

## Ocena stężenia homocysteiny u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych

### *Evaluation of the homocysteine concentration in the patients with atheromatous ischemia of lower extremities*

Dorota Gašiorowska, Katarzyna Korzeniowska, Anna Jablecka

Zakład Farmakologii Klinicznej, Katedra Kardiologii, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

#### Streszczenie

**Wstęp.** Homocysteina (Hcy) silnie wpływa na proces miażdżycowy, zarówno poprzez inicjowanie powstawania blaszki, jak i nasilanie istniejących już zmian. Podwyższenie jej stężenia we krwi związane jest ze zwiększonym ryzykiem chorób o podłożu miażdżycowym, zwłaszcza choroby wieńcowej i zawału serca, a także udaru mózgu i miażdżycowego niedokrwienia kończyn dolnych. Celem pracy było oznaczenie stężenia homocysteiny u pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a. **Material i metody.** Badania przeprowadzono łącznie u 37 osób, wśród których wyróżniono grupę 25 chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a oraz grupę kontrolną (n = 12). Zastosowano maksymalne kryteria porównawcze badanych grup w odniesieniu do: wieku, płci, masy ciała i wskaźnika BMI. Stężenie L-homocysteiny w osoczu oznaczano za pomocą metody immunochemicznej z pomiarem natężenia fluorescencji w świetle spolaryzowanym (*Fluorescence Polarization Immunoassay* – FPIA). **Wyniki.** U chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych stężenie homocysteiny wynosiło 15,74  $\mu\text{mol/l}$ , w grupie kontrolnej 11,39  $\mu\text{mol/l}$ . **Wnioski.** 1. W grupie chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a stwierdzono statystycznie wyższe wartości stężeń homocysteiny niż w grupie kontrolnej. 2. Na podstawie danych piśmiennictwa, można rozważyć oznaczanie stężeń homocysteiny w klinicznej ocenie chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych. (*Farm Współ* 2009; 2: 24-35)

*Słowa kluczowe: homocysteina, miażdżyca, kończyny dolne*

#### Summary

**Introduction.** Homocysteine has a significant influence on the atherosclerotic process, regarding both the initiation of the plaque formation as well as the intensification of the already existing changes. The increasing level of homocysteine in blood is connected with the risk of growing susceptibility to illnesses being the result of atherosclerosis, especially coronary heart disease and the myocardial infarction as well as ischaemic stroke and atheromatous ischaemia of the lower extremities. The aim of the thesis was to estimate the level of homocysteine concentration in the patients with atherosclerotic lower limbs ischaemia in II degree of the Fontaine's classification. **Material and methods.** The study was carried out on the 25 subjects who had the atherosclerotic lower limbs ischaemia in II degree of the Fontaine's classification and the healthy persons (n = 12), together – the 37 subjects. The maximal comparative criterions have been used within the exam groups with the reference to: age, sex, body mass and BMI. The L-homocysteine concentration level in plasma was estimated by the Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA) method. **Results.** In the patients with atheromatous ischaemia the mean homocysteine concentration was 15,74  $\mu\text{mol/l}$ , in the control - 11,39  $\mu\text{mol/l}$ . **Conclusions.** 1. In the group of the patients with atheromatous ischaemia of lower extremities in II degree of the Fontaine's classification, the statistically higher homocysteine concentration in comparison with the control group was reported. 2. According to current scientific

literature, estimation of homocysteine concentration level may be considered in clinical examination of patients with atheromatous ischaemia of lower extremities. (*Farm Współ* 2009; 2: 24-35)

*Keywords: homocysteine, atherosclerosis, lower limbs*

## Wstęp

Badania nad rolą homocysteiny w patogenezie miażdżycy rozpoczęto po odkryciach Kilmera McCully'ego. W 1969 r. przeprowadził on badanie sekcyjne dwojga dzieci zmarłych w wyniku powikłań homocystynurii (zespół zaburzeń metabolicznych objawiający się wysokim stężeniem homocysteiny we krwi - 300-500  $\mu\text{mol/l}$  - oraz w moczu) stwierdził rozległą zakrzepicę i zmiany miażdżycowe tętnic. Na tej podstawie sformułował hipotezę, że skoro wysokie stężenie homocysteiny powoduje duże nasilenie zmian miażdżycowych, prowadzące często do śmierci w wieku młodzieńczym, to jej umiarkowanie podwyższone stężenie może powodować odpowiednio mniej nasilone zmiany, niedające istotnych objawów klinicznych, aż do około czterdziestego roku życia [1-4].

Szereg badań klinicznych potwierdził hipotezę McCully'ego, wykazując, że nie tylko ciężka hiperhomocysteinemia, ale również umiarkowane podwyższenie stężenia homocysteiny w surowicy jest związane z podwyższonym ryzykiem chorób zależnych od miażdżycy tętnic, a zwłaszcza choroby wieńcowej i zawału mięśnia sercowego [5-13].

Homocysteina jest aminokwasem siarkowym, który nie wchodzi w skład białek. Powstaje we wszystkich komórkach organizmu człowieka, w toku fizjologicznej demetylacji metioniny – aminokwasu siarkowego, dostarczanego z pożywieniem [14-16]. Metabolizm homocysteiny obejmuje głównie dwa procesy: transsulfurację i metylację, w których biorą udział: witaminy B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> oraz kwas foliowy. Odpowiednia podaż tych witamin pozwala obniżyć stężenie homocysteiny oraz utrzymać je na prawidłowym poziomie (5-15  $\mu\text{mol/l}$ ) [1,15,17-20]. Szczególnie istotne jest to u pacjentów z hiperhomocysteinemią oraz osób, u których występują czynniki ryzyka hiperhomocysteinemii. Czynniki te są: genetycznie uwarunkowany niedobór lub brak enzymów ( $\beta$ -syntazy cystationiny, reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofolianowej) uczestniczących w metabolizmie homocysteiny, nabyte niedobory koenzymów przemian homocysteiny (kwasu foliowego, witamin B<sub>12</sub> i B<sub>6</sub>) [1,16,18,19,21,22],

liczne choroby (niewydolność nerek, cukrzyca, niedoczynność tarczycy, niewydolność wątroby, łuszczyca, białaczka limfoblastyczna, choroba Cushinga), leki (metotreksat, fenytoina, karbamazepina, kwas walproinowy, środki antykoncepcyjne zawierające estrogen, L-dopa, cholestyramina, fenofibrat, bezafibrat, cyklosporyna, metformina, niacyna, izoniazyd, teofilina) oraz stosowanie używek (alkohol, papierosy, kawa) [1,15,17,18,23-30].

Prawie wszystkie badania kliniczne potwierdzają silny związek pomiędzy podwyższonym poziomem homocysteiny a chorobami układu sercowo-naczyniowego [6,8-13]. U chorych z wysokimi stężeniami tego aminokwasu odnotowano prawie 2-krotnie wyższą umieralność z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego [31].

Homocysteina działa przede wszystkim na komórki śródbłonna naczyń krwionośnych. Wpływ ten ujawnia się, gdy jej poziom we krwi przez wiele lat przekracza 12-30  $\mu\text{mol/l}$ , a dodatkowo współistnieją jeszcze inne czynniki ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego. W niektórych przypadkach homocysteina może samoistnie wywoływać zmiany naczyniowe, mimo iż uznawana jest za dość słaby, niezależny czynnik ryzyka. Nie można jednak nie zwrócić uwagi na fakt, że 20-40% osób z chorobami naczyniowymi ma podwyższony poziom tego związku [32].

