FRI-2K.201-HP-05

HOMOCYSTEINE: METABOLIC, CLINICAL AND IATROGENIC INTERACTIONS [5]

Daniela Krasimirova, MD, PhD
"Daniela Medika – APMP -IP" EOOD Razgrad
Union of Scientists Razgrad
ORCID ID: https://orcid.org/0009-0007-8150-5148
Phone: +350 897 685 090
E-mail: daniela-medika@abv.bg

Abstract: *This cross-sectional observational study investigates the clinical, metabolic, and iatrogenic determinants of serum homocysteine in general outpatient practice. A total of 52 sex-balanced patients (26 males and 26 females) with confirmed normal serum folate and vitamin B6 levels and no dietary restrictions were included. Biochemical parameters, comorbidities, pharmacotherapy, and lifestyle factors were evaluated using comparative and correlational statistical analyses. Results indicate that baseline demographic factors such as sex ($p = 0.672$) and age ($p = 0.956$), as well as isolated cardiovascular diseases ($p = 0.971$), lipid fractions, and HbA1c, do not independently influence homocysteine levels. Conversely, chronic proton pump inhibitor (PPI) therapy emerged as the primary determinant of marked hyperhomocysteinemia (17.56 ± 2.58 vs. 10.80 ± 3.59 μmol/L; $p < 0.001$, Cohen's $d = 1.919$), accompanied by a significant decline in vitamin B12 status ($p = 0.004$). Metformin therapy was also associated with a significant reduction in cobalamin levels ($p = 0.045$). The relationship with vitamin B12 exhibited a distinct threshold effect (ANOVA, $p = 0.002$). Serum creatinine correlated positively with homocysteine ($\rho = 0.297, p = 0.033$), reflecting renal elimination dynamics, while alcohol consumption proved to be a significant behavioral modifier ($p = 0.014$). Smoking, caffeine, and physical activity did not reach statistical significance. In conclusion, in outpatient primary care, homocysteine functions primarily as a functional marker of iatrogenically induced malabsorption and subclinical organ dysfunction rather than an isolated cardiovascular predictor, highlighting the necessity of targeted laboratory monitoring during long-term PPI and metformin therapy.*

Keywords: *Homocysteine, Vitamin B12, Proton Pump Inhibitors, Metformin, Serum Creatinine, General Medical Practice.*

ВЪВЕДЕНИЕ

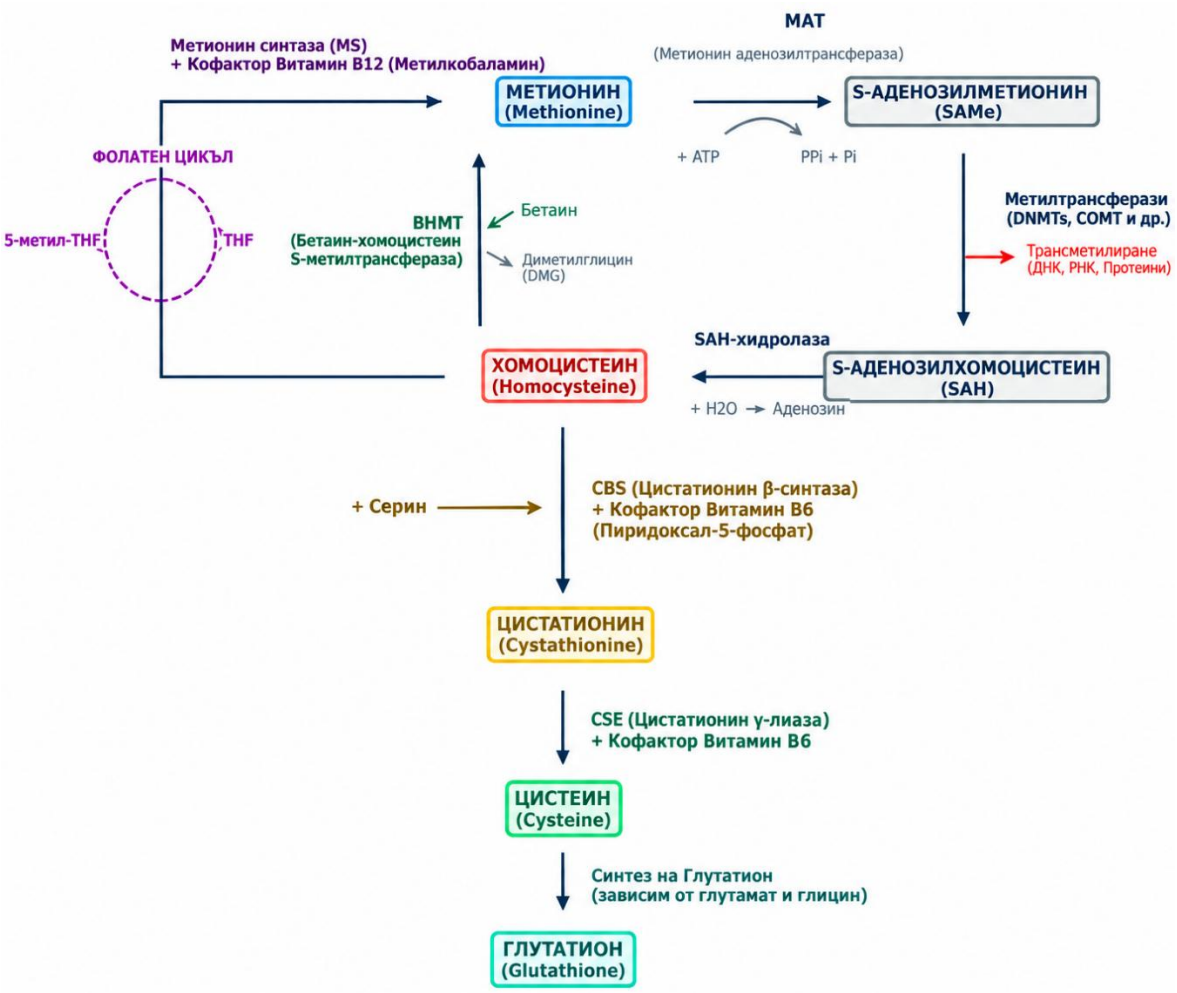
Хомоцистеинът (Нсу) е сяросъдържаща аминокиселина с химическа формула е $C_4H_9NO_2S$. Той не се набавя директно чрез храната и не се включва в структурата на протеините в организма. Синтезира се като междинен метаболит по време на биотрансформацията на есенциалната аминокиселина метионин. Целта на настоящия доклад е да се изследва комплексното въздействие на социално-демографските, клиничните и свързаните с начина на живот фактори върху метаболизма на хомоцистеина и да се оцени значението им за клиничното поведение в общата медицинска практика.

