



**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH
Přírodovědecká fakulta**

**Význam homocysteinu v patogenezi trombózy,
výskyt v populaci a možnosti léčebného ovlivnění**

Bakalářská práce

Autor práce: Dana Dvořáková

Školitel: Prim. MUDr. Ivan Vonke, MBA

České Budějovice 2011

Dvořáková, D., 2011: Význam homocysteinu v patogenezi trombózy, výskyt v populaci a možnosti léčebného ovlivnění [The importance of homocysteine in the pathogenesis of thrombosis, incidence in population and options of therapeutic effect. Bc. Thesis, in Czech] – 39 stran, Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic..

Anotace:

Increased level of homocysteine is a significant risk factor for many disorders: cardiovascular diseases, kidney failure, hypothyreosis, cancer, diabetes, depression, Alzheimer's disease, congenital defects of the nervous system and infertility. The aim of this essay is to summarize the current knowledges about homocysteine, its metabolism and its impact on thromboembolic disease.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně, pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 13. 12. 2011

.....
Dana Dvořáková

Poděkování

Na tomto místě bych ráda vyjádřila své upřímné poděkování především svému školiteli MUDr. Ivanu Vonkemu za podporu a vstřícnost. Velké díky patří i mé rodině a spolubydlícím, že to se mnou po dobu sepisování této práce vydrželi.

Obsah

1. Úvod
2. Literární doložení
 - 2.1. Historie homocysteinu
 - 2.2. Co je homocystein?
 - 2.3. Metabolismus
 - 2.3.1. Význam methylových skupin
 - 2.3.2. Remethylace
 - 2.3.2.1. Homocystein-methioninový cyklus
 - 2.3.2.2. Folátový cyklus
 - 2.3.3. Transsulfurace
 - 2.3.4. Porucha metabolismu homocysteinu
 - 2.3.4.1. Homocystinurie
 - 2.3.4.2. Hyperhomocysteinémie
 - 2.3.4.2.1. Genetické faktory
 - 2.3.4.2.2. Negenetické faktory
 - 2.4. Vztah homocysteinu k trombóze
 - 2.4.1. Tromboembolická nemoc
 - 2.4.2. Kardiovaskulární onemocnění – choroby cév a srdce
 - 2.4.2.1. Ateroskleróza
 - 2.4.2.2. Žilní trombóza
 - 2.5. Vztah hyperhomocysteinémie v patogenezi trombózy
3. Materiál a metodika
4. Výsledky
5. Diskuse
6. Závěr
7. Seznam citované literatury
8. Přílohy

1 Úvod

Homocystein je v současné době považován za jeden z hlavních patogenetických činitelů vzniku aterosklerózy a koronárního srdečního onemocnění. Ukazuje se, že je v pozadí řady závažných poruch a nemocí. Poškozuje výstelku cév a působí zeslabení jejich stěn. Zasahuje také do srážení krve, což vede ke vzniku trombů a infarktů. Vyvolává poruchy ve vývoji a funkcích nervové soustavy. Má patrně svůj podíl na regulaci růstu nádorů.

Když dr. Kilmer McCully vydal svoji knihu Homocysteinová revoluce (1967), ve které označil homocystein za hlavního viníka při tvorbě sklerotických plaků v cévách, objevilo se mnoho kritiků a oponentů jeho teorie. Její platnost a pravdivost byla však v následujících desetiletích potvrzena stovkami publikací.

V současné době je homocysteinová teorie všeobecně přijímána a studiem metabolitů homocysteinového cyklu se zabývá velmi mnoho badatelů. Poznatky o metabolismu homocysteinu jsou užitečné pro každého člověka, protože zvýšená hladina homocysteinu v krvi se v současné době považuje za ukazatel zvýšeného rizika srdeční ischemie, infarktu myokardu, onemocnění cév, hypertenze, vzniku rakoviny, předčasných potratů, poruch ve vývoji nervové soustavy a některých dalších vývojových vad. Homocystein je neurotoxický, takže se podílí na poklesu mentální kapacity, vývoji demence a zjevně má podíl i na autismu. Cílem této práce bylo vypracovat literární rešerši o vlivu zvýšené hladiny homocysteinu na lidské cévy a na projev tromboembolického onemocnění.

2 Literární doložení

2.1 Historie homocysteinu

Roku 1932 v laboratoři amerického biochemika du Vigneauda byla poprvé demethylací a následnou oxidací esenciální aminokyseliny methioninu připravena látka, popsána jako homocystin. Reakce byly prováděny zahříváním koncentrované kyseliny sírové. V téže laboratoři byly homocystin a homocystein připraveny také synteticky (Přistoupilová et al. 1999).

Souvislost mezi zvýšenou hladinou homocysteinu a možným onemocněním byla nejprve navržena v roce 1962 Carsonem a Neilem, kteří objevili vysokou hladinu homocysteinu v moči některých dětí s mentální retardací – homocystinurií, která vedla k úmrtí v důsledku zrychlené aterosklerózy. Ukázalo se, že zvýšením hladiny homocysteinu u těchto pacientů byly způsobeny závažné defekty enzymů blokující metabolismus homocysteinu (Wilcken and Wilcken 2001).

V roce 1967 formuloval McCully svoji teorii o mírné hyperhomocysteinémii (hyHcy) jako příčině rozvoje aterosklerózy a vzniku kardiovaskulárních onemocnění (KVO) v běžné populaci (Erben 2004). V podstatě šlo o první vysvětlení příčiny epidemie (KVO), která v té době v USA postihovala širokou populaci.

