

HYPERHOMOCYSTEINEMIA AS A RISK FACTOR FOR THE DEVELOPMENT OF PATHOLOGICAL CHANGES IN THE CARDIOVASCULAR SYSTEM: MECHANISMS AND CONSEQUENCES

HIPERHOMOCISTEINEMIJA KAO FAKTOR RIZIKA ZA RAZVOJ PATOLOŠKIH PROMENA U KARDIOVASKULARNOM SISTEMU: MEHANIZMI I POSLEDICE

Dušan Todorović¹, Dragan Đurić¹, Marija Stojanović¹

¹ Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za fiziologiju "Rihard Burjan", Beograd, Srbija

Correspondence: t.dusan@hotmail.com

Abstract

Hyperhomocysteinemia represents a pathological condition characterized by an increased concentration of homocysteine in the blood, exceeding the threshold of 15 $\mu\text{mol/L}$. Hyperhomocysteinemia can be caused by genetic defects in enzymes involved in the metabolism of homocysteine and inadequate intake of vitamin B6, folic acid, and/or vitamin B12, disturbances in kidney and thyroid function, malignant diseases, psoriasis, and diabetes, as well as the use of certain medications, alcohol, tobacco, and caffeine. Hyperhomocysteinemia leads to damage to blood vessels through the induction of the proliferation of vascular smooth muscle cells, disruption of physiological endothelial functions, accumulation of reactive oxygen and nitrogen species, i.e., induction of oxidative and nitrosative stress, increased production of collagen, and degradation of the elastic fibers of the arterial wall, disturbance in the production of nitric oxide, dysfunction in the H_2S signaling pathway, cellular hypomethylation, homocysteinylolation of proteins, and disturbances in lipid metabolism. These pathophysiological mechanisms lead to accelerated atherosclerosis, which ultimately results in diseases such as acute myocardial infarction, heart failure, stroke, and peripheral vascular disease. In patients with the aforementioned diseases, or with associated risk factors such as hypertension, diabetes, obesity, smoking, or a positive family history of coronary heart disease, it is of great importance to determine and monitor the concentration of homocysteine in the blood and to take measures in the form of lifestyle changes aimed at secondary prevention of the consequences that hyperhomocysteinemia brings with it.

Keywords:

homocysteine,
hyperhomocysteinemia,
cardiovascular system,
endothelial dysfunction,
atherosclerosis

Sažetak

Ključne reči:

homocistein,
hiperhomocisteinemija,
kardiovaskularni
sistem,
endotelna disfunkcija,
ateroskleroza

Hiperhomocisteinemija predstavlja patološko stanje koje karakteriše povećana koncentracija homocisteina u krvi, prelazeći prag od 15 $\mu\text{mol/L}$. Može da bude uzrokovana genetskim defektima enzima uključenih u metabolizam homocisteina i neadekvatnim unosom vitamina B6, folne kiseline i/ili vitamina B12, poremećajima funkcije bubrega i štitne žlezde, malignim bolestima, psorijazom i dijabetesom, upotrebom određenih lekova, alkohola, duvana i kofeina. Hiperhomocisteinemija dovodi do oštećenja krvnih sudova putem indukcije proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija, ometanja fizioloških endotelnih funkcija, nakupljanja reaktivnih oblika kiseonika i reaktivnih oblika azota, tj. indukcije oksidativnog i nitrozativnog stresa, povećanja produkcije kolagena i degeneracije elastičnih vlakana arterijskog zida, poremećaja produkcije azotnog monoksida, disfunkcije signalnog puta vodonik-sulfida (H_2S), ćelijske hipometilacije, homocisteinilacije proteina i poremećaja metabolizma lipida. Ovi patofiziološki mehanizmi dovode do ubrzane ateroskleroze koja na kraju rezultira bolestima kao što su akutni infarkt miokarda, srčana insuficijencija, moždani udar i periferna vaskularna bolest. Kod pacijenata sa navedenim bolestima ili sa pridruženim faktorima rizika kao što su hipertenzija, dijabetes, gojaznost, pušenje ili pozitivna porodična anamneza na koronarnu srčanu bolest od velike je važnosti utvrditi i pratiti koncentraciju homocisteina u krvi i preduzeti mere u vidu promene životnih stilova u cilju sekundarne prevencije posledica koje hiperhomocisteinemija sa sobom nosi.

Uvod

Homocistein (Hcy) predstavlja semiesencijalnu, neproteinsku aminokiselinu koja sadrži sulfhidrilnu grupu i međuproizvod je u biosintezi aminokiselina metionina i cisteina (1). Hiperhomocisteinemija (HHcy) je patološko stanje koje karakteriše povećana koncentracija Hcy u krvi, prelazeći prag od 15 $\mu\text{mol/L}$ (2). Normalni nivoi Hcy u krvi kod zdravih osoba (natašte) kreću se u opsegu od 5 do 15 $\mu\text{mol/L}$, kada se analiziraju metodom tečne hromatografije visokih performansi (engl. *high-performance liquid chromatography* - HPLC) (3). Kategorizacija HHcy je izvršena na osnovu koncentracije Hcy u krvi: 16 - 30 $\mu\text{mol/L}$ se smatra umerenom, 31 - 100 $\mu\text{mol/L}$ srednjom, a preko 100 $\mu\text{mol/L}$ teškom hiperhomocisteinemijom (4). Hiperhomocisteinemija se deli na dva tipa: prvi obuhvataju retke, ali ozbiljne varijante koje proizilaze iz genetskih mutacija enzima uključenih u metabolizam homocisteina, dok drugi, blaži, ali učestaliji tip, predstavljaju one forme HHcy u kojima je prisutan samo umereni porast nivoa Hcy u krvi i nastaju udruženim delovanjem faktora sredine i genetskih faktora (1). Glavni enzimi uključeni u metabolizam homocisteina su N5,N10-metilentetrahidrofolat reduktaza (MTHFR), metionin sintaza i cistationin beta sintaza (CBS) (5). Polimorfizmi u genu za MTHFR često su povezani sa umerenim do visokim nivoima Hcy u krvi (5). Jedna od najčešćih genetskih anomalija povezana sa HHcy je tačkasta mutacija (supstitucija cistozina timinom na nukleotidu 677) u kodirajućem regionu gena za MTHFR. Ova mutacija dovodi do sinteze termolabilne forme enzima MTHFR, čija je aktivnost smanjena (4). U slučaju kongenitalne homocistinurije, homozigotni nedostatak CBS je osnovni uzrok visokih nivoa homocisteina u krvi (4). Ostali ređi uzroci obuhvataju homozigotni nedostatak MTHFR i poremećaje u metabolizmu vitamina B12 (4).