ИЗЛОЖЕНИЕ

Метаболизмът на хомоцистеина се извършва между два основни биохимични процеса, които поддържат клетъчната хомеостаза и метилирането на ДНК. Основният път за поддържане на ниски плазмени нива е цикъла на реметилиране, тоест превръщането обратно в метионин. (Finkelstein, 1990) За извършването на този път съществуват и два алтернативни механизма: зависим от фолат и витамин B12 път и зависим от бетаин път. Вторият биохимичен път е чрез транссулфурация и настъпва, когато в организма има излишък от метионин или нивата на аденозилметионин са високи, хомоцистеинът се насочва към необратим разпад. (Mudd et al., 2001; Selhub, 1999) (**Фигура 1**).

Нивата на общия плазмен хомоцистеин в организма са силно чувствителни и се влияят от широк спектър от генетични, диетични, патологични и външни фактори.

[5] Докладът е представен на 65-та Научна конференция на Русенски университет „Ангел Кънчев“ и Съюз на учените – Русе в секция „Промоция на здраве“ на 23.10.2026 г. с оригинално заглавие на български език: ХОМОЦИСТЕИН - МЕТАБОЛИТНИ, КЛИНИЧНИ И ЯТРОГЕННИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ.



Фигура 1. Биохимичен път за метаболизъм на хомоцистеин

Към генетични фактори спадат полиморфизми в MTHFR гена и дефекти в CBS гена. Най-честата генетична причина е мутацията C677T в гена за ензима метилентетрахидрофолат редуктаза. Хомозиготните носители (TT) имат намалена ензимна активност с над 60%, което води до значително повишен хомоцистеин. При мутации, причиняващи дефицит на цистатионин-бета-синтаза, водят до класическа хомоцистинурия – тежко състояние с нива на хомоцистеин > 100 µmol/L.

В групата на хранителните и диетични фактори се причисляват дефицитът на фолат (витамин B9), кобаламин (витамин B12) или пиридоксин (витамин B6). Недостигът на тези ензими блокира съответните метаболитни пътища и води до акумулиране на хомоцистеин в плазмата. Повишеният прием на метионин от диети, прекомерно богати на червено месо и млечни продукти, може временно да повиши нивата на хомоцистеин. При веганство и вегетарианство, поради липса на хранителни източници на витамин B12, се формира много висок риск от хиперхомоцистеинемия, ако не се суплементира правилно.

Клиничните състояния, които водят до повишено натрупване на хомоцистеин в организма са хронична бъбречна недостатъчност (ХБН), защото през бъбреците се осъществява клирънса и метаболизма на хомоцистеина. Намаляването на гломерулната филтрация (GFR) е правопропорционално свързано с повишаване на хомоцистеин в плазмата. При хипотиреоидизмът са намалени нивата на тиреоидни хормони, които забавят метаболизма на ензимите, участващи в реметилирането. При малабсорбцията , която е част от патофизиологични процеси при Болест на Крон, цьолиакия или пернициозна анемия се нарушава резорбцията на B-витамини в червата. (Refsum et al., 1998; van Guldener and Stehouwer, 2003)

Нивата на хомоцистеин естествено се повишават с напредването на възрастта. Мъжете по принцип имат по-високи нива от жените в пременопауза, поради по-голямата мускулна маса и

ефекта на естрогените, които стимулират транссулфурацията. Никотинът и етанолът инактивират част от ензимите и кофакторите (особено пиридоксал фосфата и витамин B12), причинявайки хронично повишение на плазмените нива. Големите количества кафе доказано повишават хомоцистеина чрез инхибиране на фолатния метаболизъм.

Редица лекарствени взаимодействия оказват влияние върху нивата на хомоцистеин. Метформинът блокира абсорбцията на витамин B12 в илеума. Метотрексатът е антифолатен лекарствен продукт, който директно инхибира ензима дихидрофолат редуктаза. Фибратите променят бъбречната функция и креатининовия клирънс, което индиректно повишава плазмения хомоцистеин.

