

Aleksandra Baszczuk¹, Zygmunt Kopczyński¹, Danuta Pupek-Musialik², Maciej Cymerys², Jarosław Kopczyński², Joanna Wojtkowiak¹

¹Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Hiperhomocysteinemia u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Hyperhomocysteinaemia in patients with primary hypertension

Badania finansowano z funduszu statutowego i funduszu badań własnych Katedry i Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

STRESZCZENIE

WSTĘP. Hiperhomocysteinemia wykazuje cytotoksyczny wpływ na komórki śródbłonka, aktywuje proliferację miocytów, nasila degradację elastyny w błonie wewnętrznej, co w konsekwencji prowadzi do uszkodzenia funkcji wazomotorycznej naczyń krwionośnych. Celem pracy było określenie częstości występowania hiperhomocysteinemii u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze. Starano się także ustalić zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny a czynnikami populacyjnymi oraz stężeniami kwasu foliowego i cystatyny C u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

MATERIAŁ I METODY. Badaniem objęto 50 chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w wieku 19–65 lat, bez chorób współistniejących i powikłań. Grupę kontrolną stanowiły 42 zdrowe osoby w wieku 24–59 lat.

Stężenie homocysteiny oznaczono metodą immunochemiczną (FPIA), natomiast kwasu foliowego metodą immunoenzymatyczną (MEIA). Metodą nefelometryczną oznaczono stężenie cystatyny C. Analiza statystyczna badań została wykonana za pomocą programu komputerowego STATISTICA v. 9.0.

WYNIKI. Wykazano większą częstość występowania hiperhomocysteinemii wśród chorych na pierwotne nadciśnienie niż u osób

zdrowych. Ponadto stwierdzono, że u mężczyzn występują wyższe wartości homocysteiny niż u kobiet. Wykazano także, że hiperhomocysteinemia występowała częściej wśród chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze powyżej 50. roku życia. Wzrostowi stężenia homocysteiny w surowicy krwi chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze towarzyszyły wyższe stężenia cystatyny C. Poprzez analizę statystyczną wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a wiekiem i stężeniem cystatyny C u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

WNIOSKI. Na podstawie analizy wyników badań własnych można przyjąć, że u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze wzrost stężenia homocysteiny jest wywołany nie tylko przez niedobór kwasu foliowego, ale wiąże się także z obniżeniem filtracji nerkowej.

Słowa kluczowe: nadciśnienie tętnicze, homocysteina, kwas foliowy, cystatyna C

Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii 2011, tom 7, nr 1, 1–10

ABSTRACT

INTRODUCTION. Hyperhomocysteinaemia exerts cytotoxic effects on endothelial cells, activates proliferation of myocytes and increases degradation of elastin in the intima, which leads to vasomotor dysfunction of blood vessels. The aim of the study was to determine the prevalence of hyperhomocysteinaemia in patients with primary hypertension. The relationship between homocysteine level and population factors and between folic acid level and cystatin C in patients with primary hypertension was also assessed.

Adres do korespondencji: dr n. biol. Aleksandra Baszczuk
Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Łąkowa 1/2, 61-787 Poznań
tel.: 61 854 90 34; faks: 61 855 34 96
e-mail: aleksandra.baszczuk@skpp.edu.pl
Copyright © 2011 Via Medica
Nadesłano: 15.02.2011 Przyjęto do druku: 27.04.2011

MATERIAL AND METHODS. The study included 50 patients with primary hypertension aged 19–65 years without co-morbidities or complications. The control group consisted of 42 healthy volunteers aged 24–59 years. The levels of homocysteine were determined by fluorescence polarisation immunoassay (FPIA), those of folic acid by microparticle enzyme immunoassay (MEIA) and those of cystatin C by nephelometry (Nephelometer Analyzer II). Statistical analysis was performed using Statistica v. 9.0.

RESULTS. The study showed a higher prevalence of hyperhomocysteinaemia in patients with primary hypertension than in healthy individuals and higher homocysteine levels in men than in women. Hyperhomocysteinaemia was also shown to occur more commonly in patients with primary hypertension aged 50 years or more. Increased serum homocysteine was accompanied by higher levels of cystatin C. There was a positive correlation between homocysteine levels and age and cystatin C levels in patients with primary hypertension.

CONCLUSIONS. Based on our study it may be concluded that the elevation in homocysteine level in patients with primary hypertension is not only caused by folic acid deficiency but is also associated with reduced glomerular filtration.

Key words: hypertension, homocysteine, folic acid, cystatin C

Endocrinology, Obesity and Metabolic Disorders 2011, vol. 7, No 1, 1–10

Wstęp

Nadciśnienie tętnicze należy do najważniejszych czynników ryzyka rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. Szacuje się, że na to schorzenie choruje około miliarda ludzi na świecie. W Polsce na nadciśnienie tętnicze choruje około 9 milionów osób, czyli prawie 1/3 dorosłych Polaków.

Nadciśnienie tętnicze rzadko występuje w izolacji od innych czynników ryzyka chorób układu krążenia. Jak wykazano w badaniach epidemiologicznych i klinicznych, nadciśnienie tętnicze zwykle jest powiązane z zaburzeniami metabolicznymi ujawniającymi się pod postacią otyłości, dyslipidemii oraz zaburzeń tolerancji glukozy.

W ostatnim czasie dużo uwagi poświęca się nowym czynnikom ryzyka, w tym także homocysteinie, odkrytej w 1932 roku przez Butza i Du Vigneauda. Jest to endogeny aminokwas siarkowy, który powstaje jako produkt pośredni podczas przemian metabolicznych metioniny [1]. Przemiany te zachodzą w komórkach wątroby, nerek, jelita cienkiego, trzustki, naczyń krwionośnych i skóry, gdzie podlegają precyzyjnej kontroli. Przy wysokich stężeniach metioniny powstająca z niej homocysteina jest przekształcana w cysteinę. W przypadku niedoboru metioniny w komórce metabolizm homocysteiny przebiega w kierunku odtworzenia tego aminokwasu na drodze remetylacji. Proces remetylacji wymaga obecności witaminy B12, która pośredniczy w tej reakcji, oraz kwasu foliowego, pełniącego

funkcję donora grup metylowych. Istnieje także możliwość remetylacji homocysteiny w reakcji katalizowanej przez metylotransferazę betaina–homocysteina [2]. Wzrost produkcji homocysteiny i/lub zaburzenia remetylacji powodują jej wyrzut z komórek do przestrzeni pozakomórkowej. U zdrowych osób stężenie homocysteiny w surowicy krwi utrzymuje się w zakresie wartości referencyjnych wynoszących 5–12 $\mu\text{mol/l}$ [3]. Wyższe stężenie tego aminokwasu określa się mianem hiperhomocysteinemii. Wśród przyczyn hiperhomocysteinemii wymienia się genetycznie uwarunkowane zaburzenia metabolizmu homocysteiny, niedobory witamin niezbędnych w procesach przemian tego aminokwasu, czynniki demograficzne oraz wpływ niektórych leków. Stężenie homocysteiny wyraźnie wzrasta także w przebiegu chorób, takich jak: nefropatie i niewydolność nerek, choroby nowotworowe, łuszczyca, choroby autoimmunologiczne, niedoczynność tarczycy, cukrzyca i choroby sercowo-naczyniowe [4–6]. Przypuszcza się, że podwyższone stężenie homocysteiny ma znaczący udział także w zapoczątkowaniu i rozwoju nadciśnienia tętniczego [7].

