

Magdalena Borowska, Agata Adamczuk, Hanna Winiarska, Marzena Dworacka

Katedra i Zakład Farmakologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Hiperhomocysteinemia u chorych na cukrzycę typu 2 — czynnik ryzyka czy tylko marker miażdżycy?

Hyperhomocysteinemia in type 2 diabetic patients — still is considered as a risk factor or it's only marker of atherosclerosis?

STRESZCZENIE

Hiperhomocysteinemia to patologiczne zjawisko wyraźnie wiążące się z rozwojem miażdżycy i schorzeń powstających na jej podłożu, które ma szczególne znaczenie u chorych na cukrzycę typu 2. Mimo to istnieje sporo wątpliwości, czy hiperhomocysteinemię należy traktować jako czynnik ryzyka miażdżycy, czy też jest to tylko marker tego rodzaju zmian. Wyjaśnienie tego problemu miałyby ogromne znaczenie praktyczne i pozwoliłoby sformułować odpowiednie zalecenia terapeutyczne. Niniejsza praca stanowi przegląd najważniejszych danych na temat właściwości biologicznych homocysteiny, przyczyn hiperhomocysteinemii oraz wyników badań dotyczących związków między hiperhomocysteinemią a miażdżycą u chorych na cukrzycę typu 2. (Diabet. Prakt. 2008; 9: 182–186)

Słowa kluczowe: hiperhomocysteinemia, cukrzyca typu 2, miażdżycy

ABSTRACT

Hyperhomocysteinemia is a pathological phenomenon markedly associated with atherosclerosis and

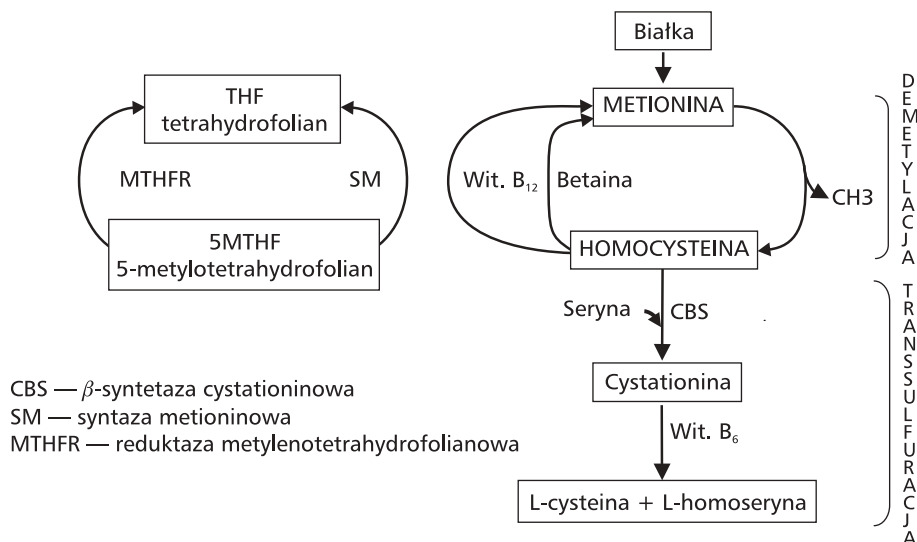
atherosclerosis-related diseases development. Patients with diabetes type 2 are especially affected by hiperhomocysteinemia. However, there is quite a lot of doubts if hiperhomocysteinemia should be considered as atherosclerotic risk factor or it's only marker of atherosclerosis. The elucidation of this problem could be of great practical importance and could allow to express adequate therapeutic recommendations. The manuscript contains the review of the most essential data concerning homocysteine biological properties, the reasons of hiperhomocysteinemia and results of studies focused on the relationship between hiperhomocysteinemia and atherosclerosis in type 2 diabetic patients. (Diabet. Prakt. 2008; 9: 182–186)

Key words: hyperhomocysteinemia, type 2 diabetes, atherosclerosis

Wstęp

Homocysteina (Hcy) jest aminokwasem siarkowym, produktem enzymatycznej demetylacji metioniny, której źródłem są pokarmowe białka pochodzenia zwierzęcego [1]. Powstająca w przemianach metioniny Hcy następnie uczestniczy w nieodwrotnym procesie transsulfuracji, w którym najistotniejszą rolę odgrywa dostępność witaminy B₆ będącej kofaktorem reakcji enzymatycznej tego szlaku. W reakcji transsulfuracji Hcy ulega kondensacji z seryną, tworząc cystationinę, która następnie ulega hydrolizie z uwolnieniem homoseryny i cysteiny [2] (ryc. 1).

