

HOMOCISTEÍNA E A DOENÇA CARDIOVASCULAR

Inês Lopes Cardoso

Professora Associada

Faculdade de Ciências da Saúde – UFP

mic@ufp.edu.pt

RESUMO

A homocisteína é um aminoácido com grupo SH, metabolizado pelas vias de desmetilação e de transulfuração. A sua concentração plasmática pode estar aumentada como resultado de factores genéticos, fisiológicos ou comportamentais. Entre estes últimos factores estão deficiente estado nutricional, doença sistémica ou uso de determinadas drogas. A hiperhomocisteinémia tem vindo a ser considerada um importante factor de risco, independente de outros factores, para doenças cardiovasculares e aterosclerose. O tratamento desta condição envolve suplementos de ácido fólico, vitaminas B6 ou B12.

PALAVRAS-CHAVE

homocisteína, doença cardiovascular, ácido fólico, vitamina B6, vitamina B12., riboflavina

ABSTRACT

Homocysteine is an aminoacid with an SH group, metabolised by the demethylation and trans-sulphuration pathways. Its plasma concentration can be raised as a result of genetic, physiologic or behaviour factors. These last ones can be deficient nutrition status, systemic disease or consumption of certain drugs. Hyperhomocysteinaemia is now considered an important and independent risk factor for atherosclerosis and cardiovascular disease. Treatment of this condition involves supplementation of folic acid, vitamins B6 or B12.

KEYWORDS

homocysteine, cardiovascular disease, folic acid, vitamin B6, vitamin B12, riboflavin

1. INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares representam a principal causa de morte em países desenvolvidos. Diversos factores de risco estão envolvidos, como antecedentes familiares, hipercolesterolemia, obesidade, *diabetes mellitus*, factores ambientais como sedentarismo. Elevado nível de homocisteína plasmática representa também um factor de risco, independente de outros factores. Verifica-se que 5-7% da população geral demonstra hiperhomocisteinemia, e destes, 13-47% dos que têm doença vascular aterosclerótica, possuem níveis de hiperhomocisteinemia moderados a intermédios (Malinow M.R. et al., 1998; Ueland P.M. et al., 1989).

Diversos factores podem estar envolvidos em níveis aumentados de homocisteína plasmática, como factores fisiológicos, genéticos, nutricionais, induzidos por drogas e hormonais.

2. METABOLISMO DA HOMOCISTEÍNA

A homocisteína é um aminoácido com grupo SH, formado exclusivamente a partir da metionina proveniente da dieta alimentar ou do catabolismo deste mesmo aminoácido (Fonseca V. et al., 1999).

O metabolismo da homocisteína envolve duas vias metabólicas diferentes: a via de desmetilação e a via de transulfuração (Duce A.M. et al., 1988; Horowitz J.H. et al., 1981).

A via de desmetilação ocorre principalmente em jejum e envolve o catabolismo da metionina por remoção do grupo metil, com formação sequencial de S-adenosilmetionina (SAM), S-adenosilhomocisteína e homocisteína através do ciclo da metionina (figura 1). O grupo metil libertado pela SAM pode ser doado a uma série de substratos como proteínas, DNA ou fosfolípidos. O metabolismo da homocisteína permite estabelecer uma ligação entre o ciclo da metionina e o ciclo do folato (figura 1). Na maioria dos tecidos e células, a principal ou única via de conversão de homocisteína em metionina ocorre através da transferência de um grupo metil fornecido pelo 5-metiltetrahydrofolato para a homocisteína, reacção catalizada pela enzima dependente de vitamina B12, metionina sintetase (MS). Um dos produtos desta reacção é a metionina que entrará num novo ciclo de doação de grupo metil como descrito anteriormente (figura 1). Outro produto da reacção catalizada pela MS, o tetrahydrofolato, irá ser reconvertido a 5-metiltetrahydrofolato através do ciclo do folato, onde a conversão de 5,10-metilenotetrahydrofolato a 5-metiltetrahydrofolato é catalizada pela enzima dependente de FAD, metilenotetrahydrofolato reductase (MTHFR) (Robinson K., 2000).

A via de transulfuração, que ocorre em situações de sobrecarga de metionina, envolve o catabolismo da homocisteína a sulfato, que será posteriormente excretado pela urina. A forma activa da vitamina B6 – piridoxal fosfato – é um cofactor da enzima cistationina β -sintetase (CBS), envolvida na conversão de homocisteína em cistationina, primeiro passo da via de transulfuração (figura 1).

