

Received: 2013.02.06
Accepted: 2013.10.24
Published: 2014.01.30

Dysfunkcja śródbłónka naczyniowego u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z hiperhomocysteinemią

Endothelial dysfunction in patients with primary hypertension and hyperhomocysteinemia

Aleksandra Baszczuk, Zygmunt Kopczyński, Anna Thielemann

Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Obecnie szeroko akceptowany jest pogląd, że u podstaw rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, w tym nadciśnienia tętniczego, leży dysfunkcja śródbłónka naczyniowego. W odniesieniu do nadciśnienia tętniczego, dysfunkcja śródbłónka naczyniowego dotyczy głównie upośledzenia rozszerzalności naczyń krwionośnych, ale jest też związana z nasileniem procesu miażdżycowego i rozwojem zakrzepicy. Wśród czynników powodujących uszkodzenie endotelium oprócz klasycznych czynników ryzyka wymienia się także hiperhomocysteinemię.

Hiperhomocysteinemia promuje powstawanie rodników tlenowych, obniża potencjał oksydacyjno-redukcyjny, niekorzystnie wpływa na biosyntezę i funkcje czynników wazodylatacyjnych w ścianie naczyń, przyczynia się do zahamowania podziałów komórek śródbłónka przy nasileniu proliferacji i migracji miocytów oraz zaburza wytwarzanie składników macierzy zewnątrzkomórkowej w ścianie naczyń. Ponadto wysokie stężenia homocysteiny i jej pochodnych przyczyniają się do modyfikacji cząstek LDL i HDL, nasilenia stanu zapalnego oraz zaburzenia procesów krzepnięcia i fibrynolizy. Biochemiczne skutki oddziaływania hiperhomocysteinemii na śródbłonek naczyniowy mogą prowadzić do uszkodzenia komórek śródbłónka, zaburzenia funkcji rozkurczowej naczyń oraz do zmniejszenia ich elastyczności przez wpływ na proces przebudowy ścian naczyniowych. Zmiany te prowadzą do wzrostu ciśnienia krwi, utrwalenia nadciśnienia i rozwoju powikłań narządowych u chorych na to schorzenie.

Słowa kluczowe:

dysfunkcja śródbłónka • hiperhomocysteinemia • nadciśnienie tętnicze

Summary

It is widely accepted that endothelial dysfunction is the basis of the development of cardiovascular diseases, including hypertension. With regard to hypertension, endothelial dysfunction is concerned mainly with impaired vascular expansion; however, it is also related to the intensity of the development of atherosclerosis and thrombosis. Among the factors that cause damage to the endothelium, along with classic risk factors, is hyperhomocysteinemia.

Hyperhomocysteinemia promotes the formation of oxygen radicals, lowering the oxidation-reduction potential, adversely affects the biosynthesis and function of vasodilator factors in the vascular wall, contributes to the inhibition of endothelial cell division with intense myocyte proliferation and migration, and impairs production of extracellular matrix components in the vascular wall. In addition, high levels of homocysteine and its derivatives contribute to the modification of LDL and HDL particles, inflammation and disorders in coagulation and fibrinolysis.

Biochemical effects of the impact of hyperhomocysteinemia on endothelium can lead to damage

Key words:	of endothelial cells, dysfunction of diastolic function of vessels and reduction of their flexibility through its influence on vascular wall remodeling. These changes lead to an increase in blood pressure, strengthening the development of hypertension and target organ damage in patients with this disease.
	endothelial dysfunction • hyperhomocysteinemia • primary hypertension
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1087521
Word count:	3526
Tables:	1
Figures:	3
References:	53

Adres autorki: dr Aleksandra Baszczuk, Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań; e-mail: aleksandra.baszczuk@skpp.edu.pl

WPROWADZENIE

Śródbłonek naczyniowy (endotelium) jest wyspecjalizowanym, jednowarstwowym nabłonkiem pochodzenia mezenchymalnego, pokrywającym wewnętrzną powierzchnię naczyń krwionośnych i limfatycznych oraz zastawki serca. Jego całkowita masa wynosi około 1-2 kg, a powierzchnia szacowana jest na kilkaset m².

Śródbłonek stanowi nie tylko anatomiczną barierę oddzielającą elementy morfotyczne krwi od tkanki łącznej i mięśniówki ścian naczyń, ale jednocześnie pełni wiele funkcji istotnych dla układu krążenia. Podstawowe funkcje endotelium to: kontrola przepływu tkankowego krwi, regulacja procesu krzepnięcia krwi, regulacja transportu substancji przez ścianę naczynia, wytwarzanie składników międzykomórkowych i czynników regulacyjnych, przemiany substancji wydzielanych lokalnie i krążących we krwi, regulacja migracji leukocytów przez ścianę naczynia. Śródbłonek wpływa także na strukturę i przebudowę ściany naczyń krwionośnych oraz na tworzenie nowych naczyń. Endotelium cechuje się intensywną aktywnością metaboliczną. Komórki śródbłonna wytwarzają główne elementy błony podstawnej, takie jak kolagen typu IV i V, fibronektyna, laminina i proteoglikany. Ponadto w śródbłonce są syntetyzowane i wydzielane liczne substancje biologiczne i czynne regulujące funkcje naczyń krwionośnych (tabela 1). Czynniki wytwarzane przez śródbłonek naczyniowy działają autokrynnie na komórki śródbłonna, parakrynnie na komórki mięśniówki gładkiej naczyń oraz na krwinki w świetle naczyń [33].

Endotelium ma potencjalną zdolność do wydzielania substancji o wzajemnie przeciwnym działaniu (tabela 1). W prawidłowych warunkach śródbłonek naczyniowy hamuje aktywację płytek krwi i procesy wykrzepiania, utrzymuje stan rozszerzenia naczyń krwionośnych, nie dopuszcza do nadmiernej przepuszczalności ścian naczyń ani do proliferacji miocytów i przebudowy ściany naczyń oraz zapobiega adhezji i transmigracji leukocytów. Na skutek oddziaływania

czynników patologicznych równowaga czynnościowa śródbłonna zostaje przesunięta w kierunku przeciwnych procesów, co prowadzi do jego dysfunkcji, a w dalszej kolejności do przebudowy naczyń krwionośnych [10].

W odniesieniu do nadciśnienia tętniczego, dysfunkcja śródbłonna naczyniowego dotyczy głównie upośledzenia rozszerzalności naczyń krwionośnych. Jednak schorzenie to wiąże się również z nasileniem procesu miażdżycowego i rozwojem zakrzepicy. Nadciśnienie tętnicze może być zarówno czynnikiem uszkadzającym endotelium poprzez stres przepływowy (shear stress), jak i skutkiem uszkodzenia śródbłonna przez inne czynniki powodujące upośledzenie funkcji rozkurczowej naczyń [46]. Wśród tych czynników wymienia się m.in. nasilenie stresu oksydacyjnego i rozwój przewlekłego stanu zapalnego w naczyniach krwionośnych, dyslipidemie i dyslipoproteinemii, hiperglikemii oraz hiperhomocysteinemii [11,12,38,50].

HIPERHOMOCYSTEINEMIA U CHORYCH NA PIERWOTNE NADCIŚNIENIE TĘTNICZE I JEJ ODDZIAŁYWANIE NA NACZYNA KRWIONOŚNE

Homocysteina (Hcy) to siarkowy aminokwas powstający na szlaku przemian biochemicznych dostarczanej z pożywieniem metioniny do cysteiny (ryc. 1). W komórkach Hcy jest metabolizowana w wyniku transsulfuracji do cysteiny albo ponownie metylowana do metioniny. Jeśli stężenie homocysteiny przekracza pojemność metaboliczną komórki, jej nadmiar jest wydzielany do przestrzeni pozakomórkowej, w tym do osocza. W osoczu Hcy występuje przede wszystkim w postaci disiarczków, może też ulegać cykliczacji do tiolaktonu lub pozostać w postaci zredukowanej (ryc. 2) [44,48].