Adres do korespondencji: dr hab. med. Marzena Dworacka
Katedra i Zakład Farmakologii UM im. K. Marcinkowskiego
ul. Rokietnicka 5a, 60-806 Poznań
tel.: (061) 854 72 47; faks: (061) 854 72 52
e-mail: mdworac@ump.edu.pl
Diabetologia Praktyczna 2008, tom 9, 3-4, 182-186
Copyright © 2008 Via Medica
Nadesłano: 12.09.2008 Przyjęto do druku: 30.09.2008



Rycina 1. Szlak przemian homocysteiny

W przypadku niedoboru metioniny w organizmie możliwa jest reakcja przebiegająca w kierunku odwrotnym, tzn. remetylacja Hcy do metioniny. Donorem grupy metylowej jest wówczas kwas foliowy, natomiast kofaktorem reakcji — witamina B₁₂ [3]. Inna, alternatywna droga remetylacji Hcy przebiega z udziałem betainy jako dawcy grupy metylowej [2]. Stężenie Hcy zależy zatem w znacznym stopniu od wydolności opisanych szlaków metabolicznych, która jest uwarunkowana stężeniem kwasu foliowego, witaminy B₁₂, witaminy B₆ oraz aktywnością enzymów uczestniczących w przemianach aminokwasów siarkowych.

Najczęstsze przyczyny hiperhomocysteinemii (HHcy)

Najlepiej poznano niektóre, genetycznie uwarunkowane, zaburzenia szlaku metabolicznego Hcy. Jedną z nich jest wywołane wrodzonym niedoborem beta-synthetazy cystationinowej (CBS, *cystathionine beta synthase*), katalizującej syntezę cystationiny z Hcy i seryny. Inna to defekt to niedobór reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR, *methylene-tetrahydrofolate reductase*) uczestniczącej w procesie remetylacji Hcy z metioniny, a jego przyczyną jest polimorfizm genu kodującego MTHFR [2, 4, 5]. Oba zaburzenia prowadzą do znacznego zwiększenia stężenia Hcy w surowicy. Zaobserwowano, że przekroczenie granicznego stężenia Hcy we krwi (> 14–15 μmol/l) wiąże się ze zwiększonym ryzykiem występowania udarów mózgu, chorób naczyń obwodowych i zakrzepicy [6, 7].

Poza zmianami w zakresie aktywności genów kodujących kluczowe enzymy w przemianach Hcy

na podwyższone stężenie Hcy we krwi wpływa również wiele innych czynników prowadzących do niedoboru witamin z grupy B. Należą do nich: palenie tytoniu i picie kawy [8], spożywanie znacznych ilości mięsa będącego źródłem metioniny, przy jednocześnie niewielkim spożyciu ryb, warzyw i zbóż będących źródłem witaminy B₆ oraz kwasu foliowego [9]. Stężenie Hcy w surowicy wzrasta także wraz z wiekiem oraz w przebiegu niektórych schorzeń, takich jak: niewydolność nerek, niedoczynność tarczycy, choroby nowotworowe (rak jelita grubego, białaczka limfoblastyczna) [10].

Niezwykle istotny jest wpływ leków na zwiększenie stężenia Hcy we krwi [11]. Na przykład metotreksat, sulfonamidy, cholestyramina, niektóre leki przeciwwgruźlicze, fenytoina i karbamazepina mogą wywoływać HHcy, hamując wchłanianie i metabolizm kwasu foliowego, podczas gdy metformina i kolchicina wywołują ten sam efekt poprzez hamowanie wchłaniania witaminy B₁₂. Natomiast izoniazyd, hydralazyna, teofilina i cykloseryna stymulują HHcy poprzez zmniejszanie stężenia witaminy B₆ w ustroju. Do pozostałych, stosunkowo często stosowanych leków, które mogą zwiększać stężenie Hcy we krwi, należą także tiazydy i fibraty [9, 12–14].

