

ARTICOL DE SINTEZĂ

Hiperhomocisteinemia ca factor potențial de risc pentru patologia obstetricală: sinteză de literatură

Elena Visternicean^{1*}, Veaceslav Moșin^{1,2}

¹Catedra de obstetrică și ginecologie nr. 2, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Centrul medical „Repromed”, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 28.03.2017

Data acceptării spre publicare: 26.05.2017

Autor corespondent:

Elena Visternicean, doctorand

Catedra de obstetrică și ginecologie nr. 2

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: mecineanuelena@yahoo.com

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Cu toate că în ultimii ani s-a înregistrat o creștere exponențială în cercetarea și înțelegerea rolului aminoacidului homocisteina ca factor potențial de risc pentru diverse patologii, dovezile acumulate sunt, deocamdată, incomplete.

Ipoteza de cercetare

Identificarea homocisteinei în calitate de potențial factor de risc în sfera obstetricală în evidența științifică publicată.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Rolul homocisteinei ca potențial factor de risc în dezvoltarea patologiei obstetricale nu este, deocamdată, suficient elucidat. Opiniile cercetătorilor sunt controversate, iar evidența științifică – insuficientă. Sunt necesare studii prospective, multicentrice, pe eșantioane largi de paciente.

Rezumat

Introducere. Nivelul crescut al homocisteinei plasmatică este considerat, în prezent, un factor de risc independent, potențial modificabil, pentru afecțiunile vasculare periferice, cerebrale și coronariene, pentru evenimentele trombotice, inclusiv, complicațiile obstetricale.

Material și metode. A fost studiată literatura științifică referitoare la hiperhomocisteinemie și relația ei cu sarcina. Articolele au fost selectate din bazele de date PubMed și Springer Link după cuvintele cheie: „homocysteine”, „vascular injury”, „thrombosis”, „pregnancy”, „miscarriage”, „MTHFR C677T”, „placental abruption”, „pre-eclampsia”, „polymorphism” were selected from the PubMed and Springer Link databases.

REVIEW ARTICLE

Hyperhomocysteinemia as a potential risk factor for obstetric pathology: review article

Elena Visternicean^{1*}, Veaceslav Moshin^{1,2}

¹Chair of obstetrics and gynecology no. 2, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Medical Center “Repromed”, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 28.03.2017

Accepted for publication on: 26.05.2017

Corresponding author:

Elena Visternicean, PhD fellow

Chair of obstetrics and gynecology no. 2

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Ștefan cel Mare și Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: mecineanuelena@yahoo.com

What is not known yet, about the topic

Recent years have shown a dramatic increase in research towards the better understanding of the notoriety of the amino acid homocysteine, although the evidence are incomplete and many research questions remain unanswered.

Research hypothesis

Identification of homocysteine as a potential risk factor in the sphere of obstetric in published scientific literature.

Article’s added novelty on this scientific topic

The studies were found to be insufficient, the authors’ opinion is unequal, which underlines the need for large prospective studies on the validation of the role of homocysteine in the development of obstetric disorders.

Abstract

Introduction. An elevated plasma homocysteine is considered, nowadays, an independent, potentially modifiable risk factor for various forms of vascular disease including peripheral and cerebral vascular disease, coronary heart disease, thrombosis, as well abnormal pregnancy outcomes.

Material and methods. Articles containing the keywords “homocysteine”, “vascular injury”, “thrombosis”, “pregnancy”, “miscarriage”, “MTHFR C677T”, “placental abruption”, “pre-eclampsia”, “polymorphism” were selected from the PubMed and Springer Link databases.

central abruption”, *“preeclampsia*”, *“polymorphism*”. Informația este prezentată sub formă de sinteză narativă.

Rezultate. Există motive biologice plauzibile că nivelul crescut al homocisteinei serice totale, deficitul de foliați și genotipul MTHFR 677TT, reprezintă potențiali factori de risc pentru afecțiunile mediate de insuficiența placentară, cum ar fi preeclampsia, avortul spontan, decolarea de placentă, defectele congenitale. Cu toate acestea, sunt necesare investigații suplimentare pentru a confirma constatările date.

Concluzii. Sunt necesare studii prospective, multicentrice, pe eșantioane mari de paciente, care ar valida rolul homocisteinei în dezvoltarea patologiilor obstetricale.

Cuvinte cheie: homocisteină, leziune vasculară, tromboză, sarcină, polimorfism, MTHFR, avort spontan recurent.

Introducere

În ultimele decenii ale secolului al XX-lea, se conturează faptul că aminoacidul homocisteina reprezintă un important factor de risc în patologiile vasculare, patologiile geriatrice, precum și în alte procese fundamentale ale biologiei și medicinei [1]. Homocisteina este un produs intermediar în metabolismul metioninei. Homocisteina este metabolizată pe două căi: remetilare, prin care se regenerează metionina și transsulfurare, prin care degradează până la cisteină și, apoi, taurină. În esență, acest metabolit intermediar – homocisteina – se află într-un punct metabolic critic și tocmai de aceea, direct sau indirect, influențează metabolismul compușilor metabolici metilici și cu sulf în organism [2, 3].

Creșterea concentrației homocisteinei serice este corelată cu creșterea semnificativă a riscului dezvoltării și apariției bolii arteriale coronariene, bolii vasculare periferice, bolii ocluzive cerebrale și retiniene, precum și a infarctului miocardic [2]. Hiperhomocisteinemia reprezintă un factor de risc independent pentru ateroscleroză și aterotromboză [4]. Evidențe experimentale atestă faptul că înclinația aterogenică, atribuită hiperhomocisteinemiei, rezultă din lezarea endoteliului și disfuncția endotelială, urmată de activare plachetară cu formare de trombus [2, 5].

Recent, creșterea nivelului homocisteinei plasmatice a fost corelat cu creșterea semnificativă a riscului apariției complicațiilor obstetricale, așa ca eclampsia, preeclampsia, nașterea prematură, avortul spontan recurent, retardul dezvoltării intrauterine al fătului și decolarea prematură a placentei normal inserate [6, 7]. Datele multiplelor studii au confirmat, deja, unele ipoteze și au respins altele. Din aceste motive, în lucrarea de față ne-am propus să oferim o informație actuală și o analiză sistematizată a literaturii referitoare la impactul homocisteinei în timpul sarcinii.

Material și metode

Pentru realizarea obiectivului trasat, a fost efectuată căutarea publicațiilor științifice din bazele de date PubMed și Springer Link după cuvintele cheie „*homocysteine*”, „*vascular injury*”, „*thrombosis*”, „*pregnancy*”, „*miscarriage*”, „*MTHFR*”, „*placental abruption*”, „*preeclampsia*”, „*polymorphism*”. Pentru selectarea

Results. There are biologically plausible reasons that increased total homocysteine, folate deficiency, and MTHFR 677TT genotype are probable risk factors for placenta-mediated diseases, such as preeclampsia, spontaneous abortion, placental abruption birth defects. However, further investigations are needed to confirm these findings and guide preventative and therapeutic research

Conclusions. The results underline the need for large prospective studies on the role of homocysteine on the validation of the role of homocysteine in the development of obstetric disorders.

Key words: homocysteine, vascular injury, thrombosis, pregnancy, polymorphism, MTHFR, miscarriage.

Introduction

In the last decades of the 20th century the amino acid homocysteine has achieved the status of an important risk factor in vascular disease, diseases of aging, and other fundamental processes in biology and medicine [1]. Homocysteine is an intermediate metabolite of methionine metabolism and is itself metabolized by two pathways: the remethylation pathway, which regenerates methionine, and the transsulfuration pathway, which degrades homocysteine into cysteine and then taurine. In essence, the intermediate metabolite homocysteine is located at a critical metabolic crossroad, and therefore both directly and indirectly impacts all methyl and sulfur group metabolism in the body [2, 3].