Mechanizm działania homocysteiny na naczynia krwionośne jest złożony i wielokierunkowy. Hiperhomocysteinemia może uszkadzać naczynia krwionośne poprzez zaburzenie procesu krzepnięcia i fibrynolizy, peroksydację lipidów, wywoływanie odczynu zapalnego i niekorzystne oddziaływanie na strukturę i funkcję ściany naczyń. Homocysteina poprzez blokowanie metylacji białka p21 ras powoduje zmniejszenie jego powinowactwa do błony komórkowej, co pociąga za sobą zmniejszenie aktywacji kinaz uczestniczących w regulacji podziałów komórkowych. Komórki śródbłonna pozostają w fazie G1 cyklu komórkowego, dlatego następuje zahamowanie wzrostu endotelium [8], natomiast na komórki mięśni gładkich naczyń hiperhomocysteinemia wpływa mitogennie. Homocysteina może wpływać na indukcję genów c-fos i c-myc oraz genów dla cyklin A i D1 i stymulować aktywność kinazy białkowej C w warstwie mięśniówki gładkiej naczyń. W efekcie powoduje to wzrost liczby komórek tej warstwy [9]. Pod wpływem homocysteiny dochodzi do hiperplazji błony podstawnej naczyń związanej z indukcją produkcji kolagenu [10] oraz do fragmentacji błony wewnętrznej naczyń spowodowanej przez aktywację elastaz serynowych [11].

U chorych z hiperhomocysteinemią ulega zaburzeniu funkcja wazodylatoryjna śródbłonna naczyń. Wysokie stężenia tego aminokwasu stymulują powstawanie wolnych rodników tlenowych, które obniżają biologiczną dostępność tlenu azotu (NO) [8]. Podwyższone wartości homocysteiny przyczyniają się także do wzrostu stężenia asymetrycznej dimetyloargininy

(ADMA) — endogennego inhibitora syntazy tlenku azotu (NOS). Homocysteina hamuje aktywność dimetylaminohydrolazy dimetyloargininowej (DDAH), enzymu biorącego udział w reakcji hydrolizy asymetrycznej dimetyloargininy, co prowadzi do wzrostu stężenia ADMA, a następnie zmniejszenia syntezy tlenku azotu w śródbłonku naczyń. Powodowane przez hiperhomocysteinemię zahamowanie syntezy i obniżenie biodostępności NO przyczyniają się do rozwoju miażdżycy naczyń i nadciśnienia tętniczego [12].

Celem pracy było określenie częstości występowania hiperhomocysteinemii u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze. Podjęto także próbę odpowiedzi na pytanie, jakie czynniki populacyjne wiążą się z występowaniem hiperhomocysteinemii. Starano się również ustalić zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny a czynnikami populacyjnymi oraz stężeniami: kwasu foliowego i cystatyny C w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Materiał i metody

Badaniem objęto 50 chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w wieku 19–65 lat. U chorych rozpoznano nadciśnienie tętnicze zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Nadciśnienia Tętniczego co najmniej 6 miesięcy przed włączeniem do badania. Kwalifikowano chorych z aktywnym nadciśnieniem, pozostających na leczeniu hipotensyjnym. Terapię nefarmakologiczną stosowano u 13 pacjentów. Pozostali chorzy na nadciśnienie tętnicze przyjmowali leki hipotensyjne. Nie kwalifikowano osób, u których stwierdzono: cukrzycę, chorobę sercowo-naczyniową, na przykład: udar niedokrwienny, przemijający napad niedokrwienny (TIA, *transient ischaemic attack*), chorobę niedokrwienną serca, niewydolność serca, chorobę tętnic obwodowych czy przewlekłą chorobą nerek. Grupę kontrolną stanowiły 42 zdrowe osoby w wieku 24–59 lat, u których nie wystąpiły: nadciśnienie tętnicze, choroby serca, cukrzyca, choroby nerek, łuszczyca, nowotwory i choroby endokrynologiczne.

Klasyfikacji pacjentów do poszczególnych grup dokonano na podstawie dokumentacji lekarskiej opracowanej i obowiązującej w Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, uwzględniającej kartę leczenia w poradni przyszpitalnej, przeprowadzone z pacjentami wywiady oraz badania lekarskie i laboratoryjne. Wybrane cechy kliniczne i laboratoryjne badanych pacjentów przedstawiono w tabeli 1.

Pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym podzielono na chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z normohomocysteinemią i hiperhomocysteinemią. Podstawę tego podziału stanowiło stężenie homocysteiny w surowicy krwi. Jako wartość graniczną przyjęto górną granicę wartości referencyjnej dla stężenia homocysteiny oznaczanego metodą immunofluorescencji w świetle spolaryzowanym (FPIA, *fluorescence polarization immunoassay*) – 12 $\mu\text{mol/l}$. Pacjentów, u których stężenie homocysteiny było niższe lub równe 12 $\mu\text{mol/l}$, zakwalifikowano do grupy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z normohomocysteinemią, natomiast pacjentów ze stężeniem homocysteiny wyższym niż 12 $\mu\text{mol/l}$ zaliczono do grupy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z hiperhomocysteinemią.

Materiał do badań pobierano od pacjentów rano po wypoczynku nocnym, na czczo, w pozycji siedzącej, po około 15-minutowym odpoczynku. Przed pobraniem krwi do badań pacjenci stosowali zwyczajową dietę. Ostatni posiłek badani przyjmowali na około 12 godzin przed pobraniem materiału. Przed pobraniem krwi pacjenci nie palili tytoniu i nie przyjmowali leków. Krew pobierano z żyły promieniowej do strzykawkoprobówek — zamkniętego systemu do pobierania krwi firmy Sarstedt zgodnie z zaleceniami wytwórcy sprzętu. Krew do oznaczenia stężenia homocysteiny, kwasu foliowego i cystatyny C pobrano na skrzep. Po wykrzepieniu krwi próbki wirowano z szybkością $3000 \times g$ w ciągu 10 minut w celu uzyskania surowicy.