Związek między hiperhomocysteinemią, cukrzycą typu 2 i miażdżycą

Hiperhomocysteinemia od wielu lat była postrzegana jako specyficzny i niezależny czynnik proaterogenny [15–17]. Obserwacje te odnosiły się do populacji ogólnej, ale udowodniono także, że HHcy ma szczególne znaczenie w rozwoju miażdżycy u chorych na cukrzycę typu 2 [17–19]. Stwierdzono,

że związek między występowaniem HHcy a schorzeniami sercowo-naczyniowymi o podłożu miażdżycowym był w grupie chorych na cukrzycę typu 2 znacznie silniejszy niż u osób bez cukrzycy, a wzrost stężenia Hcy w surowicy o $5 \mu\text{mol/l}$ zwiększał śmiertelność ogólną o 17% u osób bez cukrzycy i o aż 60% u chorych na cukrzycę typu 2 [19].

Tę szczególną siłę oddziaływania HHcy u osób chorych na cukrzycę typu 2 częściowo może tłumaczyć zjawisko insulinooporności stanowiące integralny element patomechanizmu cukrzycy typu 2 oraz odgrywające istotną rolę w rozwoju chorób serca i naczyń [20]. Sugeruje się, że HHcy może nasilać insulinooporność, prowadząc do kompensacyjnej hiperinsulinemii, co w efekcie hamuje aktywność reduktazy metylenotetrahydrofolianowej oraz syntetazy cystationinowej i powoduje akumulację Hcy we krwi. Hiperhomocysteinemia i insulinooporność są więc elementami sprzężonych reakcji, które mogą się wzajemnie indukować, prowadząc w ten sposób do nasilenia powikłań sercowo-naczyniowych [21]. Warto przy tym zwrócić uwagę, że opinie co do wpływu insuliny na stężenie Hcy we krwi nie są wcale jednoznaczne. Podkreśla się, że insulina, kontrolując przemiany aminokwasów w organizmie, obniża stężenie Hcy we krwi, pod warunkiem że u badanych osób nie występuje insulinooporność [22]. Jednocześnie należy zauważyć, że dobrze znany efekt działania insuliny, polegający na obniżaniu stężenia metioniny we krwi, może być nie tylko wyrazem większego wychwytywania tego aminokwasu przez tkanki, ale także skutkiem stymulowanej insuliną reakcji transsulfuracji prowadzącej do wytwarzania homocysteiny [10].

Udział hiperhomocysteinemii w patogenezie miażdżycy

Udział Hcy w patogenezie zmian miażdżycowych jest złożony. Za sprawą Hcy dochodzi do bezpośredniego działania cytotoksycznego na śródbłonek naczyń przez wpływ homocysteiny na metabolizm komórek śródbłonna [23]. Podwyższone stężenie Hcy sprzyja nasileniu stresu oksydacyjnego. Aminokwas ten zarówno pobudza wytwarzanie wolnych rodników, jak i sam ulega autooksydacji, tworząc reaktywne rodniki tlenowe i nadtlenek wodoru. Toksyczne pochodne tlenu odpowiadają za uszkodzenie komórek ściany naczyń, między innymi poprzez nasilenie peroksydacji lipidów błon komórkowych [23, 24]. Homocysteina wpływa także niekorzystnie na mechanizmy antyoksydacyjne, obniżając aktywność peroksydazy glutationu i dysmutazy ponadtlenkowej [25]. Bezpośrednie toksyczne oddziaływanie Hcy

na tkanki wiąże się z działaniem wysoko reaktywnych związków — tiolaktonów powstających w wyniku konwersji Hcy. Związki te reagują następnie z białkami, co powoduje zaburzenia ich funkcji [24, 26, 27]. Tiolakton homocysteiny utlenia ponadto lipoproteiny niskiej gęstości (LDL, *low density lipoprotein*), co jest powodem ich wzmożonego wychwytu przez monocyty/makrofagi i powstawania komórek piankowych [28].

Za sprawą Hcy dochodzi do nasilenia proliferacji komórek mięśniówki gładkiej ścian naczyń, wzrostu syntezy i magazynowania kolagenu przez mioocyty oraz do wzmożenia degradacji elastyny w błonie wewnętrznej, co istotnie przyspiesza włóknienie ścian naczyń i tworzenie się zwapnień w ich obrębie [25].

Wykazano również, że HHcy wywiera znaczący wpływ na czynność śródbłonna naczyń. W warunkach fizjologicznych tlenek azotu wydzielany przez śródbłonek naczyń neutralizuje Hcy poprzez przekształcenie jej w S-nitrohomocysteinę — związek, który nie tylko nie działa toksycznie na śródbłonek, ale też wykazuje działanie antyagregacyjne i wazodylatacyjne. Niestety, w przypadku HHcy dochodzi do znacznego obniżenia puli tlenu azotu i do upośledzenia tego cennego mechanizmu kompensacyjnego [26].