Increased blood levels of homocysteine are correlated with significantly increased risk of coronary artery disease, peripheral occlusive disease, cerebral occlusive disease, retinal vascular occlusion and myocardial infarction [2]. Homocysteine is known as an independent risk factor for atherosclerosis and atherothrombotic events [4]. Experimental evidence indicates that atherogenic effect of hyperhomocysteinemia results from endothelial cell injury and endothelial dysfunction, followed by platelet activation and thrombus formation [2, 5].

Recently, associations have been observed between abnormally high plasma homocysteine concentrations and abnormal pregnancy outcomes, such as eclampsia, preeclampsia, preterm delivery, recurrent early pregnancy loss, intrauterine growth retardation, and placental abruption [6, 7]. The data of multiple studies have already confirmed some hypotheses and contradicted the others. Therefore, the aim of this study was to present the current information and to perform a systematized literature analysis related to homocysteine impact during pregnancy.

Material and methods

In order to achieve the given objective, the search of scientific publications was performed by keywords: “*homocysteine*”, “*vascular injury*”, “*thrombosis*”, “*pregnancy*”, “*miscarriage*”, “*MTHFR*”, “*placental abruption*”, “*preeclampsia*”, “*polymorphism*” in the PubMed and Springer Link online databases. For advanced selection of literature sources, the fol-

avansată a surselor bibliografice, au fost aplicate următoarele filtre: lucrările publicate până în decembrie 2016, articole în limba engleză. Au fost selectate articole originale de cercetare (efectuate în condiții clinice, experimentale și *in vitro*), de tip metaanaliză și reviste sistematizate de literatură.

După examinarea titlurilor articolelor obținute, au fost selectate doar lucrările care conțineau informații relevante despre hiperhomocisteinemie și interconexiunea ei cu sarcina. De asemenea, a fost studiată bibliografia articolelor selectate, cu scopul de a găsi alte surse relevante scopului trasat. Informația a fost sistematizată, evidențiind principalele aspecte ale viziunii contemporane asupra metabolismului homocisteinei și metioninei, mecanismele leziunii vaselor sanguine și complicațiile obstetricale. La necesitate, pentru precizarea unor noțiuni, au fost consultate surse adiționale de informație. Publicațiile duplicate, publicațiile care nu au corespuns cu scopul lucrării și care nu au fost accesibile pentru vizionare, au fost excluse din lista publicațiilor generate de motorul de căutare.

Rezultate

În rezultatul prelucrării informației în bazele de date PubMed și Springer Link conform criteriilor căutării, au fost găsite 1167 de articole care abordează tematica hiperhomocisteinemiei, inclusiv, impactul ei în sarcină. După analiza primară a titlurilor, 568 de articole au fost calificate eventual relevante pentru sinteza dată. După trecerea lor repetată în revistă, au fost selectate, în cele din urmă, 113 publicații relevante scopului trasat. În bibliografia finală a lucrării au intrat 51 de publicații.

Metabolismul metioninei și homocisteinei

Homocisteina este un aminoacid care conține sulf, un produs intermediar în metabolismul normal al metioninei [8, 9]. Metionina este un aminoacid esențial, prezent în dieta naturală. Fiind metabolizată în ciclul metioninei, furnizează grupul metil (o unitate de carbon) pentru reacțiile de transmetilare [8, 10].

În ciclul metioninei, metionina este metabolizată la S-adenozil-metionină (SAM), într-o reacție catalizată de ATP și enzima metionin adenzil-transferaza [11]. SAM reprezintă un donor de grupări metil în numeroase reacții, printre care metilarea ADN-ului, histonelor și a altor proteine, neurotransmițătorilor, fosfolipidelor și sinteza creatinei [11, 12]. Aceste reacții de metilare joacă un rol important în dezvoltarea, expresia genelor și stabilitatea genomică [13].

În reacția de demetilare, SAM este convertit în S-adenozil-homocisteină (SAH) [10, 14]. SAH este reversibil hidrolizat în homocisteină și adenzină de către enzima SAH hidrolaza [10, 11]. În acest moment, homocisteina este situată într-un punct de ramificare metabolică și poate fi degradată ireversibil în cisteină, prin intermediul reacției de transulfurare, fie convertită înapoi la metionină, prin reacția de remetilare [10, 15].

Homocisteina este remetilată la metionină prin reacția de remetilare, catalizată de enzima metionin-sintaza (MTR) și leagă ciclul folatului cu metabolismul homocisteinei [16]. Această cale utilizează folat coenzimele (ciclul folatului) pentru transferul grupării metil, necesar sintezei metioninei [11]. Remeti-

lowing filters were applied: articles published by December 2016, articles in English. Original research articles were selected (conducted in clinical, experimental and *in vitro* conditions), meta-analysis type and systematized literature reviews.

After examining the titles of the obtained articles, only articles that contained relevant information regarding hyperhomocysteinemia and its interconnection with the pregnancy were selected. The bibliography of selected articles was analyzed too, in order to find other articles, relevant to the intended purpose. Information was systematized, highlighting the main aspects of contemporary vision on homocysteine and methionine metabolism, mechanisms of blood vessel injury and pregnancy outcomes. To clarify some notions and facts, additional sources of information were consulted. Duplicate publication, the articles that did not correspond to the purpose of the work and publications that were not accessible for viewing were excluded from the list of publications generated by search engine.

Results

As a result of information processing in PubMed and Springer Link online databases according to search criteria, 1167 articles were found which approach the topic of hyperhomocysteinemia, including its impact on pregnancy. After having analyzed the titles, 568 articles were classified as possibly relevant to the given review theme. At the end, 113 relevant publications were selected. The final references consist of 51 publications.

Methionine and homocysteine metabolism

Homocysteine is a sulfur-containing intermediate product in the normal metabolism of methionine [8, 9]. Methionine is an essential amino acid that is derived primarily from the diet. It is metabolized in the methionine cycle that functions to provide one carbon methyl unit for transmethylation reactions [8, 10].

In the methionine cycle, methionine is metabolized to S-adenosylmethionine (SAM), in a reaction catalyzed by ATP and the enzyme methionine adenosyltransferase [11]. SAM acts as the methyl donor in many reactions, including the methylation of DNA, histones and other proteins, neurotransmitters, and phospholipids, and the synthesis of creatine [11, 12]. These methylation reactions play important roles in development, gene expression, and genomic stability [13].

In the demethylation reaction SAM leads to the formation of S-adenosylhomocysteine (SAH) [10, 14]. SAH is then reversibly hydrolyzed by SAH hydrolase yielding adenosine and homocysteine [10, 11]. At this point, homocysteine is located at a metabolic branch point and can either be irreversibly degraded to cysteine via the transsulfuration pathway, or conserved by remetilation back to methionine [10, 15].