Wartości referencyjne stężenia homocysteiny w surowicy wynoszą od 5 do 12-15 μmol/l (w zależności od stosowanej metody oznaczania). Wzrost stężenia tego aminokwasu w surowicy powyżej wartości referencyjnych określa się mia-

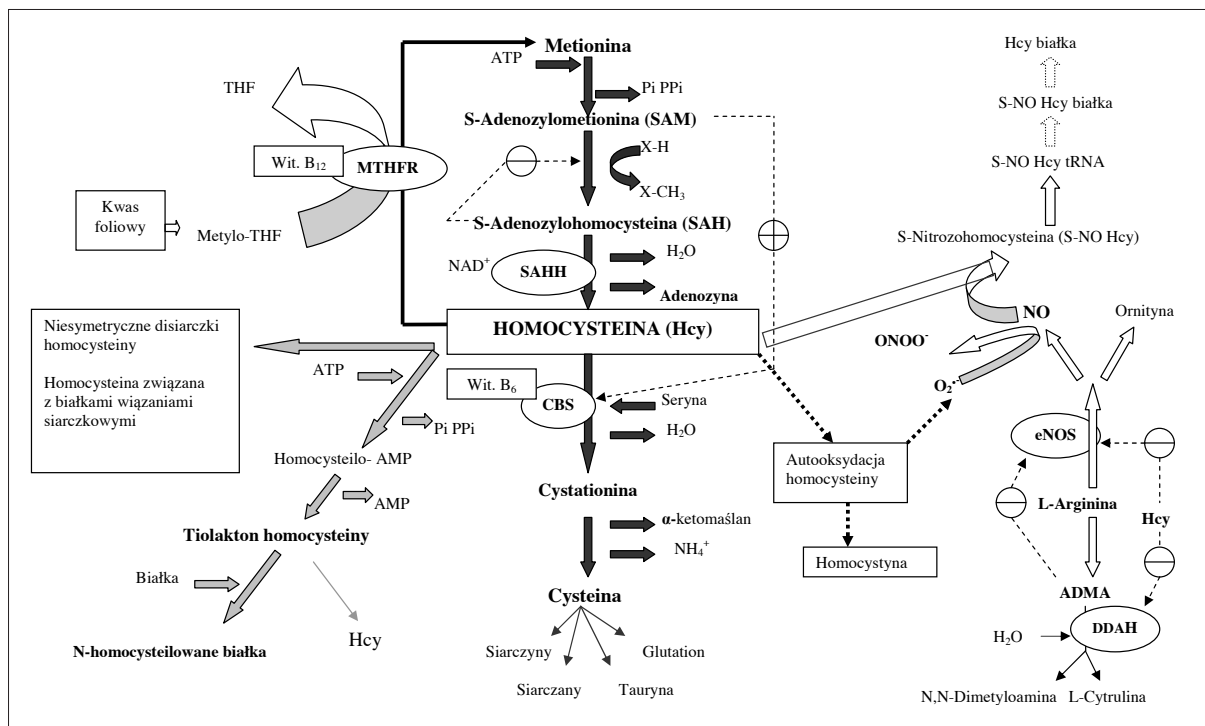
Tabela 1. Czynniki wydzielane przez śródbłonek naczyniowy

Czynniki wpływające na relaksację naczyń	
O działaniu wazodylatacyjnym: - tlenek azotu (NO) - prostacyklina (PGI ₂) - śródbłonkowopochodny czynnik hiperpolaryzujący (EDHF) - bradykinina - adrenomedullina, - natriuretyczny peptyd C	O działaniu wazokonstrykcyjnym: - endotelina 1 (ET-1) - angiotensyna II (AT II) - tromboksan A ₂ (TXA ₂) - prostaglandyna H ₂ - rodniki tlenowe
Czynniki wpływające na proliferację komórek i angiogenezę	
Hamujące procesy rozrostowe: - tlenek azotu (NO) - prostacyklina (PGI ₂) - transformujący czynnik wzrostu β - siarczan heparanu - inhibitory proteinaz zewnątrzkomórkowych	Aktywujące procesy rozrostowe: - endotelina 1 (ET-1) - angiotensyna II - rodniki tlenowe - transformujący czynnik wzrostu β (TGF-β) - insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-1) - interleukiny - adenozyne - śródbłonkowy czynnik wzrostu naczyń (VEGF) - proteiny ułatwiające migrację komórek śródbłonna
Czynniki wpływające na układ krzepnięcia i fibrynolizy	
Antykoagulacyjne: - tlenek azotu (NO) - prostacyklina (PGI ₂) - tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA) - białko C - czynnik von Willebranda - inhibitor czynnika tkankowego	Prokoagulacyjne: - endotelina 1 - rodniki tlenowe - inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1) - tromboksan A ₂ - fibrynogen - czynnik tkankowy (TF)
Wskaźniki stanu zapalnego	
Przeciwapalne: - tlenek azotu (NO) - prostacyklina (PGI ₂)	Prozapalne: - cząsteczki adhezyjne - cytokiny - chemokiny - czynnik jądrowy NF-κB

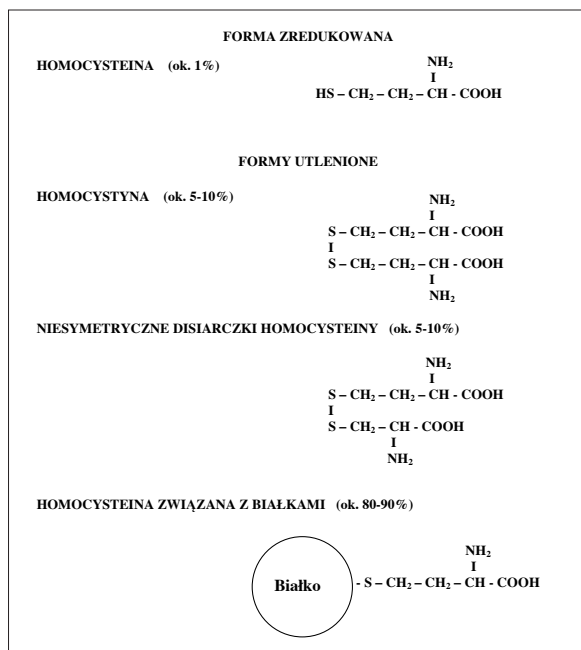
nem hiperhomocysteinemii. Wynikać może ona z nadmiaru metioniny w diecie i z niedoboru witamin (kwasu foliowego, witaminy B₁₂ i B₆), które są kofaktorami jego przemian biochemicznych oraz występowania wad genetycznych powodujących brak lub obniżenie aktywności enzymów katalizujących przemianę Hcy, głównie reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR, EC 1.5.1.20) oraz β-syntazy cystationiny (CBS, EC 4.2.1.22) [22]. Wzrost stężenia Hcy może być również spowodowany stosowaniem niektórych leków np.: metotreksatu, karmazepiny, fenytoiny, tiazydów. Hiperhomocysteinemię obserwuje się w przebiegu wielu schorzeń, takich jak: wady rozwojowe cewy nerwowej, choroba Alzheimera, choroby nerek, łuszczyca, białaczki i chłoniaki, choroby sercowo-naczyniowe, w tym także nadciśnienie tętnicze [29,30,36]. Znamiennej korelację między wartością

ciśnienia rozkurczowego a stężeniem homocysteiny potwierdzono w obejmującym około 16 tysięcy pacjentów projekcie badawczym Hordaland Homocysteine Study [31]. Wzrost stężenia homocysteiny o 5 μmol/l może się wiązać z co najmniej 2-krotnym wzrostem ryzyka nadciśnienia tętniczego. Wzrost stężenia tego aminokwasu w krwi chorych na nadciśnienie tętnicze wykazali w swoich pracach liczni badacze [1,6,42]. Podobne wyniki uzyskiwaliśmy także w badaniach własnych, w których obserwowaliśmy w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze wyższe stężenia Hcy niż u osób zdrowych oraz wzrost stężenia tego aminokwasu wraz ze wzrostem stopnia nadciśnienia [23].