Zauważono również istotny wpływ HHcy na układ krzepnięcia. Jej prozakrzepowe działanie objawia się wzrostem aktywności czynników krzepnięcia V, VII i XII, obniżeniem aktywności antytrombiny III, upośledzeniem aktywacji białka C, upośledzeniem fibrynolizy osoczowej, hamowaniem wiązania tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA, *tissue plasminogen activator*) z komórkami śródbłonna oraz obniżeniem dostępności trombomoduliny. Za sprawą Hcy dochodzi do wzrostu agregacji i adhezji płytek. Następuje też wzrost syntezy tromboksanów TXAA2 i TXAB2 [29, 30].

Hiperhomocysteinemia — czynnik ryzyka czy tylko marker miażdżycy?

Dlaczego zatem mimo tak licznych wyników badań wskazujących na istotny związek między HHcy a patogenezą miażdżycy oraz pomiędzy HHcy a zwiększonym ryzykiem sercowo-naczyniowym nadal istnieją wątpliwości co do jej faktycznej roli w rozwoju miażdżycy? Naturalną konsekwencją wspomnianych obserwacji były wyniki badań, których celem było sprawdzenie, czy terapia obniżająca stężenie Hcy we krwi spowoduje zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego. W badaniach tych wykorzystano najprostszą z możliwych metod obniżania stężenia Hcy we krwi, czyli podawanie kwasu folio-

wego i/lub witaminy B₆, i/lub witaminy B₁₂. Wcześniej wykazano bowiem, że podawanie tych witamin obniża stężenie Hcy o około 25% nawet u osób bez niedoborów w tym zakresie [31]. I rzeczywiście, w zdecydowanej większości podjętych badań wykazano, że suplementacja wspomnianymi witaminami prowadzi do znacznej redukcji stężenia Hcy w surowicy [32–36], ale wyniki wielu przeprowadzonych badań nie potwierdziły, że ma to istotny wpływ na ograniczenie ryzyka sercowo-naczyniowego. Takie właśnie zaskakujące rezultaty uzyskano w norweskim badaniu NORVIT przeprowadzonym u osób z ostrym zawałem serca. U pacjentów otrzymujących wszystkie trzy witaminy w odpowiednich dawkach oraz u chorych przyjmujących tylko witaminę B₁₂ i kwas foliowy zaobserwowano obniżenie zawartości Hcy w osoczu o 27–28%. Niestety, chociaż tę terapię prowadzono przez kilka lat, nie skutkowało ona obniżeniem ryzyka powtórnych incydentów sercowo-naczyniowych w postaci powtórzonego zawału serca, udaru mózgu czy nagłej śmierci sercowej u tych chorych. Co więcej, ryzyko powtórnych incydentów sercowych nawet wzrosło w pierwszej grupie, a w drugiej grupie nie uległo zmianie [34].

Prowadzone przez 5 kolejnych lat badanie HOPE-2 polegało na stosowaniu kwasu foliowego oraz witamin B₆ i B₁₂ łącznie. Badaniem objęto chorych na cukrzycę w wieku powyżej 55 lat lub osoby ze schorzeniami sercowo-naczyniowymi. Terapia spowodowała zmniejszenie stężenia Hcy w surowicy o 2,4 μmol/l, w porównaniu z osobami przyjmującymi placebo, jednak efekty nie były klinicznie zadowalające. Osiągnięto jedynie 25-procentowe zmniejszenie liczby udarów mózgu [37].

Wyniki opisanych badań skłaniają zatem do tego, aby HHcy traktować raczej jako marker miażdżycy, a nie jako czynnik ryzyka, którego modyfikacja mogłaby zahamować jej rozwój.