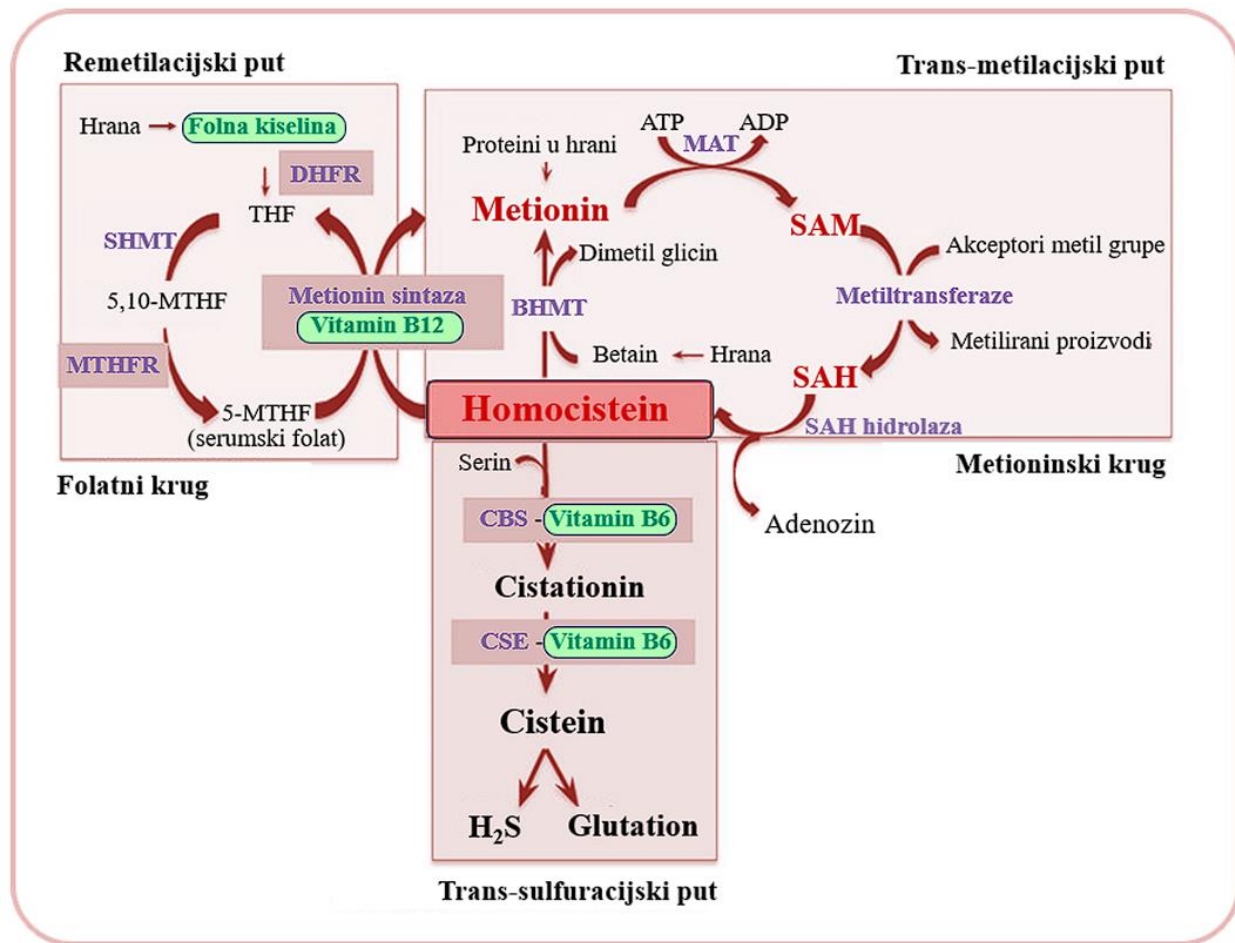
Nutritivni deficit folata, vitamina B6 i B12 takođe mogu biti „okidači“ za nastanak hiperhomocisteinemije (5). Ovi vitamini su od značaja jer imaju ulogu kofaktora enzima, koji su uključeni u metabolizam Hcy kroz dva glavna metabolička puta: put remetilacije i put transsulfuracije (slika 1).

Koncentracija pomenutih vitamina je obrnuto povezana sa vrednostima homocisteina, što znači da njihov nedostatak može povećati rizik od razvoja HHcy i pratećih patoloških stanja za koje je ona odgovorna (4,5). Pored genetskih i nutritivnih faktora, postoji niz drugih činilaca koji mogu uticati na nivo Hcy u krvi. Na primer, poremećaji funkcije bubrega i štitne žlezde, maligne bolesti, psorijaza i dijabetes, kao i upotreba određenih lekova, alkohola, duvana i kofeina, povezani su sa umerenim povećanjem nivoa Hcy u krvi (1). Glavni organ odgovoran za uklanjanje Hcy iz krvi je bubrež, a poremećaji u funkciji bubrega dovode do njegove akumulacije u organizmu (4).

Cilj ovog preglednog rada je da pretraživanjem literature ukaže na najnovija saznanja o patofiziološkim mehanizmima putem kojih HHcy dovodi do narušavanja homeostaze u kardiovaskularnom sistemu, kao i do posledica po organizam koje u tom slučaju nastaju.

Povezanost hiperhomocisteinemije i kardiovaskularnih bolesti

Povišeni nivo Hcy u krvi pokazuje značajnu korelaciju sa kardiovaskularnim oboljenjima i njihovim komplikacijama, uključujući infarkt miokarda i moždani udar (3). Istraživanja pokazuju da HHcy doprinosi oštećenju endotelnih ćelija, smanjuje elastičnost krvnih sudova i utiče na proces hemostaze (6). Faktori rizika koji su povezani sa povišenim vrednostima Hcy i lošijom prognozom kardiovaskularnih oboljenja uključuju starost, muški pol,



Slika 1. Uloga vitamina B6, vitamina B12 i folne kiseline u metaboličkim putevima homocisteina.