Homocysteine remetilation to methionine is catalyzed by the methionine synthase enzyme (MTR) and links the folate cycle with homocysteine metabolism [16]. This pathway utilizes a folate coenzyme system (the folate cycle) to provide new methyl groups to regenerate methionine [11]. Homocysteine remetilation occurs by receiving the methyl group

larea homocisteinei se derulează, primind gruparea metil din 5-metilteetrahydrofolat (5-MTHF). La rândul lui, 5-MTHF este produs din 5,10-metilteetrahydrofolat (5,10-MTHF) de către enzima 5,10-metilteetrahydrofolat reductaza (MTHFR), care utilizează FAD (forma activă de vitamina B₂) în calitate de cofactor [8, 11]. Gruparea metil din 5-MTHF este transferată prin intermediul vitaminei B₁₂ la homocisteină, în reacția catalizată de MTR cu producerea de tetrahydrofolat (THF) și regenerarea metioninei. THF este, apoi, reciclat la 5,10-MTHF în prezența serinei și vitaminei B₆ prin enzima *serin-hidroximetil-transferaza* (SHMT) [15]. Astfel, enzima MTR folosește vitamina B₁₂ (cobalamină), în calitate de cofactor și 5-MTHF, ca donor de grup metil [10].

MTR necesită cobalamină (Cbl), în calitate de cofactor și complexul rezultat Cbl(I)MTR leagă gruparea metil din 5-MTHF pentru a forma complexul metil Cbl(III)MTR. După transferul grupului metil către homocisteină, complexul Cbl(I)MTR este reformat și poate accepta o altă grupare metil din 5-MTHF. În această reacție, cofactorul Cbl(I) este oxidat la Cbl(II), care inactivează complexul Cbl(II)MTR. Enzima metionin-sintaza-reductaza (MTRR) reactivează complexul Cbl(II)MTR prin metilarea reductivă, folosind SAM ca donor de grup metil [17]. Această cale este larg răspândită în toate țesuturile, în special, în ficat și rinichi [10], cu excepția eritrocitelor [10, 15]. Activitatea eficientă a acestei reacții necesită o cantitate adecvată de acid folic și enzima MTHFR [10].

Alternativ, în ficat și rinichi, homocisteina poate fi, de asemenea, convertită înapoi la metionină într-o reacție catalizată de enzima betain-homocistein-metil-transferaza (BHMT), care catalizează transferul de grup metil de la betaină la homocisteină, pentru a genera metionină și dimetilglicină, reacția fiind folat-independentă [15, 18].

Reacția de transulfurare constă în degradarea ireversibilă a homocisteinei la cisteină [3, 11]. Reacția este facilitată de acțiunea a două enzime, dependente de vitamina B₆ în calitate de cofactor: enzima cistationin β-sintetază (CBS) și enzima cistationin-γ-liaza (CSE) [10]. CBS catalizează condensarea homocisteinei și serinei pentru a forma cistationina și CSE catalizează, ulterior, hidroliza cistationinei la cisteină și α-cetobutirat [10, 11]. Această cale se produce exclusiv în ficat, rinichi, intestinul subțire și pancreas, și nu se găsește în celulele cardiovasculare și alte țesuturi umane [10].

În condiții fiziologice și metabolice normale, cele două căi se află într-un echilibru strict, lucrând sinergic pentru a menține niveluri scăzute ale concentrației intracelulare și tisulare de homocisteină [10]. SAM joacă un rol central în reglarea metabolismului homocisteinei, prin coordonarea și direcționarea homocisteinei către reacția de transulfurare sau remetilare; este un inhibitor alosteric al enzimei MTHFR și un activator al enzimei CBS [11]. Când nivelurile SAM sunt adecvate pentru a susține cererea de metilare, partiționarea homocisteinei între cele două căi metabolice este aproximativ egală [15].

Nivelul plasmatic al homocisteinei și hiperhomocisteinemia

Homocisteina este prezentă în plasma umană în diferite forme și diferite proporții [9, 10, 19]. Homocisteina serică totală, prin urmare, este suma tuturor formelor de homocisteină

from 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF). It is produced from 5,10-methylenetetrahydrofolate (5,10-MTHF) by the enzyme 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), which uses FAD (the active form of vitamin B₂) as cofactor [8, 11]. The methyl group from 5-MTHF is transferred via vitamin B₁₂ to homocysteine, in a reaction catalyzed by MTR with production of tetrahydrofolate (THF) and regenerating methionine. THF is then recycled to 5,10-MTHF in the presence of serine and vitamin B₆ by the enzyme serine hydroxymethyltransferase (SHMT) [15]. MTR uses cofactor vitamin B₁₂ (cobalamin) and 5-MTHF as the methyl donor [10].

MTR requires cobalamin (Cbl) as a cofactor, and the resulting complex Cbl(I)MTR, binds the methyl group of 5-MTHF to form methyl Cbl(III)MTR. Upon transfer of the methyl group to homocysteine, Cbl(I)MTR is reformed, which can accept another methyl group from 5-MTHF. Cbl(I) can also be oxidized to Cbl(II), which results in an inactive Cbl(II)MTR complex. Methionine synthase reductase (MTRR) reactivates the Cbl(II)MTR complex by reductive methylation, using SAM as a methyl donor [17]. This pathway is widely distributed in all tissues, with greater activity in the human liver and kidney [10], except red blood cells [10, 15]. The efficient activity of this pathway requires an adequate supply of folic acid and the enzyme MTHFR [10].

Alternatively, homocysteine in liver and kidney can also be converted back to methionine via the folate – independent betaine-homocysteine methyltransferase (BHMT), which catalyzes the transfer of one of the methyl groups of betaine to homocysteine to generate methionine and dimethylglycine [15, 18].

In the transsulfuration pathway homocysteine is irreversibly degraded to cysteine [3, 11]. Transsulfuration is facilitated by the action of two vitamin B₆ – dependent enzymes: cystathionine β-synthase (CBS) and cystathionine γ-lyase (CSE) [10]. CBS catalyzes the condensation of homocysteine and serine to cystathionine and CSE subsequently catalyzes the hydrolysis of cystathionine to cysteine and α-ketobutyrate [10, 11]. This pathway occurs exclusively in the liver, kidney, small intestine, and pancreas and is not found in human cardiovascular cells and tissues [10].

Under normal physiological and metabolic conditions, the two pathways are under strict balance, working synergistically to maintain low levels of intracellular and tissue concentration of homocysteine [10]. SAM plays a central role in the regulation of homocysteine metabolism, by coordinating the fate of homocysteine towards remethylation or transsulfuration pathways; it is an allosteric inhibitor of MTHFR and an activator of CBS activity [11]. When the levels of SAM are adequate to sustain methylation demand, the partitioning of homocysteine between both metabolic pathways is approximately equal [15].

Plasma homocysteine levels and hyperhomocysteinemia

Homocysteine exists in the human plasma in various forms in different proportions [9, 10, 19]. Total homocysteine, therefore, is the total sum of all forms of homocysteine that exist in plasma or serum [20]. Human plasma contains both

care există în plasmă sau ser [20]. Plasma umană conține atât specii reduse, cât și oxidate de homocisteină. Forma oxidată a homocisteinei cuprinde, de obicei, 98-99% din homocisteina serică totală, din care, în 70-80% homocisteina circulă legată de proteină [16, 20]. Aproximativ 25% din homocisteină se leagă cu ea însăși pentru a forma dimer de homocistină, în timp ce restul (<5%) se leagă cu alți tioli, inclusiv, cisteina, pentru a forma disulfuri mixte homocisteină-cisteină [10]. Concentrația homocisteinei libere (forma redusă) în plasmă este foarte mică și reprezintă mai puțin de 2% din homocisteina serică totală [10, 19].

În stare de repaus alimentar, concentrațiile homocisteinei serice totale sunt cuprinse între 5 și 12 $\mu\text{mol/l}$ [9, 21]. Valori mai mari de acest interval definesc hiperhomocysteinemia, care este clasificată în: moderată (15-30 $\mu\text{mol/l}$), intermediară (30-100 $\mu\text{mol/l}$) și severă (>100 $\mu\text{mol/l}$) [9, 10, 20].

