



**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E
ALIMENTAÇÃO DA UNIVERSIDADE DO PORTO**

**HOMOCISTEÍNA
E DOENÇAS CEREBROVASCULARES**

2001/2002

Vítor Emanuel de Sá Veloso Martins

**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DA
UNIVERSIDADE DO PORTO**

HOMOCISTEÍNA E DOENÇAS CEREBROVASCULARES

2001/2002

Vítor Emanuel de Sá Veloso Martins

AGRADECIMENTOS

- à minha orientadora, Dra Graça, pelo apoio na escolha do tema e por toda a ajuda na realização e correcção desta monografia;

- à Liliana pelas dicas precoces, conselhos, apoio e amizade;

- ao Dr. Veloso do HCB pelo aconselhamento;

- à minha Mãe pela paciência e pelas tardes de aborrecimento;

- à Ana Elvira e à Márcia;

- à minha restante família, Pai, Zita, Avó e Mingos, sabe sempre bem saber que estão aqui...

- às minhas fcnauianas, Amândia, Cissa, Vanda, Rita e todos os outros (melhor...quase só outras!) pelos estes inesquecíveis 5 anos;

- à Bárbara, Albino, Marcel e Amaro, por me desviarem do trabalho quando mais precisava!!!

...valeu a pena.



Índice

Resumo.....	4
1.Introdução	5
2.Doenças Cerebrovasculares	7
2.1 Definição - aspectos gerais	7
2.2 Epidemiologia - problema de Saúde Pública	9
2.3 Factores de Risco	10
3. Homocisteína	13
3.1 Metabolismo.....	13
3.2 Medição da Homocisteína.....	16
3.3 Hiperhomocisteínemia	17
3.4 Homocisteinúria.....	22
4. Homocisteína e Doenças Cerebrovasculares	23
4.1 Homocisteína e (Dis)Função Endotelial.....	23
4.2 Homocisteína como factor de risco para as Doenças Cerebrovasculares.....	30
5. Perspectivas de Tratamento	38
5.1 Diminuição dos níveis de Homocisteína Plasmática Total	39
5.1.1 Suplementação Vitamínica.....	39
5.1.2 Fortificação	43
5.1.3 Diminuição do Consumo de Metionina	46
5.2 Diminuição do Stress Oxidativo.....	46

5.3 Prevenção e Recomendações Alimentares..... 47

6. Análise Crítica 48

7. Conclusão 50

Bibliografia

Índice dos Anexos



Lista de abreviaturas

ASVD – doença vascular aterosclerótica

AVC – acidentes vasculares cerebrais

CBS – cistationa β -sintetase

Cys – cisteína

DCV – doenças cerebrovasculares

Hcy – homocisteína

HHcy - hiperhomocisteïnemia

Met – metionina

MTHFR – metilenotetrahidrofolato redutase

tHcy – homocisteína plasmática total

NO – óxido nítrico

SAM - S-adenosilmetionina

SAH - S-adenosilhomocisteina

Resumo

As DCV são, actualmente, umas das principais causas de morbilidade e mortalidade. Os mecanismos intervenientes ao serem independentes, dificultam o estudo e análise das relações causais e dos factores de risco.

Com uma plausibilidade biológica relacionada com mecanismos pró-aterogénicos e pré-trombóticos, a Hcy, aminoácido sulfúreo resultante do metabolismo da Met, foi considerada em muitos estudos como factor de risco independente de DCV.

Vários estudos obtiveram associação entre níveis elevados de tHcy, HHcy moderada, intermédia e severa e AVC isquémico/trombótico, progressão do atheroma, danos cerebrais silenciosos e danos endoteliais. Esta associação encontra-se intimamente relacionada com os níveis das vitaminas B₆, B₁₂ e ácido fólico, por questões inerentes à cascata metabólica da Hcy, ao stress oxidativo e à integridade endotelial. Desse modo, o tratamento da HHcy e a prevenção das DCV poderá, possivelmente, ser perspectivado através do rastreio, manutenção do *pool* destas vitaminas, da suplementação vitamínica, da fortificação alimentar em folato e da redução dos demais factores de risco para a HHcy e para as DCV, o que poderá ter implicações enormes na saúde pública global.

No entanto, algumas dúvidas permanecem relativamente ao desenho e metodologia dos estudos, aos confundidores e à hipótese da HHcy ser mais uma consequência da doença do que factor de risco.

1. Introdução

As doenças crónicas e degenerativas são dos maiores problemas com que a sociedade se debate actualmente.¹

Nos países da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE), nos quais se inclui Portugal, a mortalidade entre os 35 e os 69 anos caiu 38% desde 1955 e o risco de morrer antes dos 70 anos foi reduzido para 23%. Nos indivíduos de meia-idade e idosos, as doenças crónicas e degenerativas são a principal causa de morte. As neoplasias, a doença cardíaca isquémica e as doenças cerebrovasculares (DCV) são responsáveis por três quartos de todas as mortes entre os 35 e os 69 anos de idade e dois terços em idades mais avançadas.¹

O estudo da homocisteína (Hcy) e o seu papel na homeostase e na doença tem aumentado consideravelmente na última década. Iniciando-se com uma série de observações de um erro metabólico que causava homocistinúria, actualmente o interesse e a investigação incidem na relação do metabolismo com as desordens vasculares comuns.²

A Hcy foi pela primeira vez associada ao aumento do risco de doença vascular aterotrombótica por McCully na década de 60, ao estudar crianças com hiperhomocisteïnemia (HHcy) e homocistinúria.³

Desde então, a Hcy tem sido alvo dos mais variados estudos (cerca de mais de 50 000 artigos biomédicos em 2001) devido à hipótese de relação com o desenvolvimento de um largo espectro de doenças. A relação mais notória é a referente às doenças cardiovasculares, na qual se verificam muitas evidências, embora não inteiramente consistentes, indicando que o aumento das concentrações plasmáticas de Hcy poderá representar uma das ligações que

faltava estabelecer entre a aterogénese e a trombogénese. Poderá, antes de tudo, ser um elemento importante na patogénese da doença cardíaca isquémica, acidente vascular cerebral (AVC) isquémico, demência vascular e doença arterial periférica.⁴

As implicações potenciais para a saúde pública global são enormes, pois se for provado que a HHcy é um factor de risco para a aterotrombose, as hipóteses de tratamento poderão ser muito simples, eficazes, seguras e de custo reduzido, como o uso de complexos vitamínicos, com folato, vitamina B₆ e vitamina B₁₂.⁴

Esta monografia tem como objectivo a análise e desenvolvimento das temáticas relativas às possíveis relações etiológicas e mecanismos fisiopatológicos entre a Hcy e as DCV, assim como todos os factores alimentares e nutricionais intervenientes, perspectivas de tratamento, de prevenção e de redução dos factores de risco.

No entanto, durante toda a pesquisa foi notória que a maioria dos estudos focava o enfarte cerebral ou AVC.

2. Doenças Cerebrovasculares

2.1 Definição – Aspectos Gerais

As DCV, assim como as Doenças Cardiovasculares, caracterizam-se por alterações dos vasos sanguíneos.⁵

As DCV são definidas como anomalias cerebrais resultantes de um processo patológico dos vasos sanguíneos, nomeadamente: oclusão do lúmen por trombo ou êmbolo, ruptura dos vasos, qualquer lesão ou alteração da permeabilidade, aumento da viscosidade sanguínea ou qualquer outra mudança qualitativa do sangue. As complicações básicas ou primárias como: a aterosclerose, alterações ateroscleróticas provocadas pela hipertensão arterial, arterite, dilatação aneurismal e malformação no desenvolvimento, bem como as alterações secundárias relacionadas com mudanças no parênquima cerebral, também estão associadas.⁶

Mais que nenhum órgão, o cérebro necessita de um abastecimento contínuo de sangue oxigenado, sendo que o fluxo e pressão da circulação cerebral estejam assegurados por uma série de baroreceptores e de reflexos vasomotores.⁶

Pertencentes às DCV, os AVC são, segundo os critérios da OMS, "sinais de desenvolvimento rápido de distúrbios focais ou globais da função cerebral, levando à morte ou durando mais que 24 horas, sem nenhuma causa aparente senão vascular". Esta definição de síndrome clínico de disfunção cerebral permanente com melhoria ou agravamento do perfil temporal é o resultado de enfarte (isquémico), hemorragia parenquimatosa ou subaracnoideia, incluindo as hemorragias espontâneas subaracnoideias e excluindo os hematomas subdurais e extradurais e acidentes isquémicos transitórios.^{7,8}

O AVC é uma remoção repentina do fornecimento sanguíneo ao cérebro causado pelos danos nos vasos sanguíneos. Como resultado do défice de

oxigénio, o tecido cerebral é danificado ou mesmo destruído como no caso de enfarte. A alteração do estado de consciência deve-se ao insuficiente o abastecimento de sangue e oxigénio durante pelo menos 10 segundos, enquanto que o dano cerebral irreversível poderá ocorrer se o cérebro for privado de oxigénio por 5 ou mais minutos.^{8,9}

A classificação dos AVC resulta da variabilidade das manifestações e dos seus presumíveis factores de risco, e mesmo actualmente, a classificação mais utilizada é a de hemorragia intracerebral primária (HICP) e a de AVC isquémico.^{10,11}

Dos AVC sem recuperação, cerca de 80 a 90% são enfartes e 10 a 20% hemorragias de diversos tipos, valores que variam com a população em causa.¹⁰

Em 1991, Bamford propôs que os AVC fossem divididos 4 grupos: ETCA (*TACI*) - enfarte total da circulação anterior – o menos frequente, corresponde a 17% dos casos originais, resultando da oclusão da artéria carótida interna ou do tronco principal da artéria cerebral média (artérias de irrigação anterior do cérebro) originada por êmbolos provenientes do coração ou da carótida interna; EPCA (*PACI*) - enfarte parcial da circulação anterior - neste tipo, uma menor quantidade de cérebro é enfartado, pois apenas um dos ramos da artéria cerebral média ou anterior se encontra obstruída por aterotrombose ou embolia; EL (*LACI*) – enfarte lacunar - corresponde a cerca de um quarto de todos os enfartes, tendo origem em doenças vasculares de vários tipos, causando enfartes muito pequenos (<1,5cm), sendo potencialmente muito incapacitantes se coincidirem com uma zona densa em fibra (a oclusão da artéria perfurante resulta quase sempre de trombose local, fortemente relacionada com a hipertensão arterial); ELP (*POCI*) – enfarte de localização posterior - corresponde a todos os enfartes ocorrendo no território vértebro-basilar.¹²

As DCV poderão ser causadas por numerosos mecanismos potencialmente independentes, dificultando o seu estudo e análise dos factores de risco, nomeadamente quando não é possível identificar com exactidão a causa do acidente.¹⁰

2.2 Epidemiologia - problema de saúde pública

O AVC é o distúrbio cerebral mais comum e 3ª causa de morte nos Estados Unidos e na maioria dos países desenvolvidos, logo a seguir ao total das doenças cardiovasculares (que em 1999 contribuíram com cerca de um terço das mortes) e ao cancro. Representa a maior causa de incapacidade adulta e estima-se que em 2010, as doenças cardiovasculares sejam a primeira causa de morte nos países desenvolvidos.^{5,9,13,14}

Em Portugal, as doenças cardiovasculares são a primeira causa de morte, apesar de se ter verificado uma diminuição de 25% na taxa de mortalidade por AVC entre 1980-1989.^{10,15,16} No entanto, não se conhece a dimensão real do problema por não existirem estudos de base populacional que possibilitem a caracterização efectiva do fenómeno.¹⁷

Em cada ano morrem de AVC 200/100 000 habitantes (atingindo-se valores superiores no Norte Douro), sendo cerca de 4 a 5 vezes superior à maioria dos países civilizados.^{15,16} Enquanto que a prevalência mundial padronizada é cerca de 5 a 10/1000, com uma estimativa planeada de 4,6/1000.⁷

Apesar da baixa prevalência nos jovens, pois três quartos dos novos acontecimentos ocorrem em pessoas com 65 anos ou mais, a ocorrência de enfarte nos jovens é particularmente trágica devido à probabilidade de incapacitar

para toda a vida. Mais de 10% dos pacientes com AVC por enfarte cerebral têm 55 anos ou menos.^{7,18}

Perante este panorama, em que se estima que anualmente ocorram 731 000 casos por ano e sobrevivam 4 milhões de pessoas com AVC nos Estados Unidos, os AVC apresentam-se como uma importante causa de incapacidade e de recurso aos serviços de saúde, adicionando a perspectiva de aumentar o número de pessoas que vivem com AVC, quer devido ao aumento da idade e sexo de risco da população quer por aumento dos sobreviventes. O empenho e os esforços deverão incidir na prevenção primária, no conhecimento, no combate e na redução dos factores de risco.^{7,19}

Calcula-se que cerca de 80% dos AVC e 50% das mortes por DCV antes dos 70 anos, possam ser evitadas ou prevenidas pela simples aplicação dos conhecimentos existentes.^{10,15}

Em muitos dos doentes com AVC, os factores de risco para a doença vascular são bem conhecidos, mesmo algum tempo antes de ocorrer o acidente. Assim, é possível reduzir a incidência do AVC reduzindo a prevalência dos factores de risco na população e identificando os indivíduos com risco aumentado que poderão ser tratados.²⁰

2.3 Factores de risco das DCV

Um factor de risco para o AVC/DCV é a característica ou estilo de vida do indivíduo, ou da população, responsável por uma probabilidade aumentada de ter um AVC/DCV quando comparado com um indivíduo ou população sem essa característica.²⁰

Os factores de risco da aterosclerose, em geral, e da doença cardíaca isquémica, em particular, também se encontram nos doentes com DCV isquémica. De qualquer modo, cada vez mais se acumulam evidências de que as circulações cerebrais e sistémicas não são idênticas, existem diferenças reais no modo como os factores de risco influenciam o prognóstico da aterosclerose de diferentes calibres e nos diferentes territórios.¹⁰

Os factores de risco poderão ser classificados de acordo com características biológicas não modificáveis, factores fisiológicos modificáveis e padrões comportamentais ou estilo de vida.²¹

Relativamente às características biológicas não modificáveis, os factores de risco são: a idade - devido aos efeitos cumulativos no sistema vascular e a natureza progressiva dos restantes factores de risco (duplicando o risco a cada década que passe após os 55 anos); o sexo - a incidência é 1,25 vezes maior no sexo masculino (em Portugal, esta tendência atenua a partir dos 70 anos); a etnia - os negros e alguns americanos hispânicos possuem uma maior incidência e mortalidade quando comparados com os caucasianos; os factores genéticos e a história familiar - no caso de haver, os antecedentes paternos e maternos de AVC poderão estar associados com um maior risco independente, como foi concluído num estudo prospectivo realizado a 14 371 homens e mulheres na Finlândia, no qual o risco mais significativo refere-se aos antecedentes paternos.^{8,10,13,14,15,17,20}