DHFR - dihidrofolat reduktaza, SHMT - serin hidroksimetiltransferaza, MTHFR - metilentetrahydrofolat reduktaza, THF - tetrahydrofolat, 5,10-MTHF - 5,10 metilentetrahydrofolat, 5-MTHF - 5-metilentetrahydrofolat, ATP - adenozin trifosfat, ADP - adenozin difosfat, MAT - metionin adenoziltransferaza, SAM - S-adenozil metionin, SAH - S-adenozil homocistein, BHMT - betain-homocistein metiltransferaza, CBS - cistationin beta sintaza, CSE - cistationin gama liaza, H₂S - vodonik sulfid. Modifikovana ilustracija preuzeta iz Azzini et al. Int J Mol Sci. 2020.

pušenje, povećani unos kafe, visoki krvni pritisak, nepovoljan lipidni profil i neadekvatnu ishranu siromašnu vitaminima B6, B12 i folnom kiselinom, a bogatu metioninom (1). Homocistein je poznat kao nezavisni faktor rizika za razvoj i progresiju procesa ateroskleroze (7). Ateroskleroza se definiše kao kontinuirano inflamatorno oštećenje intime arterija sa povećanom permeabilnošću, taloženjem lipida iz plazme u vidu plakova i fibrozom i kalcifikacijom plakova (8). Korelacija između HHcy i ateroskleroze je prvi put pokazana pre više od 50 godina, kada je prvi put prepoznao Mekali (*McCully*) 1969. godine (9). Ateroskleroza je najčešći patološki proces koji dovodi do kardiovaskularnih bolesti kao što su akutni infarkt miokarda, srčana insuficijencija, moždani udar i periferna vaskularna bolest (6). Nekoliko studija preseka i studija slučajeva i kontrola ukazalo je na jasnu korelaciju između koncentracije Hcy u krvi i incidencije koronarne, karotidne i periferne vaskularne bolesti (10-12). Nivoi ukupnog Hcy u krvi pozitivno koreliraju sa debljinom tunike intime i medije karotidnih arterija, bazalno i nakon sedam godina praćenja, ali nisu postojale korelacije sa dinamikom promena debljine tunike intime i medije definisane razlikom između ova dva merenja (13). Istraživači su utvrdili značajnu korelaciju između koncentracija Hcy u krvi i raznih parametara arterijske krutosti, uključujući pulsni pritisak i aortnu krutost, koja je bila procenjena

putem karotidno-femoralne brzine pulsog talasa u široj populaciji (11). Analiza linearne regresije otkrila je značajnu povezanost između nivoa homocisteina i brzine kretanja karotidno-femoralnog pulsog talasa, dok takva povezanost sa karotidno-radijalnim pulsom nije uočena.

Patofiziološki mehanizmi delovanja hiperhomocisteinemije na kardiovaskularni sistem

Hiperhomocisteinemija posreduje u nastanku kardiovaskularnih bolesti kroz različite mehanizme. Ovi mehanizmi obuhvataju negativne efekte na vaskularni endotel i ćelije glatkih mišića, što u početku dovodi do supkliničkih promena u strukturi i funkciji arterija (11). Specifični mehanizmi za koje se pretpostavlja da su odgovorni za progres oštećenja arterija uključuju stimulaciju proliferacije vaskularnih glatkih mišićnih ćelija, ometanje fizioloških endotelnih funkcija, nakupljanje reaktivnih oblika kiseonika (ROS) i reaktivnih oblika azota (RNS), tj. indukovanje oksidativnog i nitrozativnog stresa, povećanje produkcije kolagena, te degeneraciju elastičnih vlakana arterijskog zida (11). Povećanje koncentracije Hcy u krvi pokazuje pozitivnu povezanost sa težinom koronarne arterijske bolesti (12). Veruje se da Hcy učestvuje u razvoju endotelne disfunkcije

kroz različite mehanizme, koji obuhvataju oksidativni stres, aktivaciju nuklearnog faktora-kapa B, aktivaciju inflamatornih procesa, kao i inhibiciju endotelne sintaze azotnog monoksida (eNOS) (13). Iako su mogući mehanizmi koji objašnjavaju vezu između HHcy i krutosti zida arterija još uvek nepotpuno rasvetljeni, glavne hipoteze sugerišu da Hcy može imati ključnu ulogu u remodelovanju arterijskog zida, što dovodi do vaskularnog oštećenja. Druge studije ističu da povišeni nivoi Hcy mogu indukovati oksidativni stres i inflamatorni odgovor u vaskularnim endotelnim ćelijama, kao i smanjiti proizvodnju i biodostupnost azotnog monoksida, potentnog vazodilatatora. Postoje i ubedljivi dokazi da oksidacija igra značajnu ulogu u mehanizmu povezanom sa povišenim homocisteinom i aterosklerozom. U eksperimentalnoj studiji na svinjama pokazano je da blaga HHcy izaziva lokalno pogoršanje elastične strukture arterija, povezano sa aktivacijom enzima elastaze i matriksnih metaloproteinaza (11). Hiperhomocisteinemija je takođe povezana sa većim rizikom od venske tromboze (1), podstičući adheziju trombocita na endotelne ćelije i povećavajući nivo protrombotičkih faktora, kao što su beta tromboglobulin, aktivator tkivnog plazminogena i faktor VIIc, što sve zajedno potencira formiranje tromba (11). Dodatno, povećana arterijska krutost u HHcy može biti povezana sa aterogenezom udruženom sa lipoproteinom male gustine (engl. *low density lipoprotein* - LDL), kao što je povećanje veličine čestica LDL i njihove oksidativne modifikacije (11).

U istraživanju Ksija (Xie) i sar. prikazano je da tretman eritrocita zdravih odraslih osoba sa Hcy izaziva niz promena u ćelijskoj membrani, prvenstveno u fosfatidil serinu, što dovodi do povećanog trombogenog efekta (14). U osnovi koagulopatije indukovane Hcy leži olakšana konverzija faktora X u faktor Xa i protrombina u trombin, koja je pokrenuta fosfatidil serinom na membrani eritrocita (14). Visok krvni pritisak je dobro poznat faktor rizika za kardiovaskularne bolesti, ali je povezanost između Hcy i krvnog pritiska posebno interesantna jer krvni pritisak može sinergistički povećati kardiotoksične efekte HHcy. Ova povezanost je potkrepljena animalnim studijama koje su pokazale porast krvnog pritiska kao posledicu indukovane HHcy. Homocistein može uticati na krvni pritisak kroz niz mehanizama, uključujući oštećenje integriteta vaskularnog endotela, indukciju oksidativnog stresa i smanjenje biodostupnosti azotnog monoksida (15). U humanoju populaciji su uočeni problemi sa endotel zavisnom vazodilatacijom u slučaju privremene ili hronične HHcy (15). Homocistein je pozitivno povezan sa porastom dijastolnog i sistolnog krvnog pritiska (15).