В кръвната плазма хомоцистеинът съставлява съвкупност от три основни форми: протеин-свързан хомоцистеин (70-80%), свободни окислени форми (20-30%) и свободен редуциран хомоцистеин (<1%). Поради тази хетерогенност, първата задължителна стъпка при всеки лабораторен метод е пълната химична редукция за освобождаване на целиия протеин-свързан и свързан в дисулфиди хомоцистеин до свободна редуцирана форма. Съвременната клинична биохимия разчита на три основни методологични групи за измерване на хомоцистеин: тандемна мас-спектрометрия с течна хроматография (LC-MS/MS), имунохимични методи и ензимни колометрични методи. (Refsum et al., 2004; Ueland et al., 1993) LC-MS/MS е „златният стандарт“ в лабораторната диагностика. Методът съчетава физическото разделяне на молекулите чрез течна хроматография с високоспецифичното измерване на тяхната маса и заряд чрез мас-спектрометър. Имунохимичните методи са най-разпространените методи в рутинната клинична практика. Включват технологии като CMIA (Хемилуминесцентен микрочастицов имуноанализ) и EIA/ELISA (Ензимно-свързан имуносорбентен анализ), пригодени за напълно автоматизирани лабораторни платформи. Ензимните колориметрични методи използват ензимен каскаден механизъм, при който крайната реакция води до промяна в оптичната плътност (абсорбция), пропорционална на концентрацията на хомоцистеин.

През последното десетилетие се натрупаха доказателства, че повишеното ниво на общия хомоцистеин е независим рисков фактор за съдови заболявания.

ЦЕЛ: Да се изследва комплексното въздействие на социално-демографските, клиничните и свързаните с начина на живот фактори върху метаболизма на хомоцистеина и да се оцени значението им за клиничното поведение в общата медицинско практика.

ЗАДАЧИ

1. Профилиране на популацията: Да се направи социално-демографска, клинична и поведенческа характеристика на изследваната пациентска група, с фокус върху разпространението на рисковите фактори, придружаващите заболявания и приеманата терапия.
2. Оценка на базовата връзка: Да се анализира статистическата зависимост между серумните нива на хомоцистеин и витамин B12 в контекста на общата практика.
3. Анализ на клиничното влияние: Да се определи значимостта на специфични придружаващи заболявания върху стойностите на хомоцистеина.
4. Анализ на фармакологичното влияние: Да се оцени въздействието на често изписвани медикаменти върху нивата на хомоцистеин и витамин B12.
5. Оценка на факторите от начина на живот: Да се изследва ролята на храненето, тютюнопушенето, алкохолната консумация и други поведенчески навици като модификатори на метаболизма на хомоцистеина.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Настоящото изследване е проектирано като наблюдателно, неинтервенционално, срезово клинично проучване. То има за цел да анализира моментното състояние на предварително дефинирани клинични, лабораторни и демографски показатели при целева група пациенти в условията на реалната медицинска практика.

Проучването е осъществено в периода от януари 2026 г. до август 2026 г. Данните са събрани и анализирани на базата на пациентския поток в рамките на амбулаторна практика за първична извънболнична медицинска помощ, локализирана в гр. Разград, България.

Обект на настоящото проучване са 52-ма пълнолетни пациенти (N=52), провели профилактичен преглед в амбулаторната практика през изследвания период. Включването на пациентите в извадката е осъществено на базата на предварително дефинирани критерии.

Критерии за включване

- Пациенти на възраст над 18 години.
- Наличие на актуални лабораторни резултати за серумни нива на хомоцистеин и витамин B12, измерени в рамките на изследвания период.
- Наличие на актуални стойности за серумен фолат и витамин B6, попадащи в референтните норми.
- Пълна налична документация относно придружаващи заболявания, приемана медикаментозна терапия и основни фактори от начина на живот.

Критерии за изключване

- Пациенти с доказан дефицит на фолиева киселина (фолат) и/или витамин B6, с цел елиминиране на тяхното влияние върху метаболизма на хомоцистеина като объркващи фактори.
- Непълни данни относно основния клиничен и демографски профил.

За целите на анализа беше създадена структурирана база данни, обхващаща следните групи променливи за всеки включен участник:

Социално-демографски и антропометрични данни:

- Пол
- Възраст

Фактори, свързани с начина на живот:

- Тютюнопушене
- Алкохолна консумация
- Прием на кофеин

Диапазони на дневен прием на кофеин:

- 0 mg – Не консумират;
- 10 mg – 130 mg - Ниска консумация;
- 130 mg – 300 mg - Умерена консумация;
- 300 mg – 400 mg - Висока консумация.

- Физическа активност

Диапазони за седмична физическа активост:

- 0-149 минути - Недостатъчна активност (Заседнал начин на живот);
- 150-300 минути - Оптимален базов диапазон (Умерена активност);
- Над 300 минути - Висока активност.

- Начин на хранене
- Веганство/вегетарианство

Клиничен профил:

- Гастроинтестинални заболявания
- Кардиологични заболявания
- Ендокринни заболявания

4.4. Фармакологична анамнеза за хроничен прием на:

- Метформин
- Инхибитори на протонната помпа (ИПП)
- Други медикаменти с потенциално влияние върху разглежданите метаболитни пътища.

4.5. Лабораторни показатели:

- Хомоцистеин (серумни нива)

Референтни стойности: 5.0 – 15.0 µmol/L

- Витамин B12 (серумни нива)

Референтни стойности: 180 – 880 pg/ml

- Креатинин
- Референтни граници:

Жени: 44.0 – 106.0 µmol/L
Мъже: 53.0 – 115.0 µmol/L

- Липиден профил: LDL-холестерол, HDL-холестерол, Триглицериди (TG)

Референтни стойности:
LDL-холестерол:
Норма < 2.85 mmol/L
Гранично високо: 2.85 – 3.34 mmol/L.

При пациенти с доказани кардиологични заболявания, прицелните стойности са < 1.8 - < 1.4 mmol/L

HDL-холестерол:
Мъже: > 1.03 mmol/L.
Жени: > 1.29 mmol/L.
Триглицериди: < 1.70 mmol/L

- Гликиран хемоглобин (HbA1c)

Референтни стойности:
Норма (здрави лица): до 6.0 %.
Повишен риск (предиабет): 6.0 – 6.4 %.
Диагностично за захарен диабет: ≥ 6.5 %.
Цел при вече диагностицирани пациенти: обикновено < 7.0 %

- Контролни маркери (в норма при всички*):* Фолат и Витамин B6.