Os factores de risco modificáveis ou definitivos e bem documentados são: a hipertensão arterial - corresponde ao maior factor de risco, directamente relacionado com o enfarte cerebral e hemorragia intracerebral, em ambos os sexos e em todas as idades; os hábitos tabágicos - possuem efeitos fisiopatológicos variados e multifactoriais, afectando a vasculatura sistémica e as

propriedades hemorreológicas; a diabetes mellitus (a hiperinsulinemia, a resistência à insulina e a diminuição da tolerância à glicose) - devido à maior susceptibilidade à aterosclerose e à prevalência aumentada dos factores de risco aterogénico, é um factor de risco para a doença vascular em geral; a hiperlipidemia - apesar desta relação ser controversa; a doença cardíaca; a estenose nas artérias pré-cerebrais; e os acidentes isquémicos transitórios.^{8,10,13,14,19,20}

Por fim, os factores de risco potencialmente modificáveis ou cuja comprovação experimental ainda coloca várias questões são: a obesidade - por si só está relacionada com a pressão arterial, glicemia e perfil lipídico com características aterogénicas (a *American Heart Association* identificou a obesidade como um factor de risco independente); a inactividade física - a actividade física regular tem benefícios na redução do risco de morte prematura e doenças cardiovascular; a má nutrição/maus hábitos alimentares; os hábitos alcoólicos - o efeito é controverso e depende da dose em causa e do tipo de AVC; o consumo de drogas; a hipercoagulabilidade; a terapia de substituição hormonal; o uso de contraceptivos orais; o processo inflamatório; e a hiperhomocisteinemia, apesar do próprio conceito não ter definição consensual, possui uma associação biologicamente plausível com o risco cerebrovascular, actualmente a consistência é maior nos estudos caso-controlo que nos prospectivos.^{8,13,14,15,18,19,20,22}

Os mecanismos pelos quais se associa a Hcy à DCV são atribuídos a efeitos pró-aterogénico, interagindo com o óxido nítrico (NO), estimulando a proliferação das células do músculo liso vascular e a formação de radicais livres, com a lesão do endotélio, a disfunção endotelial e a oxidação das LDL; e pré-trombótico, aumentando a actividade do factor V, a produção de tromboxano, a agregação plaquetária e a diminuição da activação da proteína C.¹⁰

3. Homocisteína

3.1 Metabolismo

A Hcy é um aminoácido sulfúreo, resultante do metabolismo da metionina (Met), presente nas proteínas de origem animal e vegetal e principal fonte de átomos de enxofre.^{10,23,24,25}

A dose diária recomendada (RDA) para a Met é de 0,9 g, as necessidades estimadas em mg/kg de peso/dia correspondentes à Met (conjuntamente com a cistina) para crianças com 3-4 meses são de 58; 27 para os 2 anos; 22 dos 10 aos 12 anos e 13 nos adultos. Em média o regime alimentar americano contém aproximadamente 2g de Met por dia.²³⁻²⁶

A Hcy está presente no plasma sob várias formas: 70-80% ligado a proteínas plasmáticas, na maioria albumina, por um grupo dissulfito; menos de 3% circula sob a forma livre e reduzida; e os restantes 20-30% ligada a outras moléculas de Hcy ou sobre a forma de dissulfitos, ligado a outros tiois, incluindo a cisteína. O termo "Hcy plasmática ou sérica total" (tHcy) refere-se ao *pool* combinado destas formas e representa um marcador sensível do metabolismo Hcy.²⁷⁻³⁰

A via metabólica da Met/Hcy (figura 1 em anexo) inicia-se com a desmetilação da S-adenosilmetionina (SAM) em S-adenosilhomocisteína (SAH), que resulta da activação da metionina pela adenosina trifosfato (ATP). Esta activação é acompanhada por reacções de metilação essenciais que permitem a síntese de creatinina e fosfatidilcolina, a metilação do ADN, ARN e um grande número de neurotransmissores. A desmetilação alternativa da SAM é permitida pela metilação não produtiva da glicina em sarcosina (molécula fisiologicamente inerte). Apesar do constante equilíbrio da reacção favorecer a formação de SAH, em condições metabólicas normais (baixas concentrações de Hcy e adenosina), a

SAH formada por reacções de transmetilação é hidrolisada em Hcy no organismo. A Hcy resultante é catabolizada em cistationa ou remetilada em Met. A remetilação da Hcy é catalizada pela síntase da Met, a qual tem a intervenção da N⁵-metiltetrahydrofolato (5-metilTHF) como doador do grupo metilo e da cobalamina como cofactor. A formação de 5-metilTHF depende da N⁵-metiltetrahydrofolato redutase (MTHFR), que cataliza a redução do N^{5,10}-metilenotetrahydrofolato (5,10-metilenoTHF) obtido do tetrahydrofolato (THF).^{24,25,29,31,32}

Uma via menor de remetilação, que funciona independentemente do folato e da cobalamina, usa a conversão de betaína (derivada da colina) em N, N-dimetilglicina. Esta via catalizada pela betaína-homocisteína metiltransferase, ocorre essencialmente no fígado. Em caso de deficiência de folato ou cobalamina, esta via mantém a concentração tecidual de Met necessária à formação de SAM. O catabolismo da Hcy é conduzido pela cistationa β-sintetase (CBS) (enzima dependente do piridoxal-5-fosfato derivado da vitamina B₆), que permite a condensação da Hcy com a serina. A cistationa resultante é convertida em cisteína (Cys), precursora da glutathiona, e em α-cetobutarato pela γ-cistationase, também dependente do piridoxal-5-fosfato. A Cys é finalmente convertida em sulfatos, excretados pela urina.^{24,32}

Verifica-se que ocorrem distribuições preferenciais da via de transsulfuração e da enzima catabólica, a glicina metiltransferase, nos tecidos dos mamíferos como o fígado e o rim. Estes tecidos poderão ser essenciais para a aceitar (via transportadores, receptores ou canais) e metabolizar o excesso transitório da Hcy circulante. Os tecidos sem esta via necessitam de Cys exógena para sintetizar a glutathiona.^{24,32}

Portanto, a Hcy é metabolizada por remetilação ou por transsulfuração. Em condições de baixo consumo proteico, a Hcy é metabolizada por uma de duas vias de remetilação conservativa da Met (também responsável por manter os níveis basais de Hcy); quando a via da remetilação está saturada ou quando é necessária Cys, ocorre a via de transsulfuração.^{28,29,33}

No organismo humano cerca de 15 a 20 mmol de Hcy são formados diariamente por demetilação da Met.²⁸

Regulação Metabólica

A SAM é determinante na regulação do metabolismo da Hcy. De forma a evitar a acumulação de Hcy, potencialmente citotóxica, a SAM estimula o catabolismo da Hcy aumentando a actividade da CBS e da γ -cistationase. Quando há um aumento acentuado do consumo de proteínas animais com elevado teor de Met, ocorre um aumento da SAM tecidual e cerca de 70% da Hcy é catabolizada pela CBS através da via de transsulfuração. Opostamente, em situações de restrição proteica a via da remetilação é favorecida por uma aceleração da mobilização da MTHFR dependente do folato e, neste caso, apenas 10% da Hcy presente é catabolizada por transsulfuração. No entanto, um consumo elevado de Met poderá levar à saturação da via de transsulfuração, associado com uma inibição da remetilação, causando um efluxo de Hcy para a célula.^{24,30}

O *pool* intracelular de folato está também envolvido na regulação do metabolismo por fornecer 5-metilTHF. Deficiências alimentares de folato e a interferência iatrogénica com o metabolismo desta vitamina, como o metotrexato, um anticarcinogénico que inibe a dihidrofolato redutase e o dióxido nitroso.²⁴

É possível que o stress oxidativo reduza a remetilação e aumente a transsulfuração de modo a manter, através de um processo auto-correctivo, o

pool intracelular de glutationa, o qual poderá ser essencial para a capacidade reguladora do estado redox da célula.²⁴

3.2 Medição da Homocisteína Plasmática Total

O método mais usado é o HPLC (*high-performance liquid chromatography*), podendo medir os valores em jejum ou “não-jejum” e antes do teste de carga de Met. É recomendado que a Hcy seja medida após um jejum de pelo menos 12 horas, de forma a evitar variações, como o aumento de tHcy que poderá ocorrer após a refeição.²⁹

O teste de carga de Met (análogo ao teste de tolerância à glicose) sobrecarrega a via metabólica da Hcy e é mais sensível que a medição dos níveis em jejum e mais eficaz para os distúrbios moderados na via de transsulfuração como os causados por déficit de vitamina B₆ ou de CBS. O processo envolve a medição dos valores de base de tHcy e a ingestão de uma dose de Met oral padronizada de 0,1 g/Kg de peso corporal ou de 3,8 a 4,0 g/m² com a repetição da medição após um período fixo entre 2 e 8 horas. Este teste tem a vantagem de 40% dos pacientes com HHcy demonstrarem apenas níveis elevados após o teste e de permitir discriminar os defeitos envolvendo as vias de transsulfuração e de remetilação, podendo permitir a identificação dos pacientes que tenham o metabolismo da Hcy alterado, apesar de possuírem valores normais em jejum. O teste de carga tem ainda o inconveniente da metionina ter um sabor desagradável e de os valores de referência serem incertos.^{29,33,34}

As amostras de sangue deverão ser centrifugadas imediatamente após a recolha, pois o atraso leva a uma libertação da Hcy das hemáceas, dependendo do tempo e da temperatura. Se a centrifugação imediata não for possível, a

amostra deverá ser colocada logo em gelo, se não poderão ocorrer mudanças devido ao atraso na centrifugação. A separação dos constituintes sanguíneos ou a escolha errada do anticoagulante poderão originar aumentos falaciosos de tHcy ou má interpretação dos valores de tHcy devido à rápida oxidação e à variação das espécies reduzidas de Hcy. Este aspecto é de importância capital pois a maioria dos estudos clínicos baseiam-se em medições analíticas de tHcy.^{29,30,33}

Na recolha da amostra de sangue, a adição de ácido de citrato de sódio (*acidic sodium citrate – BioPool Stabilyte*) permite a determinação do estado redox da Hcy e dos aminotiois relacionados, o que poderá contribuir para a compreensão da sua relação com a etiologia das DCV.³⁰

A par da metodologia de determinação dos níveis tHcy, é sugerido que a medição e análise dos níveis da proteína C-reativa (marcador da inflamação) baseada nos níveis lipídicos, poderá fornecer um método melhorado de identificação de mulheres com risco de acidentes cardiovasculares, pois o processo inflamatório tem um papel na patogénese da aterosclerose e de acidentes cardiovasculares.³⁵

3.3 Hiperhomocisteínemia

A prevalência de HHcy estimada foi de 5% da população geral, atingindo cerca de 13 -17% dos doentes com doença aterosclerótica vascular sintomática.²⁹

Do mesmo modo que inicialmente se determinaram os níveis elevados de colesterol plasmático, a HHcy tem sido definida através de pontos de corte arbitrários, a partir do percentil 95 ou de dois desvios padrão acima da média dos valores obtidos em jejum em controlos saudáveis. Por outro lado, pensa-se que

será mais adequado definir HHcy como os valores associados com o aumento do risco de acidentes vasculares ateroscleróticos.^{29,36,37}

Os valores mais comuns de tHcy entre a população, aparentemente saudável, variam entre 5 e 15 μM .^{13,28,37-39}

A definição de HHcy não está padronizada diferindo na literatura, no que se refere à classificação e ao estabelecimento de intervalos, no entanto, valores elevados em jejum poder-se-ão classificar como: HHcy moderada (16-30 μM), intermédia (31-100 μM) e severa (>100 μM).^{13,36,37,40-42}

As causas destes elevados valores plasmáticos poderão ser devido unicamente ou resultar da combinação de factores genéticos, fisiológicos, patológicos, iatrogénicos e/ou nutricionais (tabela 1 em anexo).

Entre as causas genéticas, o polimorfismo C677T da MTHFR resultante da mudança no codão 225 da alanina por valina, codifica uma variante enzimática termolábil (t-MTHFR) com cerca de 50% da actividade e que conduz a HHcy em adultos e crianças homozigóticas para o alelo, a homocisteinúria e a hipermetioninemia.^{24,27,30,43-47} A deficiência em CBS é a causa genética mais comum de HHcy severa, causando homocisteinúria congénita nos homozigóticos (correspondendo a níveis de Hcy de 300 a 500 μM).^{23,24,27} Cerca de 60 mutações do gene CBS estão descritas, entre as quais: I278T, G307S, 844ins68pp, T833C e G919A.^{24,28,37,44}

O polimorfismo do gene da síntase da Met (D919G) está directamente relacionado com o aumento moderado dos níveis plasmáticos da Hcy em homozigóticos.^{24,37}

Os factores ou condições fisiológicas interferentes são: o envelhecimento; o sexo - os homens têm níveis tHcy 25% mais elevados que as mulheres pre-

menopausicas e após a menopausa a terapia de substituição hormonal impede o aumento da tHcy; a raça - a população negra sul-africana tem níveis tHcy menores que a população branca; a inactividade física; o Índice de Massa Corporal; e os hábitos tabágicos - por estarem associados a outros hábitos e por contribuírem para a depleção das reservas corporais de folato e interferirem na síntese de fosfato piridoxal.^{13,23,24,27,32,36,37,40,42,45,48,49}

As condições patológicas interferentes e associadas com elevados níveis de tHcy poderão ser: a insuficiência renal crónica - na qual o aumento poderá estar relacionado com uma diminuição do *clearance* de Hcy; a psoríase; os vários tipos de carcinoma; o lúpus eritematoso sistémico; a diabetes; os doentes sujeitos a transplante cardíaco e renal; a anemia perniciosa; a hiperuricemia; o colesterol sérico; a pressão sanguínea diastólica; e a resposta à fase aguda da doenças, que se relaciona directamente com a diminuição da disponibilidade ou consumo de folato.^{23,24,27,29,32,36,45}

Os fármacos que poderão causar HHcy iatrogénica são: os contraceptivos hormonais sintéticos; os agentes anti-carcinogénicos, como o metotrexato; a sulfasalazina - usada em distúrbios intestinais inflamatórios; os anticonvulsivos - usados no tratamento da epilepsia, como a carbamazepina; os corticoides; a ciclosporina; os diuréticos tiazídicos; os antagonistas da vitamina B₁₂, como o NO; os antagonistas da vitamina B₆; os agentes redutores do colesterol, como a colestiramina, o colestipol e o ácido nicotínico; e a teofilina, um inibidor da fosfodiesterase.^{23,24,27,36,40} O efeito hiperhomocisteinémico de alguns destes fármacos poderá dever-se essencialmente à indução de alterações no metabolismo do folato, da piridoxina e à inibição da actividade síntase da Met pelo óxido nítrico.^{24,27}