Konkretno, povećanje koncentracije homocisteina za 5 $\mu\text{mol/L}$ dovodi do rasta dijastolnog i sistolnog krvnog pritiska kod muškaraca i žena, sa izraženijom korelacijom kod žena. Većina studija pokazuje da je muški pol značajan faktor za pojavu HHcy i kardiovaskularnih bolesti nezavisnih od HHcy. Prema studiji Lima (Lim) i Kasana (Cassano) (15), veza između Hcy i kardiovaskularnih bolesti je naročito izražena kod žena, sa trostrukim i dvostrukim povećanjem rizika od hipertenzije kod žena, odnosno kod muškaraca. Korelacija Hcy sa dominantnim kardiovaskularnim

oboljenjima analizirana je sa i bez uključivanja krvnog pritiska. Nakon isključivanja uticaja krvnog pritiska veza je postala nešto jača kod žena, dok kod muškaraca nisu uočene značajne razlike. U članku koji se fokusira na endotelnu disfunkciju kod pacijenata sa primarnom hipertenzijom i HHcy ističe se generalno prihvatanje stanovišta da je endotelna disfunkcija ključna u razvoju kardiovaskularnih bolesti, uključujući i hipertenziju (16). Ova studija dodatno naglašava negativan uticaj HHcy na biosintezu i funkciju vazodilatatornih faktora u arterijskom zidu, što sekundarno podstiče inhibiciju deobe endotelnih ćelija, intenzivnu proliferaciju i migraciju vaskularnih glatkih miocita, kao i oštećenje ekstracelularnih komponenti arterijskog zida. Kao što je već pomenuto, visoke koncentracije Hcy i njegovih derivata doprinose pokretanju procesa inflamacije, poremećajima koagulacije i fibrinolize, te modifikaciji LDL i lipoproteina velike gustine (engl. *high density lipoprotein* - HDL) (16). Hiperhomocisteinemija može indukovati biohemijske promene u endotelu, izazvati oštećenje endotelnih ćelija, dijastolnu disfunkciju krvnih sudova i smanjenje elastičnosti usled uticaja na remodelovanje vaskularnog zida. Ovi mehanizmi potencijalno mogu pojačati razvoj hipertenzije i oštećenja ciljnih organa (16).

Vaskularni endotel funkcioniše kao homeostazna barijera između cirkulišuće krvi i zidova krvnih sudova i na taj način igra ulogu čuvara kardiovaskularnog zdravlja (17). Tunika intima, unutrašnji sloj vaskularnog zida, ima značajnu ulogu u regulaciji homeostaze zida krvnih sudova, uključujući tonus krvnih sudova, koagulaciju, inflamaciju i permeabilnost (18). Kao unutrašnji sloj zida krvnog suda, endotelne ćelije su direktno izložene cirkulišućoj krvi, što ih čini posebno osetljivim na različite faktore rizika koji dovode do njihovog disfunkcionisanja i oštećenja endotelne barijere. Narušena funkcija i integritet endotelne barijere mogu pokrenuti niz kaskadnih reakcija, poput inflamatornog odgovora, „regrutovanja“ monocita, formiranja plaka, strukturnog remodelovanja i tromboze (19-24). Rezultati istraživanja na kulturama endotelnih ćelija i animalnih modela HHcy pokazuju da Hcy može oštetiti endotelne ćelije i izazvati endotelnu disfunkciju (25, 26). Nekoliko studija je potvrdilo da je koncentracija Hcy u krvi pozitivno korelirala sa stepenom ateroskleroznih promena. Kliničke studije su pokazale da je nivo Hcy u krvi kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću znatno viši u odnosu na angiografski normalne kontrole (27), a visoki nivoi Hcy u krvi, koji su samo 12% iznad gornje fiziološke granice, povezani su sa 3 do 4 puta većim rizikom od infarkta miokarda (28). Svi ovi nalazi podržavaju novopredloženu homocisteinsku teoriju ateroskleroze. Hipertenzija H-tipa je specijalni tip hipertenzije koji je udružen sa povišenim nivoima Hcy u krvi na osnovu već postojeće hipertenzije. Rizik od moždanog udara izazvanog ovom vrstom hipertenzije je statistički značajno veći u poređenju sa izolovanom hipertenzijom (29), što može biti povezano sa oštećenjem vaskularnog endotela izazvanim Hcy. Ovakvi rezultati ukazuju na to da oštećenje endotela izazvano Hcy ima važnu ulogu u izazivanju vaskularnih bolesti. Zato je istraživanje mehanizma oštećenja vaskularnog endotela izazvanog Hcy od

velike važnosti za dijagnostiku i lečenje bolesti povezanih sa aterosklerozom.

Azot-monoksid (NO) je ključni signalni molekul u endotelu koji deluje kao faktor vazodilatacije, a generiše ga eNOS (30). Endotelna produkcija NO može da inhibira mnoge događaje tokom ateroskleroze, kao što su: inhibicija aktivacije endotelne ćelije, infiltracija makrofaga, formacija/migracija penastih ćelija, agregacija trombocita, inflamacija, tromboza, remodelovanje zida krvnog suda i posredovanje u vazodilataciji (31-36). Mehanizam poremećaja sinteze NO uzrokovan Hcy je relativno složen i u njemu značajnu ulogu igra asimetrični dimetilarginin (ADMA), koji je endogeni inhibitor eNOS. Specifično, Hcy posttranslaciono inhibira aktivnost enzima dimetilarginin dimetilaminohidrolaze (DDAH), koji razgrađuje ADMA (37). Zbog toga Hcy može dovesti do akumulacije ADMA i inhibicije eNOS. Osim toga, Hcy može inhibirati eNOS i smanjiti sintezu NO aktivacijom protein kinaze C. Smanjena sinteza NO izaziva oštećenje endotela pogoršavanjem oksidativnog stresa i inflamacije (38).