A homocisteína plasmática pode encontrar-se na forma livre (cerca de 20-30%), mas a maior parte (70-80%) encontra-se associada a proteínas plasmáticas, principalmente a albumina. A homocisteína plasmática livre pode ainda apresentar-se na forma oxidada, formando dois tipos de dissulfitos: dímeros de homocisteína ou dímeros de homocisteína-cisteína. Da frac-

ção de homocisteína livre, 2 a 5% correspondem à sua forma reduzida. A homocisteína plasmática total é a soma de todas as formas livres e ligadas a proteínas (Tsai M.Y. et al., 1995).

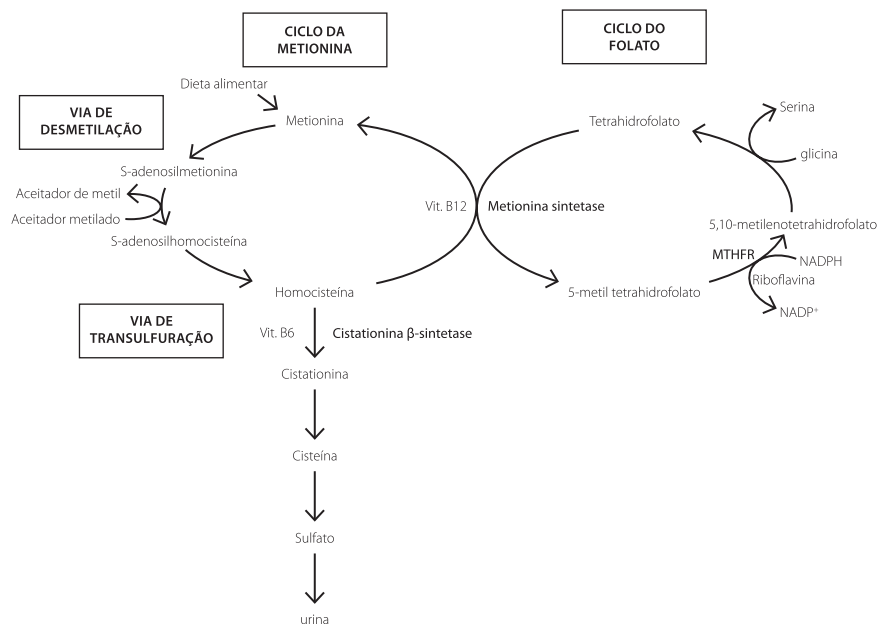


Figura 1. Metabolismo da homocisteína (adaptado de Robinson K, 2000).

3. QUANTIFICAÇÃO DA HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA

A quantificação da homocisteína plasmática é feita por cromatografia de troca iônica com analisador de aminoácidos ou por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) (Cruz E.N. et al., 2000; Pfeiffer C.N. et al., 1999). A colheita de sangue deve ser feita após 12 horas de jejum (determinação do nível basal) e após teste de sobrecarga com metionina (ingestão oral de 100mg/kg de metionina), seguido de novas colheitas 2 e 8 horas após a sobrecarga (Durand P. et al., 2001).

A sobrecarga de metionina irá conduzir a maior produção de homocisteína (ver metabolismo), o que fornece maior sensibilidade para detecção de defeitos na via de transulfuração. Permite ainda diferenciar defeitos genéticos nas vias de remetilação ou transulfuração, sendo possível identificar indivíduos com metabolismo da homocisteína alterado, apesar de níveis plasmáticos em jejum normais (Graham I.M. et al., 1997).

Outros métodos para determinação de homocisteína plasmática são o imunoenensaio por fluorescência de luz polarizada (FPIA) (Barbe F. et al., 2001), o imunoenensaio por quimioluminescência (Fabre E. et al., 2001) e o método cromatográfico com detecção de fluorescência (Kapral A. et al., 2002).

Os valores de referência para homocisteína plasmática são de 6-12 mmol/l em mulheres e 8-14 mmol/l nos homens. Considera-se a existência de uma hiper-homocisteinémia moderada para valores entre 16 e 30 mmol/l, intermédia para valores entre 30 e 100 mmol/l e severa para valores de homocisteína plasmática superiores a 100 mmol/l (Kang A. et al, 1992; Ueland P.M. et al., 1989).