W surowicy oznaczono stężenia homocysteiny metodą FPIA oraz kwasu foliowego metodą immunoenzymatyczną z wykorzystaniem mikrocząsteczek (MEIA, *microparticle enzyme immunoassay*) na analizatorze AxSYM firmy Abbott. Metodą nefelometryczną, na analizatorze Nephelometr Analyzer II firmy Siemens, oznaczono stężenie cystatyny C. Pozostałe parametry laboratoryjne: hematokryt, stężenie glukozy i kwasu moczowego oznaczono metodami stosowanymi rutynowo w medycznych laboratoriach diagnostycznych.

Otrzymane wyniki badań stężenia homocysteiny, kwasu foliowego, cystatyny C w surowicy oraz parametrów fizykalnych poddano analizie statystycznej za pomocą programu STATISTICA v. 9.0. Wszystkie hipotezy statystyczne przyjmowano na poziomie istotności statystycznej p poniżej 0,05. Test Shapiro-Wilka zastosowano w celu zbadania, czy stężenia oznaczonych parametrów podlegają rozkładowi normalnemu. Dla określenia różnic istotnych statystycznie pomiędzy badanymi parametrami wykorzystano test t , test Tukeya, test Manna-Whitneya oraz test χ^2 . W celu określenia korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a wiekiem, indeksem masy ciała (BMI, *body mass index*), ciśnieniem tętniczym, stężeniem kwasu foliowego

Tabela 1. Wybrane cechy kliniczne i laboratoryjne chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze i pacjentów w grupie kontrolnej

Grupa kontrolna	Badana cecha	Chorzy na pierwotne nadciśnienie tętnicze
n = 21	Kobiety	n = 25
n = 21	Mężczyźni	n = 25
	Wiek (lata)	
45,21 ± 7,66	Średnia ± SD	47,52 ± 12,81
46,00	Mediana	50,00
	p = 0,034360	
	CIŚNIENIE SKURCZOWE [mm Hg]	
118,14 ± 12,17	Średnia ± SD	152,40 ± 15,03
120,00	Mediana	150,00
	p = 0,000000	
	CIŚNIENIE ROZKURCZOWE [mm Hg]	
79,40 ± 8,86	Średnia ± SD	96,68 ± 10,15
80,00	Mediana	95,50
	p = 0,000000	
	TĘTNO (uderzenia/min)	
72,00 ± 10,84	Średnia ± SD	72,93 ± 9,57
71,50	Mediana	73,00
	p = 0,665292	
	BMI [kg/m²]	
25,96 ± 3,64	Średnia ± SD	27,71 ± 4,61
26,50	Mediana	28,00
	p = 0,031947	
	HEMATOKRYT [l/l]	
0,42 ± 0,04	Średnia ± SD	0,41 ± 0,04
0,42	Mediana	0,41
	p = 0,920301	
	GLUKOZA [mmol/l]	
4,95 ± 0,57	Średnia ± SD	5,48 ± 0,55
4,93	Mediana	5,47
	p = 0,000003	
	KWAS MOCZOWY [mmol/l]	
283,14 ± 87,38	Średnia ± SD	278,93 ± 74,93
283,00	Mediana	265,00
	p = 0,949851	

i cystatyny C zastosowano współczynniki korelacji Pearsona lub Spearmana. Na wykonanie badania klinicznego uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 777/06).

Wyniki

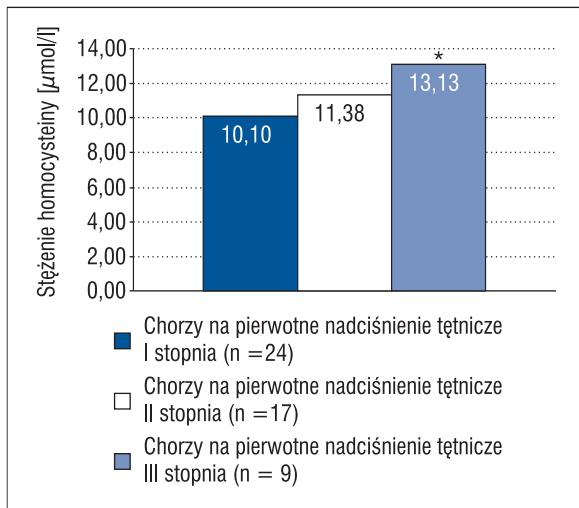
Średnie stężenie homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze było nieznamien-

nie wyższe niż u pacjentów w grupie kontrolnej (11,08 $\mu\text{mol/l}$ v. 10,21 $\mu\text{mol/l}$). Większa też była częstość występowania hiperhomocysteinemii wśród chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w porównaniu z grupą kontrolną (42,0% v. 26,2%) (tab. 2). Stężenie homocysteiny wzrastało wraz ze stopniem nadciśnienia tętniczego, przy czym stwierdzono znamiennej różnicę, kiedy porównano stężenia homocysteiny w surowicy chorych na nadciśnienie tętnicze I stopnia ze stężeniem tego aminokwasu w surowicy chorych z III stopniem nadciśnienia (ryc. 1).

Tabela 2. Stężenie homocysteiny, kwasu foliowego i cystatyny C w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z normohomocysteinemią i hiperhomocysteinemią

Cecha badana	Pacjenci w grupie kontrolnej			Chorzy na pierwotne nadciśnienie tętnicze		
	Pacjenci w grupie kontrolnej (n = 42)	z normo-	z hiperhomo-	Chorzy na pierwotne nadciśnienie tętnicze (n = 50)	z normohomo-	z hiperhomo-
		homocysteinemią (n = 31, 73,8%)	cysteinemią (n = 11, 26,2%)		cysteinemią (n = 29, 58,0%)	cysteinemią (n = 21, 42,0%)
Homocysteina [$\mu\text{mol/l}$]						
Średnia \pm SD	10,21 \pm 2,22	9,20 \pm 1,59	**13,04 \pm 0,81	11,08 \pm 3,13	8,84 \pm 1,46	#14,18 \pm 1,92
Mediana	9,95	8,88	12,71	10,50	8,75	13,97
x_{\min} - x_{\max}	5,69-15,06	5,69-11,97	12,31-15,06	6,27-19,72	6,72-11,49	12,08-19,72
Kwas foliowy [ng/ml]						
Średnia \pm SD	5,71 \pm 2,10	6,33 \pm 2,08	**3,95 \pm 0,72	6,26 \pm 2,26	6,83 \pm 2,03	,48 \pm 2,38
Mediana	5,19	6,30	3,80	6,05	6,30	5,20
x_{\min} - x_{\max}	2,57-10,60	2,71-10,60	2,55-4,90	1,80-12,80	3,68-12,80	1,80-12,36
Cystatyna C [mg/l]						
Średnia \pm SD	0,76 \pm 0,11	0,75 \pm 0,10	0,80 \pm 0,12	*0,82 \pm 0,13	0,79 \pm 0,11	#0,87 \pm 0,14
Mediana	0,75	0,74	0,77	0,80	0,78	0,80
x_{\min} - x_{\max}	0,59-1,10	0,59-0,99	0,69-1,10	0,58-1,26	0,58-1,07	0,68-1,26