Obecnie, uważa się, że mechanizm szkodliwego działania homocysteiny na naczynia krwionośne obejmuje: cytotoksyczny wpływ na komórki śródbłonna, upośledzanie rozszerzalności tętnic zależnej od śródbłonna, aterogenne działanie tiolaktonu homocysteiny, generowanie stresu oksydacyjnego oraz zdolność do peroksydacji lipidów, wpływ na komórki mięśni gładkich i kolagen, nasilenie procesu zapalnego oraz działanie prozakrzepowe [18,32-42]. Homocysteina może inicjować powstawanie blaszki miażdżycowej, a także nasilać istniejące już zmiany naczyniowe. Zawansowane zmiany miażdżycowe prowadzą do zwężenia lub niedrożności tętnicy, a następnie do niedokrwienia tkanek lub narządów. Kliniczne objawy miażdżycowego niedokrwienia to: choroba niedokrwienia serca, zawał mięśnia sercowego (wywołane

niedrożnością tętnic wieńcowych), udar mózgu (wywołany niedrożnością tętnic mózgowych), nadciśnienie tętnicze (wywołane między innymi niedrożnością tętnic nerkowych), niedokrwienie kończyn, martwica palców ręki lub stopy (wywołane niedrożnością tętnic kończyn) [10,43,44].

Przewlekła choroba niedokrwienna kończyn dolnych jest związana ze zmianami miażdżycowymi tętnic obwodowych i prowadzi do ich zwężenia lub zamknięcia. Objawia się chromaniem przestankowym oraz bólami spoczynkowymi, które są przyczyną obniżenia jakości życia chorych. Pogłębiające się niedokrwienie może doprowadzić do martwicy, a nawet amputacji kończyny oraz wystąpienia groźnych powikłań układu krążenia w postaci zawału serca lub udaru mózgu [43,45,46].

Biorąc pod uwagę znaczenie epidemiologiczne tego schorzenia, jego progresywny charakter, a także trudności w farmakoterapii podjęto próbę oznaczenia stężenia homocysteiny u pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych.

**Celem** pracy było oznaczenie stężenia homocysteiny u pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a.

## Materiał i metody

Oznaczenie stężenia homocysteiny w osoczu krwi przeprowadzono łącznie u 37 osób w tym 18 kobiet i 19 mężczyzn w wieku od 39 do 65 lat (średnio 53 lata). Badania przeprowadzono w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń, Katedrze Kardiologii oraz Zakładzie Farmakologii Klinicznej Katedry Kardiologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

Wśród badanych wyróżniono grupę 25 chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a (12 kobiet i 13 mężczyzn) w wieku od 44 do 65 lat (średnio  $55 \pm 7$  lat), o masie ciała od 62 do 86 kg (średnio  $74 \pm 8$  kg) i wskaźniku BMI od 23,1 do 25,4  $\text{kg}/\text{m}^2$  (średnio  $24,5 \pm 0,6 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) oraz grupę kontrolną ( $n = 12$ ) złożoną z 6 kobiet i 6 mężczyzn w wieku od 39 do 60 lat (średnio  $50 \pm 7$  lat), o masie ciała od 60 do 80 kg (średnio  $71 \pm 7$  kg) i wskaźniku BMI od 21,0 do 24,9  $\text{kg}/\text{m}^2$  (średnio  $23,6 \pm 1,4 \text{ kg}/\text{m}^2$ ). Procentowy udział palaczy w grupie badanej i kontrolnej był porównywalny (32%

vs. 33%). Charakterystykę grupy z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych oraz grupy kontrolnej przedstawiono w tabelach 1 i 2.

Kwalifikując osoby do badań, informowano je o celu i sposobie ich przeprowadzenia. Badane osoby wyraziły zgodę na ich wykonanie. Zaproponowana metodyka badań została zatwierdzona przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowego w Poznaniu (nr zgody – 290/06).

Podstawę kwalifikacji do badań stanowiło rozpoznanie kliniczne postawione przez prowadzących pacjentów klinicystów w warunkach ambulatoryjnych lub w czasie hospitalizacji w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń oraz w Katedrze Kardiologii Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu.

U wszystkich chorych wykonano badania podmiotowe, przedmiotowe, badania biochemiczne (morfologia krwi, OB, próby wątrobowe, stężenie elektrolitów w surowicy krwi, gospodarka lipidowa, badania ogólne moczu, klirens kreatyniny), a także badania dodatkowe (badanie tętna na kończynach – w okolicy pachwinowej, podkolanowej, grzbietowej stopy oraz kostki przyśrodkowej; badanie na bieżni; wskaźnik kostka-ramię).

W przeprowadzonej ocenie profilu lipidowego we krwi u wszystkich chorych odnotowano przekraczające wartości prawidłowe poziomy cholesterolu i jego frakcji LDL oraz trójglicerydów.

Na podstawie wykonanych badań u wszystkich chorych rozpoznano miażdżycowe niedokrwienie kończyn dolnych zaliczone do II stopnia według klasyfikacji Fontaine'a.

Do badań nie zostali zakwalifikowani chorzy z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych współistniejącym z: cukrzycą, chorobą niedokrwienną serca, niewydolnością serca, niewydolnością nerek, niewydolnością wątroby, nadciśnieniem tętniczym, chorobami psychicznymi i neurologicznymi, schorzeniami o podłożu zapalnym, nowotworowym i urazem mechanicznym.

Osoby zakwalifikowane do grupy kontrolnej nie wykazywały – w badaniu podmiotowym, przedmiotowym, badaniach biochemicznych (morfologia krwi, OB, gospodarka lipidowa, próby wątrobowe, badania ogólne moczu), a także w badaniach dodatkowych (pomiar ciśnienia tętniczego, badanie chirurgiczne) – cech patologii narządowej w szczególności dotyczącej układu sercowo-naczyniowego, czynności wątroby i nerek oraz chorób o charakterze zapalnym.

Tabela 1. Ogólna charakterystyka grupy pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a

Lp.	Inicjały	Płeć	Wiek (lata)	Waga (kg)	Wzrost (cm)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Chol. (mmol/l)	LDL (mmol/l)	HDL (mmol/l)	TG (mmol/l)
1.	C.W.	M	60	73	172	24,7	6,30	4,40	1,53	0,74
2.	C.A.	M	44	81	180	25,0	5,50	3,20	1,16	1,89
3.	W.R.	M	62	77	176	24,9	6,23	2,20	1,17	1,53
4.	W.K.	K	65	67	173	25,2	5,22	3,19	1,16	1,23
5.	O.M.	K	59	68	166	24,7	5,74	3,50	1,68	1,30
6.	K.U.	K	62	65	164	24,2	5,95	3,60	1,60	1,90
7.	A.I.	M	56	81	179	24,7	6,02	3,80	1,60	4,00
8.	T.E.	M	57	70	170	24,2	8,21	4,70	0,80	4,00
9.	B.F.	K	53	65	167	23,3	6,64	3,40	1,00	1,80
10.	W.A.	M	55	81	181	24,7	7,32	4,60	0,90	3,80
11.	A.K.	M	59	83	182	25,1	5,90	3,40	1,20	2,70
12.	M.K.	K	65	69	168	24,5	6,12	4,00	0,80	2,00
13.	E.S.	K	62	68	167	24,4	6,92	4,40	0,60	1,80
14.	M.C.	M	58	85	185	24,8	7,02	4,80	0,60	3,00
15.	L.E.	K	47	70	169	24,5	7,95	4,90	0,80	2,80
16.	E.K.	K	48	65	162	24,8	7,45	4,80	0,50	3,10
17.	W.M.	K	48	68	171	23,3	6,48	3,70	1,00	2,90
18.	K.R.	K	44	63	165	23,1	5,80	3,00	1,60	1,80
19.	A.R.	M	46	85	186	24,6	8,06	5,30	0,60	2,70
20.	S.M.	M	61	78	176	25,2	6,27	4,00	1,00	2,30
21.	P.K.	M	64	80	180	24,7	6,01	3,90	1,50	2,40
22.	I.D.	K	59	62	161	24,0	5,81	3,00	0,80	2,00
23.	T.B.	K	43	69	168	24,5	5,66	3,30	1,00	2,10
24.	A.F.	M	51	86	184	25,4	7,12	4,00	6,00	2,70
25.	C.O.	M	49	79	182	23,9	5,89	2,80	1,30	2,00
<b>Średnia</b>			<b>55</b>	<b>74</b>	<b>173</b>	<b>24,5</b>	<b>6,50</b>	<b>4,00</b>	<b>1,26</b>	<b>2,59</b>
<b>SD</b>			<b>7</b>	<b>8</b>	<b>8</b>	<b>0,6</b>	<b>0,85</b>	<b>1,10</b>	<b>1,17</b>	<b>0,72</b>