A deficiência em vitaminas necessárias ao metabolismo da Hcy (folato, cobalamina e piridoxina), poderão promover a HHcy.^{23,24,27,28,36,37,40} Estes défices são muito prevalentes e poderão ser responsáveis pela maioria dos casos de HHcy moderada. É sugerido que dois terços da HHcy em idosos nos Estados Unidos se deva a baixos níveis sanguíneos destas vitaminas, tendo sido demonstrada a existência de uma relação inversa entre os níveis tHcy e os níveis plasmáticos e de consumo de folato, vitamina B₁₂ e vitamina B₆, chegando mesmo a verificar-se um aumento de 95% dos níveis em jejum da Hcy em pacientes com deficiência em folato e vitamina B₁₂, provavelmente por alteração da remetilação da Hcy.^{24,28,36,50,51}

Quando o *pool* de folato intracelular mobilizado para a remetilação está diminuído, o consumo excessivo de Met poderá acentuar o aumento dos níveis de tHcy após carga, devido à deficiência de vitamina B₆.²⁴

Resultante da saturação do catabolismo da Hcy, o consumo excessivo de proteína animal com elevado teor de Met conduz a uma elevação da Hcy circulante, detectável em jejum ou após carga oral de Met quando não há défice de folato e vitamina B₁₂ (a HHcy é mascarada quando o metabolismo destas duas está alterado).^{24,52}

Num estudo realizado a professores reformados, no qual foram analisados factores alimentares, assim como as relações dose-resposta relativas ao consumo de proteínas e café nas concentrações de tHcy, verificou-se que um aumento do consumo alimentar de proteína estava associado com uma menor concentração de tHcy em jejum, ao contrário do que se registou com o consumo de café em que padrões de consumo elevado estavam associados a um aumento da concentração tHcy em jejum.⁴²

No entanto, apesar da Met alimentar estar relacionada com a proteína alimentar e desta carga aumentar as concentrações tHcy, o teste de carga representa uma situação extrema de sobrecarga a curto prazo, na qual um aminoácido, a Met, usa a via metabólica da Hcy. Neste estudo foi examinado o consumo de proteína a longo prazo, colocando-se a hipótese de ocorrerem mudanças no período de consumo avaliado e dos alimentos com elevados teores de Hcy possuírem outros aminoácidos e/ou nutrientes que possam influenciar a tHcy (como é proposto para a serina e betaina, por serem factores limitantes das reacções respectivas ao excesso de Met ou pelo elevado teor de vitamina B₁₂ dos alimentos ricos em proteína, o leite, por exemplo). Relativamente ao café, a relação poderá estar comprometida pelos confundidores associados a este consumo, como os hábitos tabágicos, que por si só influenciam os níveis de tHcy.⁴²

Saw *et al* concluíram que a idade, o sexo, o folato plasmático, as concentrações das vitaminas B₁₂ e B₆, e as variações no genótipo MTHFR são determinantes independentes da tHcy em adultos e idosos chineses em Singapura. Não se encontraram quaisquer relações significativas entre tHcy, concentrações plasmáticas de lípidos e o consumo de chá ou de bebidas alcoólicas. A combinação destes factores poderá contribuir para cerca de 40% da variação total das concentrações de Hcy nesta população asiática.⁵¹

Por fim, foi observado que em indivíduos sem dependência alcoólica os níveis tHcy aumentaram após o consumo de vinho tinto e bebidas espirituosas. Foi também demonstrado que o alcoolismo crónico está associado com a HHcy.^{24,53}

Independentemente da bebida alcoólica consumida, os doentes com intoxicação alcoólica e os alcoólicos revelaram concentrações normais de vitaminas B₆, B₁₂, folato e concentrações patológicas de Hcy (variando entre 9,7 e 119,0 µM).⁵³

Com o objectivo de determinar a distribuição e correlação das concentrações elevadas de tHcy numa população de mulheres pré-menopausicas brancas e negras (entre 15 - 44 anos), Giles *et al* obtiveram resultados que sugerem que uma proporção substancial de mulheres jovens saudáveis pré-menopausicas (13%) possuía níveis de tHcy que lhe conferiam risco para doença vascular. Em adição um número de factores comportamentais e ambientais, incluindo a educação, os hábitos tabágicos, consumo de álcool e o uso de complexos multivitamínicos parecem estar correlacionados com os níveis de tHcy. Quando o consumo de bebidas alcoólicas era superior a 7 vezes por semana os níveis eram muito superiores aos das mulheres que não consumiam, o mesmo se verificava relativamente ao consumo de cigarros que, quando superior a 20 por dia, induzia níveis 3 vezes superiores aos registados nos não fumadores.⁵⁴

Foram encontradas relações positivas entre o logaritmo da tHcy e as concentrações de ácido úrico e de creatinina em ambos os sexos, pois a Hcy, a creatinina e o ácido úrico estão relacionados por questões metabólicas. A albumina também se correlaciona com a tHcy.⁴⁵

3.4 Homocistinúria

A homocistinúria é notória em vários erros genéticos do metabolismo, nos quais a Hcy aparece na urina devido aos elevados valores plasmáticos. As concentrações plasmáticas são usualmente superiores a 100 μ M. A causa mais comum de homocistinúria é a deficiência de CBS (incidência \approx 1:200 000).⁵⁵

Nos finais da década de 60, estudos efectuados em crianças com homocistinúria devido à deficiência em CBS, McCully observou que muitos dos pacientes desenvolviam doença arterial progressiva na infância e outras

alterações vasculares. Foi associado pela primeira vez a importância da HHcy no desenvolvimento de aterosclerose e de tromboembolismo.^{3,24}

A homocistinúria parece estar relacionada com desordens trombóticas primárias que afectam preferencialmente as veias, daí que os AVC nos doentes homocistinúricos sejam na sua maioria devido a trombose venosa intracranial, ao contrário do que se verifica na população geral.⁴⁶

4.Homocisteína e Doença Cerebrovascular

A aterosclerose, patologia mais frequente na espécie humana, é considerada como um factor integrante do processo de envelhecimento. Etiologicamente, 80% dos eventos vasculares agudos atribuem-se a fenómenos aterotrombóticos, quer sejam da área cardiológica, neurológica ou periférica.⁵⁶

4.1 Homocisteína e (Dis)Função Endotelial

As células do endotélio vascular possuem a função vital de regular o tono, o sistema vascular, a migração macrofagocítica, o transporte lipídico, a fibrinólise, a trombose, a adesão celular e a mitogénese; de controlar os processos trombóticos e as interacções entre os elementos que circulam no sangue e a parede vascular. Uma característica precoce da aterosclerose é o dano endotelial, assim como as alterações súbitas da função, antes de serem notórias as mudanças estruturais. O principal sistema regulador do endotélio envolve a síntese do óxido nítrico (NOS), responsável pela síntese do NO, factor que deriva do endotélio e actua como vasodilatador potente, em resposta a estímulos como o stress deletério da integridade da parede vascular (proporcional ao aumento do

fluxo sanguíneo); inibidor da agregação plaquetária, supressor da adesão leucocitária e da proliferação do músculo liso vascular.^{55,57-59}

A alteração deste mecanismo de auto-regulação parece ser um indicador sensível da disfunção endotelial e poderá fazer parte do processo de doença vascular. A resposta ao aumento do fluxo sanguíneo com consequente alteração funcional do endotélio poderá ser devida à presença de um agente circulante e tóxico para a vasculatura. Foi também demonstrado que a disfunção arterial ocorre em indivíduos com factores de risco cardiovascular assintomático (hipertensão arterial, hipercolesterolemia, diabetes mellitus, hábitos tabágicos e idade avançada), com HHcy e aterosclerose estabelecida.^{55,57}

Até recentemente, era sugerido que o aumento do risco de problemas cardiovasculares devido a HHcy estaria relacionado mais com o efeito na função vascular do que com a aterosclerose. Tendo sido verificado em animais e humanos com HHcy, a ocorrência de um anormal vasorelaxamento dependente do endotélio, sugerindo que a HHcy possa não promover o desenvolvimento de aterosclerose *per se*, mas alterar a função vascular no sentido de aumentar o risco de complicações de aterosclerose.⁶⁰

No entanto, num estudo efectuado em 99 ratinhos com deficiência em apolipoproteína-E e com aterosclerose, foi induzida a HHcy por suplementação alimentar de Met e Hcy de modo a ser avaliado o efeito, a curto e a longo prazo, desta condição no tamanho e na estrutura da placa aterosclerótica. Verificou-se que a HHcy estava associada com o aumento do tamanho da placa (a curto prazo) e da quantidade de colagénio (a curto e longo prazo), concluindo-se que a HHcy aceleraria o desenvolvimento e progressão da fibrose plaquetária nestes ratinhos.⁶¹

Com o objectivo de testar a perturbação da resistência dos vasos braquiais e da função endotelial, foi experimentalmente induzida a elevação moderada dos níveis da tHcy até cerca de $25\mu\text{M}$ (valores associados com hipertensão arterial e aterosclerose) através da carga oral de L-Met (100 mg/kg de peso). Verificou-se que os níveis de tHcy aumentaram rapidamente após a carga em Met, assim como a alteração na condução, resistência e integridade da função endotelial, confirmando a hipótese da HHcy moderada induzir a aterosclerose e a hipertensão arterial, através da disfunção endotelial.⁵⁸

Estes resultados estão de acordo com outro estudo realizado em adultos saudáveis, em que após uma carga oral aguda de L-Met ocorreria um aumento da tHcy e alteração da vasodilatação dependente do endotélio mediada pelo fluxo, a qual se relaciona com a doença vascular.⁶²

De modo a perceber se haveria qualquer relação entre o aumento dos níveis de tHcy após uma baixa carga oral de Met ou proteína alimentar e a disfunção endotelial, estudou-se em 18 voluntários saudáveis o fluxo da artéria braquial após a administração de: L-Met oral (em doses de 10, 25 e 100 mg/kg de peso), proteína animal (carne de galinha sem gordura com $3,2\pm 0,2$ g de Met) e de uma mistura de aminoácidos sem Met. Observou-se um pequeno incremento fisiológico da tHcy e indução da disfunção endotelial apenas nas duas primeiras preparações, de acordo com o que foi referido anteriormente.⁶³

Os mecanismos específicos de dano e perturbação metabólica da tHcy e dos seus metabolitos parecem estar relacionados com a indução de stress oxidativo, alterações estruturais do endotélio e interferências a nível da cascata e dos factores de coagulação.

Stress Oxidativo

Numerosos estudos indicam que o stress oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento de lesões ateroscleróticas oclusivas observadas em homocigóticos para o défice de CBS e na HHcy experimental.²⁴

Os compostos sulfridril são doadores de electrões em sistemas de oxidação com função mista, reagindo com os iões dos metais de transição (Fe^{3+} e Cu^{2+}). Neste processo a Hcy gera, por auto-oxidação, homocistina, dissulfidos mistos e Hcy tiolactona, a par de espécies de oxigénio reactivas como anião superóxido, peróxido de hidrogénio, hidroxil e radicais tiol livres. A Hcy, composto com grupo tiol, facilita a oxidação das LDL *in vitro* e das células arteriais do músculo liso pela produção de superóxido. A Hcy poderá, conseqüentemente, diminuir a capacidade celular de detoxificação dos peróxidos, especialmente do peróxido de hidrogénio.^{24,27,64}

Há evidência que o stress oxidativo poderá desempenhar um papel importante na trombo-resistência vascular na HHcy moderada, sendo que, a disfunção endotelial, incluindo a diminuição do vaso-relaxamento dependente do endotélio, é provocada pelos radicais livres resultantes da auto-oxidação da Hcy, a par da carga em Met e do défice em folato.²⁴

A modificação oxidativa das proteínas enzimáticas e a perda de actividade catalítica das enzimas dos tecidos envelhecidos poderão estar relacionados com mudanças no metabolismo da Hcy, encontradas em animais envelhecidos. Verifica-se que os níveis de tHcy aumentam com a idade em pacientes com arteriosclerose cerebral e periférica.⁶⁴ O dano nas células endoteliais expostas à Hcy poderá ser prevenido pelo pré-tratamento com catalase, permitindo a detoxificação do peróxido de hidrogénio que atravessa livremente a membrana.²⁴

Os danos vasculares relatados na homocistinúria poderão resultar do metabolismo oxidativo e alternativo da Hcy em Hcy tiolactona, o que poderá danificar a membrana basal da parede vascular e contribuir para sequestração de LDL.²⁴

Alterações estruturais, hematológicas e da cascata de coagulação

As anomalias vasculares e hematológicas associadas aos níveis moderados ou elevados de Hcy levam a condições aterogénicas e pró-trombóticas por alteração e desregulação de toda a homeostasia do sistema vascular, às quais se associam processos ateroscleróticos.^{23,25,38,58,60,65,66}

Ao nível dos processos de trombogénese e da cascata de coagulação, a Hcy promove a agregação plaquetária relacionada com a síntese de tromboxano A₂ e com a diminuição da síntese de prostaciclina, mas também devido à diminuição da capacidade das células endoteliais inibirem a agregação por diminuição da biodisponibilidade de NO. A exposição da Hcy aos monócitos provoca um aumento da adesão plaquetária às células endoteliais, dependente da GPIII/fibrinogénio. A Hcy promove a activação dos factores V em Va (favorecendo a formação de trombina e a iniciação do processo de coagulação) e dos factores X e XII; inibe e/ou altera os sistemas anticoagulantes naturais (antitrombina e sistema trombomodulina/proteína C); e reduz a ligação da antitrombina à superfície endotelial pela inibição da expressão do sulfato de heparina. Relativamente ao processo fibrinolítico, a Hcy altera a ligação e acção do activador do plasminogénio à superfície endotelial, podendo inibir a fibrinólise dependente do endotélio e, através do aumento da afinidade da lipoproteína (a) com a fibrina, inibir a conversão do plasminogénio em plasmina na superfície da fibrina. A Hcy intervém ainda: na activação da resposta inflamatória levando à

migração dos monócitos para a parede arterial, no aumento da modificação oxidativa das LDL-colesterol levando à sua incorporação pelos macrófagos (pela geração de radicais livres oxidantes, auto-oxidação e inibição da glutatião peroxidase) e na desregulação do metabolismo do colesterol e dos triglicéridos nas células vasculares.^{23-25,38,58-60,65-68}

O défice alimentar de folato prolongado permitiu verificar uma elevação moderada de Hcy e a indução de um estado de hipercoagulação.²⁴