V roce 1969 předložil McCully teorii vlivu homocysteinu na průběh aterosklerózy. Ta byla založena na zjištění arteriální změny u kojence s homocystinurií kvůli nedostatku cystathionin- β -syntasy (CBS), podobně jako tomu bylo u kojence s homocystinurií kvůli poruchám remethylace homocysteinu na methionin. Změny v cévní stěně byly klasifikovány jako arterioskleróza. Vzhledem k tomu, že objevil dvě různé poruchy projevující se výrazným zvýšením hladiny homocysteinu jako metabolickým důsledkem vrozených chyb, byly obě považovány za společný faktor vedoucí k poškození tepny. Z genetického hlediska objevil značnou podobnost patologicko-anatomických nálezů v cévním řečišti mezi předčasně zemřelými a starými lidmi (McCully 1996).

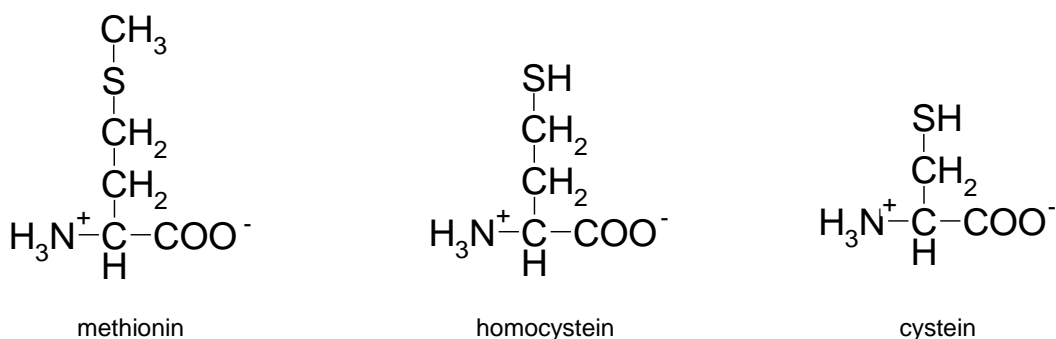
Homocysteinová teorie aterosklerózy ale byla odmítnuta lékaři na velkém setkání Univerzity v Massachusetts v roce 1976 a negativní postoj k tomuto tématu u některých trvá dodnes. Příčiny tohoto nezdůvodněného odmítání byly různé, nejzajímavějším byly

ekonomické, které McCullyho vytlačily do ústraní, aby nenarušil rozjíždějící se obchod s léky a farmaceutický průmysl, který dodnes silně převažuje nad zájmem pacientů (Erben 2004).

V polovině 90.let bylo prokázáno, že hyperhomocysteinémie (hHcy) je nezávislým rizikovým faktorem onemocnění kardiovaskulárního aparátu stejně jako ischemické choroby srdeční (ICHS), cévní onemocnění mozku a ischemické choroby dolních končetin (ICHDK). Další práce prokázaly pozitivní asociaci hHcy s hlubokou žilní trombózou a tromboembolickou nemocí (Aschermann 2004).

2.2 Co je homocystein?

Homocystein (2-amino-4-merkaptomáselná kyselina) je nejbližším homologem cysteinu. Homocystein je vysoce agresivní esenciální aminokyselina obsahující síru v podobě volné triolové skupiny (-SH), díky níž se řadí mezi aminothioly (Voet and Voet 2004). Vzniká při zpracování bílkovin v lidském organismu z životně důležité aminokyseliny methioninu. Všeobecně se aminothioly účastní mnoha metabolických drah a podílí se na udržení intracelulární a extracelulární homeostázy. Všechny tři sloučeniny mají podobnou strukturu (Obr. 1).



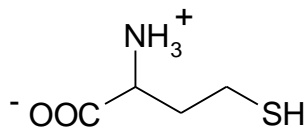
Obr. 1: Struktura aminothiolů.

Homocystein byl nalezen v buňkách všech živočichů, rostlin a bakterií. V nich se účastní reakcí spojených s využíváním kyslíku v buňce (buněčným dýcháním), je u reakcí, kterými si buňka obstarává energii potřebnou pro udržování chodu všech biochemických reakcí a je nezbytný i u rozmnožování buněk (Přistoupilová et al. 1999). Genetické naprogramování a regulace těchto procesů zpětnými vazbami jsou ukázkou udržování stálosti vnitřního prostředí. Biologický význam homocysteinu naznačuje skutečnost, že při normální metabolizaci se 90-95 procent vzniklého homocysteinu účastí chemických procesů v buňce a jen zbytek se dostává do krve (Erben 2004). Je-li metabolismus narušen, dochází k hromadění této toxické látky v těle, což můžeme označit jako předehtu k mnoha chorobám, kterým můžeme zabránit.

V biologických tekutinách se homocystein vyskytuje jako volný nebo vázaný na krevní bílkoviny disulfidickými či amidovými vazbami (Zima et al. 2002). Homocystein byl izolován v různých molekulárních formách (Obr. 2) (Aschermann 2004).