Tabela 2. Ogólna charakterystyka grupy kontrolnej

Lp.	Inicjały	Płeć	Wiek (lata)	Waga (kg)	Wzrost (cm)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Chol. (mmol/l)	LDL (mmol/l)	HDL (mmol/l)	TG (mmol/l)
1.	K.A.	K	40	66	165	24,2	4,05	2,70	1,50	1,30
2.	K.B.	M	49	75	174	24,8	3,85	2,20	1,49	1,60
3.	S.P.	M	55	77	176	24,9	3,76	1,90	1,42	1,02
4.	P.E.	K	45	60	168	21,3	4,04	2,70	0,90	1,00
5.	P.M.	K	59	62	164	23,1	4,65	3,00	0,81	1,30
6.	R.B.	M	57	74	174	24,4	3,92	1,00	1,56	1,20
7.	B.N.	K	39	69	170	23,9	4,85	3,10	1,10	0,90
8.	K.K.	K	47	65	176	21,0	4,12	2,60	0,80	1,30
9.	O.J.	M	51	80	180	24,7	5,31	2,70	1,60	1,70
10.	J.J.	M	52	79	180	24,4	5,12	2,80	1,40	1,60
11.	E.C.	K	60	68	173	22,7	4,73	2,30	1,25	0,63
12.	A.M.	M	59	75	174	24,8	4,08	1,90	1,20	1,60
<b>Średnia</b>			<b>50</b>	<b>71</b>	<b>173</b>	<b>23,6</b>	<b>4,43</b>	<b>2,50</b>	<b>1,24</b>	<b>1,28</b>
<b>SD</b>			<b>7</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>1,4</b>	<b>0,52</b>	<b>0,60</b>	<b>0,30</b>	<b>0,34</b>

Chorzy i osoby z grupy kontrolnej, w okresie poprzedzającym badanie, ani w czasie jego trwania nie przyjmowali żadnych leków (kobiety środków antykoncepcyjnych). W grupie chorych było 8, a w grupie kontrolnej – 4 osoby palące, żadna nie nadużywała alkoholu.

Krew do badań pobierano na czczo, z żyły łokciowej w ilości 2 ml, do próbek z EDTA. W celu zminimalizowania wzrostu stężenia homocysteiny spowodowanego jej wytwarzaniem w krwinkach czerwonych, po pobraniu, wszystkie próbki umieszczano w lodzie, gdzie były przechowywane przed odwirowaniem. Następnie krew wirowano (RCF = 1000 x g) przez 10 min, a próbki osocza przechowywano do momentu oznaczania stężenia homocysteiny w temp. -20°C.

Stężenie L-homocysteiny w osoczu oznaczano za pomocą metody immunochemicznej z pomiarem natężenia fluorescencji w świetle spolaryzowanym (*Fluorescence Polarization Immunoassay* – FPIA), przy użyciu analizatora IMx, stosując komercyjne zestawy firmy ABBOTT.

Statystyczną analizę wyników przeprowadzono przy zastosowaniu programu komputerowego STATISTICA 6.0 firmy StatSoft.

Średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe otrzymanych wyników wykonano procedurą Statystyki Opisowej. Dla oceny normalności rozkładu analizowanych wartości liczbowych zastosowano test W. Shapiro-Wilka. Ocenę istotności różnic wartości średnich przeprowadzono przy pomocy testu t dla prób niezależnych z oddzielną oceną wariancji.

## Wyniki

Wyniki oznaczeń stężenia homocysteiny u pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a oraz u osób z grupy kontrolnej zamieszczono w tabelach 3 i 4.

Średnie stężenie homocysteiny w grupie pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a wynosiło  $15,74 \pm 2,73$   $\mu\text{mol/l}$ , natomiast w grupie kontrolnej –  $11,39 \pm 2,09$   $\mu\text{mol/l}$ .

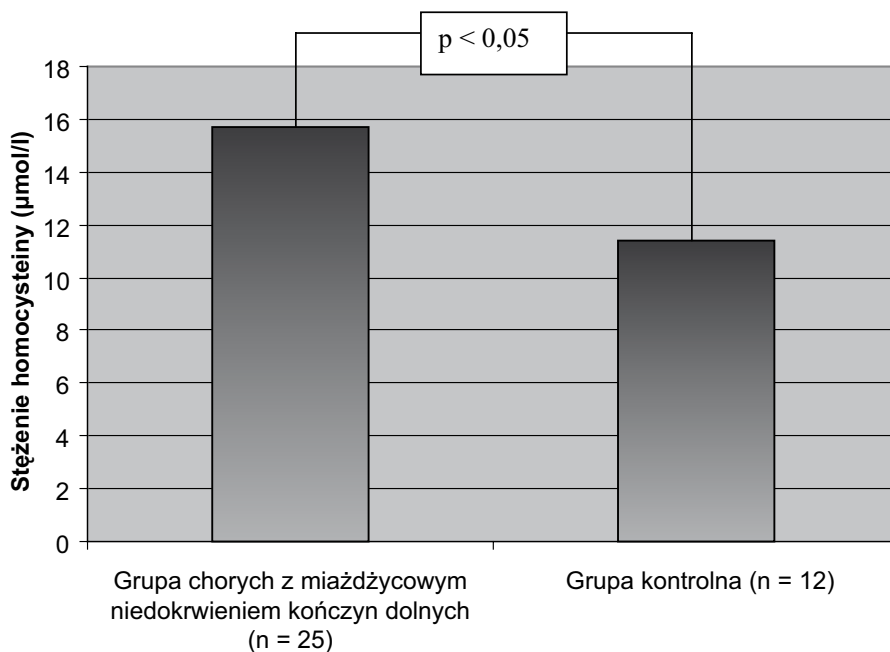
W badaniu odnotowano statystycznie istotną różnicę w wartościach średnich stężeń homocysteiny pomiędzy grupą badaną i kontrolną – 15,74 vs. 11,39  $\mu\text{mol/l}$  ( $p < 0,05$ ).

Tabela 3. Stężenie homocysteiny w grupie pacjentów z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a

Lp.	Inicjały	Stężenie homocysteiny ( $\mu\text{mol/l}$ )
1.	C.W.	15,64
2.	C.A.	16,23
3.	W.R.	13,14
4.	W.K.	12,78
5.	O.M.	15,14
6.	K.U.	16,32
7.	A.I.	13,84
8.	T.E.	24,74
9.	B.F.	15,18
10.	W.A.	14,02
11.	A.K.	14,64
12.	M.K.	12,47
13.	E.S.	13,51
14.	M.C.	15,89
15.	L.E.	19,57
16.	E.K.	16,22
17.	W.M.	16,71
18.	K.R.	13,45
19.	A.R.	21,08
20.	S.M.	14,35
21.	P.K.	15,03
22.	I.D.	14,25
23.	T.B.	16,88
24.	A.F.	15,09
25.	C.O.	17,21
<b>Średnia</b>		<b>15,74</b>
<b>SD</b>		<b>2,73</b>

Tabela 4. Stężenie homocysteiny w grupie kontrolnej

Lp.	Inicjały	Stężenie homocysteiny ( $\mu\text{mol/l}$ )
1.	K.A.	11,02
2.	K.B.	12,21
3.	S.P.	13,80
4.	P.E.	9,42
5.	P.M.	9,48
6.	R.B.	13,99
7.	B.N.	8,62
8.	K.K.	14,51
9.	O.J.	12,10
10.	J.J.	11,86
11.	E.C.	11,21
12.	A.M.	8,43
<b>Średnia</b>		<b>11,39</b>
<b>SD</b>		<b>2,09</b>



Rycina 1. Średnie stężenia homocysteiny w grupie badanej i grupie kontrolnej.