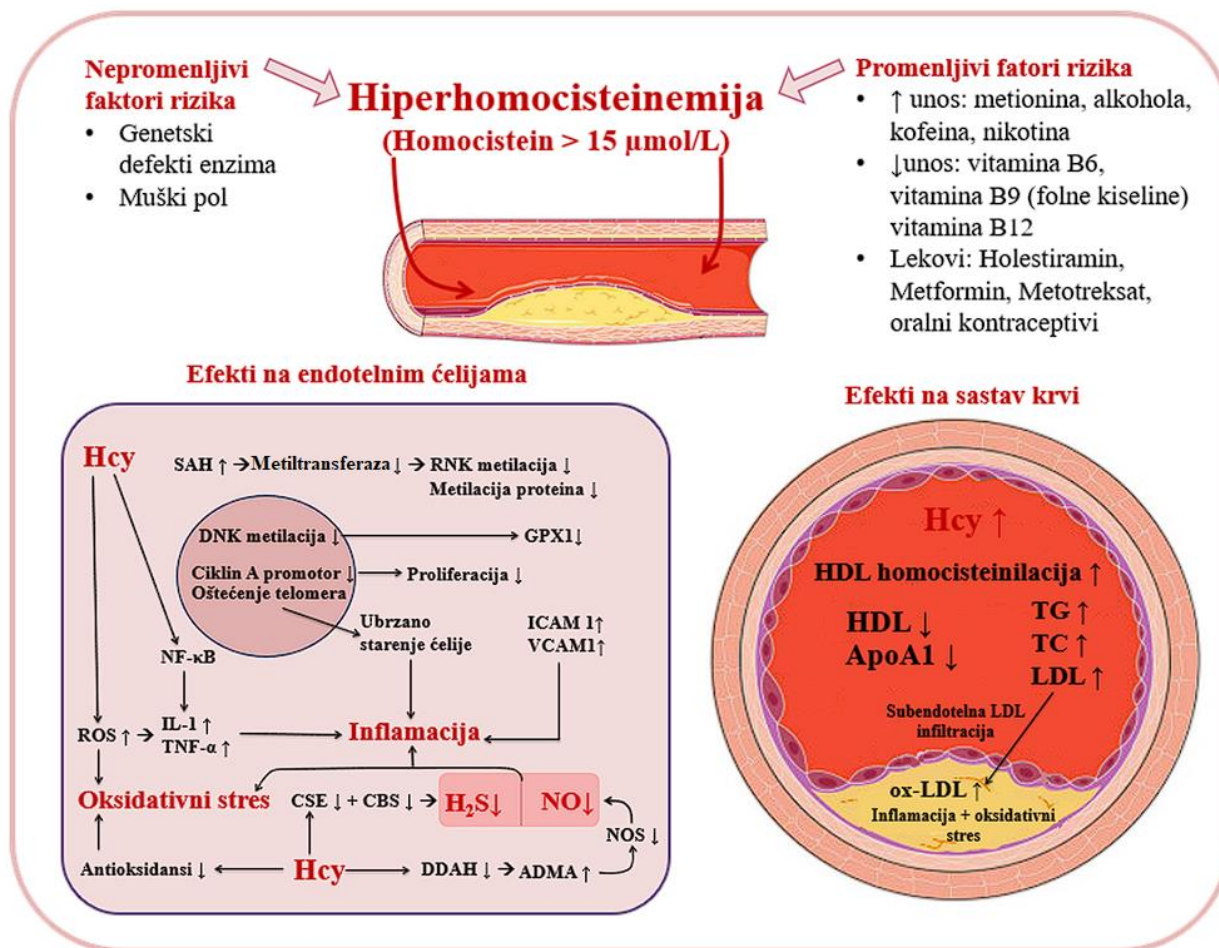
Već je napomenuto da se Hcy metaboliše u cistein kroz put transulfuracije, koji se zatim razlaže u sulfat i izlazi putem urina. Ovaj metabolički put je regulisan pomoću dva ključna enzima, CBS i cistationin gama liaze (CSE). Osim toga, ova dva enzima, koja zavise od piridoksal-5'-fosfata (vitamin B6), mogu koristiti cistein kao supstrat i mogu da proizvedu dihidrogen-sulfid. Dihidrogen-sulfid je poznat i kao vodonik-sulfid (H₂S) ili sulfan (39, 40). Vodonik-sulfid se smatra endogeno proizvedenim gasotransmitterom koji deluje na različite ciljne signalne puteve kako bi igrao važnu ulogu u vaskularnoj homeostazi (41). Smanjenje aktivnosti CSE/H₂S metaboličkog puta ima važnu patološku ulogu u razvoju ateroskleroze (42). Pokazano je da H₂S reguliše više endotelnih funkcija kao što su angiogeneza, proliferacija i migracija (43). Hiperhomocisteinemija može uzrokovati smanjenje aktivnosti CSE i CBS, čime se proizvodnja H₂S takođe smanjuje (44). Nedostatak H₂S zaštite u endotelnim ćelijama može uzrokovati endotelnu disfunkciju i oštećenje i postepeno dovesti vaskularnih bolesti udruženih HHcy (45). Studija Kamata i sar. je takođe pokazala da egzogeni tretman H₂S može ublažiti disfunkciju endotela izazvanu Hcy, inhibirajući mitohondrijalnu toksičnost (45). Stoga zaključujemo da Hcy može oštetiti endotelnu homeostazu narušavajući metabolički put H₂S sinteze, kao i da je održavanje normalne funkcije ovog puta važno za sprečavanje disfunkcije endotela izazvane od strane Hcy.

Pored toga, određene metaboličke promene koje su pokrenute izvan endotelnih ćelija, a izazvane su HHcy, takođe mogu oštetiti endotel i dovesti do razvoja ateroskleroznih promena. Abnormalni lipidni i lipoproteinski metabolizam je važan faktor rizika za nastanak ateroskleroze (46). Lipoproteini, kao što su LDL i HDL, su uglavnom odgovorni za transport lipida kao što su holesterol i trigliceridi (47). Nekoliko kliničkih i eksperimentalnih studija pokazalo je da HHcy utiče na metabolizam lipida. Klinička studija koja je uključivala 7898 ispitanika pokazala je da je koncentracija Hcy u krvi negativno povezana sa koncentracijom HDL i apolipoproteina A1, dok je, s druge strane, pozitivno korelirala sa koncentracijom triglicerida (48).

Povećano nakupljanje Hcy u ćelijama može da dovede do njegove konverzije u toksičniji metabolit homocistein tiolakton (49). Enzim koji katalizuje ovu reakciju je metionil-tRNA sintetaza (MetRS), na takav način da u prvom koraku dolazi do aktivacije karboksilne grupe Hcy pomoću ATP-a i pritom se formira MetRS-vezani homocisteinil adenilat, a zatim u drugom koraku, tiolat bočnog lanca zamenjuje AMP grupu sa aktivirane karboksilne grupe Hcy, formirajući homocistein tiolakton (49-51). Homocistein tiolakton je veoma reaktivno jedinjenje i u kontaktu sa proteinima dovodi do acetilacije aminogrupa, pri čemu se formiranju homocisteinske grupe, što dovodi do izmenjene funkcije proteina (50, 51). S druge strane, homocistein tiolakton može biti konvertovan nazad u Hcy pod dejstvom enzima paraoksonaze 1 (PON1) (51, 52). Ovaj enzim je komponenta HDL i predstavlja je multifunkcionalni enzim zavisan od kalcijuma koji povezuje metabolizam lipoproteina i Hcy (52).