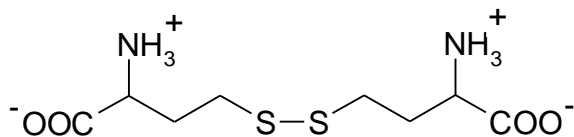
Redukované formy

homocystein < 2 %



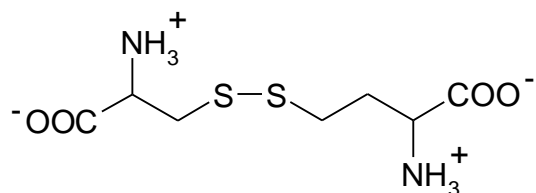
Oxidované formy

homocystin 5 - 10 %

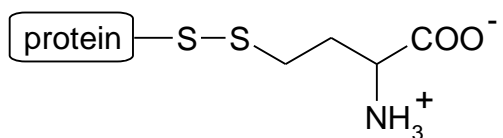


smíšené disulfidy

cystein-homocystein 5 - 10 %



protein-homocystein 80 - 90 %



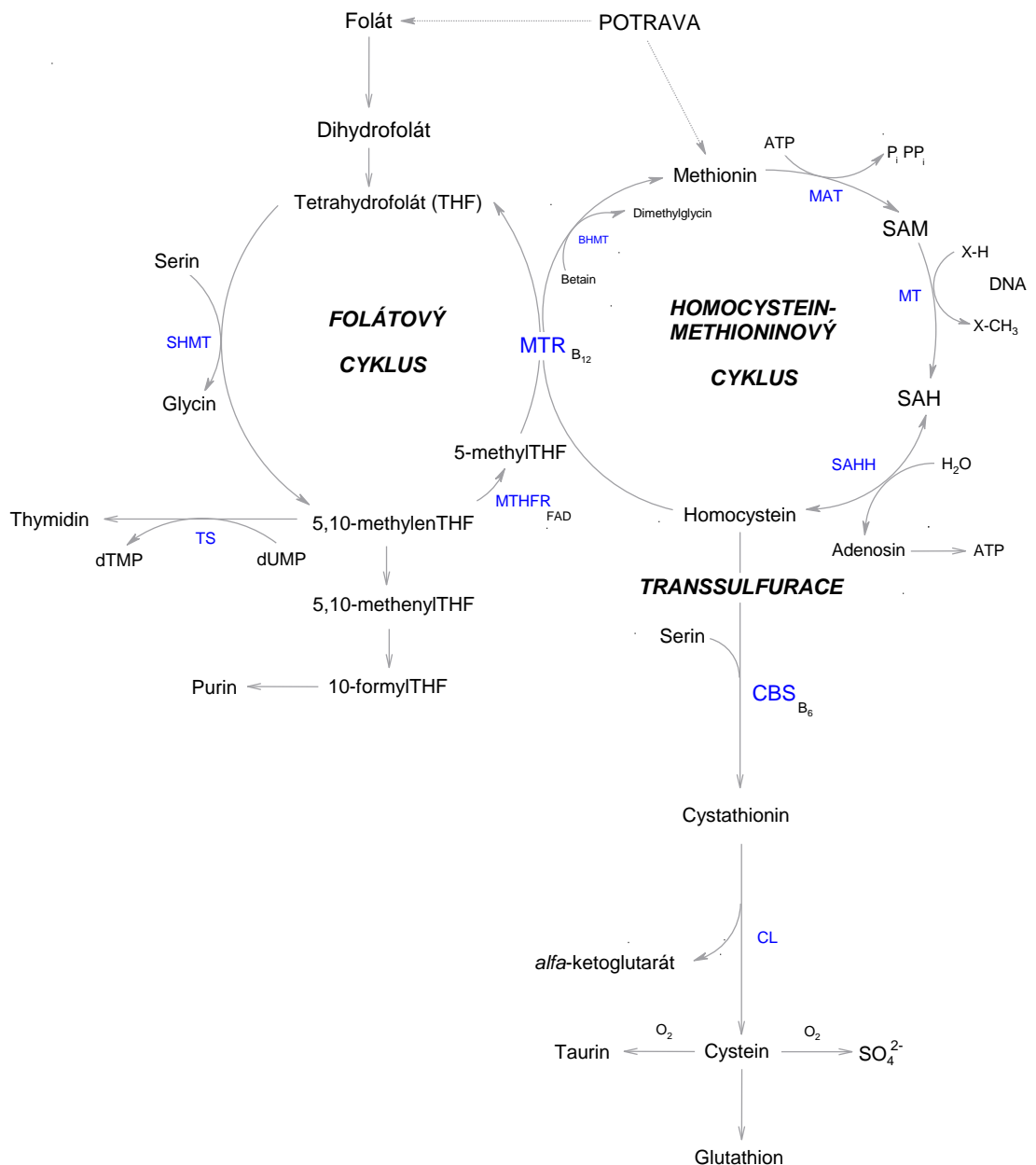
Obr. 2: Formy homocysteinu v cirkulaci (Aschermann 2004).

2.3 Metabolismus

V buněčné biochemii je obvyklé, že ke vzniku potřebné látky nestačí jedna reakce, ale více kroků, při kterých vznikají meziprodukty, až konečný řetězec dospěje k potřebné látce. U Hcy je to jinak, kdy příroda zvolila méně obvyklé řešení v podobě kruhové reakce – cyklu. Na konci pak dostaneme stejnou látku jako byla na začátku (Erben 2004).

U Hcy mluvíme o cyklu metabolických proměn dvojice aminokyselin, v němž za počátek cyklu můžeme považovat esenciální aminokyselinu methionin. Jeho exogenním zdrojem jsou proteiny z potravy. Metabolismus Hcy protíná dvě metabolické dráhy – remethylační a transsulfurační dráhu (Obr. 3) (Zima 2002).

Souhrnně funguje regulace tak, že transsulfurace pomáhá odstraňovat přebytek homocysteinu z buňky. Naopak při deficitu zdrojů methioninu ve stravě vzniká málo homocysteinu a ten je proto převážně směřován k remethylaci a k cyklování, neboť cesta přeměny transsulfurací se mu uzavírá (Erben 2004).