## Dyskusja

W 1969 roku McCully jako pierwszy powiązał podwyższone stężenie homocysteiny (Hcy) z występowaniem zmian miażdżycowych. W 1975 roku wysunął hipotezę, w której na podstawie zaobserwowania nasilonych zmian miażdżycowych u dwojga dzieci chorych na homocystynurię, założył, że umiarkowane podwyższenie poziomu homocysteiny może powodować mniej nasilone zmiany, niedające objawów klinicznych, aż do około 40. roku życia [1-4]. Prowadzone od lat 90. XX wieku, liczne badania kliniczne potwierdziły homocysteinową teorię miażdżycy McCully'ego. Obecnie uważa się, nie tylko ciężka hiperhomocysteinemia, ale także umiarkowane podwyższenie stężenia homocysteiny we krwi jest związane z podwyższonym ryzykiem chorób o podłożu miażdżycowym, zwłaszcza choroby wieńcowej i zawału serca [1,5,6,8-13].

Miażdżycą jest schorzeniem dotyczącym tętnic całego organizmu. Najczęściej zajmuje tętnice wieńcowe, mózgowie i obwodowe. Zaawansowane zmiany miażdżycowe prowadzą do znacznego zwężenia lub nawet zamknięcia światła tętnicy, czego skutkiem jest niedokrwienie obszarów zaopatrywanych przez daną tętnicę. Objawami tego niedokrwienia są: choroba

niedokrwienia serca, zawał mięśnia sercowego, udar mózgu, nadciśnienie tętnicze oraz niedokrwienie kończyn. Choroby te stanowią najczęstszą przyczynę zgonów w Polsce i krajach wysoko rozwiniętych. Szacuje się, że prawie 50% wszystkich zgonów w naszym kraju jest spowodowane chorobami układu sercowo-naczyniowego. Ponadto, są one także główną przyczyną umieralności przedwczesnej [13,43,44,47].

Jedną z form manifestacji klinicznej uogólnionej miażdżycy jest przewlekłe niedokrwienie kończyn dolnych. Choroba ta charakteryzuje się upośledzonym przepływem krwi, co powoduje takie objawy niedokrwienia kończyny, jak: chromanie przestankowe, bóle spoczynkowe oraz zmiany martwicze. Miażdżycą kończyn dolnych jest związana ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby wieńcowej, zawału serca, udaru mózgu oraz zgonu z powodu incydentów sercowych i naczyniowo-mózgowych. Kolejną klinicznie ważną konsekwencją jest znaczny wzrost śmiertelności ogólnej w tej grupie chorych [43,45,46,48-50].

Kliniczny rozwój miażdżycy jest wyraźnie zróżnicowany ze względu na fakt, że wiele czynników może przyspieszać lub nasilać jej rozwój. Jednym z czynników ryzyka miażdżycy oraz jej powikłań jest hiperhomocysteinemia. Homocysteina jest aminokwa-

sem siarkowym, który nie występuje w naturalnych białkach. Powstaje z metioniny, jako produkt uboczny reakcji metylacji, procesu niezbędnego do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Homocysteina nie może być wbudowana w strukturę białek, stanowi natomiast ogniwo pomiędzy egzogenną metioniną a endogenną cysteiną [1,15,17]. Głównymi szlakami metabolicznymi homocysteiny są: remetylacja do metioniny oraz transsulfuracja. Niezbędnymi kofaktorami tych procesów są kwas foliowy oraz witamina B<sub>12</sub> i B<sub>6</sub>. Ich właściwy poziom ma zasadnicze znaczenie w utrzymaniu prawidłowego stężenia homocysteiny [1,18,19].

Za prawidłowe uważa się stężenie homocysteiny we krwi w granicach 5-15 μmol/l [15]. Wykazano jednak, że już stężenia rzędu 10-13 μmol/l mogą inicjować szkodliwe zmiany w śródbłonku naczyń [22,51]. Dlatego za poziom bezpieczny należy uznać wartość poniżej 10 μmol/l, a za podwyższony przyjmuje się wartość powyżej 12 μmol/l [31,51].

Wysokie stężenie homocysteiny (hiperhomocysteinemia) może być następstwem działania wielu czynników. Genetycznie uwarunkowana choroba (hiperhomocysteinemia pierwotna) jest następstwem mutacji genów kodujących enzymy szlaku metabolicznego homocysteiny. Defekty te, powodujące niedobór lub brak enzymów, dotyczą: reduktazy 5,10-metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR) – występują często, oraz β-syntazy cystationiny (CBS) – występują rzadko [1,15,18,21,37,52-54]. Przyczyną obniżonej aktywności enzymów mogą być nabyte niedobory: kwasu foliowego (niezbędnego do syntezy tetrahydrofolianu – substratu dla MTHFR), witaminy B<sub>12</sub> (kofaktora syntazy metioninowej) oraz witaminy B<sub>6</sub> (kofaktora CBS) [27,55]. Do innych egzogennych czynników podnoszących poziom homocysteiny należą: nadużywanie alkoholu, kofeiny oraz palenie tytoniu [1,15,28,29]. Stężenie homocysteiny może ulec podwyższeniu w trakcie niektórych chorób (niewydolność nerek, cukrzyca, niedoczynność tarczycy, łuszczyca i nowotwory złośliwe) oraz w trakcie stosowania niektórych leków (m.in. metotreksatu, lewodopy, leków przeciwpadaczkowych, leków hipolipemizujących oraz doustnych środków antykoncepcyjnych zawierających estrogen) [1,52,53].

Homocysteina silnie wpływa na proces miażdżycowy, zarówno poprzez inicjowanie powstawania blaszki miażdżycowej, jak i nasilanie istniejących już zmian. Spośród mechanizmów szkodliwego działania tego aminokwasu, kluczową rolę w zapoczątkowaniu

miażdżycy odgrywa zdolność do uszkodzania śródbłonna naczyniowego. Istotnym elementem w patogenezie miażdżycy jest lokalny stres oksydacyjny, zawsze towarzyszący hiperhomocysteinemii. Jest on czynnikiem inicjującym oraz nasilającym utlenianie lipidów zawartych w LDL, prowadząc do wytworzenia oksydacyjnie zmodyfikowanych lipoprotein frakcji LDL (oxLDL), które silnie uszkodzają śródbłonek. Metabolit Hcy, tiolakton tego aminokwasu również działa patogennie na naczynia krwionośne, poprzez N-homocysteinylację białek endotelium, które następnie są niszczone przez makrofagi. Dodatkowo, homocysteina ogranicza wzrost i odbudowę uszkodzonej już ściany tętnic, a także wyraźnie nasila proliferację komórek mięśni gładkich tętnic, co powoduje przerost mięśniówki i zwężenie światła naczynia. Aminokwas ten, poprzez degradację włókien elastyny, zmniejsza odporność pokrywy włóknistej, czyniąc blaszkę miażdżycową bardziej podatną na pęknięcie. Ponadto, homocysteina przyspiesza wystąpienie powikłań miażdżycowych, poprzez zwiększenie krzepliwości krwi. Jej prozakrzepowe działanie polega m.in. na zwiększaniu ekspresji czynnika tkankowego oraz nasilaniu adhezji płytek krwi do komórek śródbłonna. Wszystkie te procesy przyczyniają się do postępu zmian miażdżycowych [1,3,18,19,32,40,55].

Omawiając nowe aspekty promiażdżycowego działania homocysteiny, nie można pominąć jej udziału w procesie zapalnym. Współczesna koncepcja zapalnego mechanizmu będącego podstawą rozwoju zmian miażdżycowych, została zaproponowana w 1973 roku przez Rossa i Glomseta. Wysunęli oni hipotezę „odpowiedzi na uszkodzenie”, zakładającą, że reakcja zapalna i uszkodzenie śródbłonna naczyniowego inicjuje powstawanie blaszki miażdżycowej [33,56]. Uznanie miażdżycy za chorobę o charakterze zapalnym zapoczątkowało liczne dyskusje i badania dotyczące udziału czynników zapalnych w patogenezie miażdżycy. Obecnie wiadomo, że mediatory zapalenia uczestniczą we wszystkich etapach powstawania i rozwoju zmian miażdżycowych w obrębie tętnic [53,56-62]. Liczne obecnie prowadzone badania koncentrują się na ocenie stężenia substancji prozapalnych, tj.: cytokin, chemokin, molekuł adhezyjnych i białek ostrej fazy we krwi osób z miażdżycą tętnic obwodowych, wieńcowych, szyjnych lub mózgowych oraz na znalezieniu związku pomiędzy wykładnikami procesu zapalnego a zaawansowaniem zmian miażdżycowych. Badania te dotyczą stężenia takich markerów zapa-

lenia, jak: białko C-reaktywne (CRP), czynnik martwicy nowotworów TNF- $\alpha$ , interleukiny 1 i 6 (IL-6, IL-1), fibrynogen oraz molekuly adhezyjne (ICAM-1, VCAM-1). Wykazanie wyższego niż u osób zdrowych poziomu tych mediatorów, wskazuje na obecność stanu zapalnego, co potwierdza zapalne podłoże miażdżycy [46,61,63-65].