*różnica statystycznie istotna w porównaniu ze stężeniem badanego parametru w surowicy pacjentów w grupie kontrolnej przy poziomie istotności p poniżej 0,05; **różnica statystycznie istotna w porównaniu ze stężeniem badanego parametru w surowicy pacjentów w grupie kontrolnej z normohomocysteinemią przy poziomie istotności p poniżej 0,05; #różnica statystycznie istotna w porównaniu ze stężeniem badanego parametru w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z normohomocysteinemią przy poziomie istotności p poniżej 0,05; &różnica statystycznie istotna w porównaniu ze stężeniem badanego parametru w surowicy pacjentów w grupie kontrolnej z hiperhomocysteinemią przy poziomie istotności p poniżej 0,05; SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe; x_{\min} - x_{\max} — wartość minimalna i maksymalna; n — liczba pacjentów



Rycina 1. Stężenie homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w zależności od stopnia nadciśnienia tętniczego; *różnica statystycznie istotna w porównaniu ze stężeniem homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze I stopnia, przy p poniżej 0,05

W dalszej analizie wyników badań wykazano, że średnie stężenie homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze było znacznie wyższe u pacjentów w wieku 50. roku życia i powyżej

w porównaniu z chorymi przed 50. rokiem życia (12,33 $\mu\text{mol/l}$ v. 9,84 $\mu\text{mol/l}$) (tab. 3). Wykazano także dodatnią korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a wiekiem chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze (tab. 4). Średnie stężenie homocysteiny w surowicy krwi mężczyzn było wyższe niż u kobiet (tab. 3). Stężenie homocysteiny wzrastało też wraz z masą ciała badanych pacjentów, jednak różnice stężeń homocysteiny w surowicy pacjentów z prawidłową masą ciała, nadwagą i otyłością I stopnia nie wykazywały cech istotności statystycznej (tab. 3). Wskaźnik masy ciała oraz średnie stężenie glukozy u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze były wyższe niż w grupie kontrolnej, jednak korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a BMI oraz stężeniem glukozy nie wykazywały istotnych statystycznie zależności pomiędzy tymi parametrami u badanych pacjentów (tab. 1, tab. 4).

Znamiennych różnic nie wykazano również, gdy porównywano stężenie kwasu foliowego w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze i u pacjentów w grupie kontrolnej (6,26 ng/ml v. 5,71 ng/ml). U osób z hiperhomocysteinemią zarówno w grupie kontrolnej, jak i badanej stężenie kwasu foliowego było wyraźnie niższe niż u osób ze stężeniem homocysteiny w zakresie wartości referencyjnych (tab. 2). Istotna ujemna korelacja pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężen-

Tabela 3. Stężenie homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w zależności od wieku, płci i wskaźnika masy ciała (BMI)

Cecha badana	Homocysteina [$\mu\text{mol/l}$]					
	Pacjenci w grupie kontrolnej (n = 42)			Chorzy na pierwotne nadciśnienie tętnicze (n = 50)		
Wiek	< 50 lat	\geq 50 lat	< 50 lat	\geq 50 lat		
n	29	13	25	25		
Średnia \pm SD	10,17 \pm 2,21	10,29 \pm 2,33	9,84 \pm 2,93	*12,33 \pm 2,85		
Mediana	10,17	9,34	9,42	13,04		
$x_{\text{min}}-x_{\text{max}}$	5,69–13,38	7,00–15,06	6,27–19,72	7,03–17,33		
Stężenie	n = 21	n = 10	n = 19	n = 10		
\leq 12 $\mu\text{mol/l}$	(72,4%)	(76,9%)	(76,0%)	(40,0%)		
Stężenie	n = 8	n = 3	n = 6	n = 15		
$>$ 12 $\mu\text{mol/l}$	(27,6%)	(23,1%)	(24,0%)	(60,0%)		
Płeć	Kobiety	Mężczyźni	Kobiety	Mężczyźni		
n	21	21	25	25		
Średnia \pm SD	9,43 \pm 2,24	#10,99 \pm 1,95	10,32 \pm 2,45	11,85 \pm 3,57		
Mediana	9,34	11,45	10,07	12,13		
$x_{\text{min}}-x_{\text{max}}$	5,69–15,06	7,62–13,84	6,43–15,02	6,27–19,72		
Stężenie	n = 18	n = 13	n = 17	n = 12		
\leq 12 $\mu\text{mol/l}$	(85,7%)	(61,9%)	(68,0%)	(48,0%)		
Stężenie	n = 3	n = 8	n = 8	n = 13		
$>$ 12 $\mu\text{mol/l}$	(14,3%)	(38,1%)	(32,0%)	(52,0%)		
BMI	18,5–24,9	25,0–29,9	30,0–34,9	18,5–24,9	25,0–29,9	30,0–34,9
n	18	18	6	13	21	16
Średnia \pm SD	9,81 \pm 1,79	10,09 \pm 2,09	11,77 \pm 3,32	11,10 \pm 2,55	10,84 \pm 3,27	11,39 \pm 3,52
Mediana	9,18	9,91	12,42	10,30	10,47	11,36
$x_{\text{min}}-x_{\text{max}}$	7,44–13,12	6,30–12,71	5,69–15,06	7,19–16,09	6,27–19,72	6,43–17,33
Stężenie	n = 15	n = 13	n = 3	n = 7	n = 14	n = 8
\leq 12 $\mu\text{mol/l}$	(83,3%)	(83,3%)	(50,0%)	(53,8%)	(66,7%)	(50,0%)
Stężenie	n=3	n=5	n=3	n=6	n=7	n=8
$>$ 12 $\mu\text{mol/l}$	(16,7%)	(16,7%)	(50,0%)	(46,2%)	(33,3%)	(50,0%)

*różnica statystycznie istotna w porównaniu ze stężeniem homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze poniżej 50. roku życia, przy poziomie istotności p poniżej 0,05; #różnica statystycznie istotna w porównaniu ze stężeniem homocysteiny w surowicy kobiet w grupie kontrolnej, przy poziomie istotności p poniżej 0,05; SD — odchylenie standardowe; $x_{\text{min}}-x_{\text{max}}$ — wartość minimalna i maksymalna; n — liczba pacjentów

niem kwasu foliowego występowała tylko u pacjentów w grupie kontrolnej (tab. 4).