4. FACTORES GENÉTICOS CAUSADORES DE HIPER-HOMOCISTEINÉMIA

O síndrome clínico de homocisteinúria, identificado há mais de 40 anos (Carson e Neill, 1962; Gerritsen et al., 1962), é uma desordem com transmissão autossómica recessiva, caracterizada por alterações dos ossos longos, deslocamento ocular, atraso mental e doença vascular agressiva, em especial tromboembolismo (Robinson K., 2000).

A hiper-homocisteinémia clássica resulta de deficiência da enzima C β S. Foram já descritas 33 mutações pontuais no braço longo do cromossoma 21 (21q22.3) que determinam esta alteração enzimática (Nair K.G. et al., 2000). A incidência de indivíduos homozigóticos para a mutação C β S no mundo é de 1:200.000, enquanto que de heterozigóticos varia entre 1:70 e 1:2000 da população geral (Tsai M.Y. et al., 1996). Segundo Tsai M. Y. et al. (1995), estima-se que 30-40% dos indivíduos com doença vascular precoce, sejam heterozigóticos para a mutação C β S.

Duas outras doenças genéticas raras podem causar aumento de até 20 vezes da homocisteína plasmática e consequente excreção na urina. Uma resulta de deficiência da enzima MTHFR da via de remetilação, estando já descritas 10 mutações (localização em 1p36.3). Uma destas mutações é uma mutação missense termolábil, resultante de troca de alanina por valina, como consequência da substituição de citosina por timina na base 677 do gene. Esta mutação leva a perda de mais de 60% da actividade enzimática (Nair K.G. et al., 2000), sendo 8% da população geral homozigótica para esta variante. Nestes indivíduos os níveis de folato interferem directamente nos níveis de homocisteína plasmática, estando estes aumentados apenas quando a concentração de folato é inferior a 15,4 nmol/l (Jacques P.F. et al., 1996). Esta mutação pode surgir em conjunto com a mutação C β S. A outra alteração genética rara encontra-se no gene da MS, estando associada com doença cardíaca isquémica, principalmente em fumadores (Nair K.G. et al., 2000).

Hiper-homocisteinémia severa aparece na maioria dos casos em pacientes homozigóticos para mutação C β S e apenas em 5 a 10% de indivíduos deficientes em MTHFR. Hiper-homocisteinémia moderada ou intermédia surge em casos de heterozigóticos para deficiência C β S e MTHFR, quando associada com baixo nível de folato e uso de drogas (Gambhir D.S. e Gambhir J.K., 2000).

As alterações dos genes MTHFR e MS conduzem ao desenvolvimento de sintomas clínicos semelhantes aos descritos para a mutação C β S, sugerindo que a presença de elevados níveis de homocisteína deverá ser o factor patogénico nas complicações vasculares (McCully K.S., 1969).

5. FACTORES FISIOLÓGICOS DE HIPER-HOMOCISTEINÉMIA

Embora os erros inatos do metabolismo da homocisteína descritos anteriormente sejam muito raros, hiper-homocisteinémia é relativamente comum em muitas populações. É mais

comum nos homens (21% superiores ao das mulheres), aumentando com a menopausa nas mulheres (Lussier-Cancan S. et al., 1996). Há também um aumento com a idade e, uma vez que pacientes idosos apresentam maior deficiência de vitaminas, a hiper-homocisteinémia é, neste grupo de indivíduos, um importante factor de risco para doença coronária (Selhub J. et al., 1993).

Alterações nutricionais também podem levar a hiper-homocisteinémia. Estudos demonstram uma forte associação inversa entre a concentração de ácido fólico plasmática e/ou da dieta alimentar e a concentração total de homocisteína plasmática (Nygard O. et al., 1998). Deficiência de ácido fólico pode levar ao aumento de homocisteína plasmática, sendo que indivíduos com níveis de folato superiores a 15 nmol/l não apresentam hiper-homocisteinémia.

Pacientes que apresentem deficiência de vitamina B6, demonstram homocisteína basal normal mas após sobrecarga alterada (Fonseca V. et al., 1999).