Референтни стойности:
Фолиева киселина (Фолат): 10.4 – 42.4 nmol/L.
Витамин B6 (Пиридоксин): 35.0 – 110.0 nmol/L.

Методи за статистическа обработка

Събраните данни са въведени и анализирани с помощта на специализиран статистически софтуер IBM SPSS Statistics ver.27.

- Описателната статистика е използвана за представяне на демографските и клиничните характеристики на извадката (честоти, проценти за категорийните променливи; средни стойности и стандартни отклонения за количествените).
- Сравнителен анализ (напр. T-test или ANOVA) е приложен за оценка на разликите в нивата на хомоцистеин между различни клинични и фармакологични групи.
- Корелационен анализ е използван за оценка на връзката между количествените променливи.
- Нивото на статистическа значимост е определено при $p < 0.05$.

Етични аспекти

Проучването е съобразено с основните принципи на Декларацията от Хелзинки за провеждане на медицински изследвания. Данните на всички пациенти бяха пълно анонимизирани преди статистическата обработка, без разкриване на лична идентифицираща информация.

Резултати

В настоящото проучване бяха включени общо 52 пациенти (N=52), от които жени n=26 и мъже n=26. Средната възраст на изследваните лица е 52.35 ± 13.15 години, като възрастовият диапазон варира в широки граници – от 27 до 85 години.

Анализът на придружаващата патология разкрива високо разпространение на кардиологични заболявания, които са налице при повече от половината от пациентите – 30 души (57.7%). Ендокринологични заболявания са регистрирани при 8 пациенти (15.4%), а гастроентерологични нарушения се наблюдават при 5 лица (9.6%).

По отношение на хроничната медикаментозна терапия, която има пряко отношение към метаболизма на витамин B12 и хомоцистеина: 7 от пациентите (13.5%) са на системна терапия с метформин. Хроничен прием на ИПП съобщават 5 лица (9.6%). Други специфични медикаменти се приемат само от 1 пациент (1.9%).

Оценката на поведенческите фактори показва, че активните пушачи в групата са 20 (38.5%). По-голямата част от пациентите – 41 души (78.8%) декларират липса на алкохолна консумация (абстиненти), докато умерена консумация се наблюдава при 8 души (15.4%), а тежка – при 3-ма (5.8%). Приемът на кофеин при преобладаващата част от групата е в ниски дози (10 – 130 мг дневно), установен при 46 пациенти (88.5%), а 4 лица (7.7%) съобщават за умерен прием. В изследваната популация няма пациенти на веганска или вегетарианска диета. По отношение на двигателния режим се установява дефицит – значителен дял от извадката (41 пациенти, 78.8%) е с ниска физическа активност (0 – 149 мин/седмично). Оптимална (150 – 300 мин/седмично) и висока (над 300 мин/седмично) активност поддържат съответно едва 11.5% и 9.6% от изследваните лица.

Основните лабораторни параметри на пациентите, включващи маркери на хомоцистеиновия метаболизъм, бъбречна функция, липиден профил и въглехидратна обмяна, са представени чрез методите на описателната статистика в **Таблица 1.**

Таблица 1. Описателна статистика на изследваните лабораторни показатели при общата популация (n=52)

Лабораторен показател	**Средна стойност**	**Стандартно отклонение (± SD)**	**Минимум**	**Максимум**
Хомоцистеин (µmol/L)	11.45	4.03	4.28	26.71
Витамин B12 (pg/ml)	404.83	154.36	148.00	944.00
Креатинин (µmol/L)	73.22	17.43	40.00	125.00
LDL-холестерол (mmol/L)	3.32	1.01	1.59	7.92
HDL-холестерол (mmol/L)	1.48	0.51	0.76	3.44
Триглицериди (mmol/L)	1.42	0.96	0.26	5.36
Гликиран хемоглобин - HbA1c (%)	5.51	1.06	4.30	10.50

Както е видно от **Таблица 1**, средната стойност на серумния хомоцистеин за цялата група е 11.45 ± 4.03 µmol/L, което попада в горната граница на общоприетите референтни стойности. Налице е обаче значителна вариация, като максималната регистрирана стойност достига 26.71 µmol/L, индикирайки наличието на изразена хиперхомоцистеинемия при част от изследваните лица. Средните нива на витамин B12 са в нормални граници (404.83 ± 154.36 pg/ml), но минималната стойност от 148.00 pg/ml насочва към наличие на дефицит в субпопулацията. По отношение на метаболитния профил, средните нива на гликиран хемоглобин са в норма (5.51%), макар максималната стойност от 10.50% да отразява включването на пациенти с лошо контролиран захарен диабет. При липидния профил прави впечатление гранично високата средна стойност на LDL-холестерола (3.32 ± 1.01 mmol/L), което кореспондира с високата честота на сърдечно-съдови заболявания в разглежданата кохорта.

Анализът на основните демографски детерминанти не установи статистически значима зависимост между серумните концентрации на хомоцистеин, биологичния пол и възрастта на пациентите в изследваната амбулаторна кохорта ($n = 52$).

При съпоставяне на стойностите според пола се отчита сходно серумно ниво при мъжете (11.69 ± 3.54 μmol/L, $n = 26$) и жените (11.21 ± 4.52 μmol/L, $n = 26$), като разликата не достига статистическа значимост ($t(50) = 0.426$, $p = 0.672$, Cohen's $d = 0.118$).