Wśród chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze średnie stężenie cystatyny C w surowicy było znacznie wyższe niż u pacjentów w grupie kontrolnej (0,82 mg/l v. 0,76 mg/l). Istotnie wyższe było również stężenie cystatyny C w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z hiperhomocysteinemią w porównaniu ze stężeniem tego parametru u osób z normohomocysteinemią (tab. 2). Wykazano także znamienne dodatnią korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniem cystatyny C (tab. 4).

Dyskusja

Związek hiperhomocysteinemii z nadciśnieniem tętniczym nie został do tej pory w pełni wyjaśniony. Istnieją wyniki badań, które wskazują, że podwyższone stężenie homocysteiny wraz z innymi predyktorami dysfunkcji śródbłonna naczyniowego istotnie wpływają na zapoczątkowanie i rozwój nadciśnienia tętniczego. Z dostępnych danych wynika, że wzrost stężenia homocysteiny w surowicy krwi o 5 mmol/l powoduje wzrost ciśnienia skurczowego o 3,5 mm Hg oraz o 1,3 mm Hg ciśnienia rozkurczowego [13]. Co

Tabela 4. Korelacje pomiędzy stężeniem homocysteiny a wiekiem, BMI, ciśnieniem skurczowym i ciśnieniem rozkurczowym oraz stężeniem kwasu foliowego, cystatyny C i glukozy u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze i pacjentów z grupy kontrolnej

Zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny [$\mu\text{mol/l}$] a:	Chorzy na pierwotne nadciśnienie tętnicze	Pacjenci w grupie kontrolnej
wiekiem [lata]	$r_s = 0,451089$ $p = 0,001010$	$r_p = -0,176378$ $p = 0,444392$
BMI [kg/m^2]	$r_s = 0,243146$ $p = 0,088857$	$r_s = -0,011255$ $p = 0,943603$
ciśnieniem skurczowym [mm Hg]	$r_p = -0,008097$ $p = 0,970047$	$r_p = -0,194454$ $p = 0,398312$
ciśnieniem rozkurczowym [mm Hg]	$r_p = 0,077666$ $p = 0,718310$	$r_p = 0,023874$ $p = 0,918185$
stężeniem kwasu foliowego [ng/ml]	$r_p = -0,119453$ $p = 0,578241$	$r_s = -0,466507$ $p = 0,001845$
stężeniem cystatyny C [mg/l]	$r_s = 0,440786$ $p = 0,001356$	$r_s = 0,265612$ $p = 0,089111$
stężeniem glukozy [mmol/l]	$r_p = 0,257473$ $p = 0,071054$	$r_s = 0,157699$ $p = 0,318561$

r_p — współczynnik korelacji Spearmana; r_s — współczynnik korelacji Pearsona

więcej, uważa się, że współistnienie hiperhomocysteinemii wraz z innymi czynnikami ryzyka miażdżycy, zwłaszcza z nadciśnieniem tętniczym, potęguje jego aterogenne działanie [14].

Po analizie wyników badań własnych wykazano tendencję do wyższego stężenia homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w porównaniu z osobami zdrowymi, jednak bez cech istotności statystycznej. Hiperhomocysteinemia występowała częściej u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w porównaniu z grupą kontrolną (42,0% v. 26,2%). Stężenie homocysteiny wzrastało wraz ze stopniem nadciśnienia. Statystycznie istotną różnicę stwierdzono, kiedy porównano stężenia homocysteiny w surowicy chorych na nadciśnienie tętnicze I stopnia ze stężeniem tego aminokwasu w surowicy chorych z nadciśnieniem III stopnia. Związek hiperhomocysteinemii z wielkością ciśnienia tętniczego badali również Sutton-Tyrrell i wsp., którzy stwierdzili wyższe stężenia tego aminokwasu u chorych z izolowanym ciśnieniem skurczowym ($11,5 \mu\text{mol/l}$) w porównaniu z pacjentami z prawidłowym ciśnieniem tętniczym ($9,9 \mu\text{mol/l}$) [15]. Istotną zależność pomiędzy wartością ciśnienia rozkurczowego a stężeniem homocysteiny wykazano, gdy analizowano dane pochodzące z projektu badawczego *Hordaland Homocysteine Study*, obejmującego 16 000 zdrowych osób [16]. Współzależność występowania podwyższonych stężeń homocysteiny u chorych z ciśnieniem tętniczym przekraczającym wartości referen-

cyjne potwierdzają także badania Asfara i Safara [17], Berent i wsp. [18], Kądzieni i wsp. [19] oraz Sheu i wsp. [20].

Stężenie homocysteiny jest zależne od wielu fizjologicznych czynników. Jak wynika z badań epidemiologicznych, częstość hiperhomocysteinemii jest ściśle związana z wiekiem. Wyniki badań Woltersa i wsp. przeprowadzonych w Niemczech potwierdzają, że ryzyko hiperhomocysteinemii rośnie proporcjonalnie z wiekiem. Wśród osób najstarszych aż 58% to pacjenci z hiperhomocysteinemią. Autor ten przypuszcza, że jest to spowodowane brakiem odpowiedniej podaży witamin u osób w podeszłym wieku [21]. W badaniach przeprowadzonych przez Koehlera i wsp. w Meksyku dowiedziono, że stężenie homocysteiny znacznie wzrasta z wiekiem i u mężczyzn w podeszłym wieku jest średnio o 15% wyższe niż u kobiet w tym samym przedziale wiekowym [22]. Podobne wyniki badań uzyskali Brattström i wsp. [23]. Badania własne potwierdzają występowanie wyższych stężeń homocysteiny w wieku 50 lat i starszym, w porównaniu z osobami poniżej 50. roku życia. Zjawisko to było znacznie silniej zaznaczone wśród osób chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, gdzie uzyskano znamienne wyższe stężenia homocysteiny u chorych w wieku 50–65 lat w porównaniu z pacjentami poniżej 50. roku życia. Także częstość występowania hiperhomocysteinemii u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze w wieku równym lub powyżej 50 lat była około 2,5-krotnie wyższa niż

wśród młodszych osób. Ponadto w grupie chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze wykazano istotną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny w surowicy krwi a wiekiem pacjentów.