S-adenozil metionin, koji se formira u remetilacijskom krugu u kome se metionin konvertuje u Hcy, donor je metil grupe u ćelijama za gotovo sve transmetilacijske reakcije DNK, RNK, proteina i drugih molekula (53, 54). Stoga reakcije metilacije različitih ćelijskih komponenti mogu biti značajno pogođene promenjenim metabolizmom Hcy. Vredno je napomenuti da je hidroliza S-adenozil homocisteina (SAH) u Hcy reverzibilna i da je sinteza SAH iz S-adenozil metionina (SAM) termodinamički povoljnija (55) (**slika 1**). Reakcija usmerena prema hidrolizi SAH uslovljena je brzim uklanjanjem Hcy ili putem ćelijskog izvoza ili putem metaboličke konverzije u metionin i cistationin. Međutim, kada su nivoi Hcy nenormalno povišeni, to može izazvati povišene nivoe SAH. Značajno je da je SAH kritičan endogeni inhibitor ćelijskih metiltransferaza, tj. visok nivo Hcy-a lako stvara hipometilaciono okruženje, što dodatno narušava reakcije metilacije povezane sa intimalnom homeostazom (56). Hipometilacija različitih molekula u endotelnim ćelijama može smanjiti nivoe akvaporina 1, što dovodi do oslabljene permeabilnosti za vodu i disfunkcije endotela (57, 58). Hipometilacija u endotelnim ćelijama takođe može pojačati ekspresiju molekula adhezije međućelijskog adhezionog molekula 1 (ICAM-1) i vaskularnog ćelijskog adhezionog molekula 1 (VCAM-1) putem supresije ekspresije glutathion peroksidaze 1 (GPX1), izazivajući inflamaciju i oštećenje endotela (59). Epigenetska studija je pokazala da Hcy indukuje hipometilaciju promotora ciklina A putem smanjenja ekspresije DNK metiltransferaze 1, čime se inhibira proliferacija endotelnih progenitorskih ćelija (59). Generalno, epigenetska regulacija ekspresije gena ostvaruje se prvenstveno metilacijom citozinskih nukleotida u DNK lancu, pa Hcy uzrokovana promena stepena metilacije može da dovede do promene ekspresije gena, što je posebno opasno ukoliko dođe do promene ekspresije nekog od gena zaduženih za regulaciju ćelijskog ciklusa (60). Ovakve epigenetske promene mogu da rezultiraju pojavom tumora.

Prethodno navedeni rezultati sugerišu da hipometilacija DNK, RNK i proteina u endotelnim ćelijama izazvana Hcy dovodi do oštećenja endotela oslabljivanjem permeabilnosti za vodu, indukovanjem inflamacije i inhibicijom



Slika 2. Patofiziološki efekti hiperhomocisteinemije na endotelne ćelije i sastav krvi.

Hcy - homocistein, SAH - S-adenozil homocistein, RNK - ribonukleinska kiselina, DNK - deoksiribonukleinska kiselina, GPX1 - glutation peroksidaza 1, ICAM1 - međućelijski adhezioni molekul 1, VCAM1 - vaskularni ćelijski adhezioni molekul 1, NF-κB - nuklearni faktor kappa beta, ROS - reaktivni oblici kiseonika, IL-1 - interleukin 1, TNF-α - faktor nekroze tumora alfa, CSE - cistationin gama liaza, CSB - cistationin beta sintaza, H₂S - vodonik-sulfid, NO - azot-monoksid, eNOS - endotelna azot-monoksid sintaza, DDAH - dimetilarginin dimetilaminohidrolaza, ADMA - asimetrični dimetilarginin. Modifikovana ilustracija preuzeta iz Yuan D et al. Front Cardiovasc Med. 2023.

proliferacije. Različiti patofiziološki mehanizmi uticaja HHcy u krvnim sudovima prikazani su na **slici 2**.

Povišeni nivoi Hcy, interleukina 6 (IL-6), C-reaktivnog proteina (CRP) i fibrinogena izmereni su kod pacijenata sa koronarnom bolešću kod kojih je klinički SYNTAX skor iznosio više od 33, što je pokazalo da, pored koncentracije inflamatornih biomarkera, i koncentracija Hcy u krvi može da ukazuje na ozbiljnije i opsežnije promene u koronarnim krvnim sudovima kod pacijenata sa stabilnom anginom pectoris (61, 62).

Zaključak

Kao značajan faktor rizika za nastanak i progresiju ateroskleroznih promena na krvnim sudovima, HHcy promoviše pojavu i razvoj kardiovaskularnih bolesti. Uzroci povišenih nivoa Hcy u krvi uključuju genetske faktore, nutritivne deficite, pušenje, unos lekova, demografske faktore i različita udružena patološka stanja i bolesti. Oštećenje vaskularnog endotela uzrokovano HHcy je ključna karika u podsticanju procesa ateroskleroze, pa proučavanje ove povezanosti ima veliki značaj za prevenciju i lečenje oštećenja endotela indukovano HHcy

i pratećih bolesti povezanih sa aterosklerozom. Trenutno naučna saznanja ukazuju na to da mehanizmi oštećenja endotela izazvanih HHcy uključuju indukciju inflamacije i ćelijske smrti, poremećaj produkcije NO, akumulaciju ROS i oksidativni stres, disfunkciju signalnog puta H₂S, ćelijsku hipometilaciju, homocisteinilaciju proteina i poremećaj metabolizma lipida. Kod pacijenata sa koronarnom srčanom bolešću, cerebrovaskularnom bolešću ili perifernom aterosklerozom ili sa faktorima rizika za kardiovaskularne i cerebrovaskularne bolesti, kao što su hipertenzija, dijabetes, gojaznost, pušenje ili pozitivna porodična anamneza na koronarnu srčanu bolest od velike je važnosti utvrditi i pratiti koncentraciju Hcy u krvi i preduzeti mere u vidu promene životnih stilova u cilju sekundarne prevencije posledica. Mehanizam oštećenja endotela od strane HHcy i izazivanje ateroskleroze teme su koje su vredne daljeg istraživanja, i imaju veliki značaj za smanjenje pojave i razvoja bolesti povezanih sa aterosklerozom.

Literatura

1. Faeh D, Chiolerio A, Paccaud F. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: should we (still) worry about it? Swiss Med Wkly. 2006; 136(47-48):745-56.