Параметричният и непараметричният корелационен анализ не регистрират линейна зависимост между възрастта като непрекъсната величина и хомоцистеина (коефициент на Pearson: $r = 0.068$, $p = 0.630$; коефициент на Spearman: $\rho = 0.099$, $p = 0.485$).

При последващото стратифициране в две възрастови групи - подгериатрична (< 65 г., $n = 43$) и гериатрична (≥ 65 г., $n = 9$), средните стойности на хомоцистеина остават практически идентични (11.43 ± 4.26 μmol/L срещу 11.52 ± 2.87 μmol/L; $t(50) = -0.055$, $p = 0.956$, Cohen's $d = -0.020$). За разлика от хомоцистеина, при витамин B12 се отчита тенденция към по-ниски стойности в гериатричната група (2.22 ± 0.83 спрямо 2.79 ± 0.47; $t(9.07) = 1.983$, $p = 0.078$, Cohen's $d = 1.049$).

Анализът на факторите от начина на живот показва, че консумацията на алкохол оказва статистически значимо влияние върху нивата на серумния хомоцистеин, докато тютюнопушенето, приемът на кофеин и степента на физическа активност не водят до самостоятелни статистически достоверни различия.

Сравнителният анализ между пушачи ($n = 20$) и непушачи ($n = 32$) не регистрира статистически значима разлика в серумните концентрации на хомоцистеин.

- Средната стойност при активните пушачи е 11.82 ± 4.35 μmol/L, а при непушачите — 11.22 ± 3.87 μmol/L.
- Тестът на Льовен показа хомогенност на дисперсиите ($F = 1.142, p = 0.290$).
- Разликата от $+0.60$ μmol/L не достига статистическа значимост ($t(50) = 0.515, p = 0.609$; 95% CI $[-1.73; 2.92]$), със слаб размер на ефекта (Cohen's $d = 0.147$).
- Статусът на витамин B12 също е съпоставим между двете групи (2.65 ± 0.59 срещу 2.72 ± 0.58; $t(50) = -0.413, p = 0.681$, Cohen's $d = -0.118$).

Еднофакторният дисперсионен анализ регистрира статистически значима разлика в нивата на хомоцистеин в зависимост от степента на алкохолна консумация (абстиненти, умерена и тежка консумация): $F(2,49) = 4.663, \quad p = 0.014$.

Вариацията между групите ($MS = 66.129$) значително надвишава вариацията вътре в групите ($MS = 14.182$), потвърждавайки алкохолната консумация като съществен външен модификатор на хомоцистеиновия метаболизъм.

Разпределението на пациентите според дневната доза кофеин (липса на консумация, нисък прием 10–130 мг и умерен прием 130–300 мг) не показва връзка със серумния хомоцистеин: $F(2,49) = 0.420, \quad p = 0.660$. Междугруповата дисперсия е минимална ($MS = 6.964$ срещу $MS = 16.597$).

При съпоставяне на трите нива на физическа активност (ниска $0 - 149$ мин/седм., оптимална $150 - 300$ мин/седм. и висока > 300 мин/седм.) се очертава статистическа тенденция, без да се достига конвенционалният праг на значимост: $F(2,49) = 2.436, \quad p = 0.098$.

Разликите между групите по двигателна активност ($MS = 37.401$ срещу вътрегрупова $MS = 15.355$) индикират възможно биологично влияние, което в извадка от 52-ма души остава на ниво гранична значимост.

Таблица 2. Влияние на поведенческите фактори върху нивата на серумен хомоцистеин

Фактор от начина на живот	Статистически метод	Параметри на теста	Ниво на значимост (p)	Интерпретация
Тютюнопушене	Independent T-Test	$t(50) = 0.515$	0.609	Незначимо (сходни нива)
Алкохол	One-Way ANOVA	$F(2,49) = 4.663$	**0.014**	**Статистически значимо**
Кофеин	One-Way ANOVA	$F(2,49) = 0.420$	0.660	Незначимо
Физическа активност	One-Way ANOVA	$F(2,49) = 2.436$	0.098	Статистическа тенденция

За оценка на линейната зависимост между абсолютните серумни стойности на витамин B12 и хомоцистеина беше проведен двумерен корелационен анализ.

- Коефициент на Pearson: $r = -0.246$, $p = 0.079$ ($N = 52$).
- Коефициент на Spearman: $\rho = -0.185$, $p = 0.190$ ($N = 52$).

Резултатите показват умерено изразена обратна зависимост ($r = -0.246$), която очертава статистическа тенденция ($p = 0.079$), без да достига конвенционалния праг за статистическа значимост ($p < 0.05$) при оценка на показателите като непрекъснати линейни променливи.

При разделяне на извадката в три клинично дефинирани категории според статуса на витамин B12 ($df = 2$), еднофакторният дисперсионен анализ (One-Way ANOVA) регистрира високо статистически значима разлика в нивата на хомоцистеин между групите: $F(2,49) = 6.831, \quad p = 0.002$.

Контрастът между корелационния анализ ($p = 0.079$) и дисперсионния анализ ($p = 0.002$) разкрива важна биологична особеност: зависимостта между витамин B12 и хомоцистеина не е строго линейна по целия диапазон от стойности, а притежава прагов характер.

При стратифициране по категории, спадът на витамин B12 под определен праг води до рязко и диспропорционално повишаване на серумния хомоцистеин поради изчерпване на субстрата за метионин синтазата.

На **таблица 3** е представен сравнителен анализ на нивата на хомоцистеин и категориите на витамин B12 спрямо фармакотерапия и съпътстваща патология.