Wykazano także, że płeć jest czynnikiem wpływającym na wysokość stężenia homocysteiny. Częstość występowania hiperhomocysteinemii wśród mężczyzn była większa niż wśród kobiet. Potwierdzają to inne badania naukowe, w których dowiedziono, że istnieje wyraźny związek pomiędzy stężeniem homocysteiny a płcią [24]. Przyjmuje się, że stężenie homocysteiny w surowicy krwi mężczyzn jest średnio o około 10% wyższe niż u kobiet [3]. Sadeghian i wsp. w swoich badaniach przeprowadzonych wśród 225 osób zaobserwowali znacząco wyższe stężenie homocysteiny wśród mężczyzn niż u kobiet (17,9 $\mu\text{mol/l}$ v. 11,5 $\mu\text{mol/l}$) [25]. Podobne wyniki opublikowali: Foody i wsp. [26], Koehler i wsp. [27], a także Brattström [23]. Według wyników badań WOBASZ, stężenie homocysteiny, także w populacji polskiej, było wyższe u mężczyzn niż u kobiet (10,25 $\mu\text{mol/l}$ v. 8,81 $\mu\text{mol/l}$). Odsetek ludzi w Polsce ze stężeniem homocysteiny powyżej 12 $\mu\text{mol/l}$ wynosi 26% u mężczyzn i 16% u kobiet [28]. Jednyczka-Maćkiewicz wykazała, że występowanie podwyższonych stężeń homocysteiny u mężczyzn w wieku 22–55 lat jest 3-krotnie wyższe niż w populacji ogólnej [29]. W badaniu NHANES III (*Third National Health and Nutrition Examination Survey*), obejmującym reprezentatywną grupę 8585 Amerykanów, stwierdzono również wyższe wartości homocysteiny wśród mężczyzn niż kobiet w każdym przedziale wiekowym [30]. Podobne wyniki uzyskano w badaniu *Framingham Heart Study* [31]. Prawdopodobnie wyższe stężenia homocysteiny u mężczyzn niż u kobiet mogą wynikać z wpływu estrogenów na metabolizm tego aminokwasu, chociaż jest to sprawą dyskusyjną [24].

Wzrost stężenia homocysteiny w surowicy krwi może się wiązać także z występowaniem nadwagi i otyłości [32]. W badaniach własnych wśród chorych na pierwotne nadciśnienie wskaźnik masy ciała był wyższy niż w grupie kontrolnej, jednak obserwowano nieznamienisty wzrost stężenia homocysteiny wraz ze wzrostem masy ciała i nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem homocysteiny a BMI.

Jedną z najczęstszych przyczyn występowania hiperhomocysteinemii jest obniżone stężenie kwasu foliowego [30]. Wyniki dużych badań populacyjnych wskazują, że niedobór folianów jest związany z częstszym występowaniem udaru mózgu, a także innych incydentów naczyniowych [33]. Natomiast stężenie kwasu foliowego powyżej 3,7 ng/ml działa ochronnie na układ naczyniowy, obniżając ryzyko wystąpienia

zawału o 50% w stosunku do osób ze stężeniem kwasu foliowego poniżej 2,3 ng/ml [34]. Badania Naurath i wsp. dowodzą, że podając kwas foliowy pacjentom z chorobami układu krążenia, w 80% przypadków można uzyskać obniżenie stężenia homocysteiny do wartości referencyjnych [35]. Skuteczne obniżenie stężenia tego aminokwasu uzyskano również wśród osób zdrowych, u których stężenie homocysteiny znajdowało się w obrębie górnej granicy wartości referencyjnych w badaniu Bellamy i wsp. z *Wales University Medical School* oraz Brouwera i wsp. z *Wageningen Agricultural University* w Holandii [36, 37]. Zdaniem niektórych autorów podawanie kwasu foliowego wpływa korzystnie na stan zdrowia leczonych osób [38–40]. Jednak wyniki dużych badań populacyjnych, takich jak NOR-VIT (*Norwegian Vitamin Trial*), HOPE 2 (*Heart Outcomes Prevention Evaluation 2*) i WENBIT (*Western Norway B-Vitamin Intervention Trial*), wskazują, że podawanie kwasu foliowego osobom zagrożonym dużym ryzykiem wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych nie poprawia ich stanu klinicznego, a skojarzone podawanie dużych dawek pirydoksyny i kwasu foliowego może nawet zwiększyć ryzyko wystąpienia udaru mózgu [41–43].

Na podstawie wyników Sadeghian, częstość występowania niedoboru kwasu foliowego szacuje się na 13,1% u mężczyzn i 2,0% kobiet [44]. W badaniach własnych stężenie kwasu foliowego było niezamienne wyższe wśród chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze niż u pacjentów z grupy kontrolnej. Podobne wyniki uzyskały Berent i wsp. [18]. W badaniach własnych niedobór kwasu foliowego występował u wszystkich pacjentów z grupy kontrolnej z hiperhomocysteinemią, zaś wśród chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z hiperhomocysteinemią — u około 43%.

W wielu pracach stwierdzono występowanie ujemnej korelacji między stężeniem homocysteiny a kwasem foliowym w populacji ogólnej [45]. Jendryczka-Maćkiewicz przeprowadziła analizę pomiędzy stężeniem homocysteiny i folianami a wybranymi czynnikami ryzyka wystąpienia miażdżycy w populacji mężczyzn w wieku 22–50 lat, w której współczynnik korelacji (r) wyniósł $-0,51$ [29]. Również wyniki badań przeprowadzonych podczas XIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, gdzie przebadano 214 pracowników medycznych laboratoriów diagnostycznych, wykazały ujemną korelację między stężeniem homocysteiny a kwasem foliowym [46]. W badaniach własnych stwierdzono ujemną korelację między stężeniem homocysteiny a stężeniem folianów tylko wśród pacjentów z grupy kontrolnej, natomiast nie stwierdzono takiej zależności u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Uzyskane wyniki badań sugerują, że stężenie kwasu foliowego w surowicy krwi jest jednym z wielu czynników odpowiedzialnych za rozwój hiperhomocysteinemii. U chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze na wzrost stężenia homocysteiny mogą mieć wpływ także inne czynniki związane z zaburzeniem komórkowego metabolizmu homocysteiny, spowodowane między innymi wrodzonymi zaburzeniami aktywności enzymów, głównie: reduktazy metylenotetrahydrofolianowej (MTHFR), nadmiernym wydzielaniem homocysteiny do przestrzeni pozakomórkowej lub utrudnionym usuwaniem nadmiaru tego aminokwasu z organizmu przez nerki.