Factorii majori determinanți ai concentrației de homocisteină au fost studiați pe larg de mulți cercetători și includ factori genetici, stilul de viață și dieta deficitară [9, 10, 19, 20]. Există o interacțiune complexă între *multipli* factori genetici, metabolici, precum și de mediu, care trebuie să rămână în echilibru pentru a menține un nivel scăzut de homocisteină. O combinație unică sau modificări ale acestor factori pot influența, în mare măsură, homocisteina serică totală [10, 16]. Există două stări majore care au fost intensiv studiate pentru a explica dezvoltarea hiperhomocysteinemiei: factorii genetici și deficiența de vitamine [9, 10].

Defectele genetice în enzimele responsabile de metabolizarea homocisteinei: MTR, MTHFR, MTRR și CBS sunt capabile să producă creșterea severă a concentrației de homocisteină, iar severitatea depinde de locul mutațiilor genice [10].

Cea mai comună și studiată este mutația genei MTHFR, produsă prin substituția citozinei (C) (alela normală) de timină (T) (alela mutantă) în poziția 677 (677C→T), care convertește în loc de alanină, valină [22]. Mutația homozigotă a genei MTHFR în poziția 677 (T/T) conduce la o enzimă cu stabilitate redusă și activitate specifică și produce o proteină termolabilă [22, 23]. Statusul homozigot al acestei mutații este asociat cu hiperhomocysteinemie, de asemenea, și statusul heterozigot, dar în rândul pacienților cu aport scăzut de acid folic. Se raportează o incidență de 5-25% în populație a statusului homozigot pentru această mutație, iar statusul heterozigot este întâlnit cu o frecvență de 50% [13, 24]. Al doilea cel mai studiat polimorfism al genei MTHFR este A1298C. Acest polimorfism a fost asociat cu o activitate enzimatică scăzută. Este o mutație în care adenina este înlocuită cu citozina în poziția 1298 a exonului 7 a genei MTHFR, iar codonul rezultat va codifica în loc de alanină glutamină și, prin urmare, reduce activitatea enzimatică, care este mai pronunțată în statusul homozigot decât în cel heterozigot [23]. Statusul homozigot pentru MTHFR interferează cu regenerarea metioninei datorită scăderii disponibilității donorului de grup metil MTHF, ceea ce conduce la creșterea homocisteinei intracelular și hiperhomocysteinemie [11, 25]. Deficiența enzimei MTHFR este, de asemenea, frecvent asociată cu concentrații inadecvate de foliați [10].

Enzima MTR este responsabilă pentru regenerarea metioninei din homocisteină. Activitatea redusă a enzimei MTR

reduced and oxidized species of homocysteine. The oxidized form of homocysteine usually comprise 98-99% of total plasma homocysteine in human plasma, 70-80% of which is protein-bound [16, 20]. Approximately 25% of the homocysteine binds with itself to form the dimer homocystine, whereas the remainder (<5%) binds with other thiols, including cysteine, to form a homocysteine - cysteine disulfides mix [10]. The concentration of free homocysteine (reduced form) in plasma is very low and accounts for less than 2% of total plasma homocysteine [10, 19].

In the fasting state, normal plasma levels of homocysteine are between 5 and 12 $\mu\text{mol/l}$ [9, 21]. Values above this range define hyperhomocysteinemia, which can be classified into mild (15-30 $\mu\text{mol/l}$), intermediate (30-100 $\mu\text{mol/l}$) and severe (>100 $\mu\text{mol/l}$) hyperhomocysteinemia [9, 10, 20].

The major determinants of homocysteine levels have been extensively reviewed by many authors and include genetic, dietary and lifestyle factors [9, 10, 19, 20]. There is a complex interaction between multiple genetic, metabolic, and environmental factors that must remain in balance to keep homocysteine levels low. A single or combination of changes in these factors can greatly influence an increase in total serum homocysteine [10, 16]. There are two major disorders that have been heavily studied that explain the development of hyperhomocysteinemia: genetic factors and vitamin deficiency [9, 10].

Genetic abnormalities in the enzymes responsible for homocysteine metabolism: MS, MTHFR, MTRR and CBS, are able to produce a more severe elevation in tHcy levels, and the severity is dependent on the site of the gene mutations [10].

The most common and studied MTHFR gene mutation is produced by the substitution of cytosine (C) (normal allele) by thymine (T) (mutated allele) at nucleotide 677 (677C→T), which converts an alanine residue to a valine [22]. A homozygosity mutation of the gene encoding MTHFR (T/T) produces a thermolabile variant that results in an enzyme with reduced stability and specific activity [22, 23]. Homozygosity is associated with hyperhomocysteinemia, and also heterozygosity among patients with low folate intake. Depending on the population, anywhere from 5% to 25% are homozygous and up to 50% heterozygous for this polymorphism [13, 24]. A second polymorphism in MTHFR (A1298C) has also received much attention. This polymorphism has been associated with a decreased enzyme activity. The adenine to cytosine substitution at nucleotide 1298 in exon 7 of MTHFR gene leads to the substitution of glutamic acid by alanine residue, and therefore, reduces its enzymatic activity, which is more pronounced in the homozygous than the heterozygous state [23]. A homozygous deficiency in MTHFR interferes with regeneration of methionine due to decreased availability of the methyl donor MTHF, resulting in an increased intracellular homocysteine level and hyperhomocysteinemia [11, 25]. MTHFR deficiency is also commonly associated with impaired folate status [10].

MTR is responsible for the regeneration of methionine from homocysteine. Diminished activity of MTR due to a genetic abnormality impairs the remethylation of homocysteine and increases the intracellular homocysteine levels by SAM

din cauza defectelor genetice afectează reacția de remetilare a homocisteinei și crește concentrația homocisteinei intracelulare prin mecanismul SAM dependent [10]. În același timp, MTR și MTRR sunt enzime critice, responsabile de biosinteza metioninei. Cel mai frecvent polimorfism în gena MTR este A2756G, care determină schimbarea de aminoacizi, astfel va codifica în loc de acid aspartic glicina; a fost demonstrată contribuția la alterarea concentrațiilor plasmatică de homocisteină și acid folic [26]. Polimorfismul identificat recent în gena MTRR (66A→G) implică substituția aminoacidului izoleucina cu metionina [27].

Deficitul enzimei CBS este cea mai frecventă cauză genetică a hiperhomocisteiniei severe ereditare și este considerată o boală rară, recisiv autosomală [10]. Pacienții cu deficit de CBS prezintă hiperhomocisteinemie severă și homocistinurie, și dezvoltă complicații vasculare grave precoce [15].

Concentrațiile plasmatică de acid folic, vitamină B₁₂ și vitamină B₆ sunt invers proporționale cu concentrația de homocisteină serică totală [28, 29], iar aportul insuficient de acid folic și vitamină B₁₂ duc la scăderea concentrațiilor plasmatică ale ambelor vitamine și creșterea homocisteinei serice totale [29]. Nivelul ridicat de homocisteină este considerat un indicator funcțional de deficit de acid folic și vitamină B₁₂, care rezultă din incapacitatea folatilor de a dona gruparea metil necesară pentru a converti homocisteina la metionină [29, 30]. În 2005, *the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)* a evaluat relația dintre homocisteina serică și folatul seric sau eritrocitar și nivelul seric al vitaminei B₁₂ și a identificat următoarele valori de departajare pentru deficitul de acid folic și vitamina B₁₂, sub care concentrația de homocisteină începe să crească. Astfel, valorile folatului seric <10 nmol/l, folatului eritrocitar <340 nmol/l și vitaminei B₁₂ <150 pmol/l determină elevarea concentrației homocisteinei serice [29, 30].

