ضرورت احساس می‌شود.

۹- برآورد نفع به هزینه

مدل پذیرفته شده جواب به آسیب پیشرفت آترواسکلروزیس شامل برگشت پذیری از طریق کنترل عامل آسیب می باشد. در بیماران قلبی عروقی، برای افزایش امید به زندگی نیاز به پتانسیل های پیش گیرانه بیشتری است. کاهش ۳-۵ میکرومول هموسیستئین پلاسما با استفاده از ویتامین ها ممکن است ریسک نسبی بیماری قلبی عروقی را حدود ۱۵ درصد در جمعیت عمومی و ۲۵٪ در گروه های پرخطر را کاهش دهد. این پتانسیل پیشگیری توسط اطلاعات اپیدمیولوژی و نتایج مطالعات قبلی انجام شده در بهبود اعمال سلول های اندوتلیال در افراد سالم و بیمار و کند کردن پیشرفت آترواسکلروز (شریان کاروتید) و کاهش چشمگیر نسبت تنگ شدگی شریان کرونر به دنبال آنژیوپلاستی داخل کرونر تأیید می شود. شواهد غیرمستقیم در کاهش مؤثر هموسیستئین پلاسما و اثرات مفید آن این طور نشان می دهد که در اولین سال بعد از عرضه مواد غذایی غنی شده توسط اسید فولیک $140 \mu\text{g}/100 \text{g}$ در ایالات متحده، ۲۶۶۹۶ مورد مرگ و میر کمتری در نتیجه سکته قلبی و مغزی نسبت به سال قبل آن دیده می شود. این چنین مداخله بالقوه مؤثر و ارزان به ندرت برای کاهش مرگ و میر و هزینه های مربوطه در دسترس است و جهت تمامی رویکردهای بهبود و دریافت ویتامین، مدل های محاسبه، نسبت بالای نفع به هزینه را نشان دادند.

References

O. Stanger, W. Herrmann, K. Piefzile, B. Fowler....., Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B vitamins in cardiovascular and Thrombotic disease, guidelines and recommendations, 2-12, May 2003.