Istnieją jednak przesłanki, aby pochoinnie nie lekceważyć czynnika/markera miażdżycy, jakim jest HHcy. Wykazano bowiem, że choć stosowane w terapii witaminy obniżają stężenie Hcy we krwi, mogą sprzyjać *per se* rozwojowi miażdżycy. Stwierdzono na przykład, że restenozy pojawiają się częściej w obrębie stenów u chorych, którym podawano witaminy, w porównaniu z osobami otrzymującymi placebo [32, 38, 39], a u pacjentów objętych badaniem HOPE-2 prawdopodobieństwo hospitalizacji z powodu niestabilnej dławicy piersiowej było wyższe w grupie otrzymującej witaminy niż w grupie kontrolnej [37]. Nie można także wykluczyć, że na wyniki badań podważających znaczenie redukcji stężenia Hcy we krwi w zmniejszeniu ryzyka sercowo-

-naczyniowego wpływał dobór badanych grup. Badania przeprowadzono bowiem u osób z zaawansowaną chorobą sercowo-naczyniową, niewydolnością nerek lub obciążonych licznymi czynnikami ryzyka miażdżycy. Być może terapia obniżająca stężenie Hcy we krwi okazałaby się znacznie bardziej skuteczna na wcześniejszych etapach aterogenezy w prewencji schorzeń sercowo-naczyniowych rozwijających się na podłożu miażdżycy. A zatem pewne znaczenie dla rozwikłania omawianego problemu mogą mieć także zróżnicowanie badanych chorych pod względem genetycznie uwarunkowanej aktywności enzymów uczestniczących w przemianach Hcy oraz rodzaj stosowanych przez nich leków.

Podsumowanie

Hiperhomocysteinemia jest niewątpliwie czynnikiem współistniejącym w chorobach układu sercowo-naczyniowego i ma szczególne znaczenie u chorych na cukrzycę typu 2. Poznanie rzeczywistej roli HHcy w przebiegu miażdżycy i cukrzycy typu 2 wymaga przeprowadzenia kolejnych badań. Wobec nagromadzonych kontrowersji i niejasności w dalszych analizach powinno się uwzględniać współistnienie czynników modyfikujących stężenie Hcy we krwi, a mianowicie stopień wyrównania metabolicznego, występowanie nadciśnienia tętniczego, stopień wydolności nerek, podaż i zasoby witamin odgrywających kluczową rolę w metabolizmie Hcy czy też stosowanie leków wpływających na stężenia Hcy. Wydaje się bowiem prawdopodobne, że stężenie Hcy u poszczególnych osób jest wypadkową tych czynników i być może właśnie dlatego tak trudno jest jednoznacznie potwierdzić, że stanowi ono nie tylko marker, ale czynnik ryzyka miażdżycy.

PIŚMIENNICTWO

- Selhub J. Homocysteine metabolism. *Ann. Rev. Nutr.* 1999; 19: 217–246.
- Trabetti E. Homocysteine, MTHFR gene polymorphisms, and cardio-cerebrovascular risk. *J. Appl. Genet.* 2008; 49: 267–282.
- Stam F., Smulders Y.M., van Guldener C., Jakobs C., Stehouwer C.D., de Meer K. Folic acid treatment increases homocysteine remethylation and methionine transmethylation in healthy subjects. *Clin. Sci.* 2005; 108: 449–456.
- Rummel T., Suormala T., Häberle J. i wsp. Intermediate hyperhomocysteinemia and compound heterozygosity for the common variant c.677C > T and MTHFR gene mutation. *J. Inher. Metab. Dis.* 2007; 30: 401.
- Guerzoni A.R., Pavarino-Bertelli E.C., Godoy M.F., i wsp. Methylentetrahydrofolate reductase gene polymorphism and its association with coronary artery disease. *Sao Paulo Med. J.* 2007; 125: 4–8.
- Verhoeve P., Kok F.J., Kruyssen D.A. i wsp. Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 989–995.