Czynnikiem, który może indukować oraz nasilać stan zapalny w naczyniach tętniczych jest homocysteina. Mimo, że mechanizmy prozapalnego działania tego aminokwasu nie zostały do końca wyjaśnione, istnieją badania, w których wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniami homocysteiny a stężeniami i ekspresją takich elementów procesu zapalnego, jak: CRP, TNF- $\alpha$ , IL-8, VCAM-1, MCP-1 [5,33,35,66-68]. Wyniki tych badań świadczą o istotnej roli homocysteiny jako induktora procesu zapalnego w tętnicach [33,56].

Zwiększone stężenie homocysteiny jest uznawane za czynnik ryzyka schorzeń układu sercowo-naczyniowego, schorzeń neurologicznych (choroby Alzheimera, Parkinsona, otępienia, a także depresji i schizofrenii), nowotworów (szczególnie raka jelita grubego oraz indukowanych przez estrogeny), powikłań ciążowych i wad rozwojowych płodu [1,16,19,68-72]. Wyniki wielu badań potwierdzają związek pomiędzy zwiększonym poziomem Hcy a chorobami o podłożu miażdżycowym [5,6,8-13]. Hiperhomocysteinemię uznano za niezależny czynnik ryzyka miażdżycy tętnic wieńcowych, obwodowych i mózgowych [1,18,73]. Ocenia się, że wzrost stężenia homocysteiny z poziomu 5 do 15  $\mu\text{mol/l}$  wiąże się z prawie 4-krotnym wzrostem ryzyka miażdżycy [10,60]. Wraz z podwyższeniem stężenia jej stężenia we krwi o 3  $\mu\text{mol/l}$  ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca wzrasta o 16%, natomiast udaru mózgu o 24% [74]. Nasilenie ryzyka powikłań zaawansowanej miażdżycy ocenia się jako zbliżone do hipercholesterolemii i palenia tytoniu. Ponadto, u chorych z hiperhomocysteinemią zaobserwowano prawie 2-krotnie wyższą umieralność z powodu chorób układu krążenia [17,22,31,74].

Kolejnym dowodem, wskazującym jak ważnym czynnikiem ryzyka chorób o podłożu miażdżycowym jest hiperhomocysteinemia, jest jej rozpowszechnienie w populacji. Według wyników badania NATPOL PLUS, średnie stężenie homocysteiny u dorosłych Polaków (od 18 do 94 r. ż.) wynosi 11,9  $\mu\text{mol/l}$  (mężczyźni 13,2  $\mu\text{mol/l}$ ; kobiety 11,1  $\mu\text{mol/l}$ ) [47], natomiast wg wyników programu WOBASZ – 10,24  $\mu\text{mol/l}$

u mężczyzn i 8,81  $\mu\text{mol/l}$  u kobiet [31]. Stężenie homocysteiny wyższe niż 12  $\mu\text{mol/l}$  występuje u 26-33% mężczyzn i 16-20% kobiet [31,75]. Rozpowszechnienie hiperhomocysteinemii (stężenie > 15  $\mu\text{mol/l}$ ) wynosi aż 17% [47].

Obecnie wiadomo, że podwyższony poziom homocysteiny jest związany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia miażdżycy oraz jej powikłań. W przeciwieństwie do zaburzeń krążenia wieńcowego i mózgowego, stężenie Hcy u chorych z zaburzeniami krążenia w obrębie kończyn dolnych było analizowane w niewielkiej ilości badań klinicznych. W związku z tym, w pracy podjęto próbę oceny poziomu homocysteiny w grupie chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a.

Oznaczenie stężenia homocysteiny w osoczu krwi przeprowadzono łącznie u 37 osób (18 kobiet i 19 mężczyzn), wśród badanych wyróżniono grupę kontrolną ( $n = 12$ ) oraz grupę 25 chorych (12 kobiet i 13 mężczyzn) z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a.

W celu ułatwienia interpretacji wyników oznaczenia do badania nie zostali zakwalifikowani chorzy z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych współistniejącym z: cukrzycą, chorobą niedokrwinną serca, niewydolnością nerek, niewydolnością serca, niewydolnością wątroby, nadciśnieniem tętniczym, chorobami psychicznymi i neurologicznymi, schorzeniami o podłożu zapalnym, nowotworowym i urazem mechanicznym. Dodatkowo zastosowano maksymalne kryteria porównawcze badanych grup w odniesieniu do: wieku, płci, masy ciała, wskaźnika BMI. Dane przedstawiono szczegółowo w części materiału i metoda.

Wyniki oznaczenia stężenia homocysteiny w osoczu krwi wskazują na jej podwyższony poziom u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w II stopniu według klasyfikacji Fontaine'a. Średnie stężenia Hcy wynosiły 15,74  $\mu\text{mol/l}$  w grupie badanej i 11,39  $\mu\text{mol/l}$  w grupie kontrolnej. Różnica ta była znamienna statystycznie ( $p < 0,05$ ).

Uzyskane wartości są zbliżone do wyników odnotowanych przez innych autorów. W 2004 roku Wieczorek i wsp. stwierdzili znacznie przekraczające normę wartości stężenia tego aminokwasu (19,64  $\pm$  4,77  $\mu\text{mol/l}$ ) w grupie 26 pacjentów z miażdżycą tętnic kończyn dolnych [13]. Obserwacje te są zgodne z badaniem opublikowanym w 2005 roku przez Kokocińską



i wsp. [6]. W obu pracach wykazano znamienne statystycznie wyższe stężenia homocysteiny w grupie chorych z miażdżycą tętnic kończyn dolnych w porównaniu do grupy kontrolnej. Także, w „The Hoorn Study”, badaniu obejmującym 631 osób z chorobą tętnic obwodowych, Hoogeveen'a i wsp. wykazali podwyższony poziom homocysteiny ( $12,2 \mu\text{mol/l}$ ) u tych chorych [48]. Hiperhomocysteinemię stwierdzono również u chorych z zaawansowanymi zmianami miażdżycowymi w innych tętnicach (wieńcowych i mózgowych). U osób z miażdżycą tętnic wieńcowych, Skorupski i wsp. wykazali istotną statystycznie różnicę w całej grupie chorych i grupie kontrolnej w odniesieniu do poziomu homocysteiny ( $17,53 \pm 7,40$  vs.  $13,75 \pm 5,23 \mu\text{mol/l}$ ) [11]. W przytoczonym wcześniej badaniu Kokocińskiej i wsp., oznaczone stężenia homocysteiny u chorych z przebyłym zawałem mięśnia sercowego wynosiły  $19,16 \pm 4,61 \mu\text{mol/l}$ , a u chorych po ciężkim udarze niedokrwinnym mózgu –  $28,13 \pm 7,69 \mu\text{mol/l}$  [6]. Ponadto, podwyższone wartości stężenia homocysteiny wykazano już u 13-16 letnich dzieci z otyłością, nadciśnieniem tętniczym, zaburzeniami lipidowymi i/lub obciążającym wywiadem rodzinnym. W 2007 roku Sierakowska-Fijałek i wsp. stwierdzili podwyższony poziom tego aminokwasu ( $12,69 \pm 4,23 \mu\text{mol/l}$ ) oraz dodatnią korelację pomiędzy nim a ilością czynników ryzyka miażdżycy u dzieci [10].