A tHcy também danifica directamente a matriz vascular afectando as funções bioquímicas e biossintéticas das células vasculares. A Hcy tiolactona, um anidrido altamente reactivo e metabolito da oxidação da Hcy, combina-se com a LDL formando agregados que são sequestrados pelos macrófagos da íntima e incorporados pelas células esponjosas das placas ateromatosas em formação. Altera também, a fosforilação oxidativa e promove a proliferação e fibrose do músculo liso. Estas alterações induzidas pela tHcy no metabolismo oxidativo levam à sobreprodução de radicais oxidativos que causam dano na íntima, activam a elastase, aumentam a deposição de cálcio e de glicosaminoglicanos sulfatados na matriz. A tHcy aumenta a formação de oxicolesteróis altamente aterogénicos, a peroxidação lipídica e a oxidação lipídica *in vitro*.^{27,67,68}

Outras condicionantes, ainda em estudo, parecem estar relacionados com o dano endotelial, como a descamação celular *in vitro* provocada pela Hcy (verificada na doença vascular causada pela homocistinúria e de relação indefinida com a aterogénese); a morte celular induzida pela Hcy (através de um mecanismo de apoptose observado num estudo realizado a células endoteliais pertencentes a veias umbilicais).^{65,69}

Cisteína

A Cys é um aminoácido sulfúreo com propriedades estruturais e químicas similares à Hcy, presente no plasma numa quantidade de cerca de 250 μ M em indivíduos saudáveis (valores 20 vezes superiores aos verificados para a tHcy). Ao se auto-oxidar *in vitro*, a Cys promove vários processos que se considera estarem envolvidos na aterogénese, assim como, possui um efeito citotóxico em vários tipos células pela modificação, mediada pelo superóxido, das LDL (favorecendo a formação de células esponjosas) e pela formação de aductos com o NO, induzindo alterações na função endotelial.⁷⁰

A Cys, a Hcy e outros aminotiois existem no plasma na forma reduzida, oxidada, ligada a proteínas e interagindo através de reacções redox e dissulfídicas de troca. Foi demonstrado que o aumento dos níveis de tHcy causa mudanças complexas no estado dos outros aminotiois e da Cys plasmática total. Perante estes dados, a HHcy não deverá ser considerada como um factor isolado na relação com as doenças cardiovasculares, devido às mudanças associadas nos outros aminotiois e que podem modelar ou até mediar a aterogénese e a trombogénese, tendo ainda como adjuvante, o facto de alguns dos determinantes serem os mesmos (como a idade, sexo, pressão sanguínea diastólica e o consumo de café).⁷⁰

Por outro lado, a glutathiona e a Cys também podem influenciar a formação das diferentes espécies de Hcy, supondo-se que o aumento da actividade pró-oxidante de outras espécies, poderá representar outro factor, para além dos anteriormente referidos, que expliquem a HHcy, pois a doença vascular prematura associada com a elevada concentração de tHcy pode ser causada mais pelo aumento da actividade pró-oxidante, do que pelos níveis de tHcy.⁷¹

O *Horland Homocysteine Study*, realizado a 7591 homens e 8585 mulheres saudáveis, teve como um dos objectivos pesquisar as determinantes da Cys plasmática total (tCys) e comparar com os valores e determinantes da tHcy. Como se verifica na tHcy, a tCys está positivamente associada com a idade, colesterol total, pressão sanguínea diastólica e o consumo de café. O índice de massa corporal não se relaciona com a tHcy. Os hábitos tabágicos, o consumo de folato e de outras vitaminas, a frequência cardíaca e actividade física são factores que influenciam fortemente a tHcy, mas não estão ou estão pouco associados com a tCys. Conclui-se que a tCys está directamente relacionada com factores de risco para as doenças cardiovasculares.³²

Controversamente, a conclusão que a HHcy moderada possa ter efeitos tóxicos agudos na função endotelial poderá ser prematura e inconclusiva dado que os mecanismos de dano vascular estão pouco compreendidos. Há ainda a considerar que apenas uma pequena porção da Met administrada (5%) aparece no plasma como Hcy circulante, sugerindo-se que a Met *per se* possua características de toxicidade para o endotélio ou que leve à produção de outros compostos como argininas dimetil metiladas (as quais inibem a NOS).^{29,55}

4.2 Homocisteína como factor de risco para a DCV

A aterosclerose é caracterizada pelo espessamento da parede arterial devido à proliferação do músculo liso, deposição lipídica e fibrose. A ruptura das placas ateroscleróticas ou a lesão aterosclerótica das artérias coronárias e cerebrais resulta em trombose/aterotrombose, condição subjacente à patogénese do enfarte do miocárdio e do enfarte cerebral (figura 2 em anexo).^{29,46,72}

A geração de radicais livres e o stress oxidativo, já referidos, têm um papel distinto na patogénese do dano cerebral isquémico e consequente AVC trombótico. El Kossi *et al* ao estudarem 30 doentes com AVC trombótico (há 2 dias), usando 22 voluntários como controlos, determinaram os níveis de tHcy, peróxidos lipídicos, ácido ascórbico, superóxido dismutase e NO, com o objectivo de analisar o estado de stress oxidativo no AVC trombótico e o possível papel da tHcy. Registou-se um aumento, estatisticamente significativo e directamente relacionado, dos níveis de tHcy, do peróxido lipídico e do NO conjuntamente com uma diminuição dos níveis de ácido ascórbico, a qual estava negativamente correlacionada com a tHcy e com os peróxidos lipídicos. Conclui-se que a geração de radicais livres e indução do stress oxidativo desempenham um papel importante no dano cerebral isquémico. Certos tecidos cerebrais poderão estar mais propensos a este efeito deletério, especialmente as membranas celulares das células cerebrais, devido ao elevado conteúdo de ácidos gordos polinsaturados, ao que se adiciona a baixa quantidade de superóxido dismutase e de glutatião peroxidase e a actividade reduzida da catalase a nível cerebral. O aumento do NO deve-se à indução da sua síntese por efeito do ataque trombótico (cujo efeito neurotóxico se poderá dever à inibição do metabolismo mitocondrial ou à aceleração da apoptose. Por outro lado, este aumento pode estar associado a um mecanismo defensor contra a tHcy e a formação de S-nitrosohomocisteína). A HHcy é um possível factor causal na geração de radicais livres durante a fase aguda do AVC trombótico.⁷³

Os elevados e variados valores de tHcy na ordem dos mM são típicos em crianças com homocistinúria, enquanto que níveis na ordem das dezenas do μM são comumente encontrados em adultos com risco aumentado de doença

vascular e AVC. Se os valores fisiológicos de glicina forem normais a Hcy só exercerá neurotoxicidade em concentrações relativas a mM, no entanto, em condições patológicas nas quais os níveis de glicina no sistema nervoso estejam aumentados (devido a AVC ou traumatismo craniano), a neurotoxicidade da Hcy (agonista) é atribuída a valores entre 10 e 100 μM . Nesta situação o dano do neurónio ocorre por influxo excessivo de Ca^{2+} e pela geração de oxigénio reactivo. Os valores de tHcy medidos no cérebro atingem concentrações até 10 μM , sendo recentemente estimado que 47% dos doentes com oclusões arteriais manifestam modestos aumentos de tHcy, sugerindo-se que a associação com a DCV seja mais forte que com a doença cardíaca crónica ou vascular periférica.⁷⁴

Foi demonstrado que a Hcy causa neurotoxicidade directa por activação do N-metil-D-aspartato (NMDA), um subtipo de receptor do glutamato, considerando-se que a excessiva estimulação deste receptor possa mediar o dano cerebral por isquemia focal. Pelos dados, a neurotoxicidade não ocorre quando os níveis de glicina são na ordem dos μM e os níveis de tHcy são de 0,5 μM no fluído cerebrospinal ou até 10 μM em algumas partes do cérebro. A denotar que durante um AVC ou trauma, a disrupção da barreira cerebral resulta na exposição aos diferentes aminoácidos (incluindo glicina e Hcy), e se a causa de AVC for também a HHcy, o cérebro ficará exposto a valores de tHcy de 15 a 50 μM .⁷⁴

W. Li *et al* verificaram que concentrações de Hcy de 0,05 a 1,0 mM causavam perda de iões intracelulares Mg^{2+} livres [Mg^{2+}]_i em células do músculo liso da vasculatura cerebral (VSMC) canina, enquanto que não registaram interferências para a Met e para a Cys. As concentrações de tHcy, ao causarem alterações no metabolismo do Mg^{2+} , induziram a aterogénese nas VSMC, o vasospasmo cerebral e o enfarte cerebral pela Hcy. Os resultados obtidos sugerem ainda a

necessidade das vitaminas B₆, B₁₂ e folato, conjuntamente com níveis fisiológicos normais de Mg²⁺ de modo a prevenir a perda de [Mg²⁺]_i e doenças vasculares cerebrais oclusivas induzidas pela tHcy.⁷⁵

L. Yoo *et al* efectuaram um estudo caso-controlo a 140 controlos e 78 pacientes com enfarte cerebral não fatal, todos homens, com o objectivo de verificar se a HHcy moderada seria um factor de risco independente para o enfarte cerebral e se existiria qualquer relação entre tHcy e a severidade da aterosclerose cerebral. No final, verificou-se que a tHcy aumentou nos casos, a par do aumento da proporção de doentes com HHcy moderada (3,3 vezes superior). Aquando do ajuste dos resultados para o colesterol total, hipertensão, diabetes e idade, o risco de enfarte cerebral nestes pacientes seria superior (1,7 vezes). Concluiu-se que a HHcy moderada é um factor de risco para o enfarte cerebral e que poderá contribuir para a previsão da severidade da aterosclerose em pacientes com enfarte cerebral.⁷²

Apesar de conhecidos, os factores de risco para a estenose da artéria carótida que causam aterosclerose, desconhecem-se os factores activadores das placas ateroscleróticas e o acontecimento de AVC tromboembólicos. Steifler *et al*, com o objectivo de avaliarem se o desenvolvimento de AVC e AIT em pacientes com estenose significativa da carótida (maior que 50%) estaria associado com factores trombofílicos inatos ou adquiridos e com polimorfismos da glicoproteína plaquetária, observaram que a HHcy estava relacionada com um risco de acontecimentos isquémicos ipsilaterais de 4 vezes mais (independentemente da idade, raça e extensão da estenose da carótida) a par dos factores sistémicos, como a hipertensão arterial, os hábitos tabágicos, a diabetes, a hiperlipidemia e certas infecções promoverem e/ou acelerarem o processo aterosclerótico.⁷⁶

No *British Regional Heart Study*, 5661 homens de meia-idade do Reino Unido foram seguidos, prospectivamente, por 13 anos. Os valores de tHcy foram elevados em 109 com AVC, e quando ajustado o risco relativo de DCV para o quartil mais alto de tHcy, o risco de AVC foi de 2,8.²³

No *Framingham Heart Study*, realizado em 1041 pacientes, foi obtida uma *odds ratio* (OR) de ter estenose na carótida de 2,0 para os pacientes com tHcy superior a 14,4 μM . Também se observou que a elevação da tHcy dentro dos valores normais (11,4-14,3 μM) estava associada com o aumento de risco de DCV (OR=1,6).²³ Na continuidade deste estudo, Selhub *et al* determinaram que o aumento das concentrações plasmáticas de Hcy e a diminuição da concentração plasmática de folato e vitamina B₆, pelo seu papel no metabolismo da Hcy, estão associados com o aumento do risco de estenose na carótida.⁷⁷

Evers *et al*, com o objectivo de avaliarem as características bioquímicas, clínicas e neurofisiológicas encontradas em doentes com AVC isquémico com e sem HHcy, realizaram um estudo caso-controlo em 125 pacientes com história de AVC e 60 controlos, analisando e dividindo os pacientes que tinham ou não HHcy. Os pacientes com HHcy, com uma prevalência de 22% (que se encontra entre os 19 e os 42% verificados na maioria dos estudos de coorte), tinham uma taxa aumentada de microangiopatia, mas nenhuma diferença em termos de macroangiopatia ou de enfartes cardioembólicos.⁷⁸

Os mecanismos de AVC isquémico em jovens adultos estão pouco compreendidos, supondo-se haver interferência de factores genéticos que predispunham para a trombofilia e a HHcy moderada. Madonna *et al* analisaram 132 pacientes consecutivos (50% de cada sexo) com idade do primeiro evento menor que 51 anos, e 117 homens e 145 mulheres como controlos. No final, a

HHcy moderada foi a única variável que contribuía para a identificação dos jovens adultos com história de AVC isquémico, apesar de não evidentes, o factor V Leiden e a variante G20210A do gene da protrombina (FII) são factores de coagulação que estão associados com uma maior tendência para a trombose venosa.⁷⁹

Stehouwer *et al* investigaram em 878 idosos se o aumento de tHcy é um factor de risco para doença vascular, num estudo coorte realizado na Holanda durante 10 anos. Depois de ajustado para os factores de risco principais, os valores de base de tHcy estavam associados com o aumento de risco de AVC, e um risco aumentado de morrer de AVC em doentes normotensos. Este aumento de tHcy na velhice está, numa larga extensão, associada com o consumo inadequado de folato, vitamina B₆ e B₁₂.⁸⁰

Para medir a associação entre HHcy e o risco de trombose venosa, estudaram-se os níveis de tHcy em doentes com primeiro episódio de trombose venosa profunda (269 casos) e nos controlos (269 controlos). Conclui-se que o aumento dos níveis de tHcy é um factor de risco para trombose venosa profunda na população em geral, após o ajuste para os factores de risco.⁸¹

O ateroma aórtico é um factor de risco independente para o AVC e progride temporalmente, assim como a HHcy está ligada à aterosclerose (incluindo a da vasculatura cerebral). Sem *et al* investigaram a associação entre os níveis elevados de tHcy e outros riscos vasculares de AVC e o risco de progressão do ateroma em pacientes com DCV (57 com AVC e 27 com AIT). Entre os riscos vasculares, os valores elevados de tHcy estavam associados com a progressão do ateroma (sendo que 37% dos pacientes demonstraram progressão) e valores $\geq 14 \mu\text{M}$ estavam correlacionados com a evolução do ateroma.⁸²

Em dois estudos foi avaliada a relação entre Hcy e AVC isquémico em crianças. O estudo caso-controlo efectuado a 45 crianças holandesas (e 234 controlos) com idades entre 0 e 18 anos, teve como objectivo medir a relação entre HHcy e AVC isquémico neste grupo. Registou-se uma prevalência de 18% de HHcy nas crianças com AVC isquémico e que a HHcy moderada foi relacionada com um risco 4 vezes superior de DCV isquémica na infância.⁸³ Kristensen *et al* concluíram que um aumento moderado dos níveis de HHcy após o teste de carga de Met estaria associado ao aumento de risco de AVC isquémico em jovens adultos, na ordem das 5,9 vezes superior (ajustado para a idade e sexo).⁸⁴