Tratamento por determinadas drogas pode também levar, indirectamente, a aumento dos níveis de homocisteína plasmáticos. No decurso de terapia com metotrexato (análogo estrutural do folato) e anticonvulsionantes (fenitoína e carbamazepina), os níveis de ácido fólico encontram-se diminuídos, o uso do anestésico óxido nítrico reduz os níveis de vitamina B12 e a vitamina B6 encontra-se alterada com a teofilina (Gambhir D.S. e Gambhir J.K., 2000).

Alterações hormonais, como a diminuição de estrogénios que ocorre na menopausa, aumenta os níveis de homocisteína. Hormonas tiroideias também alteram a homocisteína plasmática, sendo que pacientes com hipotireoidismo apresentam níveis elevados, enquanto que hipertireoidismo leva a níveis normais (Fonseca V. et al., 1999).

6. HIPER-HOMOCISTEINÉMIA E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

A hiper-homocisteinémia tem vindo a ser considerada um importante factor de risco, independente de outros factores, para doenças cardiovasculares e aterosclerose (Durand P. et al., 2001; Nygard O. et al., 1997).

Até agora não tem havido concordância quanto ao mecanismo pato-fisiológico explicativo da relação entre a hiper-homocisteinémia e a doença cardiovascular, tendo sido propostas várias hipóteses. Assim, a lesão vascular provocada pela hiper-homocisteinémia, deverá envolver lesão das células endoteliais, crescimento da musculatura lisa vascular, aumento da adesão das plaquetas, aumento da oxidação de colesterol LDL acompanhada com sua deposição na parede vascular e activação da cascata de coagulação sanguínea (Durand P. et al., 2001; Steinberg D. et al., 1989).

Estudos *in vivo* realizados por Dudman N.P.B. (1999) mostraram que a homocisteína activa separadamente cada tipo de leucócito e a célula endotelial, dando evidências do papel da homocisteína como regulador natural dos leucócitos. A indução dos leucócitos e de adesão endotelial provocada pela homocisteína, leva a migração transendotelial dos leucócitos e lesão endotelial. Como consequência, haverá alteração selectiva da expressão da proteína de quimioatração de monócitos e interleuquinas. Estas levam à libertação de citocinas e agonistas inflamatórios (Dudman N.P.B., 1999). Todos estes factores irão contribuir para a lesão vascular que deverá desencadear doença cardiovascular.

Uma explicação alternativa para o efeito da hiper-homocisteinémia é que esta seja um marcador para nível baixo de vitaminas B ou capacidade diminuída de metilação das células, estando qualquer um destes dois factores, possivelmente relacionado com a doença. Estudos de Castro R. et al. (2003) mostraram que leucócitos de pacientes com doença cardiovascular apresentam metilação de DNA diminuída, acompanhada por níveis plasmáticos aumentados de homocisteína e de S-adenosilhomocisteína. Para além disso, mesmo com o estado geral de hipometilação, certas regiões do genoma podem encontrar-se hipermetiladas, tendo estas perturbações da metilação do DNA e consequente expressão genética, efeitos profundos no risco de doença cardiovascular (Dong C. et al., 2002).

7. TRATAMENTO DA HIPER-HOMOCISTEINÉMIA

Como explicado anteriormente, o 5-metiltetrahidrofolato é o substrato para a enzima metionina sintetase (figura 1). Estudos de Nygard et al. (1998) mostraram uma forte associação inversa entre concentração de folato e homocisteína plasmáticas. O estudo Homocysteine Lowering Trialist Collaboration (1998) demonstrou que suplementos de 0,5-5,0 mg/d de ácido fólico, levam a uma diminuição de cerca de 25% da homocisteína plasmática, não havendo qualquer diferença no abaixamento da homocisteína, dentro do intervalo de concentrações de ácido fólico utilizado. Um outro estudo demonstrou que o suplemento de 0,4 mg/d a indivíduos saudáveis, pode levar a um máximo de redução da homocisteína plasmática de 90%. Por outro lado, estudos de Wald D.S. et al. (2001) em pacientes com doença cardiovascular, permitiram chegar ao suplemento alimentar de 0,8 mg/d para atingir máxima descida da homocisteína plasmática. No entanto, em estudos mais recentes de Tighe P. et al. (2004), o abaixamento máximo de homocisteína em pacientes com doença cardíaca, pode ser conseguido com doses de ácido fólico semelhantes às ideais para indivíduos saudáveis.