2. Guo H, Chi J, Xing Y, Wang P. Influence of folic acid on plasma homocysteine levels & arterial endothelial function in patients with unstable angina. *Indian J Med Res.* 2009; 129(3):279–84.
3. Baszczuk A, Kopczynski Z. Hyperhomocysteinemia in patients with cardiovascular disease. *Postepy Hig Med Dosw.* 2014; 68:579.
4. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet.* 1999; 354(9176):407–13.
5. Loscalzo J, Handy DE. Epigenetic modifications: basic mechanisms and role in cardiovascular disease (2013 Grover Conference Series). *Pulm Circ.* 2014; 4(2):169–74.
6. Mange H, Becker K, Fuchs D, Gostner JM. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J Cardiol.* 2014; 6(6):462–77.
7. Pang X, Liu J, Zhao J, Mao J, Zhang X, Feng L, et al. Homocysteine induces the expression of C - reactive protein via NMDAR-ROS-MAPK-NF- κ B signal pathway in rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis.* 2014; 236(1):73–81.
8. Schaffer A, Verdoia M, Cassetti E, Marino P, Suryapranata H, Luca GD. Relationship between homocysteine and coronary artery disease. Results from a large prospective cohort study. *Thromb Res.* 2014; 134(2):288–93.
9. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Amer J Pathol* 1969; 56(1):111-28.
10. Okura T, Miyoshi K, Irita J, Enomoto D, Nagao T, Kukida M, et al. Hyperhomocysteinemia is one of the risk factors associated with cerebrovascular stiffness in hypertensive patients, especially elderly males. *Sci Rep.* 2014; 4:5663.
11. Zhang S, Yong-Yi B, Luo LM, Xiao WK, Wu HM, Ye P. Association between serum homocysteine and arterial stiffness in elderly: a community-based study. *J Geriatr Cardiol.* 2014; 11(1):32–8.
12. Shenov V, Mehendale V, Prabhu K, Shetty R, Rao P. Correlation of serum homocysteine levels with the severity of coronary artery disease. *Ind J Clin Biochem.* 2014; 29(3):339–44.
13. Basu A, Jenkins AJ, Stoner JA, Thorpe SR, Klein RL, Lopes-Virella MF, et al. DCCT/EDIC Research Group. Plasma total homocysteine and carotid intima-media thickness in type 1 diabetes: a prospective study. *Atherosclerosis.* 2014; 236(1):188–95.
14. Xie R, Jia D, Gao C, Zhou J, Sui H, Wei X, et al. Homocysteine induces procoagulant activity of red blood cells via phosphatidylserine exposure and microparticles generation. *Amino Acids.* 2014; 46(8):1997–2004.
15. Lim U, Cassano PA. Homocysteine and blood pressure in the third national health and nutrition examination survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol.* 2002; 156(12):1105–13.
16. Baszczuk A, Kopczyński Z, Thielemann A. Endothelial dysfunction in patient with primary hypertension and hyperhomocysteinemia. *Postepy Hig Med Dosw.* 2014; 68:91–100.
17. Luk C, Haywood NJ, Bridge KI, Kearney MT. Paracrine role of the endothelium in metabolic homeostasis in health and nutrient excess. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9:882923.
18. Qiu T, Zhou H, Li S, Tian N, Li Z, Wang R, et al. Effects of saccharides from *Arctium lappa* L. Root on FeCl₃-induced arterial thrombosis via the ERK/NF- κ B signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2020; 2020:7691352.
19. Jiang H, Zhou Y, Nabavi SM, Sahebkar A, Little PJ, Xu S, et al. Mechanisms of oxidized LDL-mediated endothelial dysfunction and its consequences for the development of atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med.* 2022; 9:925923.
20. Dagvadorj J, Shimada K, Chen S, Jones HD, Tumurkhuu G, Zhang W, et al. Lipopolysaccharide induces alveolar macrophage necrosis via CD14 and the P2X7 receptor leading to interleukin-1 α release. *Immunity.* 2015; 42(4):640–53.
21. Wei X, Ying M, Dehaini D, Su Y, Kroll AV, Zhou J, et al. Nanoparticle functionalization with platelet membrane enables multifaceted biological targeting and detection of atherosclerosis. *ACS Nano.* 2018; 12(1):109–16.
22. Tan W, Wang Y, Wang K, Wang S, Liu J, Qin X, et al. Improvement of endothelial dysfunction of berberine in atherosclerotic mice and mechanism exploring through TMT-based proteomics. *Oxid Med Cell Longev.* 2020; 2020:8683404.
23. Zhang Y, Li C, Huang Y, Zhao S, Xu Y, Chen Y, et al. EOFAZ inhibits endothelial to mesenchymal transition through downregulation of KLF4. *Int J Mol Med.* 2020; 46(1):300–10.
24. Kamanna VS, Ganji SH, Shelkownikov S, Norris K, Vaziri ND. Iron sucrose promotes endothelial injury and dysfunction and monocyte adhesion/infiltration. *Am J Nephrol.* 2012; 35(2):114–9.
25. Chen LT, Xu TT, Qiu YQ, Liu NY, Ke XY, Fang L, et al. Homocysteine induced a calcium-mediated disruption of mitochondrial function and dynamics in endothelial cells. *J Biochem Mol Toxicol.* 2021; 35(5):e22737.
26. Rodionov RN, Dayoub H, Lynch CM, Wilson KM, Stevens JW, Murry DJ, et al. Overexpression of dimethylarginine dimethylaminohydrolase protects against cerebral vascular effects of hyperhomocysteinemia. *Circ Res.* 2010; 106(3):551–8.
27. Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr.* 1992; 12:279–98.
28. 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(7):877–81.
29. Li T, Zhu J, Fang Q, Duan X, Zhang M, Diao S, et al. Association of H-type hypertension with stroke severity and prognosis. *Biomed Res Int.* 2018; 2018:8725908.
30. Kopacz A, Kloska D, Proniewski B, Cysewski D, Personnic N, Piechota-Polanczyk A, et al. Keap1 controls protein S-nitrosation and apoptosis-senescence switch in endothelial cells. *Redox Biol.* 2020; 28:101304.
31. Forstermann U, Xia N, Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res.* 2017; 120(4):713–35.
32. Huang H, Koelle P, Fendler M, Schrottle A, Czihal M, Hoffmann U, et al. Induction of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression by oxLDL inhibits macrophage derived foam cell migration. *Atherosclerosis.* 2014; 235(1):213–22.
33. Degjoni A, Campolo F, Stefanini L, Venneri MA. The NO/cGMP/PKG pathway in platelets: the therapeutic potential of PDE5 inhibitors in platelet disorders. *J Thromb Haemost.* 2022; 20(11):2465–74.
34. Ning K, Wang MJ, Lin G, Zhang YL, Li MY, Yang BF, et al. eNOS-Nitric oxide system contributes to a novel antiatherogenic effect of leonurine via inflammation inhibition and plaque stabilization. *J Pharmacol Exp Ther.* 2020; 373(3):463–75.
35. Zhang B, Qin Y, Wang Y. A nitric oxide-eluting and REDV peptide-conjugated coating promotes vascular healing. *Biomaterials.* 2022; 284:121478.
36. Cai D, Chen SY. Nanoparticle endothelial delivery of PGC-1 α attenuates hypoxia-induced pulmonary hypertension by attenuating EndoMT-caused vascular wall remodeling. *Redox Biol.* 2022; 58:102524.
37. Gopu CL, Hari PR, George R, Harikrishnan S, Sreenivasan K. Simultaneous determination of homocysteine and asymmetric dimethylarginine in human urine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2013; 939:32–7.
38. Smith DE, Hornstra JM, Kok RM, Blom HJ, Smulders YM. Folic acid supplementation does not reduce intracellular homocysteine, and may disturb intracellular one-carbon metabolism. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51(8):1643–50.
39. Rahman MA, Glasgow JN, Nadeem S, Reddy VP, Sevalkar RR, Lancaster JR, JR., et al. The role of host-generated H₂S in microbial pathogenesis: new perspectives on tuberculosis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020; 10:586923.
40. Zhao L, Xiao Y, Weng RX, Liu X, Zhang PA, Hu CY, et al. Neonatal colonic inflammation increases spinal transmission and cystathionine beta-synthetase expression in spinal dorsal horn of rats with visceral hypersensitivity. *Front Pharmacol.* 2017; 8:696.
41. Foster JC, Carrazzone RJ, Spear NJ, Radzinski SC, Arrington KJ, Matson JB. Tuning H₂S release by controlling mobility in a micelle core. *Macromolecules.* 2019; 52(3):1104–11.
42. Sun HJ, Wu ZY, Nie XW, Bian JS. Role of endothelial dysfunction