Dois estudos efectuados tentaram relacionar os níveis de tHcy com o enfarte cerebral silencioso (SBI), muito comum na velhice e que, a par das lesões na matéria branca, estão associados com o aumento do risco de AVC e demência.^{85,86} Matsui *et al* concluíram que o aumento dos níveis de tHcy estão associados com a idade, estado nutricional e outros factores de risco relacionados com o estilo de vida e que contribuem para o risco de SBI, e a redução destes valores poderá ter um impacto significativo na redução do risco de SBI, prevenção da progressão para AVC clínico, demência vascular ou ambos.⁸⁶ Vermeer *et al* no *Rotterdam Scan Study* (estudo transversal ajustado aos factores de risco cardiovascular realizado a 1077 indivíduos com idades entre os 60 e os 90 anos) com intuito de examinar se existiria relação entre tHcy, SBI e lesões da substância branca, verificaram que os níveis médios de tHcy foram 11,5 μM e o risco de ocorrer SBI ou lesões severas na substância branca estavam fortemente associadas aos valores de tHcy, independentemente do factor de risco.⁸⁵

Num estudo caso-controlo multicentro realizado a 750 pacientes com doença vascular e 800 controlos, Robinson *et al* exploraram as inter-relações entre Hcy,

vitaminas B e doenças vasculares, de forma a avaliar o papel destas vitaminas como factores de risco para a aterosclerose. As concentrações de Hcy superiores ao 80º percentil em jejum ($12,1\mu\text{M}$) ou após carga em metionina ($30\mu\text{M}$), estavam associadas com um risco independente de aterosclerose. A relação obtida entre vitamina B₆ e a aterosclerose foi independente dos níveis de Hcy antes e após a carga de Met. Conclui-se que níveis reduzidos de folato e vitamina B₆ conferem risco aumentado de aterosclerose.⁸⁷

De uma forma global, os pontos que favorecem a relação causal entre a tHcy e a DCV são os seguintes: revisões sistemáticas de estudos epidemiológicos têm revelado correlações razoavelmente fortes, consistentes, independentes e relacionadas com a dose entre concentrações elevadas de tHcy e a ocorrência de doença cerebrovascular; elevados valores de tHcy têm sido associados com alterações cognitivas devido à doença das pequenas artérias intracranianas e aos subtipos de AVC isquémico causado por doença nas pequenas e grandes artérias, mas não com outras causas cardioembólicas ou não ateroscleróticas; a associação entre tHcy elevada e a doença vascular aterosclerótica (ASVD) é biologicamente plausível, pois estudos experimentais demonstraram que tHcy elevada teria um efeito aterogénico e trombogénico.⁸⁸

Perante isto, a maioria dos estudos é favorável à hipótese da Hcy ser considerada um factor de risco independente para o AVC e para as DCV.

5. Perspectivas de Tratamento

O tratamento da HHcy varia consoante a etiologia. As hipóteses mais apontadas têm recaído sobre o uso de suplementos vitamínicos que, ao serem cofactores importantes no metabolismo da Hcy, poderão contribuir para a diminuição dos valores de Hcy e, conseqüentemente, do risco de doenças cerebrovasculares, de dano endotelial e de outras alterações decorrentes (tabela 2 em anexo).

Conjuntamente com a contemplação do tratamento, o nível a partir do qual os doentes deverão ser tratados terá de ser consensualmente definido. Assim sendo, foi estudada a resposta da placa aterosclerótica da carótida à terapia vitamínica em doentes com valores de tHcy inferiores e superiores a $14\mu\text{M}$ – valor por muitos definido como suficientemente elevado e a partir do qual é necessário tratamento. A 101 pacientes com doença vascular (51 com valores superiores a $14\mu\text{M}$ e 50 com valores inferiores) foi fornecida uma terapia vitamínica durante 3 meses, com a seguinte composição: 2,5 mg de folato, 25 mg de piridoxina e 250 μg de cianocobalamina por dia. Em todos os doentes a terapia vitamínica fez regredir a placa aterosclerótica, com uma taxa de mudança $>100\%$, e com melhor resposta dos indivíduos mais velhos. Estas observações, para além de apoiarem a relação causal entre tHcy e a aterosclerose, tomam em consideração a evidência epidemiológica que sugere que em pacientes com doença vascular o nível de tratamento deverá ser a partir de valores $< 9\mu\text{M}$.⁸⁹

O rastreio nos pacientes de HHcy, ou valores que justifiquem/beneficiem da terapia redutora dos níveis de tHcy, também são essenciais, devendo ser feita até 8 / 12 semanas após alguma doença sistémica grave, incluindo o enfarte do miocárdio e AVC.³⁸

5.1. Diminuição dos níveis de tHcy

5.1.1 Suplementação Vitamínica

A HHcy poderá ser reduzida significativamente ou revertida pelo tratamento vitamínico nos doentes afectados, excepto naqueles que forem portadores de defeitos funcionais da síntase da Met ou da mutação da MTHFR termoestável. Nestes casos, a betaína, fornecedora de unidades de carbono ao tetrahidrofolato para a formação de N⁵, N¹⁰-metilenotetrahidrofolato, e/ou suplementos de Met deverão ser fornecidos com o folato ou o 5-metilTHF.^{24,90}

Um grande número de estudos teve como objectivo a investigação do efeito benéfico dos suplementos vitamínicos nos níveis de tHcy. Foi demonstrado que a suplementação em folato reduz a HHcy em jejum e após carga em Met, incluindo os doentes com defeitos congénitos parciais da MTHFR ou da CBS. Também se verificou que a suplementação em piridoxina apenas reduz a HHcy detectada após a administração oral de Met em doentes com deficiência em vitamina B₆ ou heterozigóticos para a deficiência em CBS. O tratamento com cianocobalamina apenas poderá ser eficiente nos casos de deficiência em vitamina B₁₂.²⁴

O papel principal dos folatos, ao reduzirem os níveis de tHcy, poderá ser meramente explicado pelo facto do 5-metilTHF, da cobalamina e do piridoxal-5'-fosfato apenas actuarem como cofactores e não serem consumidos durante o metabolismo da Hcy. O consumo alimentar de folato e as concentrações plasmáticas estavam negativamente correlacionados com os níveis de tHcys, não apenas nos doentes mas também nos indivíduos saudáveis. A suplementação de folato será o único tratamento capaz de reduzir efectivamente os níveis de tHcy em indivíduos saudáveis.²⁴

Em contraste com a deficiência em vitamina B₆, o aumento do risco aterosclerótico vascular associado com a deficiência de folato é mediado pela elevação dos níveis de tHcy. É sugerido que, excepto na deficiência de vitamina B₁₂, o tratamento com folato deverá ser a terapia mais adequada para reverter a HHcy detectada quer sob condições basais ou após carga oral de Met. Esta terapia deverá ser combinada com a piridoxina em doentes com deficiência em vitamina B₆ e que respondam ao teste de carga oral de Met.²⁴

Devido ao, mesmo assim, baixo risco dos suplementos de folato atrasarem o diagnóstico e potenciarem as manifestações de deficiência de vitamina B₁₂, como nos idosos, é recomendada a medição dos seus níveis séricos em todos os doentes com HHcy. Se se identificar a deficiência, esta deverá ser avaliada e proceder-se à suplementação em cianocobalamina até se atingirem valores aceitáveis de tHcy.³⁸

Guttormsen *et al* ao analisarem 64 indivíduos (entre 40-67 anos) com valores de tHcy superiores a 40µM e 329 controlos, verificaram que estes casos tinham baixos teores de folato e de cobalamina plasmática, baixo consumo de suplementos vitamínicos, consumiam mais café e eram fumadores frequentes. Em 37 dos casos (dos quais 92% eram homozigóticos para a mutação C677T) houve suplementação de 0,2 mg de folato por dia, ocorrendo uma diminuição dos níveis de tHcy em 7 semanas, normalizando os níveis em 21 casos após 7 meses, nos restantes foi conseguido o mesmo efeito após 5mg/dia de folato. Este estudo sugere que uma pequena dose de folato como suplementação diária está associada com uma redução substancial ou mesmo normalização da tHcy na maioria dos participantes com HHcy.⁹¹

No *European Concerted Action Project*, indivíduos que consumiam complexos multivitamínicos com folato, hidrocloreto de piridoxina e cianocobalamina tinham menor risco de todas as formas de ASVD do que os que não tomavam.³⁸

A vitamina B₁₂ e o folato são factores essenciais na remetilação da Hcy em Met. A suplementação alimentar destas vitaminas conjuntamente com a vitamina B₆ poderão reduzir a tHcy em 30%. Chambers *et al*, ao suplementarem com 5mg de folato e 1mg de vitamina B₁₂ por dia 89 homens com doença coronária, verificaram que a suplementação destas duas vitaminas melhorou a função vascular endotelial nestes doentes. Este efeito parece ser mediado pela diminuição das concentrações de Hcy livre e pelo aumento da disponibilidade em NO após esta redução de tHcy. Estes resultados fornecem a evidência directa que a suplementação nestas vitaminas poderá reduzir o risco cardiovascular em doentes com aterosclerose estabelecida.⁹²

Doses terapêuticas de 40 µg de folato ou mais, estão associadas a diminuições dos níveis de tHcy na ordem dos 30 a 42% (doses menores não resultam numa diminuição sustentada dos níveis de tHcy); a suplementação em cianocobalamina está associada a uma redução de 15% nos níveis de tHcy; em caso de défice de vitamina B₆, o hidrocloreto de piridoxina não reduz significativamente os níveis de tHcy. A combinação terapêutica das 3 vitaminas de administração oral ou através de injeção intramuscular está associada com uma diminuição de 15 a 72%.³⁸

Brattström *et al* ao estudarem se a relação entre a tHcy e as concentrações de folato e vitamina B₁₂ seria negativa e forte, procederam ao tratamento de 20 doentes com homocistinúria, devido a heterozigotia para a deficiência de CBS, com 240mg/dia de hidrocloreto de piridoxina e 10 mg/dia de folato, obtendo uma

redução média de 53% dos valores de tHcy em jejum e de 39% na resposta à Met, após 4 semanas.⁹³

Ubbink *et al* ao sujeitarem 44 homens saudáveis com HHcy moderada (tHcy > 16,3 μ M) a um suplemento diário de vitaminas com 10 mg de piridoxal, 1 mg de folato e 0,4 mg de cianocobalamina, conseguiram a normalização dos níveis de elevados de tHcy em 6 semanas.⁹⁴

Wald *et al* em busca da estratificação das doses e dos resultados na diminuição dos níveis de tHcy, analisaram aleatoriamente 151 pacientes com doença cardíaca isquémica com 5 doses de folato (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 e 1 mg/dia). Os resultados demonstraram claramente que o aumento da dose de folato diminuía os níveis de tHcy, com um efeito máximo para a dose de 0,8 mg/dia que induzia uma diminuição de 2,7 μ M (23%) na tHcy.⁹⁵

Com o objectivo de determinar se um suplemento vitamínico com 100% do valor diário recomendado diminuiria as concentrações de Hcy e melhoraria o *pool* das vitaminas B em 80 indivíduos independentes (50-87 anos) com um regime alimentar enriquecido em folato, McKay *et al* procederam a uma suplementação com a duração de 56 dias. Após 8 semanas de tratamento, os indivíduos com suplementos tinham aumentado significativamente os níveis de folato, fosfato de piridoxal e vitamina B₁₂, em 41.6, 36.5 e 13.8%, respectivamente, a par duma diminuição dos níveis de Hcy numa média de 9.6%, comparativamente com os controlos. Não se registando mudanças significativas no consumo durante o estudo, concluíram que uma suplementação multivitamínica modesta pode melhorar o estado dos níveis das vitaminas B e diminuição das concentrações em idosos que já consumiam.⁹⁶

A administração de suplementos de folato em doses de 0,2 a 15 mg/dia poderão diminuir a tHcy sem aparente toxicidade. Numa meta-análise estimou-se que uma redução de 25% pode ser atingida com um grau de suplementação de 0,5 a 5,7 mg/dia. Uns adicionais 7% poderão ser atingidos após a adição de vitamina B₁₂.⁵⁰

Perante tudo isto, a dose óptima das várias terapias vitamínicas, a combinação e o meio de administração de terapias redutoras da Hcy ainda não foram completamente clarificadas. Genest *et al* recomendam que o tratamento da HHcy seja de pelo menos 400 µg/dia de folato.^{24,38,97} A *Food and Nutrition Board* do *Institute of Medicine* definiu como limite máximo de folato 1 mg/dia.⁵⁰

O tratamento com cianocobalamina poderá ser necessário apenas em situações de défice de vitamina B₁₂, como já foi referido, numa dosagem de 0,4 a 2 mg por dia, dependendo da severidade da deficiência.²⁴

Outras vitaminas também poderão influenciar os níveis de tHcy. O consumo diário de 0,6 mg de riboflavina, vitamina que funciona como cofactor da MTHFR, resulta numa redução moderada de 0,475 µM, enquanto que, doses farmacológicas de ácido nicotínico (3000 mg/dL) podem, adversamente, causar elevações significativas dos níveis de tHcy.⁵⁰

5.1.2 Fortificação

Numa perspectiva de saúde pública, o folato é referido como a vitamina que mais evidências apresenta na normalização dos níveis de tHcy e cujo risco de toxicidade parece não ser preocupante. Por isso, a fortificação poderá ser uma alternativa eficaz e viável.⁹⁵

A *Food and Drug Administration* (FDA), em 1996, mandatou a fortificação de farinhas, arroz, massas alimentares e produtos cerealíferos numa dosagem de

140µg de folato por 100g de produto, com o objectivo de diminuir o risco da ocorrência de defeitos no tubo neural em recém-nascidos, tendo como alvo as mulheres em idade fértil.^{38,98} É esperado que esta intervenção faça diminuir os níveis de tHcy numa média de 3 µM, podendo prevenir 17 000 mortes devido a ASVD e reduza a estenose da carótida em 3% (se o valor de suplementação for de 350 µg/100g a redução ascenderá aos 5%).^{38,99}

No Reino Unido, foi recomendada a fortificação universal em folato da farinha a um nível de 0,24 mg por 100 g de produto.⁹⁵ Na Holanda, o governo aconselhou todas as mulheres que estivessem a planear engravidar, a par de uma alimentação adequada, consumissem um suplemento de 0,5 mg de ácido fólico 4 a 8 semanas antes da concepção. Este procedimento tem como adjuvante o facto do ácido fólico sintético (em comprimidos ou em alimentos enriquecidos) ser melhor absorvido e disponibilizado que o natural.¹⁰⁰

Vários estudos investigaram o efeito da fortificação nos níveis plasmáticos de folato e de Hcy, na maioria dos casos segundo os valores estabelecidos pela FDA. Jacques *et al* ao analisarem amostras de sangue de indivíduos adultos e idosos participantes do *Framingham Offspring Study Cohort*, verificaram que as baixas concentrações de folato plasmático (<3ng/mL) foram eliminadas após a fortificação e que a prevalência de concentrações elevadas de tHcy (>13µM) foram reduzidas em aproximadamente 50% entre os indivíduos que não tomavam suplementos. As maiores reduções foram registadas nos indivíduos que tomavam suplementos.⁹⁸