Na podstawie wyników badań *in vitro* i *in vivo* przyjmuje się, że biochemiczne oddziaływania hiperhomocysteinemii pro-



Ryc. 1. Schemat wybranych szlaków przemian biochemicznych homocysteiny [wg 37 i 43, modyfikacja własna]; THF - tetrahydrofolian, SAH - hydrolaza S-adenozylhomocysteiny, CBS-β - syntaza cystioniny, MTHFR - reduktaza metylenotetrahydrofolianowa, eNOS - endotelialna syntaza tlenu azotu, DDAH - dimetyloaminohydrolaza dimetyloargininowa, ⊖ - hamowanie reakcji, ⊕ - aktywacja reakcji



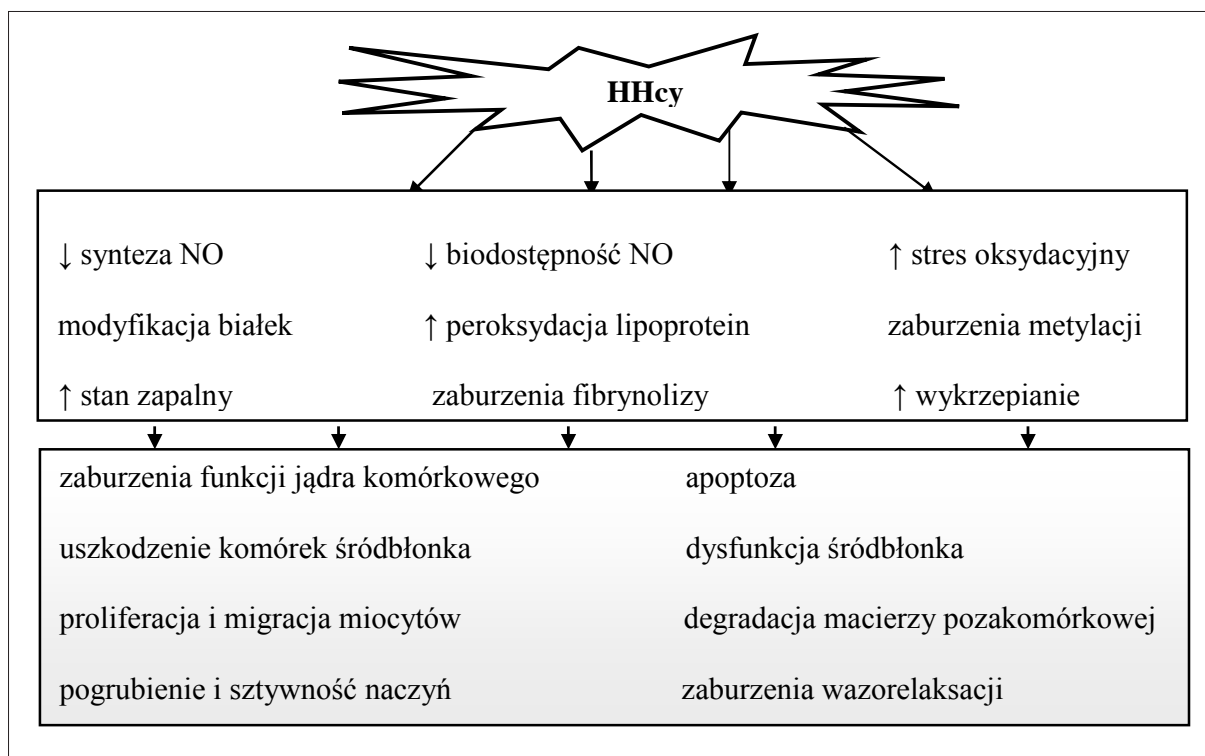
Ryc. 2. Homocysteina i jej pochodne występujące w przestrzeni pozakomórkowej [wg 47, zmodyfikowano]

wadzą do uszkodzenia komórek śródbłonna, niekorzystnie wpływają na funkcję rozkurczową naczyń oraz zmniejszają ich elastyczność poprzez wpływ na proces przebudowy ścian naczyniowych (ryc. 3). Towarzyszące hiperhomocy-

steinemii zaburzenie funkcji rozkurczowej naczyń skutkuje wzrostem ciśnienia tętniczego, natomiast uszkodzenie i pogrubienie ściany naczyń krwionośnych, ich kalcyfikacja i usztywnienie przyczynia się do utrwalenia nadciśnienia tętniczego [11,38].

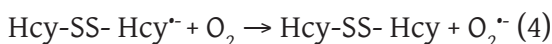
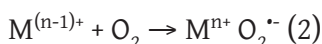
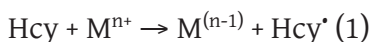
Rola homocysteiny w generowaniu stresu oksydacyjnego

Jako jedną z głównych przyczyn niekorzystnego oddziaływania hiperhomocysteinemii na ściany naczyń krwionośnych wskazuje się bezpośredni i pośredni wpływ przemian biochemicznych homocysteiny na generowanie wolnych rodników i zaburzenie równowagi oksydacyjno-redukcyjnej. Stres oksydacyjny jest stanem, w którym komórki narażone są na działanie wysokich stężeń tlenu cząsteczkowego lub reaktywnych form tlenu (ROS - reactive oxygen species). Związki te są wytwarzane w prawie wszystkich komórkach organizmu, gdzie pełnią funkcje regulacyjne. Jednocześnie z wytwarzaniem rodników działają enzymatyczne układy antyoksydacyjne związane z dysmutazą ponadtlenkową (SOD, EC 1.15.1.1) oraz z katalazą (EC 1.11.1.6) i peroksydazą glutationową (GPx, EC 1.11.1.9), regulujące równowagę oksydacyjną. Gdy wytwarzanie wolnych rodników tlenowych przewyższa zdolności antyoksydacyjne komórki, wysokie stężenie tych związków ujawnia ich właściwości toksyczne. Rodniki te utleniają białka strukturalne i enzymatyczne komórek, powodują peroksydację lipidów błon komórkowych organelli wewnątrzkomórkowych oraz uszkodzają materiał genetyczny komórek [53].