Obr. 3: Schéma metabolismu homocysteinu (Ebisch et al., 2007, upraveno).

Obr.3: Metabolismus methioninu a cyklus homocysteinu. Šipka a písmena znázorňují směr reakcí a enzymy: **MAT** = methioninadenosyltransferáza, **SAM** = S-adenosylmethionin, **MT** = methyltransferáza, **SAH** = S-adenosylhomocystein, **SAHH** = S-adenosylhomocysteinhydroláza, **CBS** = cystathionin- β -syntáza, **CL** = cystathioninlyáza, **MTHFR** = methylenetetrahydrofolátreduktáza, **SHMT** = serinhydroxymethyltransferáza, **THF** = tetrahydrofolát

2.3.1 Význam methylových skupin

Úkolem metabolického cyklu homocysteinu je dodávat pro potřebu dalších biochemických procesů důležité suroviny – methylové skupiny, přicházející z vnějšího prostředí potravou. Methylové skupiny (v chemickém přepisu $-\text{CH}_3$) jsou výchozí stavební jednotkou organických látek a tím i základní surovinou pro potřebu mnoha biochemických reakcí. Dostatek methioninu (zdroj methylových skupin), jeho recyklace a možnost náhradní metylace svědčí o dostatečném přísunu methylových skupin do nitra buňky (Erben 2004). Methylové skupiny vnáší do cyklu buď methionin z potravy, který je jedním z konečných článků štěpení proteinů v trávicím traktu, nebo foláty (přírodní složitější forma kyseliny listové). Od nich přijímá methylovou skupinu Hcy v reakci, která umožňuje jeho přeměnu zpátky na methionin – remethylace.

2.3.2 Remethylace

U zcela zdravého člověka s optimální stravou se homocystein rychle odbourává jako vedlejší produkt a zase se přeměňuje na methionin (Met). Tento proces však funguje pouze tehdy, když se v organismu nacházejí zcela konkrétní enzymy, které jsou zase aktivní pouze tehdy, když jsou k dispozici v dostatečném množství vitaminy jako kyselina listová, vitamin B6 a B12 (Selhub 1999).

K přeměně homocysteinu (Hcy) na methionin (Met) dochází dvěma odlišnými reakcemi, homocystein-methioninovým a folátovým cyklem, které jsou navzájem propojeny (Forges et al. 2007).

2.3.2.1 Homocystein-methioninový cyklus

Homocystein je remethylován na methionin současně s přenosem methylové skupiny z 5-methyltetrahydrofolátu (5-methylTHF). Tato reakce je katalyzována methyltransferázou (MTR), jejímž kofaktorem je kobalamin (vitamin B12). Díky kobalaminu je methylová skupina přenesena na MTR a předána homocysteinu (Forges et al. 2007). K reakci dochází především v játrech, ledvinách a mozku (Greer et al. 2007).

Při remethylaci homocysteinu na methionin se uplatňuje i betainhomocysteinmethyltransferáza (BHMT), jejíž aktivita je omezena výlučně na jaterní tkáň (Erben 2004).

Vzniklý methionin může být dále včleněn do řetězce různých peptidů, nebo přeměněn na S-adenosylmethionin (SAM). Tato sloučenina hraje klíčovou roli v buněčných procesech, protože funguje jako univerzální donor methylu při methylaci nukleových kyselin, bílkovin, polysacharidů, atd. SAM vzniká přenosem adenosylové skupiny z ATP na atom síry v molekule methioninu za katalýzy methioninadenosyltransferázy (MAT) (Voet and Voet 2004). Specifickými transferázami je methylová skupina přenesena z molekuly SAM a výsledkem reakce je S-adenosylhomocystein (SAH).

Na konci cyklu je SAH rozštěpen na homocystein a adenosin, který je využit při syntéze ATP. Katalyzátorem této reakce je S-adenosylhomocysteinhydroláza (SAHH) (Forges et al. 2007).

2.3.2.2 Folátový cyklus

Hlavní roli v tomto sledu reakcí hraje aktivní forma kyseliny listové - tetrahydrofolát (THF), jehož hlavní funkcí je schopnost vázat jednouhlíkaté zbytky a poskytovat je během dalších reakcí (Voet and Voet 2004).

Jednouhlíkaté zbytky jsou kovalentně vázány na pozici 5 nebo 10 tetrahydrofolátu, popřípadě na oba současně. Vznikají převážně při přeměně serinu na glycin, která je katalyzována enzymem serinhydroxymethyltransferázou (SHMT) a při štěpení glycinu glycinsyntázou (Voet and Voetová 1990).

Pro průběh folátového cyklu je důležitá přeměna 5,10-methylenTHF na 5-methylTHF za katalýzy FAD-dependentní methylen tetrahydrofolát reduktázy (MTHFR). Methylová skupina z 5-methylTHF je prostřednictvím kobalaminu přenesena na MTR a donor tohoto uhlíkového zbytku je přeměněn na THF (Forges et al. 2007).

2.3.3 Transsulfurace

Transsulfurační dráha je ireverzibilní čili nevratná. Homocystein kondenzuje se serinem za vzniku cystathioninu. Reakce je katalyzována cystathionin- β -syntázou (CBS), jejíž aktivita je závislá na přítomnosti pyridoxal-5'-fosfátu (PLP), jehož aktivní forma je vitamín B₆ (Greer et al. 2007). Vzniklý cystathionin je v dalším kroku deaminován za účasti cystathioninlyázy (CL) na cystein a α -ketoglutarát (Forges et al. 2007).

