

## ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΟΜΟΚΥΣΤΕΪΝΗΣ ΚΑΙ ΛΕΥΚΟΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑΣ

Ματσούκας Σ.<sup>1</sup>, Δελλαπόρτα Δ.<sup>2</sup>, Τσολλάκη Μ.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Ιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ελλάδα

<sup>2</sup> Εταιρεία Νόσου Alzheimer και Συγγενών Διαταραχών

<sup>3</sup> Γ' Νευρολογική Κλινική ΑΠΘ

### Περίληψη

Ο στόχος αυτής της ανασκόπησης/μελέτης είναι να εξετάσει τη σχέση μεταξύ υπερομοκυστεϊναιμίας (Hhcy) και λευκοεγκεφαλοπάθειας. Για το λόγο αυτό, έγινε αναζήτηση στη βάση δεδομένων PubMed για δημοσιεύσεις στην αγγλική γλώσσα με λέξεις κλειδιά «ομοκυστεΐνη» και «λευκοεγκεφαλοπάθεια». Σύμφωνα με τη βιοχημεία υπάρχουν 5 βασικοί λόγοι που επάγουν την Hhcy: 1) Ανεπάρκεια της Συνθάσης της μεθειονίνης, 2) Ανεπάρκεια της MTHFR (MTHF αναγωγάσης), 3) Ανεπάρκεια βιταμίνης B12, 4) Έλλειψη φυλλικού οξέος και 5) Ανεπάρκεια των ενζύμων στην οδό σύνθεσης της κυστεΐνης (π.χ. β-συνθάση κυσταθειονίνης). Σήμερα, είναι ευρέως αποδεκτό ότι υπάρχει υψηλός βαθμός συσχέτισης μεταξύ Hhcy και Αγγειακής Νόσου, Νόσου Alzheimer, αγγειακής εγκεφαλικής νόσου και άλλων νευροψυχιατρικών διαταραχών. Όπως δείχνουν νέες έρευνες, υπάρχει μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ Hhcy και λευκοεγκεφαλοπάθειας, όπως έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με CADASIL. Ακόμη, λευκοεγκεφαλοπάθεια έχει παρατηρηθεί σε ανθρώπους με μία από τις 5 παραπάνω διαταραχές του μεταβολισμού που επίσης είχαν Hhcy. Όλες αυτές οι συσχετίσεις της νόσου πιστεύεται ότι συνδέονται με την επακόλουθη υπομεθυλίωση πολλών ουσιών, συμπεριλαμβανομένου του DNA και των πρωτεϊνών, καθιστώντας έτσι τις αγγειακές δομές και τους νευρώνες πιο επιρρεπείς σε βλάβες και απόπτωση. Η παροχή των διατροφικών συμπαραγόντων για την εύρυθμη λειτουργία του κύκλου της μεθειονίνης μπορεί να βελτιώσει τη μεθυλίωση και να προστατεύσει τον εγκέφαλο από βλάβες. Επιπλέον, η υπερομοκυστεϊναιμία είναι ένας ισχυρός ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για την υποφλοιώδη αγγειακή εγκεφαλοπάθεια.

**Λέξεις ευρετηρίου:** Υπερομοκυστεϊναιμία, Λευκοεγκεφαλοπάθεια

## HOMOCYSTEINE AND LEUKOENCEPHALOPATHY CORRELATION REVIEW

Matsoukas S.<sup>1</sup>, Dellaporta D.<sup>2</sup>, Tsolaki M.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Medical School, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

<sup>2</sup> Association of Alzheimer Disease and Related Disorders

<sup>3</sup> 3d Department of Neurology, Aristotle University of Thessaloniki

### Abstract

The goal of this review/study is to examine the toxic results of Hyperhomocysteinemia (Hhcy); especially the association between Hyperhomocysteinemia and Leukoencephalopathy. For this reason, the database PubMed was searched for English language publications with the key words "Homocysteine" and "Leukoencephalopathy". According to Biochemistry there are 5 main reasons inducing Hhcy: 1) Deficiency of Methionine Synthase, 2) Deficiency of MTHFR (MTHF Reductase), 3) Deficiency of B12, 4) Deficiency of Folic Acid and 5) Deficiency of enzymes in the synthesis pathway of cysteine (e.g. cystathionine synthase). Nowadays, it is widely accepted that there is a high degree of correlation between Hhcy and Vascular Disease, Alzheimer Disease, Cerebrovascular Disease and other neuropsychiatric disorders. As new researches indicate, there is a possible association between Hhcy and Leukoencephalopathy, as it has been noticed in patients with CADASIL. Even more, Leukoencephalopathy has been noticed in people with one of the above 5 metabolism disorders that also had Hhcy. All of these disease associations are thought to be interrelated via increased homocysteine and S-adenosylhomocysteine and subsequent hypomethylation

of numerous substances, including DNA and proteins, that render vascular structures and neurons more susceptible to damage and apoptosis. Providing the nutritional cofactors for proper functioning of the methionine cycle may improve methylation and protect the brain from damage. Furthermore, hyperhomocysteinemia is a strong independent risk factor for Subcortical Vascular Encephalopathy (SVE).

**Key words:** Homocysteine and leukoencephalopathy

### Βασικό υπόβαθρο

Η ομοκυστεΐνη είναι ένα θειούχο, μη πρωτεϊνικό αμινοξύ. Είναι ομόλογη της κυστεΐνης, με τη διαφορά ότι διαθέτει έναν επιπλέον άνθρακα στην πλευρική ομάδα. Βιοσυντίθεται από την μεθειονίνη, η οποία προσλαμβάνεται από τις τροφές, με την αφαίρεση του τελευταίου άνθρακα της. Μπορεί στη συνέχεια να ξανατροποποιηθεί σε μεθειονίνη ή να μετατραπεί σε κυστεΐνη με την βοήθεια των βιταμινών της ομάδας Β.