Hiperhomocisteinemia și complicațiile vasculare

Metabolismul homocisteinei se bazează, exclusiv, pe reacția de remetilare, dependentă de acidul folic și vitamina B₁₂, deoarece, până în prezent, nu a fost demonstrată existența reacției de transsulfurare în celulele endoteliale vasculare. Din cauza absenței degradării ireversibile a homocisteinei la cisteină, sinteza homocisteinei poate depăși rapid exportul celular, având drept rezultat un prejudiciu celular specific, până la moarte celulară. Comparativ cu alte sisteme de organe, sistemul cardiovascular, prin urmare, este deosebit de sensibil la niveluri ridicate de homocisteină [9].

Hiperhomocisteinemia poate altera morfologia vasculară, stimula inflamația, activa endoteliul și cascada de coagulare a sângelui, și inhiba fibrinoliza. Ca rezultat, hiperhomocisteinemia este asociată cu pierderea funcției antitrombotice a endoteliului vascular și inducerea unui mediu procoagulant [9, 31]. Steed M. și colab. (2011) consideră că trei factori: stresul oxidativ, disfuncția endotelială și remodelarea vasculară sunt principalele mecanisme patologice care stau la baza dezvoltării bolii vasculare mediate de homocisteină [10].

Hiperhomocisteinemia este considerată, în prezent, un factor slab protrombotic [32]. S-a demonstrat rolul protrombo-

- dependent mechanisms [10]. At the same time, MTR and MTRR are critical enzymes responsible for the biosynthesis of methionine. The common polymorphism *MTR* A2756G results in an amino acid change of aspartate to glycine, and has been demonstrated to contribute to alterations in the plasma levels of homocysteine and folate [26]. A common *MTRR* polymorphism (66 A→G) substitution specifying an isoleucine to methionine substitution was recently identified [27].

CBS deficiency is the most common genetic and identifiable cause of severe hereditary hyperhomocysteinemia and is considered a rare recessive autosomal disease [10]. CBS deficient patients have severe hyperhomocysteinemia and homocystinuria, and develop premature serious vascular complications [15].

Plasma levels of folic acid, vitamin B₁₂ and vitamin B₆ are inversely related to tHcy concentration [28, 29] and inadequate intake of folate and vitamin B₁₂ leads to low serum or plasma concentrations of both vitamins, and elevated plasma homocysteine [29]. High levels of circulating homocysteine are considered a functional indicator of folate and vitamin B₁₂ deficiency and results from the inability of folate to donate the methyl group necessary to convert homocysteine to methionine [29, 30]. In 2005, *the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)* assessed the relationship between homocysteine and plasma or red blood cell folate and vitamin B₁₂ and identified the cut-off for folate and vitamin B₁₂ deficiency at the folate and vitamin B₁₂ concentrations below which homocysteine concentrations start to rise. The serum/plasma folate level <10 nmol/l, the red blood cell folate level <340 nmol/l and plasma vitamin B₁₂ level <150 pmol/l cause elevation of serum homocysteine concentrations [29, 30].

Hyperhomocysteinemia and vascular damage

Homocysteine metabolism relies exclusively on folate and vitamin B₁₂ dependent remethylation reaction since no transsulfuration has to date been demonstrated in endothelial cells of human blood vessels. Because of the absence of irreversible breakdown of homocysteine to cysteine, homocysteine synthesis may rapidly exceed cell export, resulting in specific cell injury to the point of cell death. Compared with other organ systems, the cardiovascular system is therefore particularly sensitive to elevated homocysteine levels [9].

Hyperhomocysteinemia may alter vascular morphology, stimulate inflammation, activate the endothelium and the blood clotting cascade, and inhibit fibrinolysis. As a result, hyperhomocysteinemia is associated with loss of endothelial antithrombotic function and induction of a procoagulant environment [9, 31]. Steed M. *et al.* (2011) believe that three factors: oxidative stress, endothelial dysfunction, and vascular remodeling are the primary pathological mechanisms underlying homocysteine-mediated vascular diseases [10].

Hyperhomocysteinemia is currently considered a relatively weak prothrombotic factor [32]. Rapidly accumulating evidence links elevated homocysteine levels to thrombosis via several mechanisms, such as increased tissue factor expression, attenuated anticoagulant processes, enhanced platelet reactivity, increased thrombin generation, augmented factor V

gen al homocisteinei prin mai multe mecanisme, cum ar fi: expresia crescută a factorului tisular, atenuarea proceselor anticoagulante, favorizarea agregării plachetare, generarea crescută de trombină, activitatea factorului V, potențialul fibrinolitic deficitar și dezvoltarea leziunilor endoteliale, inclusiv, disfuncția endotelială [5, 33, 34]. Mecanismele moleculare care stau la baza complicațiilor trombotice produse de homocisteină sunt incomplet înțelese și implică stresul oxidativ, hipometilarea ADN-ului, asociată cu un efect proinflamator [32].

Homocisteina și sarcina

Perturbarea metabolizării homocisteinei a fost asociată cu o serie de stări patologice, în special, cu tulburările neurologice, anomaliile congenitale, disfuncția hepatică și renală, cancerul și bolile cardiovasculare. Descoperirea precum că hiperhomocistinemia poate fi, de asemenea, responsabilă pentru apariția mai multor complicații obstetricale, este una recentă. Studiile din acest domeniu sunt, deocamdată, puține și efectuate pe un număr mic de pacienți. Cu toate acestea, este evident faptul că hiperhomocisteinemia este asociată cu avortul spontan recurent, preeclampsia, decolarea prematură a placentei normal inserate, evenimente tromboembolice, defecte ale tubului neural, restricția de creștere intrauterină și moartea intrauterină a fătului.

Femeile însărcinate prezintă valori ale homocisteinei serice totale mai mici decât înafara perioadei de sarcină [21]. Concentrația medie a homocisteinei la femeile gravide este de 5-6 $\mu\text{mol/l}$, iar concentrații $>10 \mu\text{mol/l}$ sunt rareori observate. Vollset S. și colab. (2000) sugerează că nivelul plasmatic al homocisteinei $>10 \mu\text{mol/l}$ este responsabil de apariția complicațiilor în sarcină [6]. Și în cazul femeilor de vârstă reproductivă, homocisteina serică totală este influențată de statutul seric al acidului folic și vitamina B₁₂ [21]. Andresson A. și colab. (1992) au determinat că niveluri scăzute de homocisteină pot fi identificate al doilea trimestru de sarcină, cu o creștere relativă, de la 32 de săptămâni de gestație și până la termen. O revenire la concentrațiile normale sunt observate după 2-4 zile postpartum [36]. Scăderea homocisteinei nu pare a fi influențată de nivelul estrogenilor sau progesteronului. Hemodiluția și rata sporită a reacției de remetilare a homocisteinei, datorită cererilor crescute de metionină de către făt, ar putea contribui la valorile reduse ale homocisteinei în timpul sarcinii [21, 29]. Suplimentarea cu acid folic poate reduce și mai mult concentrația totală de homocisteină serică pe parcursul sarcinii [37]. Metabolismul acidului folic și homocisteinei sunt interdependente, deoarece folatul este un cofactor necesar pentru enzima MTR, care mediază conversia homocisteinei la metionină [30].