Cystein je dále metabolizován různými způsoby v závislosti na typu tkáně (Zima 2002). Transsulfurace je závislá na výkonnosti svého enzymu, který je plně funkční jen tehdy, má-li dostatek svého kofaktoru, kterým je vitamín B₆ (pyridoxin). Genetická porucha tohoto enzymu je podkladem vrozeného onemocnění homocysteinurie, které postihuje mladistvé a občas i děti (Erben 2004).

2.3.4 Porucha metabolismu homocysteinu

Normální koncentrace homocysteinu v plazmě je 5 – 16 μ mol. Při poruše metabolismu dochází k hromadění homocysteinu a jeho hladina je u těžké hyperhomocysteinémie > 100 μ mol (Vojáček et al. 2004). Jestliže dojde k přebytku homocysteinu, jeho vysoká chemická aktivita přechází v agresivitu. Poškozuje životně důležité enzymy, oslabuje nebo úplně vyřazuje jejich funkce a podněcuje vznik nebezpečných volných radikálů. Spolu s volnými radikály startuje vyšší homocystein mechanismy, které často usmrcují - dráždí cévní výstelku (endotel) k abnormální produkci působků, které zvyšují krevní srážlivost (shlukování krevních destiček, zvýšení aktivity koagulačních faktorů FV, FX a FXII). Dále pak snižuje aktivitu proteinu C a expresi trombodulinu, čímž přispívá k rozvoji trombózy (Erben 2004).

Všechno souvisí s metabolickou poruchou, která vzniká v lidských buňkách při nedostatku tří vitamínů: kyseliny listové, B₆ a B₁₂, nebo v důsledku poruchy v genech. Výjimečně se při jejím vzniku uplatňují i zevní toxické vlivy.

2.3.4.1 Homocystinurie

Homocystinurie je onemocnění ze skupiny dědičně metabolický poruch, které je způsobeno nejčastěji poruchou aktivity cystathion- β -syntázy, enzymu podílejícího se v organismu na přeměně aminokyseliny methioninu na cystein. V porovnání s onemocněním hyperhomocysteinémie, kdy u pacientů dochází k narušení aktivity methylenetetrahydrofolátreduktázy (MTHFR) a kdy se hladina homocysteinu pohybuje v rozmezí 15 – 667 $\mu\text{mol}/24$ hodin (v průměru je to hodnota 130 μmol), tak u homocystinurie způsobené deficitem cystathion- β -syntázy se vyskytuje hladina homocysteinu vyšší (Orkin et al. 2009). U pacientů s tímto onemocněním dochází k hromadění homocysteinu v tkáních a tělesných tekutinách – krvi a moči.

Na základě klinických příznaků a efektu léčby můžeme homocystinurii rozdělit na 2 základní formy. Prvou je vitamin B₆ - senzitivní (reagující) – vyskytuje se u ní částečná zbytková aktivita enzymu a hladina homocysteinu po podání vitaminu B₆ klesá. Druhou formou je vitamin B₆ – rezistentní (nereaguje) – aktivita enzymu je nulová a pacient na léčbu vitaminem B₆ nereaguje (Paterová et al. 2004). Neléčená homocystinurie může způsobovat celou řadu klinických příznaků, které se obvykle začínají projevovat v kojeneckém, batolecím nebo předškolním věku, po uplynutí zcela bezpříznakového období. Nejčastější příznaky se projevují u centrální nervové soustavy (opožděný vývoj a obtíže s učením, křeče způsobené změnami na EEG), u očí (těžká krátkozrakost, zvýšený nitrooční tlak), u kostry (osteoporóza = odvápnění kostí, skolióza = vybočení páteře do strany, prodloužení dlouhých kostí), u cévního systému (zvýšení srážlivosti krve, což může vést až k emboliím a mozkovým příhodám) (Paterová et al. 2004).

Cílem léčby je snížit příliš vysokou hladinu homocysteinu v organismu. Léčba této choroby obvykle spočívá v podávání nadměrných dávek vitaminu B₆, dodržování nízkobílkovinné diety s limitovaným množstvím methioninu a samozřejmě důležitou součástí jsou pravidelné ambulantní kontroly s metabolickým vyšetřeními (Paterová et al. 2004).

2.3.4.2 Hyperhomocysteinémie

V současné době se uvádí normální koncentrace celkového homocysteinu v plazmě nalačno v rozmezí 5,0 – 15,9 $\mu\text{mol/l}$ (Aschermann 2004). V případech, kdy bazální koncentrace celkového homocysteinu přesahují tuto hranici, mluvíme o hyperhomocysteinémii (hHcy), která se na základě množství homocysteinu v plazmě dělí na tři stupně: mírná homocysteinémie s hodnotami 16,0 – 30,0 $\mu\text{mol/l}$, středně těžká homocysteinémie s horní hranicí 100 $\mu\text{mol/l}$ a těžká homocysteinémie s koncentrací pohybující se nad hranicí 100 $\mu\text{mol/l}$ (Carmel et al. 2001).

Těžká hyperhomocysteinémie je nejčastěji způsobena vrozenými genetickými defekty enzymů, které se účastní metabolismu homocysteinu. Mírná nebo středně závažná homocysteinémie je nejčastěji způsobena exogenními příčinami. Mezi ně patří hlavně nedostatek vitamínu B₁₂, B₆, kyseliny listové a riboflavinu (Gerhard et al. 1999). Hladina folátu a kobalaminu dohromady představují 63 - 66% riziko pro hyperhomocysteinémii u zdravé populace (Greer et al. 2007).