Estudos demonstram que a vitamina B12, importante cofactor da enzima metionina sintetase, tem menor efeito no abaixamento da homocisteína plasmática, quando comparada com o ácido fólico (Homocysteine Lowering Trialist Collaboration, 1998). Neste estudo, suplementos de vitamina B12 (0,5 mg/d) permitem uma diminuição adicional de 7% na homocisteína plasmática. Quinlivan et al. (2002) verificaram que quando os níveis de folato estão otimizados, desenvolve-se uma dependência entre vitamina B12 e homocisteína plasmáticas, que não se verifica durante o fornecimento de ácido fólico.

Suplementos de piridoxal fosfato, forma activa da vitamina B6 (cofactor da enzima cistationina β -sintetase) parecem não ter qualquer efeito adicional ao dos suplementos de ácido fólico e vitamina B12 (Homocysteine Lowering Trialist Collaboration, 1998). No entanto, estudos de McKinley M. et al. (2001) com indivíduos saudáveis entre os 63-80 anos, mostraram que suplemento de dose baixa de vitamina B6 (1,6 mg/d) durante 12 semanas, após suplemento de ácido fólico (que conduz a 19,6% de redução da homocisteína), leva a um subsequente abaixamento de 7,5% nos níveis de homocisteína plasmática.

Suplementos de riboflavina (necessária à enzima MTHFR) não são eficazes na redução da homocisteína plasmática, quer antes quer depois da optimização dos níveis de folato (McKinley M. et al., 2002). No entanto, observa-se uma dependência da riboflavina em indivíduos homocigóticos para a mutação C677T do gene MTHFR (Jacques P.F. et al., 2002; McNulty H. et al., 2002).

8. CONCLUSÃO

Um dos factores que contribui para doenças cardiovasculares é elevado nível de homocisteína plasmática, embora não esteja ainda claramente estabelecido o mecanismo de actuação. Suplementos de ácido fólico e das vitaminas B (principalmente B12, mas também B6) têm sido eficazes na redução da hiper-homocisteinémia, na maioria das populações. Outra vitamina B, a riboflavina, parece ter efeito sobre os níveis de homocisteína, em indivíduos com mutação C677T do gene MTHFR.

BIBLIOGRAFIA

- BARBE F. ET AL. (2001) Detection of moderate hyperhomocysteinemia: comparison of the Abbott fluorescence polarization immunoassay with the Bio-Rad and SBD-F-high-performance liquid chromatographic assays, *In: Amino Acids*, 20, 4, pp. 435-440.
- CARSON N.A.J. E NEILL D.W. (1962) Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland, *In: Arch of Dis in Childhood*, 37, pp. 505-513.
- CASTRO R., RIVERA I., STRUYS E.A., JANSEN E.E.W., RAVASCO P., CAMILO M.E., BLOM H.J., JAKOBS C., ALMEIDA I.T. (2003) Increased homocysteine and S-adenosilhomocysteine concentrations and DNA hypomethylation in vascular disease, *In: Clin Chem*, 49, pp. 1292-1296.
- CRUZ E.N., ET AL. (2000) Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana, *In: J Brás Patal*, 36, 3, pp.166-173.
- DONG C., YOON W., GOLDSCHMIDT-CLEMONT P.J. (2002) DNA methylation and atherosclerosis, *In: J Nutr*, 132, pp. 2406S-2409S.
- DUCE A.M. ET AL. (1988) S-adenosyl-L-methionine synthetase and phospholipid methyltransferase are inhibited in human cirrhosis, *In: Hepatology*, 8, pp. 65-68.
- DUDMAN N.P.B. (1999) An alternative view of homocysteine, *In: Lancet*, 354, pp. 2072-2074.
- DURAND P. ET AL. (2001) Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease, *In: Lab Invest*, 81, 5, pp. 645-672.
- FABRE E. ET AL. (2001) Effects of levofolinic acid on plasma homocysteine concentrations in healthy and young women in preconceptional care, *In: Med Clin (Barc)*, 117, 6, pp.211-215.
- FONSECA V., GUBA S.C., FINK L.M. (1999) Hyperhomocysteinemia and endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis, *In: End Rev*, 20, 5, pp.738-759.
- GAMBHIR D.S., GAMBHIR J.K. (2000) Clinical spectrum and diagnosis of homocysteinemia, *In: Indian J Heart*, S27-30.
- GERRITSEN T., VAUGHN J.G., WAISMAN H.A. (1962) The identification of homocysteine in the urine, *In: Biochem and Biophys Res Comm*, 9, pp. 493-496.
- GRAHAM I.M. ET AL. (1997) The European concerted action project plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease, *In: JAMA*, 277, pp.1775-1781.
- HOMOCYSTEINE LOWERING TRIALISTS' COLLABORATION (1998) Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials, *In: British Med J*, 316, pp.894-898.
- HOROWITZ J.H., ET AL. (1981) Evidence of impairment of transulfuration pathway in cirrhosis, *In: Gastroenterology*, 81, pp.668-675.
- JACQUES P.F., ET AL. (1996) Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations, *In: Circulation*, 93, pp.7-9.