Creșterea homocisteinei serice totale este asociată cu un risc crescut de vasculopatie placentară [21]. Dezvoltarea placentei la etapa timpurie a sarcinii poate fi influențată negativ de creșterea concentrației homocisteinei materne. Studiile experimentale relevă faptul că nivelurile ridicate de homocisteină (16-24 $\mu\text{mol/l}$) pot induce stresul oxidativ și efectul citotoxic, ceea ce determină disfuncție endotelială și lezare de endotelium [39]. În plus, expunerea celulelor trofoblastice

activity, impaired fibrinolytic potential, and vascular injury, including endothelial dysfunction [5, 33, 34]. Molecular mechanisms underlying prothrombotic actions of homocysteine are incompletely understood and involve oxidative stress, DNA hypomethylation and proinflammatory effects [32].

Homocysteine and pregnancy

Disturbances in homocysteine metabolism have been associated with a host of pathologic conditions, including neurological disorders, congenital abnormalities, hepatic and renal dysfunction, cancer and cardiovascular diseases. The discovery that hyperhomocysteinemia may also be responsible for several pregnancy complications has only recently been made. Studies in this area are still scarce and report on limited numbers of patients. It nevertheless appears clear that hyperhomocysteinemia is associated with the syndromes of repeated miscarriage, preeclampsia, placenta abruptio, thromboembolic events, neural tube defects, and with fetal death in utero and intrauterine growth retardation.

Pregnant women have lower plasma tHcy than nonpregnant women [21]. The mean tHcy concentration in pregnant women is 5-6 $\mu\text{mol/l}$, and tHcy concentrations $>10 \mu\text{mol/l}$ are rarely observed. Vollset S. *et al.* (2000) suggests that plasma homocysteine $>10 \mu\text{mol/l}$ is responsible for the complications and adverse outcomes of pregnancy [6]. As with nonpregnant women, tHcy is influenced by cobalamin and folate status [21]. Andresson A. *et al.* (1992) determined that the lowest levels appear to be in the second trimester and a relative increase from about 32 weeks of gestation until term. A return to normal concentrations are seen with 2-4 days postpartum [36]. The decrease of homocysteine does not seem to be related to estrogens or progestogens. Hemodilution and increased remethylation of homocysteine due to increased demands of methionine by the fetus might contribute to the reduced homocysteine values during pregnancy [21, 29]. Folic acid supplementation may further reduce the total homocysteine concentration during pregnancy [37]. The metabolism of folate and homocysteine are interrelated, since folate is a necessary cofactor for the MTR enzyme that mediates conversion of homocysteine to methionine [30].

Increased tHcy is associated with an increased risk of a placental vasculopathy [21]. Placental development in early pregnancy may be negatively influenced by increased maternal homocysteine concentrations. Experimental studies revealed that moderately elevated homocysteine concentrations (16-24 $\mu\text{mol/l}$) may induce cytotoxic and oxidative stress, leading to endothelial cell impairment [39]. Additionally, exposure of trophoblast cells to homocysteine ($>15 \mu\text{mol/l}$) may increase cellular apoptosis and lead to inhibition of trophoblastic function [30, 39]. Khong and Hague (1999) reviewed the placental pathology in women diagnosed retrospectively to have hyperhomocysteinemia, following a recent history of intrauterine fetal growth restriction or of thromboembolic disease. Most of the placental findings indicated abnormal placentation with absence of trophoblast-induced physiological vascular change in the spiral arteries of the placental bed [30]. Homocysteine is thought to be related to early placentation, so it may affect

la homocisteină (>15 $\mu\text{mol/l}$) pot crește apoptoza celulară și inhiba funcția trofoblastică [30, 39]. Savanții Khong și Hague (1999), au evaluat patologia placentară la femeile diagnosticate retrospectiv cu hiperhomocisteinemie, datorită anamnezei obstetricale recente de restricție de creștere intrauterină a fătului sau de boală tromboembolică. Rezultatul a indicat, în cele mai multe cazuri, placentă anormală, cu absența schimbărilor vasculare fiziologice, induse de trofoblast, în arterele spiralate ale patului placentar [30]. Se consideră că homocisteina poate influența placentă timpurie, astfel încât poate afecta creșterea fetală ulterioară [39]. Recent, Di Simone și colab. (2004), au demonstrat faptul că placenta umană este o țintă pentru homocisteină. Atunci când celulele trofoblastice au fost expuse la homocisteină, a fost observată o cascadă de evenimente precum: eliberarea citocromului c în citosol, creșterea celulelor pozitive M30 și clivajul internucleosomal al ADN-ului în fragmente. Ei au sugerat că moartea trofoblastului ar putea reprezenta un mecanism prin care homocisteina provoacă complicațiile obstetricale asociate cu insuficiența placentară [30].

Hiperhomocisteinemia maternă este asociată cu un risc crescut de apariție a malformațiilor congenitale [5], inclusiv, defecte de tub neural (DTN) [40-42], labioschizis, palatoschizis [43] și sindromul Down [44].

Eva Lopez-Quesada și colab. (2003), au observat că hiperhomocisteinemia este prezentă la 18,7% dintre pacientele cu preeclampsie, comparativ cu 3,0% din lotul de control, în al treilea trimestru de sarcină, ceea ce reprezintă un risc de 7,7 ori mai mare de a dezvolta preeclampsia la femeile gravide [45]. Ronnenberg A. și colab. (2002), au constatat că o concentrație serică crescută de homocisteină și o valoare suboptimală a vitaminei B₁₂ pot crește riscul de naștere prematură [46]. Kramer M. și colab. (2009), au elucidat că homocisteina a fost semnificativ și independent asociată cu riscul de naștere prematură [47].

Datele din studiile de evaluare a prevalenței polimorfismului MTHFR 677C>T (ca determinant genetic al hiperhomocisteinemiei) în diverse complicații ale sarcinii sunt la fel de concludente, cu dovezi puternice de implicare a genotipului TT ca factor de risc pentru decolarea de placenta normal inserată [37]. Studiile efectuate de Nelen W. și colab. (2000) [48], Coulam C. și colab. (2003) [49] și Puri M. și colab. (2013) [50], demonstrează că la femeile însărcinate, hiperhomocisteinemia și polimorfismul MTHFR 677C>T reprezintă factori de risc pentru defecte de tub neural și avortul spontan recurent. Statusul homozigot pentru alela 677T este asociat cu niveluri ridicate de homocisteină, predominant la persoanele care au un nivel plasmatic redus de folat [24]. În plus, nivelul de homocisteină serică poate fi redus la indivizii homozigoți prin suplimentarea cu acid folic. Din acest motiv, toate femeile de vârstă reproductivă ar trebui să administreze suplimente cu acid folic în doză de, cel puțin, 400 $\mu\text{g/zi}$ pe tot parcursul sarcinii [21, 51]. Administrarea acidului folic a demonstrat inhibarea efectelor homocisteinei asupra trofoblastului uman [30].

subsequent fetal growth [39]. Recently, Di Simone *et al.* (2004) provided the first demonstration that human placenta is a target for homocysteine. When trophoblast cells were exposed to homocysteine, a cascade of events was observed: the cytosolic release of cytochrome c, an increase in M30 positive cells and the internucleosomal DNA fragmentation. They suggested that trophoblast death might represent one mechanism by which homocysteine causes pregnancy complications related to placental diseases [30].

Maternal hyperhomocysteinemia is related to birth defects [5], including neural tube defects (NTD) [40-42], orofacial clefts, clubfoot [43] and Down syndrome [44].

Eva Lopez-Quesada *et al.* (2003) observed that hyperhomocysteinemia was present in *preeclampsia group* when compared with those in *control group* (18.7% vs. 3.0%) in the third trimester of pregnancy, which represents that pregnant women had a 7.7-fold higher risk of developing preeclampsia [45]. Ronnenberg A. *et al.* (2002) found that the increased serum homocysteine concentrations and the suboptimal serum levels of vitamin B₁₂ may increase the risk of premature birth [46]. Kramer M. *et al.* (2009) elucidated that homocysteine was independently associated with the risk of premature birth [47].