Ocena stężenia homocysteiny oraz jej korelacji z zaawansowaniem zmian miażdżycowych u chorych z objawami klinicznymi miażdżycy jest istotna ze względu na fakt, że patogenne działanie homocysteiny można stosunkowo łatwo złagodzić farmakologicznie poprzez odpowiednią podaż kwasu foliowego, witaminy B<sub>12</sub> i B<sub>6</sub>, czyli przede wszystkim poprzez wsparcie procesów jej rozkładu [53,55]. Badania dowiodły, że łączne podawanie witamin z grupy B daje podobny efekt obniżający stężenie homocysteiny, jak suplementacja jedynie kwasem foliowym [76]. Dalsze obserwacje wykazały, że około 60% siły działania wszystkich witamin ma kwas foliowy, mniejsze witamina B<sub>12</sub>, a prawie niezauważalne witamina B<sub>6</sub> [74]. Główną rolę kwasu foliowego w zmniejszaniu poziomu homocysteiny można wyjaśnić następująco. Jako donor grupy metylowej w reakcji metylacji homocysteiny, jest on zużywany ilościowo. Natomiast witaminy B<sub>12</sub> i B<sub>6</sub> są koenzymami i nie biorą bezpośrednio udziału w reakcjach. Ponadto witamina B<sub>12</sub> ulega kumulacji i na ogół jest w organizmie w dostatecznej ilości. Z kolei nieznaczna rola witaminy B<sub>6</sub> wynika ze zdolności orga-

nizmu do nasilania procesu remetylacji w przypadku jej niedoboru [14].

W profilaktyce hiperhomocysteinemii zalecane jest spożywanie folianów w ilości 400  $\mu\text{g}$  dziennie, witaminy B<sub>12</sub> – 3  $\mu\text{g}$  i witaminy B<sub>6</sub> – 2 mg [77]. Najwięcej folianów zawierają drożdże piekarskie, jednak głównym źródłem są warzywa zielone takie jak: szpinak, sałata, brokuły, brukselka, szparagi, kalafior i pietruszka. Inne źródła to: wątróbka, mięso drobiowe, jaja, fermentowane produkty mleczne, rośliny strączkowe (głównie soja, groch, fasola), pełnoziarniste pieczywo pszenne lub żytnie, otręby, płatki owsiane i pomarańcze [14,16,76,77]. Witaminę B<sub>12</sub> dostarcza spożywanie produktów pochodzenia zwierzęcego, głównie tzw. podrobów, a także ryb, jaj i produktów mlecznych. Natomiast witaminę B<sub>6</sub> dostarczają przede wszystkim: mięso, ryby, nasiona roślin strączkowych, ziarna zbóż oraz papryka, brukselka, kapusta, szpinak, marchew i banany [16,77].

Właściwa dieta jest w stanie pokryć zapotrzebowanie na te witaminy. Niestety, nowoczesna obróbka żywności prowadzi do rozkładu znacznej części niezbędnych składników, dlatego niekiedy potrzebna jest suplementacja preparatami witaminowymi [1,77]. Można także stosować żywność suplementowaną, czego przykładem jest wzbogacanie mąki w taki sposób, aby dostarczała dziennie około 400  $\mu\text{g}$  kwasu foliowego i 2,4  $\mu\text{g}$  witaminy B<sub>12</sub>, obowiązujące w USA od 1999 roku [1,76,78].

Leczenie hiperhomocysteinemii polega na podawaniu wyższych dawek witamin z grupy B. Standardowo stosuje się minimum 500  $\mu\text{g}$  kwasu foliowego, 100-600  $\mu\text{g}$  witaminy B<sub>12</sub> i 6-25 mg witaminy B<sub>6</sub>, jednakże często podaje się nawet kilkukrotnie wyższe dawki [79]. Udowodniono, że podawanie kwasu foliowego w dawce 500  $\mu\text{g}/\text{dobę}$  zmniejsza poziom Hcy o około 25%, a jednoczesne stosowanie witaminy B<sub>12</sub> powoduje spadek o dalsze 7% [17,77,80]. Natomiast dawka 650  $\mu\text{g}$  kwasu foliowego dziennie (stosowana w leczeniu hiperhomocysteinemii jawnej) powoduje spadek poziomu homocysteiny na czczo o około 40%. Doradza się jednoczesne podawanie 400  $\mu\text{g}$  witaminy B<sub>12</sub>, w celu uniknięcia oporności w leczeniu w przypadku niedoboru tej witaminy. Obniżenie stężenia w hiperhomocysteinemii ukrytej uzyskuje się dzięki stosowaniu 1500  $\mu\text{g}$  kwasu foliowego i 100 mg witaminy B<sub>6</sub>. Takie leczenie powoduje spadek poziomu tego aminokwasu o około 50%. Istnienie korzystnych, lecz niewyjaśnionych, oddziaływań między tymi wiami-

nami wskazuje na potrzebę stosowania ich łącznie [1]. Terapia stosowana przez 6 tygodni normalizuje poziom homocysteiny u ponad 90% leczonych [1,20].

Liczne piśmiennictwo wskazuje na stały wzrost zainteresowania badaczy oznaczaniem poziomu homocysteiny [13]. Zainteresowanie tym aminokwasem wynika z potrzeby znalezienia takiego markera zmian miażdżycowych, który byłby łatwo oznaczalny we krwi, przydatny do badań przesiewowych, umożliwiałby wczesną identyfikację zmian (przed wystąpieniem objawów choroby), ocenę rokowań u pacjentów ze zdiagnozowaną miażdżycą, oceną skuteczności działań profilaktycznych i terapeutycznych. Obecnie, w wielu

laboratoriach wykonywane są oznaczenia stężenia homocysteiny we krwi oraz analizowane korelacje wysokiego poziomu homocysteiny z różnymi stanami chorobowymi, co zwiększa możliwość jej przyszłego wykorzystania w praktyce klinicznej [13,60].

Adres do korespondencji:

Dorota Gąsiorowska

Zakład Farmakologii Klinicznej, Katedra Kardiologii  
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego  
w Poznaniu, ul. Długa 1/2; 61-848 Poznań