Получените зависимости доказват, че хиперхомоцистеинемията в изследваната амбулаторна група не е изолиран феномен на кардиоваскуларната патология сама по себе си, а има подчертано ятрогенен произход, медииран от вторичен кобаламинов дефицит вследствие приема на ИПП и метформин.

Таблица 3. Сравнителен анализ на нивата на хомоцистеин и витамин B12 спрямо фармакотерапия и съпътстваща патология

Показател / Фактор	*Група*	*n*	*Хомоцистеин (µmol/L) Mean ± SD*	*t-критерий (t)*	*Ниво на значимост (p)*	*Cohen's d*	*Витамин B12 Mean ± SD*	*t-критерий (t)*	*Ниво на значимост*	*Cohen's d*
ИПП	Да Не	5 47	17.56 ± 2.58 10.80 ± 3.59	4.080	< 0.001	1.919	2.00 ± 0.71 2.77 ± 0.52	-3.031	0.004	-1.426
Метформин	Да Не	7 45	13.73 ± 5.23 11.09 ± 3.76	1.638	0.108	0.666	2.29 ± 0.76 2.76 ± 0.53	-2.061	0.045	-0.837
Кардиологични заболявания	Да Не	30 22	11.47 ± 3.58 11.43 ± 4.65	0.036	0.971	0.010	2.60 ± 0.62 2.82 ± 0.50	-1.400*	0.168	-0.374
Ендокринологични заболявания	Да Не	8 44	12.63 ± 5.28 11.23 ± 3.79	0.901	0.372	0.346	2.63 ± 0.52 2.70 ± 0.59	-0.355	0.724	-0.136
Гастроентерологични заболявания	Да Не	5 47	17.56 ± 2.58 10.80 ± 3.59	4.080	< 0.001	1.919	2.00 ± 0.71 2.77 ± 0.52	-3.031	0.004	-1.426

** Приложена е корекция за неравни дисперсии (Equal variances not assumed).*

Непараметричният корелационен анализ по метода на Spearman идентифицира серумния креатинин като единствения лабораторен биохимичен показател със статистически значима зависимост спрямо нивата на хомоцистеин (**Таблица 4**).

Таблица 4. Непараметрични корелации между нивата на хомоцистеин и биохимичните параметри

Биохимичен показател	**Коефициент на корелация (ρ)**	**Ниво на значимост (p)**	**Статистическа значимост**
Креатинин (µmol/L)	**0.297**	**0.033**	$p < 0.05$ (значима)
Витамин B12	-0.185	0.190	н.з.
LDL-холестерол (mmol/L)	-0.106	0.455	н.з.
HDL-холестерол (mmol/L)	0.063	0.659	н.з.
Триглицериди (mmol/L)	-0.094	0.509	н.з.
HbA1c (%)	0.065	0.648	н.з.

н.з. = незначима ($p > 0.05$)

Установява се умерена, положителна корелационна зависимост между серумния креатинин и хомоцистеина ($\rho = 0.297, p = 0.033$). Нарастването на креатининовите нива се асоциира с повишаване на серумния хомоцистеин, което отразява ролята на бъбречния паренхим и гломерулната филтрация в метаболизирането и елиминирането на аминокиселината в амбулаторни условия.

Нито един от показателите на липидния статус (LDL-холестерол: $\rho = -0.106, p = 0.455$; HDL-холестерол: $\rho = 0.063, p = 0.659$; Триглицериди: $\rho = -0.094, p = 0.509$), нито маркерът за дългосрочен гликемичен контрол (HbA1c: $\rho = 0.065, p = 0.648$) показват директна зависимост с хомоцистеина.

Анализът регистрира класически метаболитни взаимодействия в извадката - силна отрицателна корелация между HDL и триглицериди ($\rho = -0.730, p < 0.001$), отрицателна корелация между HDL и HbA1c ($\rho = -0.567, p < 0.001$) и умерена положителна връзка между триглицеридите и HbA1c ($\rho = 0.597, p < 0.001$). Липсата на пряка корелация между тези метаболитни маркери и хомоцистеина потвърждава, че хиперхомоцистеинемията в изследваната популация е независим патофизиологичен процес, детерминиран от екскреторния капацитет на бъбреците и субстратната наличност на кобаламин, а не пряк компонент на дислипидемията или хипергликемията.

ДИСКУСИЯ

Настоящото срезово проучване предоставя поглед върху метаболитните взаимодействия и факторите, определящи серумните нива на хомоцистеин в условията на реалната обща медицинска практика. Обобщените резултати показват, че при контролиран статус на фолат и витамин B6 и липса на диетичен кобаламинов дефицит, вариациите в хомоцистеина не се обуславят от базисни демографски характеристики (пол и възраст), нито корелират пряко с традиционния липиден профил или изолираното наличие на сърдечно-съдова коморбидност.

Средната серумна концентрация на хомоцистеин в изследваната амбулаторна кохорта е 11.45 ± 4.03 µmol/L (диапазон 4.28 – 26.71 µmol/L), като интервалът от 5.0 до 15.0 µmol/L се приема за конвенционална референтна норма (Popova et al., 2016; Cleveland Clinic, 2021). В национален мащаб

проучванията на Angelova et al. определят референтните граници за здравата българска популация съответно на 7.4 – 18.5 μmol/L при мъже и 5.5 – 14.5 μmol/L при жени. Авторите установяват значимо по-високи средни концентрации при мъжете (11.86 ± 0.33 μmol/L) спрямо жените (9.88 ± 0.27 μmol/L; $p < 0.001$) (Angelova et al., 2005). В паралелен анализ същият екип доказва, че средните нива на хомоцистеин в България като цяло превишават тези в останалата част от Европа — констатация, кореспондираща с високата сърдечно-съдова заболеваемост и смъртност в страната (Angelova et al., 2006).