Num recente estudo, a fortificação dos cereais, fornecendo 499 µg e 665 µg de ácido fólico por dia, induziu um aumento do folato plasmático na ordem dos 64,8 e dos 105,7%, respectivamente e a uma redução do tHcy de 11 e de 14%,

respectivamente.^{24,50} Riddel *et al* ao tentar determinar os meios mais apropriados para elevar o consumo e níveis de folato, e diminuir os níveis de tHcy em 65 indivíduos com valores de tHcy $\geq 9\mu\text{M}$, observaram que: o consumo de 437 $\mu\text{g}/\text{dia}$ de folato sob a forma de suplementos resultou num aumento de 27 nM dos níveis séricos de folato e numa diminuição de 21% da tHcy; o consumo de cereais de pequeno-almoço enriquecidos elevou para 298 $\mu\text{g}/\text{dia}$ o consumo de folato e 21 nM os níveis séricos, diminuindo em 24% a tHcy; por fim, aumento do consumo de alimentos ricos em folato resultou num aumento da ingestão de 418 $\mu\text{g}/\text{dia}$ e dos níveis séricos de 7 nM, reduzindo apenas em 9% a tHcy.¹⁰¹

Com o objectivo de estimar os potenciais benefícios e risco de fortificação em folato para a população idosa, Tucker *et al* procederam a um estudo transversal no *Framingham Heart Study*, a 747 pacientes (idades entre 67-96 anos). A evidência sugeriu que, ao nível de fortificação mandatada pela FDA, os benefícios da fortificação em folato, nomeadamente, a diminuição dos níveis de tHcy, são superiores aos riscos esperados, não sendo possível quantificar os riscos associados à deficiência de vitamina B₁₂.⁹⁹

Os cuidados com a fortificação de folato incluem a possibilidade do consumo elevado mascarar alterações hematológicas, como a macrocitose das hemácias, resultantes da deficiência de vitamina B₁₂ (muito comum nos idosos), permitindo a progressão dos danos neuropsiquiátricos, demência, parestesias, ataxia, ou até mesmo à precipitação de sintomas entre os idosos mais sensíveis, pois elevados valores de folato plasmático fazem diminuir a metilação da mielina.⁹⁹ A segurança do uso do folato está bem documentada, sendo que a exacerbação da deficiência da vitamina B₁₂ só raramente foi verificada, apenas ocorrendo com doses elevadas de folato ($\geq 10 \text{ mg}/\text{dia}$).³⁸

A fortificação em folato, que foi inicialmente pensada para reduzir o risco de defeitos no tubo neural, poderá também ter um efeito benéfico na doença vascular devido à relação entre o consumo inadequado de folato e o aumento da tHcy.⁹⁸

5.1.3 Diminuição do Consumo de Metionina

O consumo alimentar excessivo de proteína animal com elevados teores em Met é uma causa adicional de HHcy, detectável quer em jejum ou por carga oral, especialmente quando o *pool* de folato e de cobalamina do tecido estão intactos. Neste caso, uma redução da Met alimentar, em conjunção com o tratamento com a piridoxina, deverá ser instituída para corrigir a HHcy.²⁴

5.2 Diminuição do Stress Oxidativo

Como o stress oxidativo é um dos mecanismos envolvidos no dano isquémico, a actividade antioxidante do plasma poderá ser um factor importante no fornecimento de protecção ao dano neurológico causado pelo stress oxidativo e associado ao AVC. Muitos estudos epidemiológicos sugerem que o consumo de ascorbato poderá exercer um efeito protector contra o AVC. O ascorbato é considerado como um dos antioxidantes mais importantes no plasma, sendo o primeiro a ser utilizado durante o combate à peroxidação lipídica.⁷³

Chambers *et al*, perante a hipótese de valores elevados de tHcy estarem associados com o rápido início da disfunção vascular mediada pelo stress oxidativo e a possível inibição pelo ascorbato, verificou a existência de uma relação inversamente linear entre a concentração de tHcy e a dilatação vascular mediada pelo fluxo e que o pré-tratamento com ascorbato, apesar de não afectar

o aumento dos valores de Hcy após a carga oral de metionina, melhorou a resposta e redução da dilatação vascular mediada pelo fluxo.¹⁰²

5.3 Prevenção e Recomendações Alimentares

Um relatório recente da *Food and Nutrition Board da Academy of Sciences – Institute of Medicine*, refere que as doses diárias recomendadas (DDR) para o folato, vitamina B₆ e vitamina B₁₂ (excluindo as grávidas e lactantes) são, respectivamente, 400µg, 1.7mg e 2.4µg.⁵⁰

Devido ao facto de uma porção significativa da população não cumprir as DDR actuais para o folato, a intervenção mais razoável é a recomendação do aumento do consumo de alimentos que possuam essas vitaminas, nomeadamente, cereais de pequeno-almoço fortificados no geral; vegetais de folha verde, frutos e legumes como fonte de folato; frutos não citrinos, aves, carne e certos vegetais (espargos, couve e feijão) como fonte de vitamina B₆; carnes, aves e peixe como fonte de vitamina B₁₂, não marginalizando o facto de 10 a 30% dos idosos possuírem défice e problemas de absorção dos alimentos ricos em vitamina B₁₂. Estas recomendações poderão aumentar os níveis vitamínicos e, provavelmente, diminuir os níveis de tHcy.⁵⁰

Noutra perspectiva, evidências emergentes sugerem o papel importante dos factores alimentares na modulação da função endotelial, em particular dos ácidos gordos n-3, das vitaminas antioxidantes (E e C), do ácido fólico e da L-arginina, que parecem ter um papel benéfico na função do endotélio vascular, quer por decréscimo da activação celular, quer por melhorar a vasodilatação dependente do endotélio em pacientes com elevado risco de doença cardiovascular.⁵⁹

6. Análise Crítica

Apesar das muitas evidências apresentadas anteriormente, algumas dúvidas poderão ser colocadas na relação causal entre tHcy e a DCV.

A existência de inconsistências nos resultados dos estudos epidemiológicos, cuja obtenção se apoia em diferentes métodos, a disparidade dos desenhos, procedimentos e o desenvolvimento dos estudos impedem a comparação de resultados e conclusões. As associações mais fortes foram encontradas em estudos que usam uma metodologia menos robusta (estudos caso controle, com a participação de voluntários, com recolha e armazenamento possivelmente indevido das amostras de sangue), enquanto que as menores ou nenhuma relações foram encontradas na maioria dos estudos prospectivos de coorte.^{72,88}

A relação temporal entre o início dos valores elevados de tHcy e o começo das lesões na substância branca do sistema nervoso central, alterações cognitivas, AVC ou outros acontecimentos cerebrais é pouco clara. A medição dos valores de tHcy em períodos de reabilitação e as alterações dos padrões alimentares (aumento de consumo de vegetais, diminuição do consumo de carne e/ou de álcool, assim como o vegetarianismo, por exemplo) durante o período de estudo contribuem para a introdução de viés.^{72,88,103}

A relação entre o polimorfismo na MTHFR (C677T) associado com elevada tHcy no plasma, alteração cognitiva e com o risco cardiovascular, não está completamente estabelecida.⁸⁸

A maioria dos estudos que demonstraram que HHcy era aterogénica e trombogénica, usaram concentrações suprafisiológicas de formas não fisiológicas de Hcy, e os testes controlados e aleatórios não evidenciam de forma fidedigna que a diminuição do tHcy preveniria os graves problemas vasculares.⁸⁸ Para além

disso, a maioria dos estudos epidemiológicos sobre DVC ou AVC, colocam e consideram todos os tipos em conjunto quando, por exemplo, a etiologia e os factores de risco para o AVC isquémico são diferentes do hemorrágico.¹¹

Num estudo prospectivo, realizado a 76 indivíduos, 51 dos quais homens, Howard *et al* estudaram se a tHcy aumentaria entre a fase aguda e convalescente após o AVC, concluíram que para a interpretação dos dados, assim como para os testes clínicos de medição será necessário o ajuste para o tempo decorrente do AVC, devido às mudanças do padrão de tHcy após o enfarte cerebral.²⁷

Contraopondo a hipótese de Hcy ser um factor de risco para as DCV, um estudo em que foram medidas as concentrações tHcy em jejum após AVC aterotrombótico e no período convalescente. Verificou-se que as concentrações de tHcy não aumentaram após o AVC aterotrombótico, mas sim no período de convalescença. Esta informação não apoia a hipótese de que elevados valores de tHcy ajudariam a predizer o AVC aterotrombótico, sendo possível que este aumento seja resultante do processo de doença.¹⁰⁴

Num estudo coorte a 2254 mulheres (50-64 anos), realizado com o objectivo de estabelecer relação entre AVC isquémico com as concentrações de tHcy, Fallon *et al* não encontraram qualquer relação significativa, possivelmente devido a alterações da função renal e factores alimentares, má classificação da exposição e instabilidade das amostras armazenadas.¹⁰⁵

Mais estudos com desenhos mais apropriados são necessários para apurar a existência e a intensidade da relação da Hcy com as DCV. Também se esperam resultados de estudos a decorrer, como o VitaTOPS – *Vitamins To Prevent Stroke* e o VISP – *Vitamin Intervention for Stroke Prevention*.³⁴

7. Conclusão

Ao longo da exposição foi notória a referência à Hcy como factor de risco independente das DCV referidas. Foi registada em muitos estudos a associação entre o aumento dos níveis de tHcy, a HHcy severa, intermédia ou moderada assim como os níveis das vitaminas B₆, B₁₂ e ácido fólico com o AVC isquémico/trombótico, a progressão do ateroma, os danos cerebrais silenciosos, os danos endoteliais e, no geral, as DCV isquémicas. A correlação foi na maioria das vezes directa para os níveis de Hcy e quase sempre indirecta para as vitaminas. A relação possui plausibilidade biológica, associando-se essencialmente com as DCV de etiologia aterosclerosa, de alterações hematológicas e dano vascular. Não foi encontrado estudo ou referência a qualquer relação entre Hcy e DCV de natureza hemorrágica.

No entanto, poderão ser colocadas muitas questões relativamente à eficiência dos métodos, a aspectos fisiológicos, a problemas técnicos e à questão de a HHcy poder ser consequência da DCV.

A determinação, o rastreio, a modificação, o combate, a correcção e o tratamento da maioria destes factores é essencial, sendo a abordagem preventiva muito importante para a redução substancial da incidência, recorrência, incapacidade e morte por AVC, especialmente na sociedade actual e com o vislumbrar de possíveis terapias e tratamentos preventivos bastante simples, eficazes e benéficos numa perspectiva que transcende a relação Hcy e DCV.

Um estilo de vida e um regime alimentar saudáveis permitem por si só o combate e a redução das causas dos elevados níveis de tHcy e dos factores de risco para as DCV, a par da ingestão adequada e manutenção das reservas corporais de folato e das vitaminas B₆ e B₁₂, como forma terapêutica ou preventiva.

Bibliografia

- 1- Doll R. Chronic and degenerative disease: major causes of morbidity and death. *Am J Clin Nutr* 1995;62:1301S-1305S.
- 2- Loscalzo J. Homocysteine in health and disease. *N Engl J Med* 2002;346(5):385.
- 3- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol.*1964; 56:111-128.
- 4- Hankey GJ. An illuminating overview of homocysteine. *Lancet* 2002;359:269.
- 5- Executive Summary. The World Health Reports 1998. Life in the 21th Century. URL: <http://www.who.int/ncd/cvd/index.html>
- 6- Cerebrovascular Diseases. In: Adams RD, Victor M, Ropper AH, editors. *Principles of Neurology.*6th Ed. International Edition: McGraw-Hill;1997.p.777-873.
- 7- Bonita R, Solomon N, Broad JB. Prevalence of stroke and stroke-related disability. *Stroke* 1997;28:1898-1902.
- 8- Tegos TJ, Kalodiki E, Daskalopoulou SS, Nicolaidis NA. Stroke: epidemiology, clinical picture and risk factors part I of III. *Angiology* 2000;51:793-808.
- 9- The central nervous system I: the brain. In: Wynsberghe DV, Noback CR, Carola R, editors. *Human Anatomy & Physiology.* 3rd ed. International edition: McGraw-Hill;1995.p.421
- 10- Factores de risco do AVC isquémico. In: Carvalho e Silva JM, editor. *Colesterol Lípidos e Doença Vascular.* Lisboa: Lidel;2000.p.167-188.
- 11- Warlow CP. Epidemiology of stroke. *Lancet* 1998;352:(suppl III)1-4.

- 12- Cunha L, Morais J, Fernandes JF, Albuquerque R. Clínica, diagnóstico e terapêutica. In: Sousa JC, editor. Aterotrombose. 1ª Ed. Lisboa: Coepintir.2000.p.126-141.
- 13- Goldstein LB, Adams R, Becker K, Furberg C, Gorelick PB, Hademenos G, Hill Martha, Howard G, Howard VJ, Jacobs B, Levine SR, Mosca L, Sacco RL, Sherman DG, Wolf PA, del Zoppo GJ. Primary prevention of ischemic stroke – A statement for healthcare professionals from the stroke council of the American Heart Association. *Circulation* 2001;103:163-182.
- 14- Pajean AK. Identifying patients at high risk of ischemic stroke. *Patient Care* 2002.March:36-51.
- 15- Cunha L, Ferreira D, Fernandes JF. Epidemiologia da doença aterotrombótica In: Sousa JC, editor. Aterotrombose. 1ª Ed. Lisboa: Coepintir;2000.p.23-27.
- 16- Falcão JM, Valente P. Doenças cerebrovasculares em Portugal: alguns aspectos epidemiológicos [Cerebrovascular diseases in Portugal: some epidemiologic aspects]. *Acta Médica Portuguesa* 1997;10:537-542.
- 17- Gonçalves AF, Cardoso SM. Prevalência dos acidentes vasculares cerebrais em Coimbra [Cerebrovascular accidents prevalency in Coimbra]. *Acta Médica Portuguesa* 1997;10:543-550.
- 18- You RX, McNeil JJ, O'Malley HM, Davis SM, Thrift AG, Donnan GA. Risk factors for stroke due to cerebral infarction in young adults. *Stroke* 1997;28:1913-1918.
- 19- Gorelick et al. First stroke prevention guidelines review. *JAMA* 1999;281:1112-1120.
- 20- Recomendações do grupo de estudo das doenças cerebro vasculares da Sociedade Portuguesa de Neurologia [Recommendations from the group for

the study of cerebrovascular diseases of the Portuguese Society of Neurology].
Acta Médica Portuguesa 1997;10:607-611.