Tel.: +48 22 627 39 86

E-mail: redakcja@akademiamedycyny.pl

## Piśmiennictwo

1. Bald E. Homocysteina, niegdyś egzotyczny metabolit. Rozdz. w: Biotole w warunkach fizjologicznych, patologicznych i w terapii. Red. Włodek L. Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego; 2003: 73-108.
2. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-28.
3. Piechota W, Piechota W. Hiperhomocysteinemia – znaczenie w chorobach sercowo-naczyniowych. *Kard Dypł* 2007; 6(2): 106-7, 110-4.
4. Sokołowska J. Historia badań nad miażdżycą oraz rolę homocysteiny w patogenezie zmian miażdżycowych. *Now Lek* 2003; 72(6): 473-6.
5. Bogdański P, Dytfeld J, Kujawska-Łuczak M, Szulińska M, Pupek-Musialik D. Ocena stężenia homocysteiny i wybranych markerów stanu zapalnego u chorych z nadciśnieniem tętniczym. *Endokr Otyłość* 2007; 3(2): 61.
6. Kokocińska D, Cierpka L, Chmiel B, Duraj M, Partyka R, Cierpka Sz i wsp. The usefulness of assessing the serum levels of homocysteine in diagnosis of atherosclerosis. *Acta Angiol* 2005; 11(2): 114-20.
7. Noszczyk W. Przewlekłe niedokrwienie kończyn dolnych. Rozdz. w: Miażdżycy i inne choroby tętnic obwodowych. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2005: 94-103.
8. Piechota W, Piechota W. Korelacja stężeń homocysteiny ze zmianami w tętnicach wieńcowych u mężczyzn z objawami choroby niedokrwiennej serca. *Pol Prz Kard* 2004; 6(4): 401-6.
9. Sawicki R, Musiał WJ, Skibińska E, Lewczuk A, Bachórzewska-Gajewska H, Dobrzycki S. Choroba niedokrwienne serca a zespół metaboliczny - korelacja wybranych czynników ryzyka rozwoju miażdżycy z nasileniem zmian w tętnicach wieńcowych. *Prz Kardiodiabetol* 2007; 2(1): 19-26.
10. Sierakowska-Fijałek A, Karczmarek P, Pokoca L, Smorąg I, Wosik-Erenbek M, Baj Z. Homocysteina i wybrane parametry przemiany lipidowej u dzieci z czynnikami ryzyka miażdżycy tętnic. *Pol Merk Lek* 2007; 22(128): 146-9.
11. Skorupski W, Łaciński M, Cieśliński A, Trzeciak W, Lesiak M, Grajek S, Jakubowski H. Ocena wpływu poziomu homocysteiny na rozwój zmian miażdżycowych w tętnicach wieńcowych na tle innych wybranych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca – doniesienie wstępne. *Kard Pol* 2002; 57, 2: II-137.
12. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence and causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325: 1202.
13. Wieczorek P, Partyka R, Strawa R, Płusa K. Przydatność oznaczeń homocysteiny w diagnostyce miażdżycy naczyń. *Ann Soc Stud Acad Med Siles* 2004; 30: 71-8.
14. Cichočka A, Cybulska B. Homocysteina – mniej poznany czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. *Med Metab* 1999; 3(2): 42-52.
15. Koczyńska E, Lampka M, Torliński K, Ziółkowski M. Czy nadużywanie alkoholu prowadzi do zaburzeń metabolizmu homocysteiny? *Alkoh i Narkom* 2001; 14(4): 489-97.
16. Kraczkowska S, Suchocka Z, Pachecki J. Podwyższone stężenie homocysteiny we krwi jako wskaźnik zagrożenia zdrowia. *Biul Wydz Farm AMW* 2005; 3: 4-13.
17. Bednarek-Tupikowska G, Tupikowski K. Homocysteina – niedoceniany czynnik ryzyka miażdżycy. Czy hormony płciowe wpływają na stężenie homocysteiny? *Postępy Hig Med Dosw* 2004; 58: 381-9.
18. Domagała TB. Rodzina hiperhomocysteinemia a miażdżycy tętnic. Kraków: Medycyna Praktyczna; 2002: 9-29.
19. Łubińska M, Kazimierska E, Sworczak K. Hiperhomocysteinemia jako nowy czynnik ryzyka wielu chorób. *Adv Clin Exp Med* 2006; 15(5): 897-903.

20. Żakowska I, Gwoździński K, Gorzelańczyk EJ. Endogenne czynniki w rozwoju arteriosklerozy. *Forum Kard* 1998; 3(2-3): 18-37.
21. Ciechanowicz A. Genetyczne uwarunkowania hiperhomocysteinemii. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 8-10.
22. Bald E, Czupryniak L. Homocysteina przyczyną miażdżycy? [http://www.sprawynauki.waw.pl/?section=article&art\\_id=417&ref=search,](http://www.sprawynauki.waw.pl/?section=article&art_id=417&ref=search,) [dostęp 08.01.2008].
23. Chmurak A, Oko A, Pietrzak I, Pawlaczyk K, Lindholm B, Czekalski S. Zależność między stężeniem homocysteiny (Hcy) w osoczu i stanem odżywienia chorych leczonych przewlekłą hemodializą (HD). *Nefrol Dial Pol* 2001; 5(supl. 1): 53.
24. Chudek J, Więcek A. Hiperhomocysteinemia w przewlekłych chorobach nerek. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 13.
25. Florczak J, Dorszewska J, Kozubski W. Wpływ leczenia preparatami LDopa na poziom oksydacyjnych uszkodzeń DNA i homocysteiny oraz metioniny i cysteiny u pacjentów z chorobą Parkinsona. *Neurol Neurochir Pol* 2005; 39(4 supl. 2): 324.
26. Miczke A, Bryl W, Hoffmann K, Cymerys M, Pupek-Musialik D. Czas trwania cukrzycy typu 2 a stężenie homocysteiny u pacjentów z otyłością, nadciśnieniem i zaburzeniami gospodarki węglowodanowej. *Diabet Pol* 2007; 14(1): 72.
27. Moczulski D, Grzeszczak W. Hiperhomocysteinemia w cukrzycy. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 16-17.
28. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, Meparlin J i wsp. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50: 3-32.
29. Strauss E, Supiński W, Głuszek J, Pawlak AL. U chorych z miażdżycą tętnic wieńcowych i niewydolnością skurczową lewej komory szkodliwość palenia wiąże się z zaburzeniami metabolizmu homocysteiny. *Prz Lek* 2006; 63(10): 951-956.
30. Sydor A, Drożdż M, Kraśniak A, Miłkowski A, Chmiel G, Malczak J i wsp. W.: Hiperhomocysteinemia a zaawansowanie miażdżycy tętnic u chorych z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych hemodializami. *Prz Lek* 2002; 59(12): 962-7.
31. Tykarski A, Posadzy-Małaczyńska A, Rywik S, Jasiński B, Drygas W, Wyrzykowski B i wsp. Stężenie homocysteiny w surowicy krwi – nowego czynnika ryzyka wieńcowego – u dorosłych mieszkańców naszego kraju. Wyniki programu WOBASZ. *Kard Pol* 2005; 63(6 supl. 4): S659-S662.
32. Naruszewicz M. Homocysteina w patogenezie miażdżycy. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 4-5.
33. Bogdański P, Pupek-Musialik D, Łuczak M, Cymerys M, Kopczyński J, Bryl W i wsp. Ocena stężenia homocysteiny i wybranych markerów procesu zapalnego u chorych z klinicznymi cechami insulinooporności. *Diabet Dośw Klin* 2003; 3(3): 261-7.
34. Gaciong Z. Nadciśnienie tętnicze, hiperhomocysteinemia i kwas foliowy. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 11.
35. Hoffman MA, Lalla E, Lu Y, Gleason MR, Wolf BM, Tanji N i wsp. Hyperhomocysteinaemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Intern Med* 2000; 247(4): 675-83.
36. Jakubowski H. Protein homocysteinylolation: possible mechanism underlying pathological consequence of elevated homocysteine levels. *FASEB J* 1999; 13: 2277-83.
37. Lewandowski K. Hyperhomocysteinemia jako czynnik ryzyka rozwoju zmian naczyniowych. *Acta Haemat Pol* 1998; 29(7): 157-169.
38. Moga M, Wysocki H. Aktualne koncepcje rozwoju blaszki miażdżycowej. *Forum Kard* 2004; 9(2): 41-6.
39. Naruszewicz M. Aktualne spojrzenie na rolę hiperhomocysteinemii w patogenezie miażdżycy. *Pol Prz Neurol* 2005; 1(1): 19-22.
40. Skoczynska A. Homocysteina – czynnik aterogeny. Rozdz. w: *Patogeneza miażdżycy*. Wrocław: Elsevier Urban & Partner Sp. z o.o.; 2006: 55-60.
41. Undas A, Butenas S, Mann KG, Szczeklik A. Homocysteina osłabia inaktywując aktywnego czynnika X (FXa) przez inhibitor zewnątrzprzodnej drogi krzepnięcia (TFPI) – nowy mechanizm prozakrzepowego działania homocysteiny. *Kard Pol* 2002; 57: II-235.
42. Undas A, Szczeklik A. Homocysteina w żylnych chorobach zakrzepowo-zatorowej. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 14-15.
43. Micker M, Chęciński P, Synowiec T. Postępowanie w przewlekłym niedokrwieniu kończyn dolnych. *Przew Lek* 2006; 5(87): 12-21.
44. Noszczyk W. Miażdżycy – powolny zabójca. Rozdz. w: *Miażdżycy i inne choroby tętnic obwodowych*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2005: 36-45.
45. Jabłecka A, Korzeniowska K, Kaźmierczak E, Chęciński P, Micker M, Ast J i wsp. Ocena wpływu doustnej suplementacji dwóch dawek L-argininy na stężenie tlenu azotu oraz stężenia czynnika martwicy nowotworów (TNF α) u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych. *Probl Ter Monit* 2006; 17(1): 21-6.
46. Mizia-Stec K, Gąsior Z, Zahorska-Markiewicz B, Kumor P, Niedojadło A, Janowska J i wsp. Aktywacja immunologiczna w chorobie wieńcowej i miażdżycy naczyń kończyn dolnych. *Wiad Lek* 2004; 57(supl. 1): 218-22.
47. Zdrojewski T, Wyrzykowski B. Homocysteina i inne czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca w populacji Polaków w świetle badania NATPOL Plus. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 23-4.
48. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, Rauwerda JA, Dekker JM, Nijpels G i wsp. Hyperhomocysteinaemia is not associated with isolated crural arterial occlusive disease: The Hoorn Study. *J Intern Med* 2000; 247(4): 442-8.
49. Oszkiniś G. Zachowawcze leczenie miażdżycowego niedokrwienia kończyn dolnych. *Now Lek* 2005; 74, supl. II: 33-8.
50. Śpiewak M, Małek ŁA. Symptomatologia miażdżycy obwodowej. [http://www.kardiologia.wpraktyce.pl/vol3\\_2005/vol3\\_2005\\_2.htm](http://www.kardiologia.wpraktyce.pl/vol3_2005/vol3_2005_2.htm) [dostęp 03.06.2008].
51. Ozga-Michalski E. Homocysteina a miażdżycy. <http://www.pfm.pl/u235/navi/201140>, [dostęp 30.05.2008].
52. Banecka-Majkutiewicz Z, Gąsecki D, Jakóbkiewicz-Banecka J, Banecki B, Węgrzyn G, Nyka WM. Hiperhomocysteinemia – ważny czynnik ryzyka udaru mózgu. *Udar Mózgu* 2005; 7(2): 61-5.
53. Głowińska-Olszewska B, Urban M. Nowe czynniki ryzyka i markery miażdżycy. Rozdz. w: *Miażdżycy u dzieci i młodzieży*. Red. Urban