- in cardiovascular diseases: the link between inflammation and hydrogen sulfide. *Front Pharmacol*. 2019; 10:1568.
43. Citi V, Martelli A, Gorica E, Brogi S, Testai L, Calderone V. Role of hydrogen sulfide in endothelial dysfunction: pathophysiology and therapeutic approaches. *J Adv Res*. 2021; 27:99–113.
 44. Esse R, Barroso M, Tavares DA, I, Castro R. The contribution of homocysteine metabolism disruption to endothelial dysfunction: state-of-the-art. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(4):867.
 45. Kamat PK, Kalani A, Tyagi SC, Tyagi N. Hydrogen sulfide epigenetically attenuates homocysteine-induced mitochondrial toxicity mediated through NMDA receptor in mouse brain endothelial (bEnd3) Cells. *J Cell Physiol*. 2015; 230(2):378–94.
 46. Wu Z, Jin F, Wang L, Zhao Y, Jiang Y, Li J, et al. Antioxidant effects of Baoyuan decoction on dysfunctional erythrocytes in high-fat diet-induced hyperlipidemic ApoE(-/-) Mice. *Oxid Med Cell Longev*. 2019; 2019:5172480.
 47. Yang Q, Civelek M. Transcription factor KLF14 and metabolic syndrome. *Front Cardiovasc Med*. 2020; 7:91.
 48. Zhou L, Liu J, An Y, Wang Y, Wang G. Plasma homocysteine level is independently associated with conventional atherogenic lipid profile and remnant cholesterol in adults. *Front Cardiovasc Med*. 2022; 9:898305.
 49. Jakubowski H. Proofreading in vivo: editing of homocysteine by methionyl-tRNA synthetase in *Escherichia coli*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 1990; 87(12):4504-8.
 50. Jakubowski H. Homocysteine thiolactone: metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. *J. Nutr*. 2000; 130(2S Suppl):377S-81S.
 51. Djuric D, Jakovljevic V, Zivkovic V, Srejovic I. Homocysteine and homocysteine-related compounds: an overview of the roles in the pathology of the cardiovascular and nervous systems. *Can J Physiol Pharmacol*. 2018; 96(10):991-1003.
 52. Perla-Kaján J, Jakubowski H. Paraoxonase 1 and homocysteine metabolism. *Amino Acids*. 2012; 43(4):1405-17.
 53. Bian Y, Li W, Kremer DM, Sajjakulnukit P, Li S, Crespo J, et al. Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation. *Nature*. 2020; 585(7824):277–82.
 54. Liu Q, Lin B, Tao Y. Improved methylation in *E. coli* via an efficient methyl supply system driven by betaine. *Metab Eng*. 2022; 72:46–55.
 55. Esse R, Imbard A, Florindo C, Gupta S, Quinlivan EP, Davids M, et al. Protein arginine hypomethylation in a mouse model of cystathionine beta-synthase deficiency. *FASEB J*. 2014; 28(6):2686–95.
 56. Lupu DS, Orozco LD, Wang Y, Cullen JM, Pellegrini M, Zeisel SH. Altered methylation of specific DNA loci in the liver of *Bhmt*-null mice results in repression of *Iqgap2* and *F2rl2* and is associated with development of preneoplastic foci. *FASEB J*. 2017; 31(5):2090–103.
 57. da Silva IV, Barroso M, Moura T, Castro R, Soveral G. Endothelial aquaporins and hypomethylation: potential implications for atherosclerosis and cardiovascular disease. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(1):130.
 58. Tyagi SC, Lominadze D, Roberts AM. Homocysteine in microvascular endothelial cell barrier permeability. *Cell Biochem Biophys*. 2005; 43(1):37-44.
 59. Barroso M, Florindo C, Kalwa H, Silva Z, Turanov AA, Carlson BA, et al. Inhibition of cellular methyltransferases promotes endothelial cell activation by suppressing glutathione peroxidase 1 protein expression. *J Biol Chem*. 2014; 289(22):15350–62.
 60. Tyagi SC, Stanisic D, Singh M. Epigenetic memory: gene writer, eraser and homocysteine. *Mol Cell Biochem*. 2021; 476(2):507-12.
 61. Djurić P, Mladenović Z, Spasić M, Jović Z, Marić-Kocijančić J, Prokić D, et al. Hyperhomocysteinemia and inflammatory biomarkers are associated with higher clinical SYNTAX score in patients with stable coronary artery disease. *Vojnosanit Pregl*. 2021; 78(7):736–44.
 62. Djuric D, Jakovljevic V, Rasic-Markovic A, Djuric A, Stanojlovic O. Homocysteine, folic acid and coronary artery disease: possible impact on prognosis and therapy. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. 2008; 50(1):39-48.