Ryc. 3. Wpływ hiperhomocysteinemii (HHcy) na zaburzenia molekularne i komórkowe w ścianie naczyń krwionośnych; □ - oddziaływanie na poziomie molekularnym, ■ - oddziaływanie na poziomie komórkowym i tkankowym

Homocysteina może nasilać stres oksydacyjny na kilka sposobów. Aminokwas ten, w obecności jonów metali (M^{n+}), ulega procesowi autooksydacji, któremu towarzyszy powstawanie rodników nadadtlenkowych ($O_2^{\cdot-}$). Proces ten przebiega następująco [38]:



Hiperhomocysteinemia może też pośrednio wpływać na wzrost stężenia anionorodnika nadadtlenkowego poprzez proces „rozprężenia” funkcji endotelialnej syntazy tlenu azotu (eNOS, CE 1.14.13.39). Syntaza tlenu azotu w prawidłowych warunkach katalizuje przemianę L-argininy do L-cytruliny z wytworzeniem tlenu azotu. W przypadku niedoboru kofaktora - zredukowanej formy tetrahydrobiopteryny, która jest zużywana w procesach przemian homocysteiny, dochodzi do rozprężania podjednostek eNOS. W tych warunkach eNOS katalizuje reakcję przenoszenia elektronów na tlen cząsteczkowy. W wyniku tego procesu powstaje anionorodnik nadadtlenkowy, a następnie nadadtlenek wodoru [28]. Ponadto wzrost stężenia homocysteiny aktywuje kompleks enzymatyczny oksydazy NADPH (EC 1.6.3.1) katalizującej reakcję, w której powstaje anionorodnik nadadtlenkowy [38].

Hiperhomocysteinemia może się także przyczyniać do obniżenia aktywności enzymatycznych antyoksydantów: dysmutazy nadadtlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GPx, EC 1.11.1.9). Spadek aktywności tych enzymów powoduje nadmierne gromadzenie się produktów degradacji nadadtlenków lipidowych oraz osłabienie obrony antyoksydacyjnej. W ten sposób hiperhomocysteinemia, oprócz promowania powstawania rodników tlenowych, wpływa na obniżenie potencjału oksydacyjno-redukcyjnego [10].

Wpływ hiperhomocysteinemii na funkcję rozkurczową naczyń krwionośnych

Towarzyszące hiperhomocysteinemii gromadzenie się wolnych rodników tlenowych ogranicza biodostępność tlenu azotu, który pełni zasadniczą rolę w utrzymaniu napięcia i reaktywności naczyń. Związek ten jest syntetyzowany przez komórki śródbłónki naczyń w sposób ciągły na skutek stałej stymulacji przez naczyniowe siły hemodynamiczne (ss - shear stress). Reakcja syntezy NO zachodzi z udziałem syntazy tlenu azotu (eNOS, NOS-3), której konstitutywna izoforma występuje w śródbłónce. Uwolniony z endotelium NO dostaje się do warstwy komórek mięśni gładkich, w których stymuluje działanie cyklicznej guanylowej, przez co zwiększa się synteza cyklicznego guanyzylomonofosforanu (cGMP), który aktywuje kinazę białkową G, a ta stymuluje zależną od jonów wapniowych swoistą ATP-azę. Na skutek tego zwiększa się wychwyt jonów wapnia z sarkoplazmy i następuje rozkurcz mięśni gładkich naczyń [28]. Efekt fizjologiczny wywierany przez

tlenek azotu jest krótkotrwały, gdyż związek ten rozpada się w ciągu kilku do kilkunastu sekund.

W krwi tlenek azotu może się wiązać z żelazem hemu oraz z grupami sulfhydrylowymi (SH) cysteiny lub homocysteiny. W reakcji tlenu azotu z homocysteiną powstaje S-nitrozohomocysteina, która w odróżnieniu od homocysteiny nie ma właściwości utleniających, wykazuje natomiast właściwości antyagregacyjne oraz hamuje proliferację miocytów. Jednak przy wysokich stężeniach i długotrwałym oddziaływaniu homocysteiny nasilenie tej reakcji zmniejsza biodostępność NO i generuje znaczne ilości S-nitrozohomocysteiny, co może być przyczyną modyfikacji białek (ryc. 1).

Tlenek azotu reaguje także z anionorodnikiem ponadtlenkowym, który powstaje między innymi w procesie autooksydacji homocysteiny. Produktem tej reakcji jest niezwykle reaktywny nadtlenoazotyn (ONOO^-) [38,44].

Hiperhomocysteinemia przyczynia się nie tylko do inaktywacji NO, ale też ujemnie wpływa na syntezę tego związku. Jak już wspomniano, hiperhomocysteinemia powoduje „rozprężanie” podjednostek syntazy tlenu azotu i zmianę jej funkcji. Ponadto aminokwas ten przyczynia się do wzrostu stężenia endogennego inhibitora syntazy tlenu azotu - asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA). Jak wykazali Stuhlinger i wsp. oraz Wilson i wsp., homocysteina hamuje aktywność dimetyloaminohydrolazy dimetyloargininowej (DDAH, EC 3.5.3.18), która katalizuje rozpad ADMA. Inhibicja DDAH powoduje wzrost stężenia tego inhibitora i hamowanie syntezy NO (ryc. 1) [39,52]. Wykazano także, że wzrost stężenia homocysteiny przez wpływ na aktywność kinazy białkowej C, która katalizuje reakcję fosforylacji białka eNOS przyczynia się do obniżenia aktywności tego enzymu [10].

Jak wykazały dotychczasowe badania, oprócz tlenu azotu, kolejnym czynnikiem powodującym relaksację naczyń krwionośnych, jest siarkowodor powstający w mięśniówce gładkiej naczyń w reakcji katalizowanej przez liazę γ -cystationy (EC 4.4.1.1). Wysokie stężenia homocysteiny mogą hamować tę reakcję przyczyniając się do rozwoju nadciśnienia [9].

Inny proponowany mechanizm wzrostu ciśnienia krwi w przypadku hiperhomocysteinemii związany jest z hamowaniem biodostępności adenozyliny [44]. W przemianie biochemicznej metioniny do homocysteiny (ryc. 1) związkiem pośrednim jest S-adenozylometionina (SAM), a po demetylacji tego związku powstaje S-adenozylhomocysteina (SAH). Gromadzenie się SAH może zmniejszać dostępność adenozyliny, która należy do endogennych regulatorów ciśnienia krwi i działa jako neuroprzekaznik w komórkach endotelium i miocytach. Związek ten m.in. hamuje wytwarzanie angiotensyny II i noradrenalinę [44].

Reasumując, oddziaływanie hiperhomocysteinemii przez dłuższy okres na ściany naczyń krwionośnych, wpływa na biosyntezę i funkcje czynników wazodylatacyjnych w ścianie naczyń, co może się przyczyniać do rozwoju nadciśnienia tętniczego [10,38,39,52].

Oddziaływanie hiperhomocysteinemii na komórki śródbłónka naczyniowego

Hamowanie podziałów komórek endotelium

Hiperhomocysteinemia wpływa na supresję syntezy DNA w komórkach śródbłónka poprzez hamowanie procesów metylacji białek i DNA. Wzrost stężenia homocysteiny wiąże się ze wzrostem aktywności syntazy S-adenozylhomocysteiny (SAHH), co skutkuje nagromadzeniem się S-adenozylhomocysteiny (SAH), która dodatkowo jest inhibitorem reakcji transmetylacji (ryc. 1) [44]. Hipometylacja białka p21^{ras} powoduje zmniejszenie jego powinowactwa do błony komórkowej, co pociąga za sobą zmniejszenie aktywowania swoistych kinaz uczestniczących w regulacji podziałów komórkowych i pozostanie komórek śródbłónka w fazie G1 cyklu komórkowego. Sugeruje się również, że hipometylacja jest odpowiedzialna za spadek stymulowania kinaz aktywowanych mitogenami (MAP – mitogen-activated protein kinases), które uczestniczą w regulacji podziałów komórkowych. Następnym etapem tych procesów jest zatrzymanie komórek śródbłónka w fazie G1 cyklu komórkowego. Homocysteina może również hamować wzrost komórek śródbłónka w wyniku hipometylacji lamininy B i fosfatazy białkowej 2A. Z kolei hipometylacja DNA blokuje transkrypcję cykliny A w komórkach śródbłónka, co również powoduje zatrzymanie cyklu komórkowego, a w konsekwencji zahamowanie procesu regeneracji endotelium [10,19].