Τα υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης έχουν συσχετιστεί με καρδιαγγειακές παθήσεις, την καταστροφή των νευρώνων και θεωρούνται παράγοντας επιπλοκών κατά την εγκυμοσύνη. Τα υψηλά επίπεδα ομοκυστεΐνης κάνουν το ενδοθήλιο των αγγείων πιο ευάλωτο σε τραυματισμούς, με αποτέλεσμα τη φλεγμονή των αγγείων και στη συνέχεια την αθηρογένεση, με αποτέλεσμα ισχαιμικά επεισόδια. Γι' αυτό η υπερομοκυστεϊναιμία θεωρείται παράγοντας κινδύνου στις στεφανιαίες παθήσεις. Επίσης, η ομοκυστεΐνη μπορεί να τροποποιήσει την δομή και την λειτουργία των πρωτεϊνών.

### Μεταβολισμός

Η ομοκυστεΐνη είναι ένα ενδιάμεσο παράγωγο του μεταβολισμού της μεθειονίνης, ένα από τα απαραίτητα για τον οργανισμό αμινοξέα. Το πρώτο στάδιο της παραγωγής της είναι η προσθήκη ενός ATP στο θείο της μεθειονίνης από την αδενοσυλοτρανσφεράση της μεθειονίνης (MAT) ώστε να παραχθεί η S-αδενοσυλομεθειονίνη (SAM). Οι τρεις φωσφορικές ομάδες του ATP σπάνε σε ένα φωσφορικό και ένα πυροφωσφορικό οξύ, το οποίο στη συνέχεια υδρολύεται. Η SAM διαθέτει μια ενεργοποιημένη μεθυλική ομάδα, η οποία στη συνέχεια μπορεί να μεταφερθεί σε πολλά διαφορετικά μόρια-υποστρώματα, τα οποία μπορεί να είναι είτε πρωτεΐνες, είτε DNA, και η αντίδραση αυτή καταλύεται από το ένζυμο μεθυλοτρανσφεράση. Με την απομάκρυνση της μεθυλικής ομάδας παράγεται η S-αδενοσυλοομοκυστεΐνη (SAH). Στη συνέχεια, η S-αδενοσυλοομοκυστεΐνη υδρολύεται σε ομοκυστεΐνη και αδενοσίνη<sup>1,2</sup>.

Η ομοκυστεΐνη μπορεί να μετατραπεί πάλι σε μεθειονίνη ή να μετατραπεί σε κυστεΐνη. Αν στη ομοκυστεΐνη προστεθεί μια μεθυλική ομάδα, γίνεται πάλι μεθειονίνη. Ο δότης του μεθυλίου είναι το N<sup>5</sup>-μεθυλενοτετραϋδροφυλικό ή 5-MTHF (το οποίο κατ' αυτόν τον τρόπο μετατρέπεται σε τετραϋδροφυλικό ή THF) και η αντίδραση καταλύεται από την συνθάση

της μεθειονίνης (MS, γνωστή και ως μεθυλοτρανσφεράση της ομοκυστεΐνης). Το ένζυμο αυτό απαιτεί ως συμπράγοντα τη βιταμίνη B<sub>12</sub> (κοβαλαμίνη). Η βιταμίνη B<sub>12</sub> μπορεί να οξειδωθεί με αποτέλεσμα την απενεργοποίηση του ενζύμου. Η επανεργοποίηση γίνεται από την αναγωγή της συνθάσης της μεθειονίνης. Η μεθυλίωση της ομοκυστεΐνης είναι μια από τις τρεις αντιδράσεις που γίνονται στα θηλαστικά και απαιτούν τη βιταμίνη B<sub>12</sub>. Σε άλλους οργανισμούς, υπάρχει ένζυμο που μετατρέπει τη ομοκυστεΐνη σε μεθειονίνη χωρίς τη βιταμίνη B<sub>12</sub>. Αυτός ο κύκλος ονομάζεται κύκλος του ενεργοποιημένου μεθυλίου, αφού οι μεθυλικές ομάδες που προστίθενται στην ομοκυστεΐνη ενεργοποιούνται με την αδεθυλίωση της μεθειονίνης. Το θείο της μεθειονίνης κάνει τη μεθυλομάδα θετικά φορτισμένη και ηλεκτρονιόφιλη και έτσι οι μεθυλικές ομάδες της SAM μπορούν να δοθούν σε μια μεγάλη ποικιλία ενώσεων. Επίσης, το SAM μπορεί στα φυτά να μετατραπεί σε αιθυλένιο, μια φυτική ορμόνη<sup>1,2</sup>. Ένα ακόμα σημαντικό ένζυμο στο συγκεκριμένο μονοπάτι είναι το ένζυμο Αναγωγή του Μεθυλενο-τετραϋδροφυλικού ή MTHFR (MTHFR= MethyleneTetraHydroFolate Reductase). Αυτό το ένζυμο καταλύει την αντίδραση μετατροπής του 5,10 Μεθυλενοτετραϋδροφυλικού (5,10-MTHF), το οποίο παράγεται κατά τη σύνθεση πυριμιδινών από το THF, σε 5-MTHF.

Το δεύτερο μονοπάτι που μπορεί να ακολουθήσει η ομοκυστεΐνη είναι η μετατροπή σε κυστεΐνη, με την οδό της διαθειώσης. Αυτός είναι ο τρόπος με τον οποίο τα θηλαστικά βιοσυνθέτουν. Η β-συνθάση της κυσταθειονίνης (CBS) καταλύει την συμπύκνωση της ομοκυστεΐνης με τη σερίνη με αποτέλεσμα το σχηματισμό της κυσταθειονίνης. Η αντίδραση απαιτεί την παρουσία της πυριδοξίνης (βιταμίνη B6). Η κυσταθειονινάση στη συνέχεια διασπά την κυσταθειονίνη με αποτέλεσμα το σχηματισμό κυστεΐνης, αμμωνίας και α-κετοβουρικού<sup>1,2</sup>. Τα βακτήρια και τα φυτά χρησιμοποιούν άλλο μονοπάτι για την σύνθεση της κυστεΐνης, χρησιμοποιώντας την Ο-ακετυλοσερίνη<sup>3</sup>. Επισημαίνεται ότι το άτομο θείου της κυστεΐνης προέρχεται από την ομοκυστεΐνη, ενώ ο ανθρακικός σκελετός από τη σερίνη<sup>1</sup>.