2.3.4.2.1 Genetické faktory

Nejčastější vrozenou příčinou těžké hyperhomocysteinémie je mutace genu pro cystathion- β -syntázu (CBS) nebo genu pro reduktázu methylenetetrahydrofolátu (MTHFR) (Kvasnička 2003). Gen MTHFR kóduje enzym, který je součástí procesu metabolické přeměny aminokyseliny homocysteinu na methionin. Polymorfismus genu MTHFR je znám jak v homozygotním, tak i heterozygotním stavu a v obou případech může vést k mírné až středně těžké hyperhomocysteinémii. Následkem toho dochází ke zpomalenému odbourávání homocysteinu, který tak může déle toxicky působit na cévní endotel (Frosst et al. 1995).

Mutace C677T v genu MTHFR vede k záměně aminokyseliny alaninu za valin v poloze 222 proteinové sekvence enzymu MTHFR a tím vzniku termolabilní (méně aktivní) formy genu MTHFR. U heterozygotů je aktivita CT snížena na 55%, u homozygotů TT na 20% normy. V evropské populaci se výskyt heterozygotních mutací CT pohybuje kolem 37% a homozygotních forem TT kolem 10%.

Mutace A1298C genu MTHFR způsobuje substituci aminokyseliny glutamové za alanin v pozici 429 v proteinové sekvenci enzymu. Přítomnost této mutace ale přímo nezpůsobuje zvýšenou hladinu homocysteinu v krevním séru. Frekvence výskytu rizikové alely 1298C je v evropské populaci asi 33% (Colman et al. 2006).

2.3.4.2.2 Negenetické faktory

Věk a pohlaví ovlivňují hladiny normálních hodnot množství homocysteinu v plazmě. Koncentrace homocysteinu se zdvojnásobují v období mezi dětstvím a stářím. Nicméně normální hladiny mohou být často i snižené a to zejména díky kyselině listové (Greer et al. 2007).

Hladina homocysteinu je také ovlivňována životním stylem – kouřením, konzumací kávy a alkoholu, stravovacími návyky a fyzickou inaktivitou. Souhrn příčin, které pravděpodobně vedou ke zvýšené koncentraci homocysteinu v séru je znázorněn v tabulce (Tab.I) společně s jejich rozdělením dle závažnosti homocysteinémie.

Tab. I: Příčiny zvýšené hladiny homocysteinu (Greer et al. 2007).

Případy	Stupeň zvýšení ^a hladiny homocysteinu
Nedostatek vitaminů	
Klinický nedostatek kobalaminu	Mírný až těžký
Subklinický nedostatek kobalaminu	Mírný nebo žádný
Nedostatek folátu	Mírný až těžký
Nedostatek vitamínu B6	Mírný nebo žádný ^b
Nedostatek riboflavinu	Mírný nebo žádný
Nemoc	
Selhání ledvin	Mírný až středně těžký
Po transplantaci	Mírný až středně těžký
Hypotyreóza	Mírný
Akutní lymfocytární leukémie	Mírný
Svrab	Mírný

Léky a toxiny	
Zneužívání alkoholu	Mírný až těžký
Methotrexát a jiné antifoly	Mírný až těžký
Trimethoprim; antikonvulziva	Mírný
Fenofibrát	Mírný
Cyklosporin A	Mírný
Léky ovlivňující vitamín B6 (např. niacin, azauridine)	Mírný
Levodopy	Mírný
Toxicita oxidem dusným	Mírný až těžký
Genetické poruchy	
Nedostatek cytochromu β -syntetázy	
Homozygotní stav	Těžký
Heterozygotní stav	Mírný nebo žádný ^c
Dědičné poruchy metabolismu kobalaminu, transportu nebo absorpce	Mírný až těžký ^d
Dědičné poruchy metabolismu folátu, transportu nebo absorpce	Mírný až těžký
Polymorfismy methylen-tetrahydrofolátové reductázy (homozygotní C677T nebo A1298C mutace)	Mírný nebo žádný ^e
Fyziologické faktory a faktory životního stylu^f	
Mužské pohlaví	Mírný
Stáří	Mírný
Pití kávy	Mírný
Kouření	Mírný
Artefakt	
Použití séra; zpoždění odstředování	Mírný

^a Zvýšení hladiny homocysteinu je roztríděno do tří skupin jako mírné (15 - 25 $\mu\text{mol/l}$), středně těžký (25 - 50 $\mu\text{mol/l}$) a těžký (> 50 $\mu\text{mol/l}$).

^b Často nejasné, pokud není provedeno post-methionine-loading měření.

^c Hladina homocysteinu může být změněna kvůli změně kreatininu.

^d K navýšení homocysteinu nedochází v genetických poruchách kobalaminu, které jsou ušetřeny funkce methylkobalaminu.

^e Často nejasné, pokud stav kyseliny listové není také ohrožen.

^f V těchto kategoriích není vždy známo, zda jiné vlivy přispívají k rozdílům přisuzovaných faktorům.

Hyperhomocysteinémie má mnohočetný patogenní účinek. Je dáována do souvislosti s žilními trombózami, Parkinsonovou chorobou, Alzheimerovou chorobou, roztroušenou sklerózou, zvyšuje onemocnění srdce, způsobuje selhání ledvin, rakovinná onemocnění, vrozené defekty neurální trubice a mnoho dalších.

2.4 Vztah homocysteinu k trombóze

Klíčovou otázkou je , zda má homocystein kauzální roli při vzniku aterosklerózy.