Uszkodzenie komórek śródbłónka

Przy utrzymującym się dłuższy czas podwyższonym stężeniu homocysteiny gromadzące się w błonach komórkowych komórek endotelium reaktywne formy tlenu powodują peroksydację lipidów i powstawanie rodników lipidowych ($\text{L}^\cdot$). Rodniki lipidowe łącząc się z tlenem, tworzą rodniki nad-tlenkowe ($\text{LOO}^\cdot$), które przekształcają się do wodorotlenków lipidów (LOOH). Jeśli wodorotlenki lipidów zostaną wbudowane w błony komórkowe, wzrasta ich przepuszczalność i wrażliwość na uszkodzenia, stają się też mniej sprawne czynnościowo [20].

Hiperhomocysteinemia przyczynia się także do aktywacji procesu apoptozy w endotelium. Generowane przez homocysteinę wolne rodniki powodują uszkodzenie struktury DNA. W wyniku tego procesu dochodzi do wzrostu aktywności polimerazy poli-ADP rybozy (PARP-1, EC 2.4.2.30), kluczowego enzymu w procesach reparacyjnych DNA, co prowadzi do wyczerpania NAD^+ , a następnie do śmierci komórki [8].

Hiperhomocysteinemia może oddziaływać także na metabolizm białek w komórkach śródbłónka. Zgodnie z hipotezą sformułowaną przez Jakubowskiego istnieje możliwość wbudowania w strukturę białek pochodnej homocysteiny cząsteczki S-nitrozohomocysteiny, która powstaje w reakcji Hcy z tlenkiem azotu (ryc. 1). Cząsteczka ta może się wiązać z tRNA i być włączana do łańcucha polipeptydowego zamiast metioniny w procesie translacji. Wzrost stężenia homocysteiny może więc prowadzić do powstawania białka o wadliwej strukturze pierwszorzędowej, zwłaszcza w miejscach odga-

łężeń naczyń krwionośnych, narażonych na shear stress wywołujący uwalnianie NO [17].

Za potranslacyjną modyfikację białek jest odpowiedzialna inna pochodna homocysteiny – tiolakton homocysteiny (ryc. 1). Ten cykliczny tioester wykazuje zdolność do acylacji wolnych grup aminowych czyli N-homocysteilacji. Tiolakton homocysteiny wiążąc się z grupą ϵ -aminową lizyny przyłącza się do białek. Ponadto tiolakton homocysteiny, po enzymatycznej hydrolizie do homocysteiny, może tworzyć wiązania siarczkowe wiążąc się z resztami łańcuchów bocznych cysteiny (S-homocysteilacja). Jak wykazały badania Sibrian-Vazguez i wsp. proces N-homocysteilacji białek może prowadzić do powstawania rodników węglowych, które następnie w reakcji z tlenem przyczyniają się do powstawania nadtlenu i reaktywnych grup karbonylowych [37]. N-homocysteilacja może istotnie modyfikować białka występujące w krwi: albuminy, hemoglobiny, γ -globulinę, ferrytynę, fibrynogen, białka śródbłonna naczyniowego oraz apoproteiny cząstek lipoproteinowych LDL i HDL.

N-homocysteilacja białek komórek śródbłonna powoduje, że komórki te są bardziej podatne na działanie wolnych rodników tlenowych. Na powierzchni komórek śródbłonna zmodyfikowane i uszkodzone proteiny są rozpoznawane przez komórki układu immunologicznego, a następnie fagocytowane przez makrofagi, co prowadzi do uszkodzenia endotelium [38]. Uszkodzenie komórek śródbłonna pociąga za sobą aktywację procesów naprawczych i zapalnych oraz nasilenie powstawania zmian miażdżycowych. Modyfikacja białek krążących w krwi prowadzi do zmiany ich właściwości, gdyż wykazują tendencję do agregacji, a ponadto najprawdopodobniej zaburzone zostają ich funkcje [17,18,37].

Wpływ hiperhomocysteinemii na zaburzenia przemian lipidowych i lipoproteinowych

N-homocysteinylacja apolipoproteiny B-100 (białka strukturalnego LDL), obejmująca powyżej 10-25% reszt ϵ -aminowych lizyny, prowadzi do przyspieszenia wychwytu i degradacji cząstek LDL przez makrofagi [44]. Do modyfikacji cząstek lipoproteinowych może się pośrednio przyczyniać także wzrost stężenia S-nitrohomocysteiny (ryc. 1). Zmodyfikowane cząsteczki LDL są pochłaniane przez makrofagi i odkładane w ścianie naczyń, w wyniku czego nasilają się procesy miażdżycowe. Powstający naciek tłuszczowy przekształca się w blaszkę włóknistą. Proces ten nieodwracalnie uszkadza strukturę naczyń krwionośnych oraz prowadzi do rozwoju zaburzeń hemostazy [8]. Zdolność do hamowania oksydacji lipoprotein o małej gęstości (LDL) ma paraoksonaza (PON1, EC 3.1.1.81), umiejscowiona głównie na cząstkach HDL. Jednakże przy wysokich stężeniach homocysteiny białko PON1 ulega N-homocysteilacji, co upośledza jej funkcję. Hiperhomocysteinemia hamuje też ekspresję genu apoproteiny AI [10,24]. W rezultacie hiperhomocysteinemia nasila aterosogenne oddziaływanie wysokich stężeń cholesterolu, szczególnie frakcji LDL oraz osłabia działanie ochronne HDL. Zjawisko to jest szczególnie niekorzystne u chorych, u których hiperhomocysteinemia towarzyszy zaburzeniom przemian lipoproteinowych. W badaniach grupy COMAC obserwowano

duże dodane ryzyko sercowo-naczyniowe przy jednocześnie wysokim stężeniu homocysteiny i wysokich stężeniach cholesterolu całkowitego i apoB w surowicy oraz gdy hiperhomocysteinemii towarzyszyły niskie stężenia cholesterolu HDL i apoAI. Badania te wykazały także znamienne, odwrotną korelację między stężeniem homocysteiny a stężeniem cholesterolu HDL [12]. Podobne wyniki uzyskaliśmy także w badaniach własnych, prowadzonych wśród chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z normo- i hiperhomocysteinemią [23]. W surowicy chorych z hiperhomocysteinemią stwierdzono znamienne niższe stężenia cholesterolu HDL i ApoAI w porównaniu z grupą pacjentów z normohomocysteinemią. Wykazano także wysoką ujemną korelację między stężeniem homocysteiny a stężeniem cholesterolu HDL i apoAI w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze. Ponadto podanie kwasu foliowego tym chorym powodowało istotny wzrost stężenia cholesterolu HDL oraz apoAI.

Wpływ hiperhomocysteinemii na przerost mięśniówki naczyń krwionośnych

W przypadku hiperhomocysteinemii uszkodzenie komórek śródbłonna naczyniowego, przy zmniejszeniu biodostępności NO, prowadzi do zaburzenia funkcji śródbłonna oraz do proliferacji miocytów. Niezależnie od inaktywacji tlenu azotu anionorodnik nadadtlenkowy ($O_2^{\cdot-}$) powoduje zwiększoną kurczliwość miocytów przez wpływ na wzrost napływu jonów wapnia do komórek [14].