- M. Wrocław: Cornetis Sp. z o.o.; 2007: 287-310.
54. Lewandowski K, Zawilska K. Częstość nosicielstwa mutacji C677T genu reduktazy tetrahydrofolianowej (MTHFR) oraz mutacji genu  $\beta$ -cystationiny (CBS) wśród młodych chorych na zakrzepicę żylną. *Acta Angiol* 1998; 29(2): 29-30.
  55. Kurpaska J, Łukasiak J. Wybrane diety-zależne czynniki stymulujące syntezę i rozkład homocysteiny. *Bromatol Chem Toksykol* 2005; 38(supl.): 539-44.
  56. Zapalski S, Oszkini G. Udział czynników zapalnych w etiologii miażdżycy i tętniaków. *Pol Arch Med Wew* 2001; 105(supl.): 43-6.
  57. Banach M, Markuszewski L, Zasłona J, Grzegorzczak J, Okoński P, Jegier B. Rola zapalenia w patogenezie miażdżycy. *Przegl Epidemiol* 2004; 58: 663-70.
  58. Bolewski A, Plewa R, Siminac T. Udział czynników zapalnych w patogenezie miażdżycy. *Pol Prz Kard* 2003; 5(1): 61-9.
  59. Gibas M, Mischczak-Śmiałek J. Zapalne podłoże miażdżycy – kliniczna użyteczność oznaczania białka C-reaktywnego. *Wiad Lek* 2006; 59(3-4): 242-5.
  60. Nowicka G. Badania laboratoryjne w ocenie ryzyka chorób układu krążenia. Rozdz. w: *Kardiologia zapobiegawcza*. Red. Naruszewicz M. Verso s.c.; 2003: 31-45.
  61. Okopień B, Hyper M, Herman ZS. Osoczowe wyznaczniki miażdżycowego uszkodzenia tętnic. *Pol Arch Med Wew* 2001; 106(2): 723-8.
  62. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
  63. Kaźmierski R, Doroszewska J, Adamczewska-Goncerzewicz Z, Kozubski W. Związek pomiędzy wykładnikami procesu zapalnego w surowicy krwi a zaawansowaniem miażdżycy tętnic szyjnych. *Neurol Neurochir Pol* 2002; supl. 2: 238.
  64. Majewski W, Iskra M, Stanišić M, Waciak M, Mackiewicz A, Staniszewski R. Znaczenie aktywności oksydazowej i stężenia ceruloplazminy u chorych z miażdżycowym niedokrwieniem kończyn dolnych w odniesieniu do stężenia wybranych cytokin i białek ostrej fazy. *Acta Angiol* 2005; 11(2): 143-4.
  65. Stanišić M, Majewski W, Żurawski J, Leśniewska K, Waliszewski K, Winckiewicz M. Ocena IL-6, TNF-alfa oraz IL-1beta w surowicy krwi obwodowej i ścianie tętnicy u chorych z chromaniem przestankowym oraz krytycznym niedokrwieniem kończyn dolnych. *Acta Angiol* 2006; 12(supl. A): A88.
  66. Hajjar KA. Homocysteine: a sulph'rous fire. *J Intern Med* 2000; 247(4): 663-4.
  67. Kopczyński J, Baszczuk A, Cymerys M, Pupek-Musialik D, Kopczyński Z, Cugier A. Ocena stężenia białka C-reaktywnego w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z hiperhomocysteinemią. *Diagn Lab* 2007; 43(3): 399.
  68. Ponikowski P. Znaczenie patofizjologiczne i prognostyczne hiperhomocysteinemii w niewydolności serca. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 12.
  69. Czajka R, Torbé A. Hiperhomocysteinemia jako czynnik ryzyka powikłań ciążowych. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 18-19.
  70. Florczak J, Dorszewska J, Jaroszevska-Kolecka J, Kozubski W. The level of homocysteine in neurodegenerative diseases. *Foli Neuropathol* 2006; 44(4): 342-3.
  71. Ryglewicz D, Graban A. Zaburzenia metabolizmu homocysteiny u chorobach zwyrodnieniowych ośrodkowego układu nerwowego. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 20-2.
  72. Wołk A. Badania epidemiologiczne nad rolą folianów w rozwoju nowotworów. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 27-8.
  73. Krzanowski M, Domagała TB, Frołow M, Szczeklik A. Hiperhomocysteinemia po doustnym obciążeniu metioniną upośledza zależną od śródbłónka rozszerzalność tętnic u chorych z miażdżycą. *Kard Pol* 2000; 52(5): 345-6.
  74. Supiński W, Głuszek J, Pawlak A, Strauss E. Czy obniżenie homocysteiny po podaniu witamin B może zmniejszać liczbę powikłań sercowo-naczyniowych? *Czyn Ryzyka* 2007; 2: 29-37.
  75. Sygnowska E, Rywik S, Pająk A, Waśkiewicz A, Janas J, Gaździk D. Stężenie homocysteiny, związek z czynnikami ryzyka chorób układu krążenia w wybranych polskich populacjach. *Prz Lek* 2005; 62(12): 1372-9.
  76. Nowakowska E, Chodera A, Bobkiewicz-Kozłowska T, Hertmanowska H. Kwas foliowy – nowe wskazania dla dawno znanego leku. *Pol Merk Lek* 2003; 15(89): 449-51.
  77. Kozłowska-Wojciechowska M. Jak zapobiegać hiperhomocysteinemii? Naturalne źródła folianów i witamin grupy B w polskiej diecie. *Czyn Ryzyka* 2005; supl. 11: 25-6.
  78. Naruszewicz M, Członkowska A, Gacjong Z, Opolski G. Stanowisko grupy ekspertów w sprawie wzbogacania mąki kwasem foliowym. *Czyn Ryzyka* 2005; 1-2: 4.
  79. Reksa D, Grotowska M, Żórawska J, Sapiłak B, Steciwko A. Homocysteina i jej rola w patogenezie chorób układu krążenia – najnowsze doniesienia. *Fam Med Prim Care Rev* 2006; 8(3): 1087-8.
  80. Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. Homocysteine, diet, and cardiovascular disease. A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation* 1999; 99: 178-82.