Data from studies assessing the prevalence of the MTHFR 677C>T variant (as a genetic determinant of elevated total homocysteine) on various complications of pregnancy are similarly inconclusive, with the strongest evidence implicating TT genotype as a risk factor for abruptio placentae [37]. Studies conducted by Nelen W. *et al.* (2000), Coulam C. *et al.* (2003) and Puri M. *et al.* (2013) [50] demonstrates that in pregnant women hyperhomocysteinemia and MTHFR 677C>T polymorphism are risk factors for NTD and recurrent embryo loss. Homozygosity for the 677T allele is associated with elevated homocysteine levels, predominantly in individuals who have a low plasma folate level [24]. Furthermore, the level of plasma homocysteine can be lowered in homozygous individuals by folate supplementation. For this reason, all women of childbearing age should have a folate intake of at least 400 $\mu\text{g/day}$ during the pregnancy [21, 51]. Folic acid demonstrated a significant inhibition of the effects of homocysteine on human trophoblast [30].

Discussion

Data from multiple studies suggest that elevated homocysteine levels was associated with higher risk of thrombotic events and cardiovascular disease. These achievements have contributed to a substantial extent in assessment of the role of serum homocysteine in the sphere of obstetric. Gained clinical experience allowed establishing a relationship between hyperhomocysteinemia and the risk of adverse outcomes of pregnancy, but definitive and clear answers remains elusive.

Recent studies have highlighted the importance of the determination of total serum homocysteine, particularly in women of childbearing age who have experienced pregnancy complications, such as: pregnancy affected by NTD, children

Discuții

Datele multiplelor studii, efectuate până acum, sugerează faptul că nivelele crescute de homocisteină sunt asociate cu riscul trombozei și al bolilor cardiovasculare. Aceste realizări au contribuit, într-o măsură substanțială, la evaluarea rolului homocisteinei serice în sfera obstetricală. Experiența, acumulată în practica clinică, a permis stabilirea interconexiunii dintre hiperhomocisteinemie și riscul apariției patologiilor obstetricale, dar un răspuns definitiv și clar rămâne, însă, evaziv.

Studiile recente atestă importanța determinării nivelului homocisteinei serice, în special, la pacientele de vârstă reproductivă cu antecedente obstetricale complicate, așa ca: sarcină afectată de DTN, nașterea copiilor cu DTN, anomalii congenitale, preeclampsie, naștere prematură [21]. Din alt punct de vedere, numărul studiilor concludente care au avut drept obiectiv evaluarea rolului homocisteinei și impactului ei în patologia obstetricală și reproductivă, este încă foarte mic. Aceasta ar impune efectuarea unei analize riguroase, ce presupune ca cercetările să poarte un caracter prospectiv, grupurile de paciente în studiu să fie omogene și comparabile, utilizarea aceluiași protocol standard și complet de urmărire, cuantificare și evaluare a rezultatelor, care să permită identificarea și demonstrarea fără echivoc a unor eventuale corelații între acumularea homocisteinei serice și riscul în dezvoltarea și apariția patologiilor obstetricale.

Un alt aspect, considerat important, este legătura dintre homocisteină și statutul vitaminelor grupului B. În ultimii ani, există un interes tot mai mare față de acidul folic și vitamina B₁₂ datorită conștientizării faptului că statutul acestor vitamine joacă un rol important în reproducere. Pe de altă parte, în prezent, cel mai important indicator funcțional pentru concentrațiile de acid folic și vitamina B₁₂ este homocisteina serică totală. Această proprietate conferă concentrațiilor de homocisteină din plasmă calitatea de indicator al statutului de folat și vitamina B₁₂ [30]. Relația dintre homocisteină, vitaminele grupului B și complicațiile sarcinii este mai complexă și trebuie luată în considerare. În general, sursele bibliografice, identificate pentru această sinteză de literatură, susțin ipoteza că un deficit de acid folic și/sau vitamină B₁₂ conduce la o hiperhomocisteinemie ușoară. Din acest motiv, toate femeile de vârstă fertilă trebuie să administreze suplimente cu acid folic în doză de, cel puțin, 400 μg/zi pe tot parcursul sarcinii [21, 51].

Concluzii

Există motive biologice plauzibile precum că nivelul crescut al homocisteinei serice totale reprezintă un factor de risc pentru afecțiunile mediate de insuficiența placentară, cum ar fi: preeclampsia, avortul spontan, decolarea de placentă, defecte congenitale. Totuși, studiile din acest domeniu sunt, deocamdată, puține și efectuate pe un număr mic de persoane. Lucrarea de față subliniază necesitatea derulării unor studii prospective, multicentrice, pe eșantioane mari, pentru a preciza rolul homocisteinei în dezvoltarea patologiilor obstetricale.

born with NTD, *congenital anomalies*, preeclampsia, recurrent early pregnancy loss, premature delivery [21]. From another point of view, the number of studies which attempted to evaluate the role of homocysteine and its impact on obstetric and reproductive pathology is still very small. This requires a rigorous analysis by doing a prospective cohort studies with homogeneous group of patients, using the same protocol standards, quantifying and evaluating the results, that will allow for the unequivocal identification and demonstration of possible correlations between elevated serum homocysteine concentrations and the risk of complications and adverse outcomes of pregnancy.

Another aspect considered important is the link between the homocysteine and B vitamins status. In recent years there has been growing interest in the vitamins folic acid and vitamin B₁₂ because of the realization that the status of these vitamins play an important role in reproduction. By the other hand, currently, the most important functional indicator is tHcy concentrations for folate and vitamin B₁₂. These features make plasma homocysteine concentrations a good indicator of folate and vitamin B₁₂ status [30]. This relationship between homocysteine, B vitamins and pregnancy outcomes is more complicated, and the interaction between these factors must be considered. Generally speaking, these data collected for this review support the hypothesis that a compromised maternal folate and/or vitamin B₁₂ status lead to a mild hyperhomocysteinemia, for this reason, all women of childbearing age should have a folate intake of at least 400 μg/day during the pregnancy [21, 51].

Conclusions

There are biologically plausible reasons that increased total serum homocysteine is a probable risk factor for placenta-mediated diseases, such as preeclampsia, spontaneous abortion, placental abruption birth defects. However, there are only few studies in this field and small numbers of patients have been reported. Our results underline the need of large prospective studies to evaluate the role of homocysteine in all types of complications and adverse outcomes of pregnancy.

Declaration of conflicting interests

Authors declare no financial or non-financial conflict of interests.

Authors' contribution

EV proposed the concept and design of the present manuscript, performed the selection of the literature and contributed to the drafting of the text. VM has performed critical reviews and contributed to the editing of the manuscript. The final manuscript was read and approved by all the authors.

Declarația de conflict de interes

Autorii declară lipsa conflictului de interese financiare sau nonfinanciare.

Contribuția autorilor

EV a propus conceptul și design-ul studiului, a efectuat selecția literaturii și a contribuit la elaborarea și redactarea textului manuscrisului. VM a efectuat o analiză critică și a ajutat la redactarea manuscrisului. Manuscrisul final a fost citit și aprobat de către toți autorii.