Czynność nerek jest istotnym czynnikiem wpływającym na stężenie homocysteiny, co jest szczególnie zauważalne u osób w starszym wieku [47]. Jak wynika z badań Refsum i wsp., zmniejszenie wydolności nerek prowadzi do wzrostu stężenia homocysteiny [48]. Stężenie cystatyny C wykazuje istotną korelację ze zmianami przesączania kłębuszkowego nerek [49]. Nadciśnienie tętnicze prowadzi do stopniowego uszkodzenia funkcji wydalniczej nerek, co może powodować gromadzenie się homocysteiny we krwi [50]. Potwierdzają to wyniki badań własnych. U chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze stężenie cystatyny C było znamienne wyższe niż u pacjentów w grupie kontrolnej (0,82 mg/l v. 0,76 mg/l). Dalsza analiza wyników badań własnych wykazała także, że stężenie cystatyny C u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z hiperhomocysteinemią było istotnie wyższe w porównaniu z chorymi z normohomocysteinemią. Ponadto wykazano istotną korelację pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniem cystatyny C w surowicy krwi chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Mimo dokładnie przeprowadzonego wstępnego postępowania kwalifikacyjnego zarówno w grupie chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, jak i w grupie

kontrolnej, po wykonaniu badań laboratoryjnych stwierdzono u niektórych pacjentów wartości stężenia glukozy powyżej górnej granicy wartości referencyjnych. Szacuje się, że dodatkowe czynniki ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych mogą dotyczyć aż 90% chorych na nadciśnienie tętnicze, stąd trudności w dobraniu reprezentatywnej pod względem każdego parametru grupy pacjentów [51]. Jak wiadomo, stężenie glukozy ma wpływ na stężenie homocysteiny w surowicy, dlatego zbadano korelację pomiędzy stężeniami tych parametrów. Jednak poziom istotności korelacji wskazywał na graniczną zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny a stężeniem glukozy w surowicy krwi chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze ($p = 0,071054$). Zagadnienie to wymaga przeprowadzenia dalszych wnikliwych badań na większej grupie pacjentów.

W próbie podsumowania można stwierdzić, że hiperhomocysteinemia jest często obserwowana u chorych na pierwotne nadciśnienie. Wzrost stężenia tego aminokwasu wywołuje wiele niekorzystnych zmian w ścianie naczyń krwionośnych, dlatego należałoby uwzględnić ten parametr w ocenie klinicznej chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Wnioski

1. Hiperhomocysteinemia występuje częściej u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze niż u ludzi zdrowych.
2. Przyczyną występowania podwyższonych stężeń homocysteiny u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, oprócz niedoboru kwasu foliowego, może być również obniżenie filtracji nerkowej, na co wskazują znamienne wyższe stężenia cystatyny C w surowicy tych chorych.

Piśmiennictwo

1. Gąsiorowska D., Korzeniowska K., Jabłeczka A.: Homocysteina. *Farmacja Współczesna* 2008; 1: 169–175.
2. Turski W.A., Bald E.: Molekularny mechanizm biotoksyczności homocysteiny — fakty i hipotezy. *Postępy Biochemii* 2005; 51 (4): 395–406.
3. Prątnicka M.: Postępy w diagnostyce hiperhomocysteinemii. *Diagnostyka Laboratoryjna* 2003; 39: 83–91.
4. 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 (2): 267–270.
5. Refsum H., Wesenberg F., Ueland P.M.: Plasma homocysteine in children with acute lymphoblastic leukemia: changes during a chemotherapeutic regimen including methotrexate. *Cancer Res.* 1991; 51 (3): 828–835.
6. Kaletha K., Chodorowski Z., Sein-Anand J., Gazda M., Nagel-Starczynowska G.: Homocysteina jako czynnik ryzyka rozwoju miażdżycy. *Przeгляд Lekarski* 2000; 57 (10): 591–595.
7. Berent H., Wocial B., Kuczyńska K., Raczkowska M.: Homocysteina i hemostatyczne czynniki ryzyka miażdżycy u chorych z nadciśnieniem tętniczym. *Nadciśnienie Tętnicze* 2001; 5 (4): 225–260.
8. Domagała T.B.: Rodzina hiperhomocysteinemia a miażdżycza tętnic. *Rozprawa habilitacyjna. Medycyna Praktyczna, Kraków* 2002.
9. Tsai J.C., Wang H., Perrella M.A. i wsp.: Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *J. Clin. Invest.* 1996; 97 (1): 146–153.
10. Tyagi S.C.: Homocysteine redox receptor and regulation of extracellular matrix components in vascular cells. *Am. J. Physiol.* 1998; 274 (2): C396–405.
11. Jourdeuil-Rahmani D., Rolland P.H., Rosset E., Branchereau A., Garçon D.: Homocysteine induces synthesis of a serine elastase in arterial smooth muscle cells from multi-organ donors. *Cardiovasc. Res.* 1997; 34 (3): 597–602.
12. Napora M., Zdrojewski Z.: Znaczenie asymetrycznej dimetyloargininy (ADMA) w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych. *Nefrol. Dial. Pol.* 2006; 10: 95–100.
13. Maluśkiewicz E., Korzeniowska K., Jabłeczka A.: Ocena stężenia homocysteiny u chorych ze świeżo zdiagnozowa-