Разминаването между граничната линейна корелация на B12 ($p = 0.079$) и високозначимия дисперсионен анализ по категории ($F = 6.831, p = 0.002$) разкрива праговия характер на метаболитното блокиране. Тъй като в кохортата серумният фолат и витамин B6 са стриктно в референтни граници за всички лица и липсват вегани или вегетарианци (Cleveland Clinic, 2021; Majchrzak et al., 2006), ензимният път на транссулфурация чрез цистатионин β-синтазата (CBS) и фолатният метаболизъм функционират компенсирано (Selhub, 1999; Popova et al., 2016; Cleveland Clinic, 2021). Рязка акумулация на хомоцистеин настъпва едва когато серумният кобаламин спадне под критичен праг, лишавайки метионин синтазата от необходимия кофактор (Selhub, 1999; Cleveland Clinic, 2021).

Положителната корелация между серумния креатинин и хомоцистеина ($\rho = 0.297, p = 0.033$) съответства на доказаната роля на бъбреците като основен орган за метаболизиране и клирънс на аминокиселината (Refsum et al., 2004; Tan et al., 2000). Всяко понижение на гломерулната филтрация води до намалена елиминация и серумна ретенция. Това налага в амбулаторната практика дори леко повишеният серумен креатинин да се разглежда като самостоятелна детерминанта за хиперхомоцистеинемия, изискваща диференциране от чист витаминен дефицит (van Guldener and Stehouwer, 2003; Refsum et al., 2004).

Консумацията на алкохол се очертава като статистически значим поведенчески модификатор ($F = 4.663, p = 0.014$). Етанолът оказва директно хепатотоксично действие, инактивира ключови ензими в метиониновия цикъл и изчерпва тъканните депа на кобаламин и пиридоксал-5-фосфат (Cleveland Clinic, 2021).

За разлика от мащабни епидемиологични проучвания, които установяват повишен хомоцистеин при пушачи и лица с висок прием на кафе (de Bree et al., 2001; Nygård et al., 1997), в нашата извадка тютюнопушенето ($p = 0.609$) и кофеинът ($p = 0.660$) не достигат статистическа значимост. Това се обяснява с факта, че 88.5% от пациентите консумират ниски дози кофеин, а при пушачите липсва паралелен дефицит на фолат или витамин B6, който при класически популации мултиплицира токсичния ефект на тютюневия дим върху пиридоксал-5-фосфата (Cleveland Clinic, 2021; de Bree et al., 2001).

Макар в нашата амбулаторна кохорта кардиологичните заболявания да не показаха изолирана линейна връзка с нивата на показателя, значението на хомоцистеина за съдовата патология остава неоспоримо. Както посочва Транчева в своя анализ върху хомоцистеина като предиктор на патологични промени в човешкия организъм (Trancheva, 2023), както и редица български и международни автори, хиперхомоцистеинемията отключва каскада от патогенетични механизми — индукция на оксидативен стрес, намаляване бионаличността на азотен оксид (NO), парадоксална пролиферация на съдовите гладкомускулни клетки и активиране на тромбогенезата. Нашите констатации допълват тази парадигма, показвайки че в реалната обща практика хомоцистеинът действа не като самостоятелен каузален фактор за изолирани сърдечно-съдови събития, а като интегрален епидемиологичен маркер за системно метаболитно и ендотелно обременяване, пряко медиирано от органната функция и фармакотерапията.

Липсата на директна корелация между хомоцистеина, съпътстващите кардиологични заболявания ($p = 0.971$), липидните фракции и HbA1c съответства на съвременния научен консенсус, базиран на големите клинични изпитвания HOPE-2 (HOPE-2 Investigators, 2006), SEARCH (SEARCH Collaborative Group, 2010), VISP (Toole et al., 2004) и VITATOPS (VITATOPS Trial Study Group, 2010). Тези проучвания доказаха, че понижаването на хомоцистеина с витамини от група B намалява риска от инсулт с около 25% (HOPE-2) (Cleveland Clinic, 2021), но не редуцира

честотата на миокарден инфаркт и общата съдова смъртност (HOPE-2 Investigators, 2006; SEARCH Collaborative Group, 2010; Toole et al., 2004; VITATOPS Trial Study Group, 2010).

Хиперхомоцистеинемията предизвиква ендотелна дисфункция чрез генериране на оксидативен стрес, намаляване бионаличността на азотен оксид (NO), стимулиране пролиферацията на съдовата гладка мускулатура и активиране на коагулацията (Popova et al., 2016; Cleveland Clinic, 2021; Weiss et al., 2003), тя функционира предимно като чувствителен епидемиологичен маркер за съдово увреждане, а не като самостоятелен каузален фактор за коронарни инциденти (Cleveland Clinic, 2021).

В условията на първичната извънболнична помощ изследването на хомоцистеин има най-висока клинична стойност не за изолиран кардиоваскуларен скрининг, а като инструмент за установяване на ятрогенно индуцирани метаболитни нарушения при пациенти на полифармакотерапия, както и при субклинична бъбречна дисфункция (Refsum et al., 2004; Popova et al., 2016).

Ограничения на проучването

При интерпретацията и екстраполацията на получените резултати следва да се отчетат няколко методологични ограничения:

- Ограничен обем на извадката ($n = 52$): Въпреки че броят на участниците осигурява достатъчна статистическа мощност за идентифициране на фактори с висок размер на ефекта, размерът на кохортата ограничава възможността за провеждане на надежден мултивариантен регресионен анализ.
- Селекционни критерии: Включването единствено на пациенти с нормофолатемия и референтни нива на пиридоксин успешно елиминира основните външни объркващи фактори, но същевременно стеснява изводите само до популации със съхранен кофакторен статус по останалите метаболитни звена.
- Липса на специфични допълнителни биомаркери: Кобаламиновият статус беше дефиниран чрез тотален серумен витамин B12, без паралелно изследване на активен холотранскобаламин или метилмалонова киселина (MMA), поради високата им цена и трудна достъпност.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящото проучване предоставя задълбочен поглед върху детерминантите на хомоцистеиновия метаболизъм в условията на реалната обща амбулаторна практика при съхранен статус на серумен фолат и витамин B6.