Důkazy, které podporují přímou úlohu homocysteinu v patogenezi cévních onemocnění se objevily ze studií, které prokazují, že existuje dynamický a inverzní vztah mezi výskytem homocysteinu v plazmě a jeho funkcí na cévní endotel. Akutní množství homocysteinu je spojeno s rychlým nástupem cévní endoteliální dysfunkce, která manifestuje začínající aterosklerózu (Chambers et al. 1997).

Mechanismy vlivu homocysteinu na endoteliální dysfunkce nejsou jasné. Vědci se domnívají, že homocystein uplatňuje svůj vliv prostřednictvím oxidačního poškození endotelových buněk (Chambers et al. 2001). Volné kyslíkové radikály, které obecně poškozují výstelku cév, mohou podporovat oxidaci LDL (low-density-lipoprotein) a deaktivaci oxidu dusnatého. Deaktivace oxidu dusnatého může vést k vazokonstrikci, agregaci krevních destiček a přilnavosti monocytů, což vede ke vzniku aterosklerózy (Loscalzo 1996).

2.4.1 Tromboembolická nemoc

Tromboembolická nemoc (TEN) je pojem, pod který patří arteriální a zejména žilní trombózy vznikající za určitých podmínek. Je to stav charakterizovaný vznikem krevní sraženiny (trombu) v určitém místě krevního oběhu a jeho následnou embolizací do plic či do mozku, což vede k životu ohrožujícím stavům (Vokurka 1994).

K objasnění choroby podstatně přispěl Rudolf Virchow již v roce 1856. Popsal následující tři podmínky pro vznik trombu: 1. poškození endotelu, 2. zpomalení krevního toku, 3. aktivace koagulace (Colman et al. 2006).

Vznik tromboembolické nemoci je vždy multifaktoriální (Rosendaal 1999). Za trombofilní stav považujeme zvýšenou tendenci ke vzniku trombóz a jejich recidivám, mohou být vrozené, získané či kombinované etiologie (Poul 2006). Dosud známé klinicky významné trombofilie jsou uvedeny v následující tabulce (Tab. II).

Tab. II: Dosud známé klinicky významné trombofilie (Poul 2006).

Vrozené	APC (aktivovaný protein C) rezistence způsobená mutací faktoru V, jejíž příčinou je v naprosté většině mutace faktoru V Leiden (FVL), dále faktoru V Cambridge atd.
	mutace protrombinu 20210A (PGM)
	deficit antikoagulačních faktorů: deficit proteinu C, proteinu S, antitrombinu
	dysfibrinogenémie
	homozygotní homocystinurie
	sticky platelet syndrom
	raritní: deficit faktoru XII, trombomodulinu, TFPI, plazminogenu
Získané	antifosfolipidový syndrom, myeloproliferativní onemocnění a trombocytémii, stav po prodělané trombóze, malignitu, srdeční nedostatečnost NYHA III a IV, závažné respirační onemocnění, autoimunitní choroby, graviditu a šestinedělí, léčbu estrogyeny, paroxysmální noční hemoglobinurii, rezistenci k aktivovanému proteinu C nezpůsobenou mutací faktoru V, nefrotický syndrom, věk >60 let, chronické střevní záněty, obezitu, kouření, varixy DK, parézu končetin
Smíšené etiologie	zvýšenou hladinu faktoru VIII, podmíněnou familiárně, asociovanou s krevní skupinou jinou než 0 či jako protein akutní fáze
	hyperhomocysteinémií, jež může být podmíněna mutací MTHFR C677T či A1298C, nedostatkem vitamínu B6, B12 či kyseliny listové
	zvýšenou hladinu fibrinogenu
	zvýšenou hladinu faktoru IX

2.4.2 Kardiovaskulární onemocnění (KVO) – choroby cév a srdce

Jedná se o skupinu onemocnění s velkou četností výskytu, který stoupá s přibývajícím věkem. Orgánové komplikace aterosklerózy, tedy ischemická choroba srdeční, mozkové cévní příhody a ischemická choroba dolních končetin, jsou převažující příčinou úmrtí v civilizovaných zemích (Anděl et al. 2001). KVO jsou dlouhodobě hlavní

příčinou smrti obyvatel ČR. Umírá na ně přes 50 % z celkového počtu zemřelých za rok (Erben 2004). Základní onemocnění v této skupině postihuje tepny v podobě aterosklerotických změn v jejich stěnách.

2.4.2.1 Ateroskleróza

Ateroskleróza a její komplikace zůstávají i přes řadu pokroků v poznatcích o tomto onemocnění vedoucími příčinami morbidity a mortality ve vyspělých zemích (Aschermann 2004). Po dlouhá léta se na toto onemocnění pohlíželo jako na mechanický děj charakterizovaný hromaděním tuků a následujícím navrstvováním kalcia. V současné době je ateroskleróza považována za primárně zánětlivý proces, který je odpovědí na poškození intimy (Colman et al. 2006). O něco později, ale někdy i souběžně dochází ke zvýšení krevní srážlivosti. Kombinací těchto dvou poruch dochází k uzávěru tepny trombem (Erben 2004). Klíčovou roli při tvorbě arteriálního trombu hrají krevní destičky (Vojáček et al. 2004).