Przypuszcza się, że homocysteina może mitogenicznie wpływać na miocyty poprzez indukcję genów c-fos i c-myc, genów cyklin A i D1 oraz stymulację aktywności kinazy białkowej C i enzymów szlaku przemian kinin. Powoduje to wzrost liczby miocytów [43]. Nadmierny rozrost komórek mięśni gładkich w ścianie tętnic zwiększa opór obwodowy, sprzyja rozwojowi nadciśnienia tętniczego i miażdżycy. Postępujące zgrubienie, m.in. ściany tętnic sztywnych, jest przyczyną niedokrwienia i udaru mózgu [38]. Procesowi rozrostu mięśniówki gładkiej naczyń towarzyszy zwiększenie syntezy i magazynowania kolagenu przez miocyty, co prowadzi do zmian w macierzy zewnątrzkomórkowej.

WPŁYW HOMOCYSTEINY NA MACIERZ ZEWNĄTRZKOMÓRKOWĄ

Proces fizjologicznej i patologicznej przebudowy naczyń związany jest z degradacją i syntezą składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Proces ten rozpoczyna się od aktywacji wyspecjalizowanych proteaz z rodziny metaloproteinaz (MMP), która może wynikać z nasilenia stresu oksydacyjnego i wzrostu stężenia nadadtlenoazotynu. W badaniach doświadczalnych na modelu zwierzęcym z indukowaną hiperhomocysteinemią wykazano wzrost aktywacji MMP-2 i MMP-9, związany z przebudową tętnic i nadciśnieniem [38]. Inne badania wykazały, że hiperhomocysteinemia powoduje wzrost aktywności MMP-9 i hamowanie inhibitora metaloproteinaz TIMP-4 [45]. Hiperhomocysteinemia ma też prawdopodobnie wpływ na aktywację elastaz serynowych macierzy zewnątrzkomórkowej. Natomiast przyczyną hiperplazji błony podstawnej naczyń u tych chorych jest indukcja wytwarzania kolagenu. Zaburzenia ilościowe składu macierzy zewnątrzkomórkowej (proporcji kolagenu do elastyny) skutkują zmniejszeniem elastyczności

ścian naczyń [35]. Ponadto hiperhomocysteinemia redukuje połączenie sieciujące we włóknach kolagenowych, co powoduje ich destabilizację. Wiązania sieciujące podlegają ścisłej kontroli przez oksydazę lizynową, której nieodwracalnym inhibitorem jest tiolakton homocysteiny [34]. W konsekwencji procesy te prowadzą do nasilenia degradacji elastyny w błonie wewnętrznej oraz powodują przyspieszenie procesów włóknienia i kalcyfikacji naczyń krwionośnych [46].

ZWIĄZEK HIPERHOMOCYSTEINEMII Z ROZWOJEM STANU ZAPALNEGO W UKŁADZIE NACZYNIOWYM

Jako jeden ze skutków oddziaływania hiperhomocysteinemii wymienia się także nasilenie syntezy białek adhezyjnych i czynników chemotaktycznych powodujących rozwój stanu zapalnego i osiedlanie się makrofagów w ścianie naczyń. Przemianom biochemicznym homocysteiny towarzyszy wzrost stężenia rodników tlenowych, który zwiększa ekspresję jądrowego czynnika transkrypcyjnego κB ($NF-\kappa B$ – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) i receptora aktywacji-prolifracji peroksysomów gamma ($PPAR\gamma$ – peroxisome proliferator-activated receptor gamma) [2]. Hiperhomocysteinemia pobudza także ekspresję białka MCP-1 odpowiedzialnego za migrację monocytów w kierunku ściany naczyń [40]. Z kolei czynnikiem mitogennym monocytów jest czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego (PDGF – platelet derived growth factor), który zostaje uwolniony z agregujących na skutek uszkodzenia śródbłonna naczyniowego, płytek krwi. Badania dowiodły również, że istnieje dodatnia korelacja między poziomem homocysteiny a stężeniem czynnika martwicy nowotworów ($TNF-\alpha$ – tumor necrosis factor- α) i białka przyciągającego monocytu (MCP-1 – monocyte chemoattract protein-1) i naczyniowej molekule przylegania komórkowego-1 (VCAM-1 – vascular cell adhesion molecule-1), które mogą nasilać procesy zapalne [7,16]. Ponadto cytotoksyczne oddziaływanie homocysteiny na komórki śródbłonna stymuluje adhezję granulocytów obojętnochłonnych [40]. Reakcję zapalną w śródbłonie naczyń mogą powodować także obecne na powierzchni komórek N-homocysteinylowane białka, gdyż w surowicy ludzkiej stwierdzono obecność immunoglobulin klasy G skierowanych przeciw epitopom $Ne-Hcy-Lys$ [18]. Wzrost stężenia czynników transkrypcyjnych, $TNF-\alpha$, białka MCP-1, VCAM-1 oraz immunoglobulin nasila stan zapalny, czego wykładnikiem jest wzrost stężenia białka CRP. Związek między występowaniem hiperhomocysteinemii a stężeniem CRP wykazało wielu badaczy [15,32,41]. Zależność tę wykazaliśmy także w badaniach własnych, w których stężenie $hsCRP$ w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze było znacząco wyższe niż u osób zdrowych. Podawanie kwasu foliowego tym chorym skutkowało jednoczesnym obniżeniem stężenia homocysteiny i $hsCRP$ w surowicy [5].

ROLA HIPERHOMOCYSTEINEMII W ZABURZENIACH PROCESU KRZEPNIĘCIA I FIBRYNZOLIZY

Hiperhomocysteinemia sprzyja także procesom wykrzepiania w układzie naczyniowym przez wielokierunkowe oddziaływanie na płytki krwi, czynniki wydzielane przez śródbłonek oraz na komórki śródbłonna. Udowodniono, że uszkodzenie komórek śródbłonna powoduje zaburzenia pro-

cesu przylegania płytek, a nasilenie tego procesu jest proporcjonalne do stężenia homocysteiny [26]. Ponadto, jak wykazali Ling i wsp., homocysteina blokuje wpływ tkankowego aktywatora plazminogenu na śródbłonek, a połączenie jej z tlenkiem azotu redukuje antypłytkowy potencjał śródbłonna naczyniowego [25]. Z kolei Davi i wsp. wykazali, że hiperhomocysteinemia może upośledzać cykl przemian kwasu arachidonowego prawdopodobnie przez uwalnianie kwasu arachidonowego z płytek krwi i wzmożenie syntezy tromboksanu A_2 (TXA_2), prostaglandyny $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) i prostaglandyny H_2 (PGH_2) [13]. Skutkiem tego może być zwiększona agregacja i aktywacja krwinek płytkowych [10]. Inne badania dowiodły, że homocysteina obniża aktywność wiązania antytrombiny III z proteazami, co może prowadzić do poważnych powikłań zakrzepowo-zatorowych [26].

Jak wynika z danych przedstawionych w poprzednich rozdziałach, hiperhomocysteinemia przyczynia się do odkładania lipidów w ścianie naczyń, rozplemu komórek mięśni gładkich, nasilenia procesów zapalnych, przez co promuje rozwój miażdżycy naczyń. Proces ten nieodwracalnie uszkadza strukturę naczyń krwionośnych oraz prowadzi do zaburzeń hemostazy. Ponadto hiperhomocysteinemia może powodować uwolnienie się apoproteiny (a) z cząstek lipoproteiny (a), co dodatkowo nasila proces krzepnięcia [3]. Przypuszcza się również, że proces N-homocysteilacji może powodować zmiany właściwości fibrynogenu i zaburzać jego biologiczną funkcję. Tiolakton homocysteiny zmienia strukturę powstających włókien, w wyniku czego powstałe skrzepy są cieńsze i ściślej upakowane. Struktura włókien fibryny wpływa także na proces generacji plazminy, gdyż aktywacja plazminogenu pod wpływem tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) przebiega o wiele szybciej w obecności grubych fibryli niż cienkich [8]. Opisano też wiele innych mechanizmów, poprzez które hiperhomocysteinemia może zaburzać równowagę między czynnikami krzepnięcia i fibrynolizy promując proces wykrzepiania [26]. Aktywacja wykrzepiania w powiązaniu z uszkodzeniem warstwy endotelium i progresją rozwoju blaszek miażdżycowych może się dodatkowo przyczyniać do zwężenia światła naczyń krwionośnych i wzrostu prędkości fali tętna i ciśnienia krwi [35,38].