- JACQUES P.F. ET AL. (2002) The relationship between riboflavin and plasma total homocysteine in the Framingham Offspring Cohort is influenced by folate status and the C677T transition in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, *In: J Nutr*, 132, pp.283-288.
- KANG S.S., WONG P.W.K., MALINOW M.R. (1992) Hiperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease, *In: Annu Rev Nutr*, 12, pp.279-288.
- KAPRAL A. ET AL. (2002) Homocysteinemia and ovariectomy-initial experience with functional monitoring, *In: Ceska Gynekal*, 67, 6, pp.328-332.
- LUSSIER-CANCAN S. ET AL. (1996) Plasma total homocysteine in health subjects sex-specific relation with biological trials, *In: Am J Clin Nutr*, 64, pp.587-593.
- MALINOW M.R., ET AL. (1998) Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease, *In: NEJM*, 338, pp.1009-1015.
- MCCULLY K.S. (1969) Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis, *In: Am J Path*, 56, pp.111-128.
- MCKINLEY M. ET AL. (2001) Low dose vitamin B6 effectively lowers fasting plasma homocysteine in healthy elderly persons who are folate and riboflavin replete, *In: Am J Clin Nutr*, 73, pp. 759-764.
- MCKINLEY M. ET AL. (2002) Effect of riboflavin supplementation on plasma homocysteine in elderly people with low riboflavin status, *In: Eur J Clin Nutr*, 56, pp. 850-856.
- MCNULTY H. ET AL. (2002) Impaired functioning of thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase is dependent on riboflavin status: implications for riboflavin requirements, *In: Am J Clin Nutr*, 76, pp. 436-441.
- NAIR K.G. ET AL. (2000) The genetic basis of hiperhomocysteinemia, *In: IHJ*, 52, pp.16-17.
- NYGARD O. ET AL. (1997) Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease, *In: N Engl J Med*, 337, pp.230-236.
- NYGARD O., REFSUM H., UELAND P.M., VOLLSET S.E. (1998) Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study, *In: Am J Clin Nutr*, 67, pp.263-270.
- PFEIFFER C.M., HUFF D.L., GUNTER E.W. (1999) Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory setting, *In: Clin Chem*, 45, pp.290-292.
- QUILIVAN E.P. ET AL. (2002) Importance of both folic acid and vitamin B12 in reduction of risk of vascular disease, *In: Lancet*, 359, pp. 227-228.
- ROBINSON K. (2000) Homocysteine, B vitamins and risk of cardiovascular disease, *In: Heart*, 83, pp.127-130.
- SELHUB J. ET AL. (1993) Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population, *In: JAMA*, 270, pp.2693-2698.
- STEINBERG D. ET AL. (1989) Modifications of low-density lipoprotein that increases its atherogenicity, *In: NEJM*, 320, pp. 915.
- TIGHE P. ET AL. (2004) Plasma homocysteine response to folic acid intervention in ischemic heart disease patients: implications for food fortification policy, *In: Proc Nutr Soc*, 63(1), supplement 1001:51A.
- TSAI M.Y. ET AL. (1995) Amplification refractory mutation system to identify mutations in cystathionine β -synthase deficiency, *In: Clin Chem*, 41, pp.1775-1777.
- TSAI M.Y. ET AL. (1996) Molecular and biochemical approaches in the identification of heterozygotes for homocystinuria, *In: Atherosclerosis*, 22, pp.69-77.
- UELAND P.M. REFSUM H. (1989) Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and drug therapy, *In: J Lab Clin Med*, 114, 5, pp.473-501.
- WALD D.S. ET AL. (2001) Randomized trial of folic acid supplementation and serum homocysteine levels, *In: Arch Int Med*, 161, pp. 695-700.