- 21- Teal PA, Norris JW. Chapter 48 Modern Stroke Prevention. In: Batjer HH, Caplan LR, Friberg L, Greenlee RGJr, Kopitnik TAJr, Young WL, editors. *Cerebrovascular Disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers;1997.p. 591-601
- 22- Lindenstrøm E, Boysen G, Nyboe J. Lifestyle factors and risk of cerebrovascular disease in women: the Copenhagen City Heart Study. *Stroke* 1993; 24:1468-1472.
- 23- Stein JH, McBride PE. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease. *Arch Intern Med* 1998;158:1301-1306.
- 24- Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest* 2001; 81:645-672
- 25- Selhub J, D'Angelo A. Relationship between homocysteine and thrombotic disease. *Am J Med Sci*.1998; 316(2): 129-141.
- 26- Ettinger S. Macronutrients: carbohydrates, proteins, and lipids. In: Mahan LK; Escott-Stump S, editors. *Krause's Food, Nutrition, & Diet Therapy*. 10th Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2000.p.31-66.
- 27- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042-1050.
- 28- Brattstrom L, Lindgren A. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for stroke. *Neurological Research* 1992;14S:81-4.
- 29- Hankey JG, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999;354:407-413.

- 30- Williams RH, Maggiore JA, Reynolds RD, Helgason CM. Novel approach for the determination of the redox status of homocysteine and other aminothiols in plasma from healthy subjects and patients with ischemic stroke. *Clinical Chemistry* 2001;47(6):1031-9.
- 31- Brattström Lars, Wilcken DEL, Öhrvik J, Brudin. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease – the result of a meta-analysis. *Circulation* 1998;98:2520-6.
- 32- El-Khairi L, Ueland PM, Nygård O, Refsum H, Vollset SE. Lifestyle and cardiovascular disease risk factors as determinants of total cysteine in plasma: the Horland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 1999;70(6):1016-24.
- 33- Diaz-Arrastia R. Homocysteine and neurologic disease. *Arch Neurol* 2000;57:1422-8.
- 34- Spence JD, Howard VJ, Chambless LE, Malinow MR, Pettigrew, Stampfer M, Toole JF. Vitamin intervention for stroke prevention (VISP) trial: rationale and design. *Neuroepidemiology* 2001;20:16-25.
- 35- Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342:836-43.
- 36- Eikelboom JW, Lonn E, Genest JJr, Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: A critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 1999;131:363-75.
- 37- Hankey JG, Eikelboom JW. Homocysteine and stroke. *Curr Opin Neurol* 2001;14:95-102.

- 38- Stein JH, McBride PE. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease: pathophysiology, screening, and treatment. *Arch Intern Med* 1998;158(12):1301-6.
- 39- Frantzen F, Faaren AL, Alfheim I, Nordhei AK. Enzyme conversion immunoassay for determining the total homocysteine in plasma serum. *Clin Chem* 1998;44:311-6.
- 40- Hankey GJ, Eikrboom JW. Homocysteine levels in patients with stroke – clinical relevance and therapeutic implications. *CNS Drugs* 2001;15(6):437-43.
- 41- Refsum H, Fiskerstrand T, Guttermsen AB, Ueland PM. Assessment of homocysteine status. *J Inherit Metab Dis* 1997;20:286-94
- 42- Stolzenberg-Solomon RZ, Miller III ER, Maguire MG, Selhub J, Appel LJ. Association of dietary protein intake and coffee consumption with serum homocysteine concentrations in a older population. *Am J Clin Nutr* 1999;69:467-75.
- 43- Ali NS, Powell J, Swaminathan, Markus HS. The relationship between MTHFR genotype, serum homocysteine and folate levels. *Biochemical Society Transactions* 1997;25:386S.
- 44- Pezzini A, Del Zotto E, Archetti S, Negrini R, Bani P, Albertini A, Grassi M, Assanelli, Gasparotti R, Vignolo LA, Magoni M, Padovani A. Plasma homocysteine concentration, C677T MTHFR genotype, and 844ins68bp CBS genotype in young adults with spontaneous cervical artery dissection and atherotrombotic stroke. *Stroke* 2002;33:664-9
- 45- Jacobsen DW. Determinants of hyperhomocysteinemia: a matter of nature and nurture. *Am J Clin Nutr* 1996;64:641-2.

- 46- Brattström L, Wilcken DEL. Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect? *Am J Clin Nutr* 2000;72(2):315-323.
- 47- Prengler M, Sturt N, Krywawych S, Surtees R; Liesner R; Kirkham F. Homozygous thermolabile variant of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a potential risk factor for hyperhomocysteinaemia, CVD, and stroke in childhood. *Developmental Medicine and Child Neurology* 2001;41(4):220-5.
- 48- Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R, Robinson K, Savon SR, Secic M, Ji J, Otto JM, Taylor LMJr. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma: sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. *Clin Chem* 1994;40:873-881.
- 49- Lussier-Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, Selhub J, Davignon J, Genest J Jr. Plasma homocysteine in healthy subjects: sex-specific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr* 1996;64:587-593.
- 50- Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases – a statement for healthcare professionals from the nutrition committee, American Heart Association. *Circulation* 1999;99:178-182.
- 51- Saw SM, Yuan JM, Ong CN, Arakawa K, Lee HP, Coetzee GA, Y MC. Genetic, dietary, and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged older Chinese men and women in Singapore. *Am J Clin Nutr* 2001;73:232-9.
- 52- Ward M, McNulty H, Pentieva, McPartlin J, Strain JJ, Weir DG, Scott JM. Fluctuations in dietary methionine intake do not alter plasma homocysteine concentration in healthy men. *J Nutr* 2000;130:2653-7.

- 53- Bleich S, Degner D, Kropp S, R  ther E, Kornhuber J. Red wine, spirits, beer and serum homocysteine. *Lancet* 2000;356:512.
- 54- Giles WH, Kittner S, Croft JB, Wozniak MA, Wityk RJ, Stern BJ, Sloan MA, Price TR, McCarter RJ, Macko RF, Johnson CJ, Feeser BR, Earley CJ, Buchholz DW, Stolley PD. Distribution and correlates of elevated total homocyst(e)ine: the stroke prevention in young women study. *Ann Epidemiol* 1999;9:307-313.
- 55- McDowell IFW, Lang D. Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease. *J Nutr* 2000;130: 369S-372S.
- 56- Av   LB. A aterotrombose - Doença Sist mica. In: Sousa JC, editor. *Aterotrombose*. 1^aEd. Lisboa:Coepintir;2000.p.263-281.
- 57- Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and assymetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 2001;158: 425-430.
- 58- Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999;100:1161-8.
- 59- Brown AA, Hu FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2001;73:673-686.
- 60- Lentz SR. Does homocysteine promote atherosclerosis? *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1385-6.
- 61- Zhou J, M  ller J, Danielsen CC, Bentzon J, Ravn HB, Austin RC, Falk E. Dietary supplementation with methionine and homocysteine promotes early atherosclerosis but not plaque rupture in ApoE-deficient mice. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1470-6.

- 62- Bellamy MF, McDowell IFW, Ramsey MW, Brownlee M, Bones C, Newcombe RG, Lewis MJ. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation* 1998;98:1848-52.
- 63- Chambers JC, Obeid OA, Kooner JS. Physiological increments in plasma homocysteine induce endothelial dysfunction in normal human subjects. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1999;19:2922-7
- 64- Olszewski AJ, McCully KS. Homocysteine metabolism and oxidative modification of proteins and lipids. *Free Radical Biology & Medicine* 1993; 14: 683-693.
- 65- Zhang C, Cai Y, Adachi MT, Oshiro S, Aso T, Kaufman RJ, Kitajima S. Homocysteine induces programmed cell death in human vascular endothelial cells through activation of the unfolded protein response. *J Bio Chem* 2001;276 (38):35867-35874.
- 66- Weiss N, Zhang YY, Heydrick S, Bierl C, Loscalzo J. Overexpression of cellular glutathione peroxidase rescue homocyst(e)ine-induced endothelial dysfunction. *PNAS* 2001;98(22):12503-8.
- 67- McCully. Homocysteine and vascular disease. *Nature Medicine* 1996;2(4): 386-9.
- 68- Millionis HJ, Winder AF, Mikhailidis DP. Lipoprotein (a) and stroke. *J Clin Pathol* 2000;53(7):487-496.
- 69- Dudman NPB, Hicks C, Wang J, Wilcken DEL. Human arterial endothelial cell detachment in vitro: its promotion by homocysteine and cysteine. *Atherosclerosis* 1991;91:77-83.

- 70- El-Khairy L, Ueland PM, Refsum H, Graham IM, Volset SE. Plasma total cysteine as a risk factor for vascular disease – The European Action Project. *Circulation* 2001;103:2544-9.
- 71- Andersson A, Hultberg B, Lindgren A. Redox status of plasma homocysteine and other plasma thiols in stroke patients. *Atherosclerosis* 2000;151:535-9.
- 72- Yoo JH, Chung CS, Kang SS. Relation of plasma homocist(e)ine to cerebral infarction and cerebral atherosclerosis. *Stroke* 1998;29:2478-83.
- 73- El Kossi MMH, Zakhary MM. Oxidative stress in the context of acute cerebrovascular stroke. *Stroke* 2000;31:1889-92.
- 74- Lipton SA, Kim WK, Choi YB, Kumar S, D'Emilia DM, Rayudu PV, Arnelles DR, Stamler JS. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:5923-8.
- 75- Li W, Zheng T, Wang J, Altura BT, Altura BM. Extracellular magnesium regulates effects of vitamin B₆, B₁₂ and folate on homocysteinemia-induced depletion of intracellular free magnesium ions on canine vascular smooth muscle cells: possible relationship to $[Mg^{2+}]_i$, atherogenesis and stroke. *Neuroscience Letters* 1999;274:83-6.
- 76- Streifler JY, Rosenberg N, Chetrit A, Eskaraev R, Sela BA, Dardik R, Zivelin A, Ravid B, Davidson J, Seligsohn U, Inbal A. Cerebrovascular events in patients with significant stenosis of the carotid artery are associated with hyperhomocysteinemia and platelet antigen-1 (Leu33Pro) polymorphism. *Stroke* 2001;32:2753-8.
- 77- Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostinho RB, Wilson PWF, Balanger AJ, O'Leary DH, Wolf PA, Schaefer EJ, Rosenberg IH. Association between

- plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Eng J Med* 1995; 332(5):286-291.
- 78- Evers S, Koch HG, Grotemeyer KH, Lange B, Deufel T, Ringelstein EB. Features, symptoms, and neurophysiological findings in stroke associated with hyperhomocysteinemia. *Arch Neurol* 1997; 54:1276-1282.
- 79- Madonna P, de Stefano V, Coppola A, Cirillo F, Cerbone AM, Orefice G, Di Minno G. Hyperhomocysteinemia and other inherited prothrombotic condition in young adults with a history of ischemic stroke. *Stroke* 2002;33:51-56.
- 80- Stehouwer CDA, Weijnenberg MP, van der Berg M, Jakobs C, Feskens EJM, Kromhout D. Serum homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men – a 10-year follow-up. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1895-1901.
- 81- den Heijer M, Koster T, Blom HJ, Bos GMJ, Briët E, Reitsma PH, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Eng J Med* 1996;334(12):759-762.
- 82- Sen S, Opprnehmer SM, Lima J, Cohen B. Risk factors for progression of aortic atheroma in stroke and transient ischemic attack patients. *Stroke* 2002; 33(4):930-5.
- 83- van Beynum IM, Smeitink JAM, de Heijer M, Pothoff MTWBP, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia – a risk factor for ischemic stroke in children. *Circulation* 1999;99:2070-2.
- 84- Kristensen B, Malm J, Nilsson T, Hultdin J, Carlberg B, Dahlén G, Olsson T. Hyperhomocysteinemia and hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. *Stroke* 1999;30:974-980.

- 85- Vermeer SE, van Dijk EJ, Koudstaal PJ, Oudkerk M, Hofman A, Clarke R, Breteler MMB. Homocysteine, silent brain infarcts, and white lesions: the Rotterdam Scan Study. *Ann Neurol* 2002;51:285-9.
- 86- Matsui T, Arai H, Yuzuriha T, Yao H, Miura M, Hashimoto S, Higuchi S, Matsushita S, Morikawa M, Kato A, Sasaki H. Elevated plasma homocysteine levels and risk of silent brain infarction in elderly people. *Stroke* 2001;32:1116-9.
- 87- Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattström L, Boers G, Ueland P, Rubba P, Palma-Reis R, Meleady R, Daly L, Witterman J, Graham I. Low circulating folate and vitamin B concentrations – risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. *Circulation* 1998;97:437-443.
- 88- Hankey GJ. Is homocysteine a causal and treatable risk factor for vascular diseases of the brain (cognitive impairment and stroke)? *Annals of neurology* 2002;51(3):279-281.
- 89- Hackam DG, Peterson JC, Spence JD. What level of plasma homocist(e)ine should be treated? Effects of vitamin therapy on progression of carotid atherosclerosis in patients with homocist(e)ine levels above and below 14 μ mol/L. *Am J Hypertens* 2000;13:105-110.
- 90- Stryer L. *Biochemistry*. 4th ed. New York: W.H. Freeman and Company; 1996.
- 91- Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, Nygård O, Schneede J, Vollset SE, Refsum H. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia ($\geq 40 \mu\text{mol/liter}$). *J Clin Invest* 1996;98:2174-83.
- 92- Chambers JC, Ueland PM, Obeid OA, Wrigley J, Refsum H, Kooner JS. Improved vascular endothelial function after oral B vitamins - an effect

- mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine. *Circulation* 2000;102:2479-83.
- 93- Brattstrom L, Israelsson B, Norrving B, Bergqvist D, Thorne J, Hultberg B, Hamfelt A. Impaired homocysteine metabolism in early-onset cerebral and peripheral occlusive arterial disease. Effects of pyridoxine and folic acid treatment. *Atherosclerosis* 1990;81(1):51-60.
- 94- Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6 and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993;57:47-53.
- 95- Wald DS, Bishop L, Wald NJ, Law M, Hennessey E, Weir D, McPartlin J, Scott J. Randomized trial of folic acid supplementation and serum homocysteine levels. *Arch Intern Med* 2001;161:695-700.
- 96- McKay DL, Perrone G, Rasmussen H, Dallal G, Blumberg JB. Multivitamin/mineral supplementation improves plasma B-vitamin status and homocysteine concentration in healthy older adults consuming a folate-fortified diet. *J Nutr* 2000; 130:3090-6.
- 97- Genest JJr. Hyperhomocyst(e)inemia-determining factors and treatment. *Can J Cardiol* 1999;15SB:35B-38B.
- 98- Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PWF, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999;340:1449-54.
- 99- Tucker KL, Mahnken B, Wilson PWF, Jacques P, Selhub J. Folic acid fortification of the food supply – potential benefits and risks for the elderly population. *JAMA* 1996;276:1879-85.