Η έξοδος της ομοκυστεΐνης στον εξωκυττάριο χώρο αντανακλά την ισορροπία μεταξύ της παραγωγής και της αποδόμησης της ουσίας. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις ομοκυστεΐνης, πρωταρχικό ρόλο έχει η MS και άρα ο μεταβολισμός της ουσίας στρέφεται πρωτεύοντως προς το πρώτο μονοπάτι που αναφέρθηκε.

Αντιθέτως, σε υψηλές ποσότητες ομοκυστεΐνης, η δραστηριότητα της CBS είναι εκείνη που επηρεάζει την τύχη της, στρέφοντας το μεταβολισμό της ουσίας προς το σχηματισμό κυστεΐνης.

### Παθοφυσιολογία υπερομοκυστεΐναιμίας

Φυσιολογικά, τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο πλάσμα είναι χαμηλότερα από 15  $\mu\text{mol/L}$ . Ως υπερομοκυστεΐναιμία ορίζεται η κατάσταση στην οποία τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης στο αίμα είναι παθολογικά υψηλά. Εάν μάλιστα τα επίπεδα είναι είκοσι φορές παραπάνω από τις φυσιολογικές τιμές, τότε παρατηρείται και ομοκυστεϊνουρία, δηλαδή αποβολή ομοκυστεΐνης με τα ούρα. Τα άτομα με υπερομοκυστεΐναιμία εμφανίζουν αυξημένο κίνδυνο για εκδήλωση ποικίλων παθοφυσιολογικών διαταραχών, όπως θρομβωτικά επεισόδια, στεφανιαία νόσο και αθηροσκληρώση. Ακόμη, η υπερομοκυστεΐναιμία μπορεί να προκαλέσει και ένα πλήθος νευρολογικών διαταραχών, μεταξύ των οποίων η σχιζοφρένεια και η κατάθλιψη.

Τα αίτια της υπερομοκυστεΐναιμίας μπορεί να είναι γενετικά ή επίκτητα, και να εντοπίζονται στο πρώτο ή στο δεύτερο μονοπάτι μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης. Στην παρούσα εργασία, που στόχος είναι η μελέτη των παθοφυσιολογικών μηχανισμών του μεταβολισμού της ομοκυστεΐνης, οι οποίοι οδηγούν στην εκδήλωση αλλοιώσεων στη λευκή ουσία του εγκεφάλου, χρησιμοποιείται σαν βάση ο δεύτερος τρόπος διάκρισης.

Όσον αφορά στο πρώτο μονοπάτι, το πρόβλημα μπορεί να είναι ένα από τα τέσσερα παρακάτω:

1. Ανεπάρκεια του ενζύμου συνθάση της μεθειονίνης (MS)
2. Ανεπάρκεια του ενζύμου αναγωγή του μεθυλτετραϋδροφυλικού (MTHFR)
3. Έλλειψη της βιταμίνης B<sub>12</sub>
4. Έλλειψη του φυλικού οξέος

Όσον αφορά στο δεύτερο μονοπάτι, η ανεπάρκεια μπορεί να εμφανίζεται σε οποιοδήποτε από τα ένζυμά του, δηλαδή στη β-συνθάση της κυσταθειονίνης ή στην κυσταθειονινάση. Η πιο συχνή γενετική μετάλλαξη, σε αυτήν την περίπτωση, που προκαλεί αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης εντοπίζεται στο γονίδιο της β-συνθάσης της κυσταθειονίνης<sup>1</sup>.

Επιπρόσθετα, υπάρχουν και κάποιες άλλες καταστάσεις, οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν αύξηση των επιπέδων ομοκυστεΐνης στο πλάσμα, όπως η αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ, καφέ, καθώς και το κάπνισμα, αρκετές παθήσεις, όπως ο διαβήτης, η νεφρική και η θυρεοειδική δυσλειτουργία και οι νεοπλασίες, όπως επίσης και ορισμένα υπολιπιδαιμικά φάρμακα (φιμπράτες, νικοτινικό οξύ, κολεστιπόλη), κάποια αντιδιαβητικά (μετφορμίνη, ροσιγλιταζόν), καθώς και τα θειαζιδικά διουρητικά.

Θα πρέπει να επισημανθεί, ότι στις περιπτώσεις ανεπάρκειας των ενζύμων MS και MTHFR, τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης είναι αυξημένα, ενώ εκείνα της μεθειονίνης είναι φυσιολογικά, διότι η πλεονάζουσα ομοκυστεΐνη εκτρέπεται προς το δεύτερο μονοπάτι, δηλαδή αυτό της διαθείωσης, ενώ υπάρχει δυσκολία στην παραγωγή της μεθειονίνης. Αντίθετα, στην περίπτωση που η ανεπάρκεια εντοπίζεται σε κάποιο από τα ένζυμα στο δεύτερο μονοπάτι, τότε, τόσο η ομοκυστεΐνη, όσο και η μεθειονίνη έχουν αυξημένα επίπεδα στο πλάσμα, αφού δεν υπάρχει η δυνατότητα εκτροπής της πλεονάζουσας ομοκυστεΐνης προς το δεύτερο μονοπάτι. Η πιο συχνή γενετική μετάλλαξη που προκαλεί αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης είναι στο γονίδιο της β-συνθάσης της κυσταθειονίνης<sup>1</sup>.