- nym pierwotnym nadciśnieniem tętniczym. Współczesna Farmacja 2009; 2: 128–134.
14. Graham I.M., Daly L.E., Refsum H.M. i wsp.: Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277: 1775–1781.
 15. 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 (6): 1745–1749.
 16. Nurk E., Tell G.S., Vollset S.E. i wsp.: Changes in lifestyle and plasma total homocysteine: the Hordaland Homocysteine Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2004; 79 (5): 812–819.
 17. Asfar S., Safar H.A. Homocysteine levels and peripheral arterial occlusive disease: a prospective cohort study and review of the literature. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2006; 66 (1): 45–54.
 18. Berent H., Wocial B., Kuczyńska K., Raczkowska M.: Homocysteina i hemostaticzne czynniki ryzyka miażdżycy u chorych z nadciśnieniem tętniczym pierwotnym. *Nadciśnienie Tętnicze* 2001; 5 (4): 255–260.
 19. Kądziała J., Makowiecka-Cieśla M., Dziełińska Z. i wsp.: Podwyższone stężenie homocysteiny w osoczu jako czynnik ryzyka nadciśnienia tętniczego. *Nadciśnienie Tętnicze* 2002; 6 (2): 75–82.
 20. Sheu W.H., Lee W.J., Chen Y.T.: Plasma homocysteine concentration and insulin sensitivity in hypertensive subjects. *Am. J. Hypertens.* 2000; 13:14–20.
 21. Wolters M., Hermann S., Hahn A.: B vitamin status and concentrations of homocysteine and methylmalonic acid in elderly German women. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 78 (4): 765–772.
 22. Koehler K.M., Romero L.J., Stauber P.M., Pareo-Tubbeh S.L., Liang H.C.: Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J. Am. Coll. Nutr.* 1996; 15: 364–376.
 23. Brattström L.E., Lindgren A., Israelsson B., Jeppsson J.O., Hultberg B.L.: Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J. Intern. Med.* 1994; 236: 631–641.
 24. Jacques P.F., Rosenberg I.H., Rogers G., Selhub J., Bowman B.A., Gunter E.W. i wsp.: Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 69: 482–489.
 25. Sadeghian S., Fallahi F., Salarifar M., Davoodi G., Mahmoodian M., Fallah N., Darvish S., Karimi A.: Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in premature coronary artery disease. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2006; 6:38–45.
 26. Foody J.M., Milberg J.A., Robinson K., Pearce G.L., Jacobsen D.W., Sprecher D.L.: Homocysteine and Lipoprotein (a) Interact to Increase CAD Risk in Young Men and Women. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2000; 20: 493–499.
 27. Koehler K.M., Romero L.J., Stauber P.M., Pareo-Tubbeh S.L., Liang H.C.: Vitamin supplementation and other variables affecting serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in elderly men and women. *J. Am. Coll. Nutr.* 1996; 15: 364–376.
 28. Tykarski A., Posadzy-Mańczyńska A., Rywik S., Jasiński B., Drygas W., Wyrzykowski B., Kozakiewicz K., Pająk A.: Stężenie homocysteiny w surowicy krwi — nowego czynnika ryzyka wieńcowego — u dorosłych mieszkańców naszego kraju. Wyniki programu WOBASZ. *Kardiologia Polska* 2005; 63, 6 (supl. 4): S1–S4.
 29. Jendryczka-Mańkiewicz E., Dymek G., Sypniewska G., Senterkiewicz L.: Zależność pomiędzy stężeniem homocysteiny i kwasu foliowego a wybranymi czynnikami ryzyka miażdżycy w populacji mężczyzn 22–50 lat. *Diagnostyka Laboratoryjna* 2001; 37: 145–152.
 30. Pfeiffer C.M., Osterloh J.D., Kennedy-Stephenson J. i wsp.: Trends in circulating concentrations of total homocysteine among US adolescents and adults: findings from the 1991–1994 and 1999–2004 National Health and Nutrition Examination Surveys. *Clin. Chem.* 2008; 54 (5): 801–813.
 31. Sundström J., Sullivan L., D'Agostino R.B. i wsp. Plasma Homocysteine, Hypertension Incidence, and Blood Pressure Tracking: The Framingham Heart Study Hypertension 2003, 42: 1100–1105.
 32. Karatela R.A., Sainani G.S.: Plasma homocysteine in obese, overweight and normal weight hypertensives and normotensive. *Indian Heart J.* 2009; 61 (2): 156–159.
 33. Grabysa R.: Czy hiperhomocysteinemia jest rzeczywiście czynnikiem ryzyka miażdżycy? *Polski Przegląd Kardiologiczny* 2007; 9 (4): 289–293.
 34. Chiżyński K.: Hiperhomocysteinemia — ważny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca. *Polski Przegląd Kardiologiczny* 2007; 9 (4): 289–293.
 35. Naurath H.J.: Hyperhomocysteinemia in advanced age. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2001; 39 (8): 695–697.
 36. Bellamy M.F., McDowell I.F., Lewis M.J.: Folic acid in endothelial function in familial hypercholesterolemia. *Circulation* 2000; 102 (11): E92.
 37. Brouwer I.A., van Dusseldorf I.A., Thomas C.M.G. i wsp.: Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomised trial. *Indian Heart J.* 2000; 52 (7): S53–58.
 38. Hackam D.G., Peterson J.C., Spence J.D.: What level of plasma homocyst(e)ine should be treated? Effects of vitamin therapy on progression of carotid atherosclerosis in patients with homocyst(e)ine levels above and below 14 micromol/L. *Am. J. Hypertens.* 2000; 13 (1): 105–110.
 39. van Etten R.W., de Koning E.J., Verhaar M.C., Gaillard C.A., Rabelink T.J.: Impaired NO-dependent vasodilation in patients with Type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus is restored by acute administration of folate. *Diabetologia* 2002; 45 (7): 1004–1010.
 40. Bukowska H., Gorący I., Żyżniewska-Banaszak E., Chelstowski K., Naruszewicz M.: Ocena wpływu napoju zawierającego sok owocowy, bakterie jogurtowe oraz witaminę C i kwas foliowy na poziom homocysteiny, profil lipidowy i jakość życia ocenianą rotterdamską listą symptomów u młodych mężczyzn. *Czynniki Ryzyka* 2004; 1 (2): 52–56.
 41. 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 (15): 1567–1577.
 42. Bona K.H., Njolstad I., Ueland P.M. i wsp.: Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 1578–1588.
 43. Bleie Q., Semb A.G., Grundt H. i wsp.: Homocysteine lowering therapy does not affect inflammatory markers of atherosclerosis in patients with stable coronary artery disease. *J. Intern. Med.* 2007; 262 (2): 244–253.
 44. Sadeghian S., Fallahi F., Salarifar M., Davoodi G., Mahmoodian M., Fallah N., Darvish S., Karimi A.: Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in premature coronary artery disease. *BMC Cardiovasc. Disord.* 2006; 6: 38.
 45. Brzóska S., Hryszko T., Małyżko J., Myśliwiec M.: Homocysteina — nowy czynnik ryzyka miażdżycy i jej powikłania. *Polski Merkuriusz Lekarski* 2001; 55: 56–59.
 46. Piechota W., Bobilewicz D., Iwanowski M. i wsp.: Ocena poziomów homocysteiny w odniesieniu do stężenia folianów i cholesterolu w populacji pracowników laboratoriów medycznych — uczestników XIII Zjazdu PTDL. *Diagnostyka Laboratoryjna* 1999; 35: 553–558.
 47. Jacques P.F., Rosenberg I.H., Rogers G., Selhub J., Bowman B.A., Gunter E.W. i wsp.: Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999; 69: 482–489.
 48. Refsum H., Smith A.D., Ueland P.M. i wsp.: Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clinical Chemistry* 2004; 50: 3–32.
 49. Aras Ö., Tsai M.Y., Hanson N.Q., Bailey R., Rao G., Hunninghake D.B.: Cystatin C Is an Independent Predictor of Fasting and Post-Methionine Load Total Homocysteine Concentrations among Stable Renal Transplant Recipients. *Clinical Chemistry* 2001; 47: 1263–1268.
 50. Henning B.F., Riezler R., Tepel M. i wsp.: Evidence of altered homocysteine metabolism in chronic renal failure. *Nephron* 1999; 83: 314–22.
 51. Rywik S. Zaburzenia metaboliczne u chorych z nadciśnieniem tętniczym — badanie populacyjne. *Czynniki Ryzyka* 2002; 2 (3): 38–43.