- 100- Eskes TKAB. Open or closed? A world of difference: a history of homocysteine research. *Nutrition Reviews* 1998;56(8):236-244.
- 101- Riddel LJ, Chrisholm A, Williams S, Mann JI,. Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1448-54.
- 102- Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Obeid O, Kooner JS. Demonstrations of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia - an effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation* 1999;99:1156-60.
- 103- Appel LJ, Miller III ER, Jee SH, Stolzenberg-Solomon R, Lin PH, Erlinger T, Nadeau MR, Selhub J. Effect of dietary patterns on serum homocysteine- results of a randomized, controlled feeding study. *Circulation* 2000;102:852-7.
- 104- Meiklejohn DJ, Vickers MA, Dijkhuisen R, Greaves M. Plasma homocysteine concentrations in the acute and convalescent periods of atherothrombotic stroke. *Stroke* 2001;32:57-62.
- 105- Fallon UB, Elwood P, Ben-Shlomo Y, Ubbink JB, Greenwood R, Smith GD. Homocysteine and ischaemic stroke in men: the Caerphilly Study. *J Epidemiol Community Health* 2001;55:91-6.

Índice dos Anexos

1. Via metabólica da homocisteína (Figura 1).....	a2
2. Causas da Hiperhomocisteínemia (Tabela1).....	a4
3. Metabolismo da Hcy e possível mecanismo de doença aterotrombótica (Figura 2).....	a5
4. Tratamento da Hiperhomocisteínemia (Tabela 2).....	a6

Anexo 1

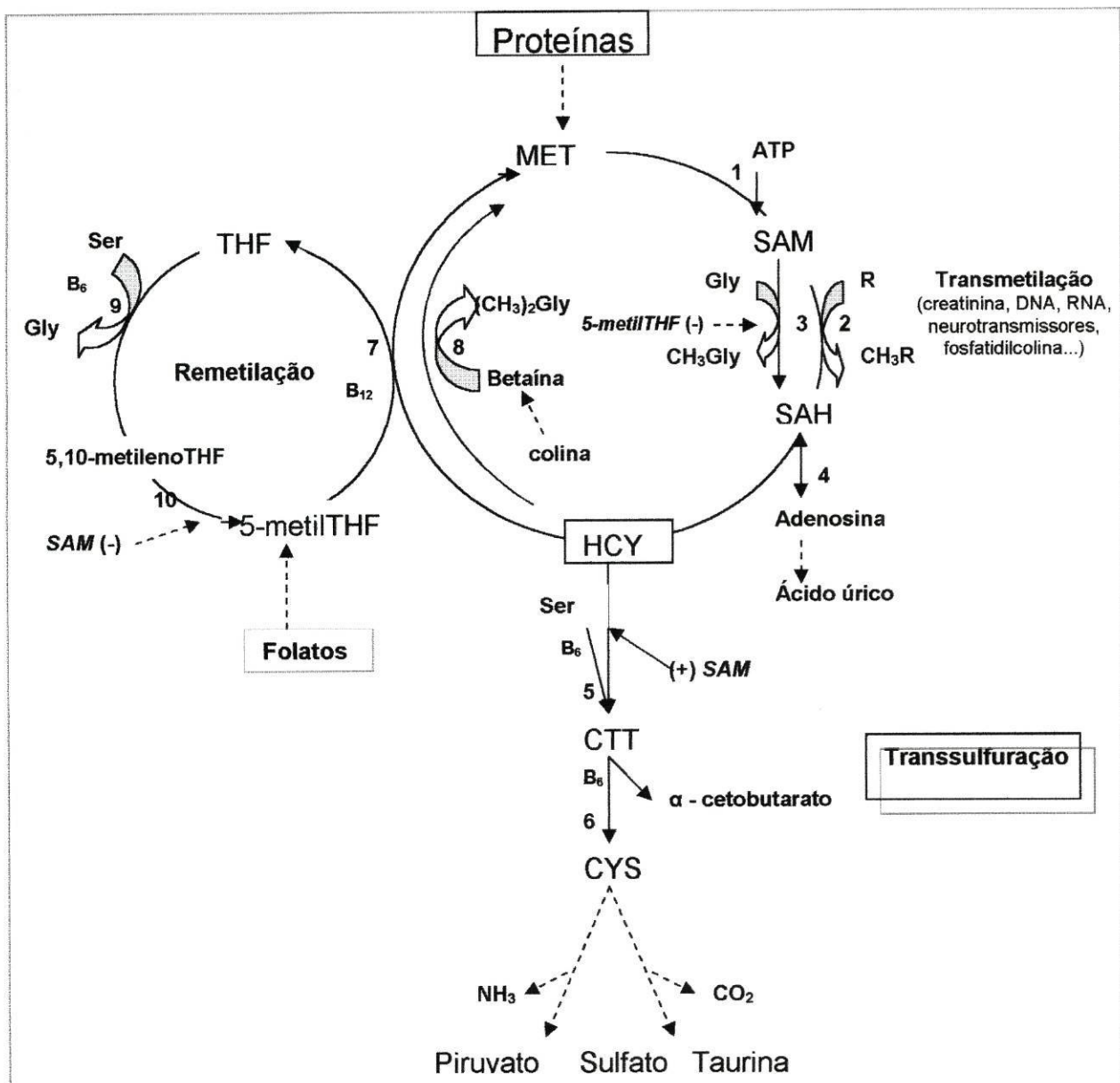


Figura 1. Via metabólica da homocisteína.²⁴

Legenda: (1) activação da metionina (MET) pelo ATP na presença da metionina S-adenosil-transferase. (2) Desmetilação da S-adenosilmetionina (SAM) em S-adenosilhomocisteína (SAH) associada com a metilação de um receptor R em RCH_3 . (3) Desmetilação alternativa catalizada pela glicina N-metiltransferase, a qual converte a glicina (Gly) em sarcosina (CH_3Gly). (4) Hidrólise da SAH em homocisteína (HCYS) e adenosina catalizada pela S-adenosilhomocisteína

hidrolase. (5) Condensação da serina (Ser) com a HCYS para formar a cistationa (CTT) através da acção do piridoxal-5'-fosfato dependente da cistationa β -sintetase (CBS), derivado da vitamina B₆. (6) Conversão da CTT em cisteína (CYS) e α -cetobutarato catalizada pelo piridoxal-5'-fosfato dependente do γ -cistationase. (7) Desmetilação N⁵-metiltetrahidrofolato (5-metil THF) em THF e HCYS, o qual é remetilado em MET pela metionina síntase dependente da metil cobalamina derivada da vitamina B₁₂. (8) No fígado ocorre a remetilação da HCYS pela betaína-homocisteína metiltransferase na presença de betaína derivada da colina. (9) Síntese do N^{5,10}-metilenotetrahidrofolato (5,10-metilenoTHF) do THF acoplado à conversão da Ser em Gly através da acção do piridoxal-5'-fosfato dependente da serina hidroximetiltransferase. (10) Reducção da 5,10-metilenoTHF em 5-metilTHF pela N^{5,10}-metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR).

Anexo 2

Tabela 1. Causas da Hiperhomocisteïnemia.²⁴

Factores Genéticos	Relação
Defeito MTHFR (actividade <20%)	Mutação homozigótica termoestável (rara), HHcy basal severa em condições de jejum
Deficiência (actividade <50%)	Mutação C677T termolábil homozigótica (10%), HHcy basal moderada
Defeito CBS (actividade <2%)	Homozigóticos (raro), HHcy basal severa
Deficiência CBS	Heterozigóticos (0.5-1.5%), aumento anormal, acima dos valores em jejum, após carga em Met
Deficiência funcional da síntase da Met	Alteração do metabolismo da cobalamina (mutações raras), HHcy basal de intermédia a severa
Factores Nutricionais	Relação
Deficiência de vitamina B ₆	Aumento anormal da Hcy após carga em Met
Deficiência de vitamina B ₁₂	HHcy basal de moderada a intermédia
Deficiência de folato	HHcy basal de moderada a intermédia
Excesso de proteínas animais ricas em Met	HHcy basal de moderada a intermédia e HHcy após carga em Met(?)
Factores Fisiológicos	Relação
Envelhecimento	Níveis de tHcy aumentam com a idade
Sexo masculino	Os homens apresentam tHcy basal superior à das mulheres
Menopausa	Níveis de tHcy aumentado em mulheres pós-menopausicas que poderão ser reduzidos com terapia de substituição hormonal
Raça	Os sul-africanos negros possuem níveis de tHcy inferiores que a população branca
Factores Patológicos	Relação
Hábitos tabágicos	Alteração do metabolismo do folato e deficiência de vitamina B ₆ (?)
Alcoolismo	Alteração metabolismo do folato (?)
Função renal diminuída	<i>Clearance</i> renal da Hcy diminuído
Psoríase	Defeito no uso intracelular da Hcy (?)
Cancro	Defeito no uso intracelular da Hcy (?)
Transplante renal ou cardíaco	Deficiência de folato e de vitamina B ₆ e <i>Clearance</i> renal da Hcy diminuído
Factores Iatrogénicos	Relação
Contraceptivos orais	Alteração do metabolismo do folato e deficiência de vitamina B ₆ (?)
Metotrexato	Inibição da dihidrofolato redutase
Óxido nitroso (N ₂ O)	Inibição da síntase da metionina
Anticonvulsivos	Alteração metabolismo do folato
Sulfasalazina	Inibição da absorção do folato

Anexo 3

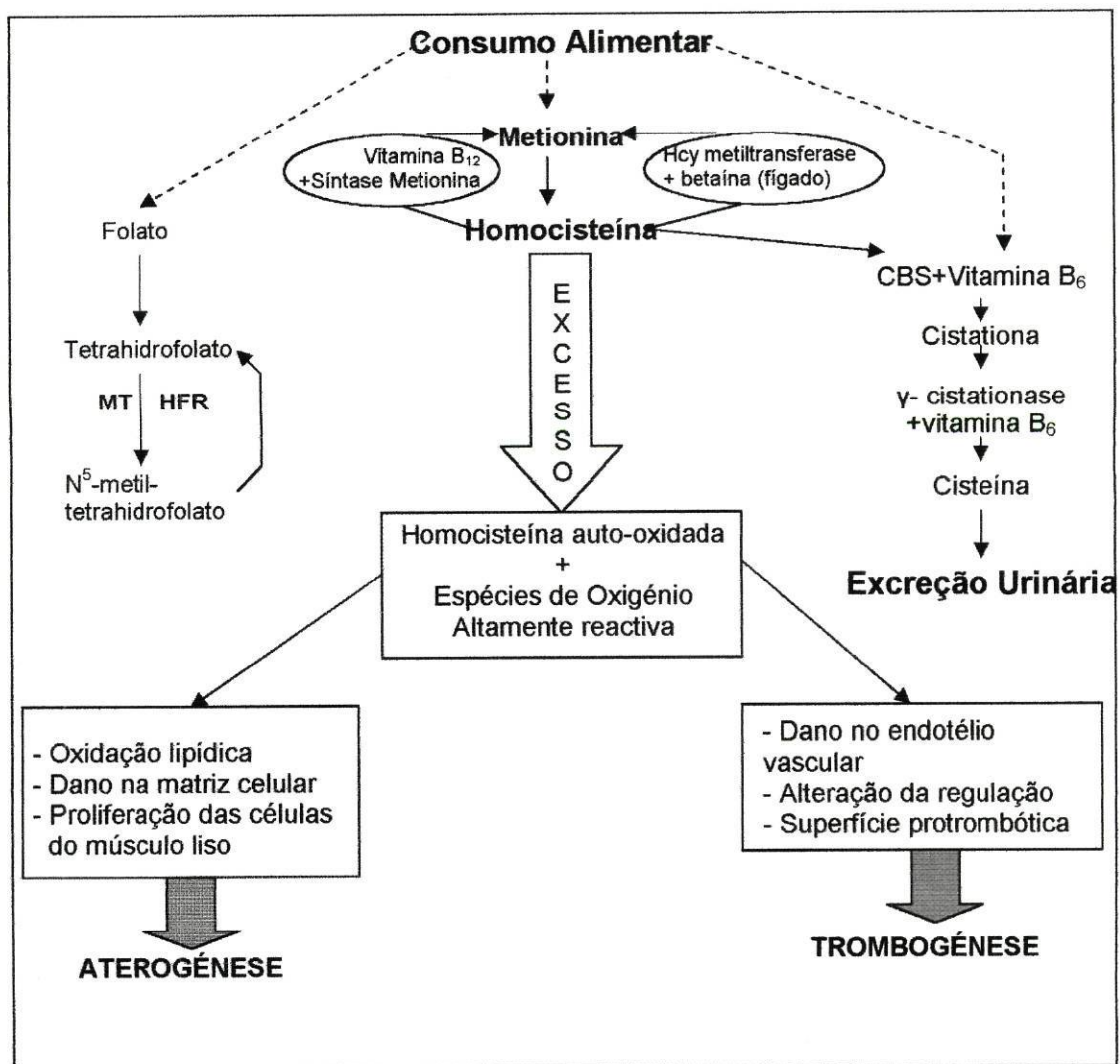


Figura 2. Metabolismo da Hcy e possível mecanismo de doença aterotrombótica.

Anexo 4

Tabela 2. Tratamento da Hiperhomocisteïnemia ²⁴

Suplementos	Acção / Especificações
Folatos e cobalamina	
- Ácido fólico	Em todos os doentes com HHcy basal ou após carga oral de Met. Deficiência nutricional de folato, mutação da MTHFR termolábel, homozigotos para a deficiência de CBS que não respondam à piridoxina e heterozigotos para a deficiência de CBS. 400µg a 1 mg por dia na deficiência adquirida, 5 mg por dia na deficiência congénita.
- Ácido fólico ou N ⁵ -metiltetrahydrofolato	Em vez do folato em pacientes com alterações no metabolismo do folato ou mutações da MTHFR termoestável.
- Cianocobalamina	Correcção da deficiência adquirida de vitamina B ₁₂ antes da terapia em folato. 400µg a 2 mg por dia de acordo com o grau de deficiência.
Piridoxina	Em doentes com HHcy após carga em Met e que não respondam ao tratamento com folato. Deficiência nutricional em vitamina B ₆ , excesso alimentar de proteínas animais ricas em Met, 3 a 15 mg por dia. Homo ou heterozigotia para a deficiência em CBS, 30 a 100mg por dia.
Betaína e/ou Met	
- Betaína	Deficiências funcionais da síntase de Met, mutações da MTHFR termoestável.
- Met	Deficiências funcionais da síntase de Met, mutações da MTHFR termoestável.