7. Piechota W., Piechota W. Hiperhomocysteinemia — znaczenie w chorobach sercowo-naczyniowych. *Kardiol. Dypl.* 2007; 6: 106–114.
8. Kośmicki M. Wierńcowe czynniki ryzyka, cz. II. *Przew. Lek.* 2004; 3: 16–20.
9. Rafsum H., Smith A.D., Schneede J. i wsp. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin. Chim. Acta* 2004; 50: 3–32.
10. Fonesca V., Guba S.C., Fink L.M. Hyperhomocysteinemia and the endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis. *Endocr. Rev.* 1999; 20: 738–759.
11. Dierkes J., Westphal S. Effect of drugs on homocysteine concentrations. *Semin. Vasc. Med.* 2005; 5: 124–139.
12. Łubińska M., Kazimierska E., Dworczak K. Hyperhomocysteinemia as a new risk factor for different diseases. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2006; 15: 897–903.
13. Luc G., Jacob N., Bouly M., Fruchart J.C., Staels B., Giral P. Fenofibrate increases homocysteinemia through a PPAR α -mediated mechanism. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2004; 43: 452–453.
14. Apeland T., Mansoor M.A., Strandjord R.E., Kristensen O. Homocysteine concentrations and methionine loading in patients on antiepileptic drugs. *Acta Neurol. Scand.* 2000; 101: 217–223.
15. Fruchart J.C., Nierman M.C., Stroes E., Kastelein J.J., Duriez P. New risk factor for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation* 2004; 109: 15–19.
16. Nygard O., Nordrehaug J.E., Refsum H., Ueland P.M., Farstad M., Vollset S.E. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* 1997; 337: 230–236.
17. Hoogeveen E.K., Kostense P.J., Beks P.J. Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arterioscl. Thromb. Vas.* 1998; 18: 133–138.
18. Soinio M., Marniemi J., Laakso M., Lehto S., Rönnemaa T. Elevated plasma homocysteine level is an independent predictor of coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann. Intern. Med.* 2004; 140: 94–100.
19. Becker A., Henry R.M., Kostense P.J., i wsp. Plasma homocysteine and S-adenosylmethionine in erythrocytes as determinants of carotid intima-media thickness: different effects in diabetic and non-diabetic individuals. *The Hoorn Study. Atheroscler.* 2003; 169: 323–330.
20. Reaven G.M. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595–1607.
21. Meigs J.B., Jacques P.F., Selhub J. i wsp. Fasting plasma homocysteine levels in the insulin resistance syndrome. *Diabetes Care* 2001; 24: 1403–1410.
22. Fonseca V.A., Mudaliar S., Schmidt B., Fink L.M., Kern P.A., Henry R.R. Plasma homocysteine concentrations are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 1998; 47: 686–689.
23. Weiss N. Mechanism of increased vascular oxidant stress in hyperhomocysteinemia and its impact on endothelial function. *Curr. Drug Metab.* 2005; 6: 27–36.
24. Benesch R., Benesch R.E. Formation of peptide bonds by aminolysis of homocysteine thiolactone. *J. Am. Chem. Soc.* 1956; 78: 1597–1599.
25. Nappo F., De Rosa N., Marfella R. i wsp. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA* 1999; 281: 2113–2118.
26. Jakubowski H. Metabolism of homocysteine thiolactone in human cell cultures. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 1935–1942.
27. Ramakrishnan S., Sulochana K.N., Lakshmi S., Selvi R. Angayarkanni N. Biochemistry of homocysteine in health and diseases. *Indian. J. Biochem. Biophys.* 2006; 43: 275–283.
28. Naruszewicz M., Mirkiewicz E., Olszewski A.J. i wsp. Thiolation of low-density lipoprotein by homocysteine thiolactone causes increased aggregation and altered interaction with cultured macrophages. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 1994; 4: 7077.
29. Lentz S.R. Homocysteine and vascular dysfunction. *Life Sci.* 1997; 61: 1205–1215.
30. Thambirajah J., Townend J.N. Homocysteine and atherothrombosis-mechanisms for injury. *Eur. Heart. J.* 2000; 21: 967–974.
31. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration: lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. *Br. Med. J.* 1998; 316: 894–898.
32. Lonn E., Yusuf S., Arnold M.J. i wsp. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 1567–1577.
33. Toole J.F., Malinow M.R., Chambless L.E. i wsp. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 565–575.
34. Bona K.H., Njolstad I., Ueland P.M. i wsp. NORVIT Trial Investigators: Homocysteine Lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 2006; 254: 1578–1588.
35. Jamison R.L., Hartigan P., Kaufman J.S. i wsp. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 298: 1163–1170.
36. Dusitanond P., Eikelboom J.W., Hankey G.J. i wsp. Homocysteine-lowering treatment with folic acid, cobalamin, and pyridoxine does not reduce blood markers of inflammation, endothelial dysfunction, or hypercoagulability in patients with previous transient ischemic attack or stroke: a randomized substudy of the VITATOPS trial. *Stroke* 2005; 36: 144–146.
37. Lonn E., Yusuf S., Arnold M.J. i wsp. Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) 2 Investigators: homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 1567–1577.
38. Bazzano L.A., Reynolds K., Holder K.N., He J. Effect of folic acid supplementation on risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2006; 296: 2720–2726.
39. Lange H., Suryapranata H., De Luca G. i wsp. Folate therapy and in-stent restenosis after coronary stenting. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350: 2673–2681.