Referințe / references

- McCully K. The Biomedical Significance of Homocysteine. *Journal of Scientific Exploration*, 2001; 15 (1): 5-20.
- Hurjui L. ș. a. Impactul clinic al hiperhomocisteinemiei: rol, cauze, tratament. *Clasic și modern în fiziopatologie. O abordare integrativă în educație și cercetare*, 2015: 229-235.
- Alan L. et al. Homocysteine metabolism: nutritional modulation and impact on health and disease. *Alternative Medicine Review*, 1997; 4: 234-254.
- Forges T. et al. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health. *Human Reproduction*, 2007; 13 (3): 225-238.
- Gerdes V. et al. Homocysteine and markers of coagulation and endothelial cell activation. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2003; 2: 445-451.
- Vollset S. et al. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland Homocysteine Study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000; 71: 962-8.
- Picciano M. Is homocysteine a biomarker for identifying women at risk of complications and adverse pregnancy outcomes? *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000; 71: 857-858.
- Den Heijer M. et al. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2000; 3 (2): 292-299.
- Stanger O. et al. Clinical use and rational management of homocysteine, folic acid, and B vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases. *Zeitschrift für Kardiologie*, 2004; 93: 439-453.
- Steed M., Tyagi S. Mechanisms of cardiovascular remodeling in hyperhomocysteinemia. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2011; 15 (7): 1927-43.
- Finkelstein J. The metabolism of homocysteine: pathways and regulations. *European Journal of Pediatrics*, 1998; 157 (supplement 2): S40-S44.
- Selhub J. Public health significance of elevated homocysteine. *Food and Nutrition Bulletin*, 2008; 29 (2) (supplement): S116-S125.
- Shane B. Folate and vitamin B12 metabolism: overview and interaction with riboflavin, vitamin B6, and polymorphisms. *Food and Nutrition Bulletin*, 2008; 29 (2) (supplement): S5-S16.
- Chen N. et al. Regulation of homocysteine metabolism and methylation in human and mouse tissues. *The FASEB Journal*, 2010; 24: 2804-2817.
- Rocha M. Crossroads of homocysteine, nitric oxide and asymmetric dimethylarginine metabolisms. Involvement of S-adenosylhomocysteine and impaired cellular methylation. Lisbon, 2012: 15-25.
- Djuric D. et al. Homocysteine, folic acid and coronary artery disease: possible impact on prognosis and therapy. *The Indian Journal of Chest Diseases & Allied Sciences*, 2008; 50: 39-48.
- Blom H., Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2011; 34 (1): 75-81.
- Eldibany M., Caprini J. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2007; 131: 872-884.
- Rasmussen K., Moller J. Total homocysteine measurement in clinical practice. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2000; 37: 627-48.
- Jacobsen W. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clinical Chemistry*, 1998; 44, 8 (B): 1833-1843.
- Refsum H. et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clinical Chemistry*, 2004; 50 (1): 3-32.
- Zetterberg H. Methylenetetrahydrofolate reductase and transcobalamin genetic polymorphisms in human spontaneous abortion: biological and clinical implications. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2004; 2: 7.
- Li W. et al. Homocysteine metabolism gene polymorphisms (MTHFR C677T, MTHFR A1298C, MTR A2756G and MTRR A66G) jointly elevate the risk of folate deficiency. *Nutrients*, 2015; 7: 6670-87.
- Durand P. et al. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Laboratory Investigation*, 2001; 5: 645-672.
- Guilliams T. Homocysteine – a risk factor for vascular diseases: guidelines for the clinical practice. *The Journal of the American Nutritional Association*, 2004; 7: 10-24.
- de Cássia Carvalho Barbosa R. et al. Interaction of MTHFR C677T and A1298C, and MTR A2756G gene polymorphisms in breast cancer risk in a population in Northeast Brazil. *Anticancer Res.*, 2012; 32 (11): 4805-11.
- Gaughan D. et al. The methionine synthase reductase (MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations. *Atherosclerosis*, 2001; 157 (2): 451-6.
- Green R. Indicators for assessing folate and vitamin B₁₂ status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. *Food and Nutrition Bulletin*, 2008; 2 (supplement): S52-S63.
- WHO. Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B12 deficiencies. *Food and Nutrition Bulletin*, 2008; 29 (2) (supplement): S238-S244.
- WHO. Serum and red blood cell folate concentrations for assessing folate status in populations. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. Geneva, World Health Organization, 2012. Disponibil la adresa: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75584/1/WHO_NMH_NHD_EPG_12.1_eng.pdf]. Accesat pe: 22.03.2017

31. Antoniadou C. *et al.* Homocysteine and coronary atherosclerosis: from folate fortification to the recent clinical trials. *European Heart Journal*, 2009; 30: 6-15.
32. Undas A., Brozek J., Szczeklik A. Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinical evidence. *Thromb. Haemost.*, 2005; 94 (5): 907-15.
33. Harpel P. *et al.* Homocysteine and hemostasis: pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis. *The Journal of Nutrition*, 1996; Suppl.: 1285S-1289S.
34. Weiss N. Mechanisms of increased vascular oxidant stress in hyperhomocysteinemia and its impact on endothelial function. *Current Drug Metabolism*, 2005; 6: 27-36.
35. Patel A. *et al.* Effect of homocysteine, vitamin B12, folic acid during pregnancy. *NHL Journal of Medical Sciences*, 2012; 1 (1): 27-31.
36. Andersson A. *et al.* Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur. J. Clin. Chem. Biochem*, 1992; 30: 377-379.
37. Molloy A. *et al.* Effects of folate and vitamin B12 deficiencies during pregnancy on fetal, infant, and child development. *Food and Nutrition Bulletin*, 2008; 29 (2) (supplement): S101-S111.
38. Di Simone N. *et al.* Effect of folic acid on homocysteine-induced trophoblast apoptosis. *Molecular Human Reproduction*, 2004; 10 (9): 665-669.
39. Bergen N. *et al.* Homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and the risk of adverse pregnancy outcomes: the Generation R Study. *BJOG*, 2012; 119 (6): 739-751.
40. Mills J. *et al.* Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet*, 1995; 345: 149-151.
41. Steegers-Theunissen R. *et al.* Neural tube defects and elevated homocysteine levels in amniotic fluid. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1995; 172: 1436-1441.
42. Ubbink J. Is an elevated circulating maternal homocysteine concentration a risk factor for neural tube defects? *Nutrition Reviews*, 1995; 53: 173-175.
43. Wong W. *et al.* Nonsyndromic orofacial clefts: association with maternal hyperhomocysteinemia. *Teratology*, 1999; 6: 253-257.
44. James S. *et al.* Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1999; 70: 495-501.
45. López-Quesada E. *et al.* Plasma total homocysteine in uncomplicated pregnancy and in preeclampsia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Medicine*, 2003; 108 (1): 45-49.
46. Ronnenberg A. *et al.* Preconception homocysteine and B vitamin status and birth outcomes in Chinese women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2002; 76: 1385-1391.
47. Kramer M. *et al.* Vasculopathic and thrombophilic risk factors for spontaneous preterm birth. *International Journal of Epidemiology*, 2009; 38: 715-723.
48. Nelen W. *et al.* Homocysteine and folate levels as risk factors for recurrent early pregnancy loss. *Obstetrics and Gynecology*, 2000; 95: 519-524.
49. Coulam C. *et al.* Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2006; 55 (5): 360-368.
50. Puri M. *et al.* MTHFR C677T polymorphism, folate, vitamin B12 and homocysteine in recurrent pregnancy losses: a case control study among North Indian women. *Journal of Perinatal Medicine*, 2013; 41 (5): 549-554.
51. WHO. WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience. Geneva, World Health Organization, 2016. Disponibil la adresa: [<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250796/1/9789241549912-eng.pdf?ua=1>] Accesat pe: 22.03.2017.