Резултатите налагат преосмисляне на клиничната роля на хомоцистеина в първичната медицинска помощ, като преместват акцента от използването му като пасивен сърдечно-съдов показател към разглеждането му като чувствителен функционален маркер за ятрогенно индуцирани дефицити и органна дисфункция.

REFERENCES

Angelova, E.A., Minkova, G.D., Atanasova, P.A., Semerdjieva, M.A. and Tzvetkova, T.Z. (2005) *'A study of plasma total homocysteine levels in healthy people'*, Folia Med (Plovdiv), 47(3-4), pp. 53-58.

Angelova, E.A., Minkova, G.D. and Tsvetkova, T.Z. (2006) *'Total plasma homocysteine in Bulgarian population measured by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection—comparison with fluorescence polarization immunoassay'*, Clin Lab, 52(9-10), pp. 527-533.

Cleveland Clinic Laboratories (2021) *Homocysteine: Clinical Guidelines, Diagnostic Algorithm and Metabolic Pathways.* Cleveland (OH): Cleveland Clinic.

de Bree, A., Verschuren, W.M., Blom, H.J. and Kromhout, D. (2001) *'Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample',* Am J Epidemiol, 154(2), pp. 150-157.

Ducros, V., Belva-Besnet, H., Casetta, B. and Favier, A. (2002) *'A robust liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for total homocysteine determination in plasma'*, Clinica Chimica Acta, 323(1-2), pp. 101-109.

Finkelstein, J.D. (1990) *'Methionine metabolism in mammals'*, The Journal of Nutritional Biochemistry, 1(5), pp. 228-237.

Frantzen, F., Faaren, A.L., Alfheim, I. and Nordhei, A.K. (1998) *'An enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum'*, Clinical Chemistry, 44(2), pp. 311-316.

Majchrzak, D., Singer, I., Männer, M., Rust, P., Genser, D. and Wagner, K.H. (2006) *'B-vitamin status and total homocysteine in vegans and omnivores'*, Ann Nutr Metab, 50(6), pp. 485-491.

Mudd, S.H., Levy, H.L. and Kraus, J.P. (2001) *'Disorders of transsulfuration', in The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8, pp. 2007-2056.

Nygård, O., Refsum, H., Ueland, P.M. and Vollset, S.E. (1997) *'Coffee consumption and plasma total homocysteine: The Hordaland Homocysteine Study'*, Am J Clin Nutr, 65(1), pp. 136-143.

Popova, I., Lozanov, V. and Miteva, L. (2016) *'Homocysteine and Comorbidity in Psoriasis – Interrelationships and Correlations'*, GP News, (10), pp. 15-18.

Refsum, H., Ueland, P.M., Nygård, O. and Vollset, S.E. (1998) *'Homocysteine and cardiovascular disease'*, Annual Review of Medicine, 49(1), pp. 31-62.

Refsum, H., Smith, A.D., Ueland, P.M., Nexo, E., Clarke, R., McPartlin, J. and Scott, J.M. (2004) *'Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion'*, Clinical Chemistry, 50(1), pp. 3-32.

Selhub, J. (1999) *'Homocysteine metabolism'*, Annual Review of Nutrition, 19(1), pp. 217-246.

Tan, Y., Tang, L., Sun, X., Zhang, N., Han, Q., Xu, M. and Hoffman, R.M. (2000) *'Enzymatic assay for total homocysteine in circulating blood'*, Clinical Chemistry, 46(10), pp. 1686-1688.

The HOPE-2 Investigators (2006) *'Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease'*, N Engl J Med, 354(15), pp. 1567-1577.

The SEARCH Collaborative Group (2010) *'Effects of homocysteine-lowering with folic acid plus vitamin B12 in patients with previous myocardial infarction (SEARCH): a randomised, placebo-controlled trial'*, Lancet, 376(9748), pp. 1233-1244.

The VITATOPS Trial Study Group (2010) *'B vitamins in patients with recent transient ischaemic attack or ischaemic stroke (VITATOPS trial): a randomised, double-blind, parallel, placebo-controlled trial'*, Lancet Neurol, 9(9), pp. 855-865.

Toole, J.F., Malinow, M.R., Chambless, L.E., Spence, J.D., Pettigrew, L.C., Howard, V.J. et al. (2004) *'Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial'*, JAMA, 291(5), pp. 565-575.

Trancheva, D. (2023) *'Homocysteine—predictor of pathological changes in the human body'*, Proc Univ Ruse, 62(Ser 8.4), pp. 11-15.

Ueland, P.M., Refsum, H., Stabler, S.P., Green, R., Nygård, O. and Allen, R.H. (1993) *'Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications'*, Clinical Chemistry, 39(9), pp. 1764-1779.

van Guldener, C. and Stehouwer, C.D. (2003) *'Homocysteine metabolism in renal disease'*, Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 41(11), pp. 1412-1417.

Weiss, N., Heydrick, S.J., Postea, O., Keller, P., Keaney, J.F. and Loscalzo, J. (2003) *'Influence of hyperhomocysteinemia on the cellular redox state—impact on endothelial dysfunction'*, Clin Chem Lab Med, 41(11), pp. 1455-1461.