Το δεύτερο μονοπάτι (της διαθείωσης) καταβολίζει την επιπλέον ομοκυστεΐνη που δεν χρειάζεται για μεθυλομεταφορά. Έτσι, η μεταβολική αυτή οδός μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αποφορτίσει το κύτταρο από αυτό το δυνητικά κυτταροτοξικό αμινοξύ<sup>4</sup>. Ωστόσο, αν υπάρχει διαταραχή σε αυτές τις μεταβολικές οδούς λόγω κάποιου αιτίου από αυτά που προαναφέρθηκαν, τότε τα επίπεδα ομοκυστεΐνης αυξάνουν στο πλάσμα.

### CADASIL

Το σύνδρομο CADASIL (Cerebral Autosomal-Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy = Εγκεφαλική Αυτοσωμική-Επικρατής Αρτηριοπάθεια με Υποφλοιώδη Έμφρακτα και Λευκοεγκεφαλοπάθεια) είναι η πιο συχνή κληρονομούμενη αιτία ισχαιμικών αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων και άνοιας στους ενήλικες. Το CADASIL είναι το ακρωνύμιο που προτάθηκε από τους Tournier Lasserre et al. το 1993, προκειμένου να περιγράψει όλες εκείνες τις καταστάσεις που οφείλονται σε μετάλλαξη του γονιδίου Notch3 στο χρωμόσωμα 19 (μικρός βραχίονας)<sup>5</sup>. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί έναν διαμεμβρανικό υποδοχέα ο οποίος εκφράζεται κυρίως στη μεμβράνη των λείων μυϊκών κυττάρων των αγγείων<sup>6</sup>. Το σύνδρομο αυτό ανήκει σε μία ευρύτερη οικογένεια διαταραχών που ονομάζονται λευκοδυστροφίες.

Η υποκείμενη παθολογία του CADASIL οφείλεται στην προοδευτική εκφύλιση των λείων μυϊκών κυττάρων στα αιμοφόρα αγγεία. Μικροσκοπικά το ενδοθήλιο των αγγείων συνήθως δεν προσβάλλεται. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο Notch3 προκαλούν μια ανώμαλη συσσώρευση του προϊόντος του γονιδίου Notch3 στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των λείων μυϊκών κυττάρων τόσο σε εγκεφαλικά, όσο και σε εξωεγκεφαλικά αγγεία<sup>7</sup>, που φαίνονται ως κοκκώδεις ωσμιοφιλικές εναποθέσεις (granular osmiophilic material – GOM) στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο<sup>8</sup>. Έτσι, το τοίχωμα των εγκεφαλικών και λεπτομηνιγγικών αρτηριολίων είναι πεπαχυσμένο, με σημαντική σμίκρυνση του αυλού τους. Οι διατιτραίνουσες αρτηρίες στο φλοιό και τη λευκή ουσία είναι επίσης στενωμένες<sup>9</sup>.

Οι Ruchoux και συν. παρατήρησαν την ύπαρξη των αγγειακών ανωμαλιών και σε αγγεία άλλων οργάνων όπως σε μέσου μεγέθους αρτηρίες στο σπλήνα, τους νεφρούς, το ήπαρ, τους μύς και το δέρμα<sup>10,11</sup>.

Σε μία έρευνα που διεκπεραιώθηκε από τους Flemming et al., έγινε μία σύγκριση στα επίπεδα της ομοκυστεΐνης του πλάσματος σε ασθενείς με CADASIL και σε μη-CADASIL ασθενείς με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ή παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο. Για το σκοπό αυτό έγινε φόρτιση των ασθενών με από του στόματος χορήγηση μεθειονίνης σε αναλογία 100mg/kg και έγινε μέτρηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης τόσο προγευματικά, όσο και 6 ώρες μετά τη φόρτιση με τη μεθειονίνη. Βρέθηκε, λοιπόν, ότι οι ασθενείς με CADASIL έχουν τόσο προγευματικά όσο και μεταγευματικά αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης, σε σχέση με τους μη-CADASIL με ισχαιμικό αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ή παροδικό ισχαιμικό επεισόδιο<sup>12</sup>. Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι η μέτρηση των επιπέδων ομοκυστεΐνης και στις δύο χρονικές στιγμές (προ και μετά τη φόρτιση) είναι πιο ευαίσθητη μέθοδος απ' ό,τι η μέτρηση μόνο στη μία εκ των δύο<sup>13,14</sup>. Βέβαια και στη δεύτερη ομάδα ασθενών, ενίοτε μπορούν να παρατηρηθούν αυξημένα επίπεδα ομοκυστεΐνης, πιθανότατα οφειλόμενα σε γενετικούς παράγοντες (ετερόζυγες ελλείψεις), κακή διατροφή, νεφρική νόσο, ή οποιοδήποτε άλλο παράγοντα μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδά της<sup>4,15</sup>. Μία πιθανή εξήγηση για την περίπτωση αυτή είναι η δυσλειτουργία του προϊόντος του γονιδίου του Notch3, το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη σηματοδότηση που εμπλέκεται στις μεταβολικές οδούς της ομοκυστεΐνης<sup>12</sup>. Εναλλακτικά, τα ελαττωματικά ενδοθηλιακά κύτταρα και οι GOM στο αγγειακό λείο μυ μπορούν να εμποδίσουν την είσοδο του μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού (την κυκλοφορούσα μορφή του φυλλικού οξέος) στους ιστούς, με αποτέλεσμα χαμηλά επίπεδα φυλλικού οξέος στον εγκέφαλο.