PODSUMOWANIE

Od wielu lat w środowisku medycznym toczy się dyskusja na temat roli hiperhomocysteinemii w rozwoju chorób o podłożu miażdżycowym, w tym nadciśnienia tętniczego [21,27,51]. Jednak bez względu na to czy homocysteina jest czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, czy wskaźnikiem odzwierciedlającym stopień uszkodzenia naczyń krwionośnych oraz serca i nerek, faktem jest częste występowanie hiperhomocysteinemii u chorych na te schorzenia [1,4,30,36]. Nie można też zaprzeczyć, że stężenie homocysteiny w krwi jest dodatnio skorelowane ze wskaźnikami zachorowalności na choroby układu krążenia i śmiertelności z ich powodu [47,49]. Wskazuje to, na zdecydowanie niekorzystny wpływ wzrostu stężenia tego aminokwasu na układ naczyniowy.

Jak wynika z danych przedstawionych w poprzednich rozdziałach tej pracy istnieje wiele poglądów na temat toksycz-

nego oddziaływania homocysteiny na układ naczyniowy. Wysokie stężenia tego aminokwasu mogą prawdopodobnie wpływać niekorzystnie na równowagę oksydacyjno-redukcyjną komórek i przestrzeni pozakomórkowej oraz zaburzać syntezę i biodostępność tlenu azotu [2,28,34,53]. Obecnie coraz częściej podkreśla się znaczenie N-homocystylacji białek przez tiolakton homocysteiny i zaburzeń metylacji białek i DNA powodowanych m.in. przez kumulację S-adenozylhomocysteiny, w rozwoju dysfunkcji śródbłonna i przebudowie ściany naczyń krwionośnych [38,44].

Niekorzystny wpływ jaki wywiera hiperhomocysteinemia na komórki śródbłonna naczyniowego przyczyniając się do zaburzenia funkcji wazodylatacyjnej naczyń krwionośnych,

nasilenia proliferacji komórek mięśni gładkich, rozrostu tkanki włóknistej i zmniejszenia elastyczności ścian naczyń wykazały liczne badania doświadczalne i kliniczne. Wykazały one także, że powodowane hiperhomocysteinemią uszkodzenie śródbłonna i przebudowa naczyń aktywuje procesy zapalne i sprzyja powstawaniu zmian miażdżycowych [10,46]. Ponadto, u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, hiperhomocysteinemia często współwystępuje z klasycznymi czynnikami ryzyka chorób naczyniowo-sercowych, szczególnie z zaburzeniami gospodarki lipidowej i lipoproteinowej, potęgując ich działanie [12]. Rezultatem tych złożonych wzajemnych oddziaływań patofizjologicznych jest wzrost ciśnienia krwi, utrwalenie nadciśnienia oraz rozwój powikłań narządowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Asfar S., Safar H.A.: Homocysteine levels and peripheral arterial occlusive disease: a prospective cohort study and review of the literature. *J. Cardiovasc. Surg.*, 2007; 48: 601-605
- [2] Au-Yeung K.K., Woo C.W., Sung F.L., Yip J.C., Siow Y.L., O K.: Hyperhomocysteinemia activates nuclear factor- κ B in endothelial cells via oxidative stress. *Circ. Res.*, 2004; 94: 28-36
- [3] Baños-González M.A., Anglés-Cano E., Cardoso-Saldaña G., Peña-Duque M.A., Martínez-Ríos M.A., Valente-Acosta B., González-Pacheco H., de la Peña-Díaz A.: Lipoprotein(a) and homocysteine potentiate the risk of coronary artery disease in male subjects. *Circ. J.*, 2012; 76: 1953-1957
- [4] Baszczuk A., Kopczyński Z., Pupek-Musialik D., Cymerys M., Kopczyński J., Wojtkowiak J.: Hiperhomocysteinemia u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze. *Endokr. Otyłość*, 2011; 7: 1-10
- [5] Baszczuk A., Kopczyński Z., Pupek-Musialik D., Czeryba M., Kopczyński J., Cymerys M., Thielemann A.: Ocena stężenia białka C-reaktywnego w surowicy krwi chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z hiperhomocysteinemią. *Nadciś. Tętn.*, 2009; 13: 167-174
- [6] Berent H., Wocial B., Kuczyńska K., Raczkowska M.: Homocysteina i hemostatyczne czynniki ryzyka miażdżycy u chorych z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym. *Nadciś. Tętn.*, 2001; 5: 255-260
- [7] Bogdanski P., Pupek-Musialik D., Dytfeld J., Lacinski M., Jabłeczka A., Jakubowski H.: Plasma homocysteine is a determinant of tissue necrosis factor- α in hypertensive patients. *Biomed. Pharmacother.*, 2008; 62: 360-365
- [8] Brzezińska A., Balińska M.: Rola homocysteiny w procesie rozwoju zmian miażdżycowych na poziomie komórkowym. *Postępy Biol. Kom.*, 2000; 27: 81-96
- [9] Cheng Y., Ndisang J.F., Tang G., Cao K., Wang R.: Hydrogen sulfide-induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2004; 287: H2316-H2323
- [10] Cheng Z., Yang X., Wang H.: Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Curr. Hypertens. Rev.*, 2009; 5: 158-165
- [11] Chłopicki S., Gryglewski R.P. *Farmakologia śródbłonna*. *Kardiolog. Pol.*, 2002; 57: 5-13
- [12] Daly C., Fitzgerald A.P., O'Callaghan P., Collins P., Cooney M.T., Graham I.M., COMAC Group: Homocysteine increases the risk associated with hyperlipidaemia. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.*, 2009; 16: 150-155
- [13] Davi G., Di Minno G., Coppola A., Andria G., Cerbone A.M., Madonna P., Tufano A., Falco A., Marchesani P., Ciabattini G., Patrono C.: Oxidative stress and platelet activation in homozygous homocystinuria. *Circulation*, 2001; 104: 1124-1128
- [14] Dhalla N.S., Temsah R.M., Netticadan T.: Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J. Hypertens.*, 2000; 18: 655-673
- [15] Feng S.Q., Ye P., Luo L.M., Xiao W.K., Bai Y.Y., Feng D., Liu D.J., Wu H.M., Xu R.Y., Bai J.: Associations of plasma homocysteine and high-sensitivity C-reactive protein levels with arterial stiffness in Chinese population: a community-based study. *Chin. Med. J.*, 2012; 125: 44-49
- [16] Hofmann M.A., Lalla E., Lu Y., Gleason M.R., Wolf B.M., Tanji N., Ferran L.J.Jr., Kohl B., Rao V., Kiesel W., Stern D.M., Schmidt A.M.: Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 675-683
- [17] Jakubowski H.: Homocysteine is a protein amino acid in humans. Implications for homocysteine-linked disease. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 30425-30428
- [18] Jakubowski H.: The pathophysiological hypothesis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2008; 59 (Suppl. 9): 155-167
- [19] James S.J., Melnyk S., Pogribna M., Pogribny I.P., Caudill M.A.: Elevation in S-adenosylhomocysteine and DNA hypomethylation: potential epigenetic mechanism for homocysteine-related pathology. *J. Nutr.*, 2002; 132 (Suppl. 8): 2361S-2366S
- [20] John S., Schmieder R.E.: Impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia: potential mechanisms and differences. *J. Hypertens.*, 2000; 18: 363-374
- [21] Joseph J., Handy D.E., Loscalzo J.: Quo vadis: whither homocysteine research? *Cardiovasc. Toxicol.*, 2009; 9: 53-63
- [22] Klerk M., Verhoef P., Clarke R., Blom H.J., Kok F.J., Schouten E.G., MTHFR Studies Collaboration Group: MTHFR 677C>T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA*, 2002; 288: 2023-2031
- [23] Kopczyński Z., Pupek-Musialik D., Kopczyński J., Cymerys M., Baszczuk A., Urbanek M.: Hyperhomocysteinemia in patients with primary hypertension. *Ann. UMCS Sect. DDD*, 2004; 17: 115-120
- [24] Liao D., Tan H., Hui R., Li Z., Jiang X., Gaubatz J., Yang F., Durante W., Chan L., Schafer A.I., Pownall H.J., Yang X., Wang H.: Hyperhomocysteinemia decreases high-density lipoprotein by inhibiting apolipoprotein A-I protein synthesis and enhancing HDL cholesterol clearance. *Circ. Res.*, 2006; 99: 598-606
- [25] Ling Q., Hajjar K.A.: Inhibition of endothelial cell thromboresistance by homocysteine. *J. Nutr.*, 2000; 130 (Suppl. 2S): 373S-376S
- [26] Malinowska J., Nowak P., Olas B.: Hiperhomocysteinemia a zaburzenia procesu hemostazy - fakty i mity. *Pol. Merk. Lekarski*, 2009; 27: 413-418