### Ανεπάρκεια Κοβαλαμίνης

Η κοβαλαμίνη (βιταμίνη B<sub>12</sub>) ανήκει στις υδατοδιαλυτές βιταμίνες και δομείται από ένα κεντρικό δακτύλιο, παρόμοιο με εκείνο της πορφυρίνης, την κεντρική θέση του οποίου καταλαμβάνει ένα άτομο. Στις τροφές ανευρίσκεται με τη μορφή της κυανοκοβαλαμίνης ή με τη μορφή της υδροξυκοβαλαμίνης. Απαραίτητο στοιχείο για την απορρόφησή της είναι ο Ενδογενής Παράγοντας του Castle, ο οποίος παράγεται από τα τοιχωματικά (οξυπαραγωγά) κύτταρα των αδένων του στομάχου. Μέσα στα κύτταρα μετατρέπεται σε μεθυλοκοβαλαμίνη ή 5'-δεοξυαδενοσυλοκοβαλαμίνη, οι οποίες είναι και οι βιολογικά δραστικές μορφές, που θα χρησιμοποιηθούν σε βιοχημικές αντιδράσεις του οργανισμού. Στην αντίδραση μετατροπής του αμινοξέος ομοκυστεΐνη στο αμινοξύ μεθειονίνη, συμμετέχει η μεθυλοκοβαλαμίνη. Ακόμη, στην αντίδραση μετατροπής του μεθυλο-μηλόνυλο-CoA σε ηλεκτρο-

λο-CoA, που αποτελεί ένα στάδιο της αποδόμησης των διακλαδισμένων λιπαρών οξέων, συμμετέχει η 5'-δεοξυαδενοσυλοκοβαλαμίνη.

Μεταλλάξεις σε διάφορα μεταβολικά στάδια μπορεί να επηρεάζουν τη σύνθεση της αδενοσυλοκοβαλαμίνης (CblA, CblB και CblD2), της μεθυλοκοβαλαμίνης (CblE, CblG και CblD1), ή και τις δύο (CblF, CblD και CblC)<sup>16</sup>. Η λευκοεγκεφαλοπάθεια και η δυσλειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με πολύ χαμηλά επίπεδα B<sub>12</sub> ορού (<200 pg/m) με συνοδές ψυχιατρικές διαταραχές, νευροπάθεια και άνοια<sup>17</sup>.

Η έλλειψη της βιταμίνης B<sub>12</sub> μπορεί να είναι διαιτητική ή να οφείλεται σε παθήσεις του στομάχου που επηρεάζουν την έκκριση του ενδογενούς παράγοντα (π.χ.: σε μια ατροφική γαστρίτιδα). Μπορεί, επίσης, να οφείλεται σε παθολογικές καταστάσεις που αφορούν στον ειλέο (π.χ. δυσαπορρόφηση λόγω νόσου Crohn). Τα συμπτώματα από τη διαιτητική στέρση της βιταμίνης αργούν να εμφανιστούν, επειδή η περίσσεια της βιταμίνης αποθηκεύεται στο ήπαρ. Η έλλειψη της βιταμίνης B<sub>12</sub> προκαλεί σοβαρές νευρολογικές διαταραχές, όπως είναι η απομυελίνωση στα οπίσθια δεμάτια του νωτιαίου μυελού, προκαλώντας αστάθεια και αταξία (θετικό σημείο Romberg).

Στη βιβλιογραφία έχει γίνει μία ενδιαφέρουσα αναφορά ενός περιστατικού, από τους Tejaswi και συν., που αφορά σε ένα αγόρι, που σε ηλικία 3 μηνών εμφάνισε νυσταγμό και επιληπτικές καταστάσεις κατά την έναρξη μίας ασθένειας με κυρίαρχο σύμπτωμα τους εμέτους. Επιπλέον, εμφανίστηκαν και άλλα νευρολογικά συμπτώματα και σημεία, όπως λήθαργος, μειωμένη οπτική προσοχή, δυσκοιλιότητα διαρκείας ενός μηνός, ελάχιστες κραυγές, καθόλου χαμόγελο, πτωχή χρήση της άκρας χειρός, ήπια υποτονία, ήπια καθυστέρηση κεφαλής και παθολογικά ζωνρά αντανακλαστικά. Στην εξέταση MRI ανιχνεύθηκε καθυστερημένη μυελίνωση και απώλεια της λευκής ουσίας. Η γενική αιματολογική εξέταση υπέδειξε ήπια αναιμία, ενώ τα επίπεδα της ομοκυστεΐνης βρέθηκαν πολύ αυξημένα στο πλάσμα (157 μmol/L). Επίσης τα επίπεδα της B<sub>12</sub> βρέθηκαν χαμηλά, ενώ παρατηρήθηκε και ομοκυστεϊνουρία. Πιο συγκεκριμένα η έλλειψη εντοπίστηκε στις κοβαλαμίνες cblE και cblG, η βιοχημική σφραγίδα της οποίας είναι η υψηλή ομοκυστεΐνη ορού, η μειωμένη μεθειονίνη και φυσιολογικά επίπεδα μεθυλομαλονικού οξέος, τα οποία βρέθηκαν και στο συγκεκριμένο ασθενή. Ενίοτε μπορούν να παρατηρηθούν και υψηλά επίπεδα μεθυλενο-τετραϋδροφυλλικού<sup>18</sup>. Μετά από 5 μήνες με θεραπεία υδροξυκοβαλαμίνης (1000 mcg/ημέρα) και φυλλικού οξέος τα συμπτώματα βελτιώθηκαν, ενώ η μείωση στην λευκή ουσία παρέμεινε. Έπειτα από 18 μήνες τα μόνα συμπτώματα ήταν ήπιες λεπτές κινητικές και γλωσσικές δυσλειτουργίες. Το παρόν περιστατικό αποτελεί άλλη μία περίπτωση όπου η υπερομοκυστεϊναιμία συσχετίζεται με βλάβες στη λευκή ουσία του εγκεφάλου, με την πρωτοπαθή διαταραχή να εντοπι-

ζεται σε ανεπάρκεια βιταμινών και τα συμπτώματα να υποχωρούν κατά το μεγαλύτερο μέρος με μια απλή διαιτητική αγωγή.

Επιπλέον, οι διαταραχές στο μεταβολισμό του φυλλικού που οδηγούν σε έλλειψη του MTHF, επίσης επηρεάζουν τη μεθυλίωση της ομοκυστεΐνης, και σχετίζονται με εμφάνιση λευκοδυστροφίας. Και σε αυτές τις περιπτώσεις η ομοκυστεΐνη του ορού είναι αυξημένη και το μεταβολικό έλλειμμα συνοδεύεται με σοβαρά νευρολογικά, αιματολογικά και αγγειακά συμπτώματα<sup>19</sup>. Επίσης, σε μία έρευνα σε ποντίκια, υποστηρίχθηκε ότι η έλλειψη της Βιταμίνης Β<sub>12</sub> προκαλεί υπερομοκυστεϊναιμία επάγοντας αλληλώσεις στα αγγεία της μικροκυκλοφορίας, οδηγώντας έτσι σε εκφύλιση και δυσλειτουργία ιστών, προτείνοντας ότι αυτό μπορεί να συμβαίνει και σε άτομα με νοτική εξασθένιση<sup>20</sup>.

### Αναγωγή του Μεθυλενο-Τετραϋδροφυλλικού (MTHFR)

Όπως περιγράφηκε στην ενότητα του μεταβολισμού, το ένζυμο MTHFR είναι ζωτικής σημασίας, καθώς μετατρέπει μία μορφή του φυλλικού οξέος σε μια άλλη, και αποτελεί μέρος του μηχανισμού παραγωγής από ομοκυστεΐνη μεθειονίνης, ενός σημαντικού δομικού υλικού για πολλές πρωτεΐνες. Οι Tamura A. και συν. περιέγραψαν μία περίπτωση, κατά την οποία βρέθηκε λευκοεγκεφαλοπάθεια σε έδαφος μετάλλαξης στο ένζυμο αυτό. Μια γυναίκα 35 ετών εισήχθη με υποξεία νοτική έκπτωση. Οι εργαστηριακές μελέτες έδειξαν αυξημένη ολική ομοκυστεΐνη και μειωμένο φυλλικό οξύ. Η μαγνητική τομογραφία αποκάλυψε λευκοεγκεφαλοπάθεια με οπίσθια επικράτηση, και υψηλό σήμα στα πυραμιδικά δεμάτια, στις T<sub>2</sub>-weighted και FLAIR απεικονίσεις. Οι ενζυμικές δοκιμασίες έδειξαν μειωμένη δραστηριότητα της αναγωγής του Μεθυλενο-Τετραϋδροφυλλικού οξέος (MTHFR). Η ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδίου MTHFR αποκάλυψε την ομοζυγωτία της ασθενούς για δύο μεταλλάξεις, την c.677C> T (p.Ala222Val) και την c.685A> C (p.Ile225Leu). Η μετάλλαξη c.677C> T (p.Ala222Val) είναι γνωστή σαν ένας κοινός πολυμορφισμός και η c.685A> C (p.Ile225Leu) θεωρείται ότι είναι ένας νέος σχετικά πολυμορφισμός. Ετέθη η διάγνωση της ανεπάρκειας MTHFR. Έγινε θεραπεία με φυλλικό οξύ, βιταμίνη Β<sub>12</sub> και Β<sub>6</sub> και σημειώθηκε σημαντική βελτίωση της νοτικής έκπτωσης και μείωση του συνολικού επιπέδου της ομοκυστεΐνης. Η λευκοεγκεφαλοπάθεια με οπίσθια επικράτηση βρέθηκε να είναι ένας εξαιρετικός δείκτης της ανεπάρκειας του ενζύμου MTHFR, και μπορεί να βοηθήσει στην διάγνωση<sup>21</sup>.

Η πιο συχνή διαταραχή του μεταβολισμού των φυλλικού οξέος, η ανεπάρκεια του 5,10-μεθυλενοτετραϋδροφυλλικού, επηρεάζει τη μεθυλίωση της ομοκυστεΐνης και εκδηλώνεται με λευκοδυστροφία<sup>16</sup>. Επίσης,

οι διαταραχές σε ενήλικες, στο μεταβολισμό τόσο της κοβαλαμίνης όσο και του φυλλικού οξέος, μπορούν να εκδηλωθούν και οι δύο με λευκοδυστροφία σε οποιαδήποτε ηλικία (Boxer και συν. 2005, Walk και συν. 1994). Παρ' όλο που η σοβαρή ανεπάρκεια της MTHFR είναι μια σπάνια αιτία σπαστικής παράλυσης σε ενήλικες, θα πρέπει να εξεταστεί σε επιλεγμένους ασθενείς λόγω της πιθανότητας θεραπευτικού οφέλους των συμπληρωμάτων βιταμίνης<sup>22</sup>. Ακόμη, ο συνδυασμός λευκοεγκεφαλοπάθειας και άνοιας θα πρέπει να εγείρει σοβαρές υποψίες ανεπάρκειας Β<sub>12</sub>, και σε αυτές τις περιπτώσεις η προσθήκη αυτής της βιταμίνης στο διαιτολόγιο, μπορεί να οδηγήσει σε κλινική βελτίωση, τουλάχιστον σε κάποιο βαθμό<sup>23</sup>, αν όχι της άνοιας, τουλάχιστον λιοπών των νευρολογικών συμπτωμάτων<sup>24</sup>.

### Άλλες περιπτώσεις

Το 2012, από τους Outterryck O. και συν. υποστηρίχθηκε η έλλειψη της συνθάσης της μεθειονίνης σαν μία σπάνια αιτία λευκοεγκεφαλοπάθειας<sup>25</sup>. Η αντίδραση που καταλύει η συνθάση της μεθειονίνης αποτελεί το σημείο όπου συναντιούνται ο μεταβολισμός του φυλλικού οξέος και της κοβαλαμίνης<sup>16</sup>.