- [27] McCully K.S.: Homocysteine, vitamins, and vascular disease prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2007; 86: 1563S-1568S
- [28] Munzel T., Daiber A., Ullrich V., Mulsch A.: Vascular consequences of endothelial nitric oxide synthase uncoupling for the activity and expression of the soluble guanylyl cyclase and the cGMP-dependent protein kinase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 1551-1557
- [29] Naruszewicz M., Zymliński R., Bukowska H.: Hyperhomocysteinemia in chronic heart failure: pathophysiological and prognostic importance. *Kardiol. Pol.*, 2005; 62: S317
- [30] Nerbass F.B., Draibe S.A., Feiten S.F., Chiarello P.G., Vannucchi H., Cuppari L.: Homocysteine and its determinants in nondialyzed chronic kidney disease patients. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2006; 106: 267-270
- [31] Nygård O., Refsum H., Ueland P.M., Vollset S.E.: Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998; 67: 263-270
- [32] O'Callaghan P.A., Fitzgerald A., Fogarty J., Gaffney P., Hanbidge M., Boran G., Enright H., Murphy J., McCarthy B., Graham I.M.: New and old cardiovascular risk factors: C-reactive protein, homocysteine, cysteine and von Willebrand factor increase risk, especially in smokers. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.*, 2005; 12: 542-547
- [33] Poręba R., Derkacz A., Poręba M., Andrzejak R.: Funkcja śródbłonka u osób z chorobami układu krążenia. Część I: czynniki hormonalne i badanie funkcji śródbłonka. *Nadciś. Tętn.*, 2005; 9: 294-300
- [34] Raposo B., Rodriguez C., Martinez-González J., Badimon L.: High levels of homocysteine inhibit lysyl oxidase (LOX) and downregulate LOX expression in vascular endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2004; 177: 1-8
- [35] Sen U., Mishra P.K., Tyagi N., Tyagi S.C.: Homocysteine to hydrogen sulfide or hypertension. *Cell Biochem. Biophys.*, 2010; 57: 49-58
- [36] Shai I., Stampfer M.J., Ma J., Manson J.E., Hankinson S.E., Cannuscio C., Selhub J., Curhan G., Rimm E.B.: Homocysteine as a risk factor for coronary heart diseases and its association with inflammatory biomarkers, lipids and dietary factors. *Atherosclerosis*, 2004; 177: 375-381
- [37] Sibrian-Vazquez M., Escobedo J.O., Lim S., Samoei G.K., Strongin R.M.: Homocystamides promote free-radical and oxidative damage to proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107: 551-554
- [38] Steed M.M., Tyagi S.C.: Mechanisms of cardiovascular remodeling in hyperhomocysteinemia. *Antioxid. Redox Signal.*, 2011; 15: 1927-1943
- [39] Stühlinger M.C., Tsao P.S., Her J.H., Kimoto M., Balint R.F., Cooke J.P.: Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation*, 2001; 104: 2569-2575
- [40] Sung F.L., Slow Y.L., Wang G., Lynn E.G., O K.: Homocysteine stimulates the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in endothelial cells leading to enhanced monocyte chemotaxis. *Mol. Cell. Biochem.*, 2001; 216: 121-128
- [41] Sung K.C., Suh J.Y., Kim B.S., Kang J.H., Kim H., Lee M.H., Park J.R., Kim S.W.: High sensitivity C-reactive protein as an independent risk factor for essential hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 2003; 16: 1668-1673
- [42] Sutton-Tyrrell K., Bostom A., Selhub J., Zeigler-Johnson C.: High homocysteine levels are independently related to isolated systolic hypertension in older adults. *Circulation*, 1997; 96: 1745-1749
- [43] Tsai J.C., Wang H., Perrella M.A., Yoshizumi M., Sibinga N.E., Tan L.C., Haber E., Chang T.H., Schlegel R., Lee M.E.: Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.*, 1996; 97: 146-153
- [44] Turski W.A., Bald E.: Molekularny mechanizm biotoksyczności homocysteiny - fakty i hipotezy. *Postępy Biochem.*, 2005; 51: 395-406
- [45] Tyagi N., Gillespie W., Vacek J.C., Sen U., Tyagi S.C., Lominadze D.: Activation of GABA-A receptor ameliorates homocysteine-induced MMP-9 activation by ERK pathway. *J. Cell. Physiol.*, 2009; 220: 257-266
- [46] Vyssoulis G., Karpanou E., Kyvelou S.M., Adamopoulos D., Gialerios T., Gymnopoulos E., Cokkinos D., Stefanadis C.: Associations between plasma homocysteine levels, aortic stiffness and wave reflection in patients with arterial hypertension, isolated office hypertension and normotensive controls. *J. Hum. Hypertens.*, 2010; 24: 183-189
- [47] Wald D.S., Law M., Morris J.K.: Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from meta-analysis. *Br. Med. J.*, 2002; 325: 1202
- [48] Wasilewska A., Łysiak- Szydłowska W.: Rola homocysteiny jako źródła dysfunkcji śródbłonka naczyń: niezależny czynnik ryzyka miażdżycy. *Żyw. Człow. Metab.*, 1999; 3: 255-263
- [49] Waśkiewicz A., Sygnowska E., Broda G.: Homocysteine concentration and the risk of death in adult Polish population. *Kardiol. Pol.*, 2012; 70: 897-902
- [50] Weseler A.R., Bast A.: Oxidative stress and vascular function: implications for pharmacologic treatments. *Curr. Hypertens. Rep.*, 2010; 12: 154-161
- [51] Wierzbicki A.S.: Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diab. Vasc. Dis. Res.*, 2007; 4: 143-150
- [52] Wilson K.M., Lentz S.R.: Mechanisms of the atherogenic effects of elevated homocysteine in experimental models. *Semin. Vasc. Med.*, 2005; 5: 163-171
- [53] Wolin M.S.: Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 1430-1442

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.