### Συζήτηση

Η υπερομοκυστεϊναιμία έχει επί μακρόν κατηγορηθεί ως ένας από τους μείζονες παράγοντες που συμμετέχουν στην πρόκληση ασθενειών με νοτικές δυσλειτουργίες<sup>26</sup>. Η ομοκυστεΐνη προκαλεί άμεσες και έμμεσες αγγειακές βλάβες και έχει διατυπωθεί ότι εμπλέκεται στην αγγειακή άνοια μέσω αυξημένου κινδύνου πολλαπλών εμφράκτων του εγκεφάλου<sup>26</sup>. Οι ασθενείς με διαταραχές της μεθυλίωσης της ομοκυστεΐνης εμφανίζουν οξεία ή χρόνια νευρολογικά, αγγειακά και αιματολογικά συμπτώματα<sup>16</sup>. Οι διαταραχές που προκύπτουν από τον κύκλο του ενεργοποιημένου μεθυλίου προκαλούν κυρίως υπερομοκυστεϊναιμία και μειωμένη παραγωγή της SAM. Έτσι, το τελικό αποτέλεσμα αυτών των διαταραχών είναι η υπομεθυλίωση ή η πλήρης στέρση της μεθυλίωσης ζωτικών για τη λειτουργία του κυττάρου δομών στις οποίες συμπεριλαμβάνονται οι πρωτεΐνες και το DNA. Ως εκ τούτου, οι αγγειακές και οι νευρικές δομές καθίστανται πιο ευαίσθητες στην καταστροφή από τις καθημερινές φθορές, την τοξικότητα της υπερομοκυστεϊναιμίας ή/και των τοξικών ριζών και στην πάροδο του χρόνου εκφυλίζονται, οδηγώντας τελικά σε λευκοδυστροφία και λευκοεγκεφαλοπάθεια. Αυτός είναι ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς που μπορούν να εξηγήσουν την εμφάνιση της λευκοεγκεφαλοπάθειας και της λευκοδυστροφίας σε ασθενείς με υπερομοκυστεϊναιμία οφειλόμενη σε ανεπάρκεια των ενζύμων ή των συμπαραγόντων στο πρώτο μονοπάτι, όπου οδηγούν σε μειωμένη παραγωγή της μεθειονίνης και κατ' επέκταση της SAM. Η θεώρηση αυτή (της κυτταρικής ευαισθη-

σίας λόγω της υπομεθυλίωσης) που προτείνουμε σε αυτήν την εργασία, έχει προταθεί και από τον Miller Al., το 2003. Ωστόσο στην περίπτωση που υπάρχει έλλειψη σε ένα από τα δύο ένζυμα του δεύτερου μονοπατιού η μεθειονίνη είναι υψηλή, οπότε πιθανότατα η ίδια ομοκυστεΐνη ευθύνεται για την πρόκληση των βλαβών. Σε ένα πείραμα που έγινε σε ποντικούς το 2008 από τους Kumar και συν., χρησιμοποιήθηκε αγωνιστής του υποδοχέα GABA, για να μειώσει την επαγόμενη από την ομοκυστεΐνη αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας ουσίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η υπερομοκυστεΐναιμία επάγει αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας ουσίας στον εγκέφαλο, αυξάνοντας έτσι τη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού. Η θεραπεία με μουσκιμόλη μετρίασε αυτήν την αυξημένη διαπερατότητα<sup>27</sup>. Ακόμη δείχτηκε ότι η υπερομοκυστεΐναιμία αποτελεί ένα ανεξάρτητο παράγοντα για υποφλοιώδη αγγειακή εγκεφαλοπάθεια<sup>28</sup>.

Το φυλλικό οξύ και η κοβαλαμίνη του αίματος μπορεί ενίοτε να βρίσκονται σε φυσιολογικά επίπεδα, οπότε η μέτρηση της ομοκυστεΐνης και του μεθυλομηλονικού οξέος στο αίμα ή τα ούρα θεωρούνται πιο ευαίσθητοι δείκτες<sup>17</sup> για τον έλεγχο της ανεπάρκειας της B<sub>12</sub> και του φυλλικού οξέος, και ταυτόχρονα με τις αιματολογικές εξετάσεις μπορούν να φανούν χρήσιμα εργαλεία στη διάγνωση<sup>16</sup>.

Από όλα αυτά τα περιστατικά και τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς, φαίνεται ότι αν υπάρχει ένα σφάλμα στο μεταβολισμό της ομοκυστεΐνης στο πρώτο ή στο δεύτερο μονοπάτι, θα προκαλέσει τόσο υπερομοκυστεΐναιμία όσο και βλάβες σε νευραγγειακές δομές. Οι δε αλληλοιώσεις στη λευκή ουσία του εγκεφάλου φαίνεται επίσης ότι σχετίζονται ως προς την εμφάνιση αλληλά και την επιδείνωσή τους με την υπερομοκυστεΐναιμία. Ωστόσο αυτό είναι ένα καινούριο δεδομένο και χρειάζεται περαιτέρω μελέτη, καθώς και έρευνες στατιστικής ανάλυσης δεδομένων σε ασθενείς με υπερομοκυστεΐναιμία και λευκοεγκεφαλοπάθεια.

Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι δεν υπάρχουν αλληλοσυγκρουόμενα συμπεράσματα.

### Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Stryer Lubert, Berg Jeremy, John Tymoczki (2012). Βιοχημεία. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης. σελ. 761-3. ISBN 978-960-524-191-9.
2. Henk J. Blom και Yvo Smulders, Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects, *J Inherit Metab Dis.* 2011 Feb; 34(1): 75–81.
3. Nelson, D. L.; Cox, M. M. "Lehninger, Principles of Biochemistry" 3<sup>rd</sup> Ed. worth Publishing: New York, 2000. ISBN 1-57259-153-6.
4. Perry II. Homocysteine, hypertension and stroke. *J Hum Hypertens.* 1999; 13:289-293.
5. Joutel A, Corpechot C, Ducros A et al. (October 1996). "Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia". *Nature* 383 (6602): 707–10.
6. Campolo J, De Maria R, Caruso R, Accinni R, Turazza F et al. (2007) Blood glutathione as independent marker of lipid peroxidation in heart failure. *Int J Cardiol* 117: 45–50. doi: 10.1016/j.ijcard.2006.04.065. PubMed: 16884794.
7. Joutel A, Andreux F, Gaulis S et al. (March 2000). "The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients". *J. Clin. Invest.* 105 (5): 597–605.
8. Ruchoux MM, Guerouaou D, Vandenhautte B, Pruvo JP, Vermersch P, Leys D (1995). "Systemic vascular smooth muscle cell impairment in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy". *Acta Neuropathol.* 89 (6): 500–12.
9. Kalimo H, Ruchoux MM, Viitanen M, Kalaria RN. CADASIL: a common form of hereditary arteriopathy causing brain infarcts and dementia. *Brain Pathol* 2002; 12: 371–84.
10. Ruchoux MM, Chabriat H, Bousser MG, Baudrimont M, Tournier-Lasserre E. Presence of ultrastructural arterial lesions in muscle and skin vessels of patients with CADASIL. *Stroke* 1994; 25: 2291–92. 19.
11. Joutel A, Favrole P, Labauge P, et al. Skin biopsy immunostaining with a Notch3 monoclonal antibody for CADASIL diagnosis. *Lancet* 2001; 358: 2049–51.
12. Flemming, Kelly D; Nguyen, Tu T; Abu-Lebdeh, Haitham S; Parisi, Joseph E; et al, Hyperhomocysteinemia in patients with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL), *Mayo Clinic Proceedings*, 2001 Dec;76(12):1213-8.
13. Bostom AG, Jacques PF, Nadeau MR, Williams RR, Ellison RC, Selhub J. Post-methionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total plasma homocysteine: initial results from the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis.* 1995; 116:147-151
14. Daly L, Meleady R, Graham I. Fasting or post-methionine load homocysteine: which should be measured in relation to vascular risk? [Abstract]. *Ir J Med Sci.* 1995;164(suppl 15):6-7
15. Perry II. Homocysteine and risk of stroke. *J Cardiovasc Risk.* 1999; 6:235-240.
16. Wilcken B, Leukoencephalopathies associated with disorders of cobalamin and folate metabolism, Thieme Medical Publishers 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.
17. Graber JJ, Sherman FT, Kaufmann H, Kolodny EH, Sathe S., Vitamin B12-responsive severe leukoencephalopathy and autonomic dysfunction in a patient with "normal" serum B12 levels, *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010 Dec;81(12):1369-71.

18. Tejaswi Kandula, Heidi Peters, Michael Fahey, Cobalamin E defect, a rare inborn error of vitamin B12 metabolism: Value of early diagnosis and treatment, *Journal of Clinical Neuroscience* 21 (2014) 1815-1817.
19. Wilcken B1., Leukoencephalopathies associated with disorders of cobalamin and folate metabolism, Thieme Medical Publishers 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.
20. Troen AM, Shea-Budgell M, Shukitt-Hale B, Smith DE, Selhub J, Rosenberg IH, B-vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Aug 26;105(34):12474-9.
21. Tamura A, Sasaki R, Kagawa K, Nakatani K, Osaka H, Tomimoto H, Posterior-predominant leukoencephalopathy which was caused by methylenetetrahydrofolate reductase deficiency and successfully treated with folic acid, *Rinsho Shinkeigaku*. 2014; 54(3):200-6.
22. Lossos A, Teltsh O, Milman T, Meiner V, Rozen R, Leclerc D, Schwahn BC, Karp N, Rosenblatt DS, Watkins D, Shaag A, Korman SH, Heyman SN, Gal A, Newman JP, Steiner-Birmanns B, Abramsky O, Severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency: clinical clues to a potentially treatable cause of adult-onset hereditary spastic paraplegia, *Kohn Y10.JAMA Neurol*. 2014 Jul 1;71(7):901-4.
23. Su S, Libman RB, Diamond A, Sharfstein S., Infratentorial and supratentorial leukoencephalopathy associated with vitamin B12 deficiency, *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2000 May-Jun;9(3):136-8.
24. Nilsson K1, Warkentin S, Hultberg B, Fäldt R, Gustafson L., Treatment of cobalamin deficiency in dementia, evaluated clinically and with cerebral blood flow measurements, *Aging (Milano)*. 2000 Jun;12(3):199-207.
25. Outteryck O, de Sèze J, Stojkovic T, Cuisset JM, Dobbelaere D, Delalande S, Lacour A, Cabaret M, Lepoutre AC, Deramecourt V, Zéphir H, Fowler B, Vermersch P, Methionine synthase deficiency: a rare cause of adult-onset leukoencephalopathy, *Neurology*. 2012 Jul 24; 79(4):386-8. doi: 10.1212/WNL.0b013e318260451b. Epub 2012 Jul 11.
26. Miller AL, The methionine-homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases, *Altern Med Rev*. 2003 Feb; 8(1):7-19.
27. Kumar M, Tyagi N, Moshal KS, Sen U, Pushpakumar SB, Vacek T, Lominadze D, Tyagi SC, GABAA receptor agonist mitigates homocysteine-induced cerebrovascular remodeling in knockout mice, *Brain Res*. 2008 Jul 24;1221:147-53.
28. Bertsch T, Mielke O, Höly S, Zimmer W, Casarin W, Aufenanger J, Walter S, Muehlhauser F, Kuehl S, Ragoschke A, Fassbender K., Homocysteine in cerebrovascular disease: an independent risk factor for subcortical vascular encephalopathy, *Clin Chem Lab Med*. 2001 Aug;39(8):721-4.