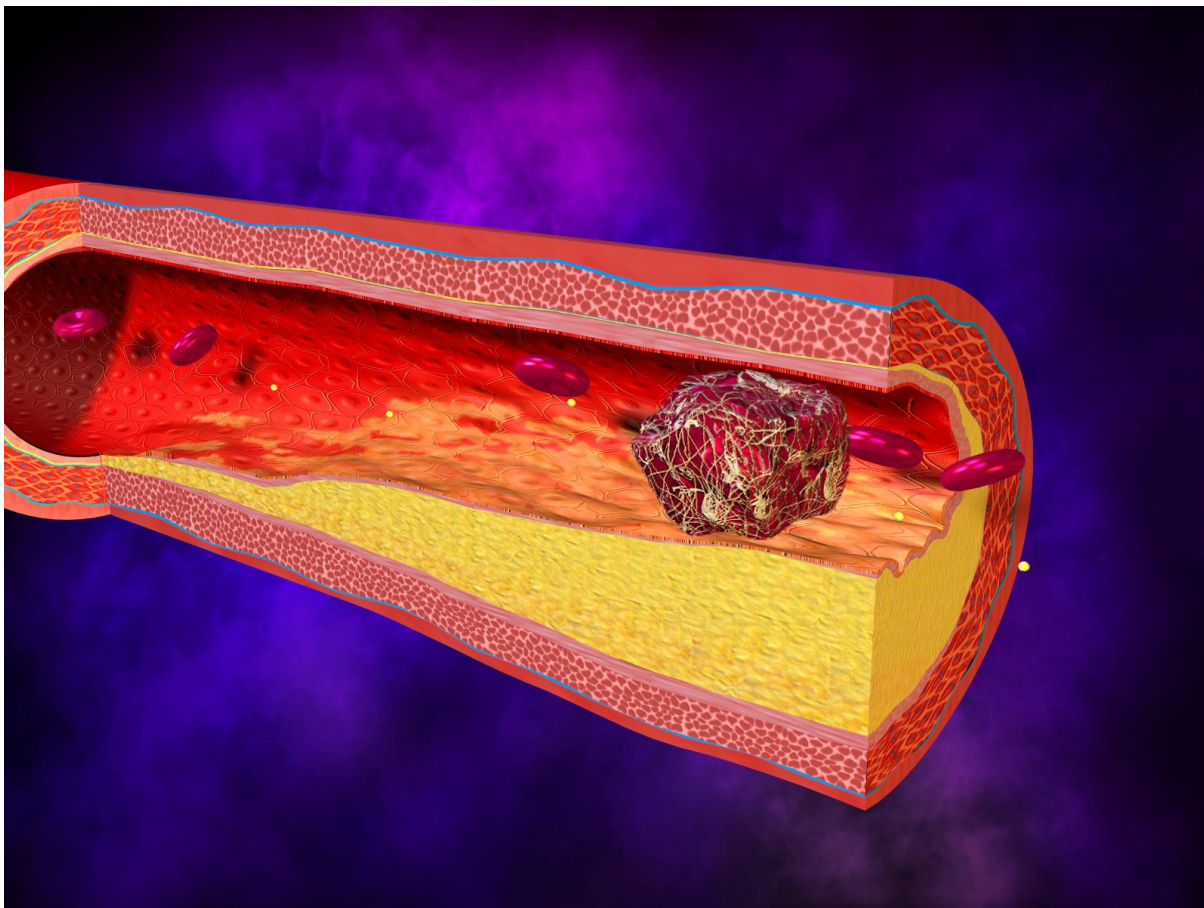
Ztráta zásobení krví způsobená uzávěrem se obzvláště výrazně projevuje při postižení srdce a mozku. Porucha až zastavení dodávky krve do určitých částí těchto orgánů způsobí, že v zasažených místech chybí kyslík, na jehož nedostatek jsou oba orgány citlivé a tkáň začne odumírat bez možnosti regenerace (Colman et al. 2006).

2.4.2.2 Žilní trombóza

Poněkud jiný charakter mají onemocnění žil. Různě se v nich kombinuje poškození jejich stěny, tvorba krevních sraženin a někdy se přidává zánět (Obr. 4). Mohou se rozvinout do takové podoby a rozsahu, že dochází k poruše prokrvení tkání, které trpí nedostatkem v zásobení kyslíkem a živinami, jejich konečným projevem na dolních končetinách jsou bérkové vředy (Erben 2004).

Na základě prospektivních studií pacientů s žilními trombózami se zjistilo, že jejich možnými příčinami jsou poruchy reologických faktorů, patologie cévní stěny, defekt inhibitorů krevního srážení: antitrombin, protein S, protein C, porucha koagulačních faktorů

(Vojáček et al. 2004; Aschermann 2004). Při vzniku žilní trombózy působí většinou několik příčin a jejich účinek se násobí (Rosendaal 1999).



Obr. 4: Krevní sraženina v postižené cévě.

2.5 Vztah hyperhomocysteinemie k patogenezi trombózy

Homocystein ve vysoké plazmatické hladině zasahuje prokoagulačně do hemostázy, podle některých názorů indukuje oxidaci LDL částic a vede k endoteliálnímu poškození. Přispívá rovněž ke shlukování trombocytů tím, že aktivuje některé koagulační faktory, snižuje aktivitu antitrombinu III a zřejmě i proteinu C (Anděl et al. 2001).

Ukázalo se, že lehká až středně těžká hyperhomocysteinemie je nezávislý rizikový faktor cévních chorob: vzestup homocysteinu o 5 $\mu\text{mol/l}$ zvyšuje riziko kardiovaskulární choroby 1,6krát u muže a 1,8krát u ženy (Penka et al. 2001).

Vyšší Hcy dává za vznik volným radikálům a spolu s nimi dráždí složky cévní stěny. Buňky svalových vláken se ve stěnách tepen v místech dráždění dostávají do růstového pohybu. Narostlé buňky vytvářejí časné formy plátů a shluky těchto buněk působí prvotní vyklenutí do nitra tepny (Erben 2004).

Spolu s volnými radikály startuje vyšší Hcy mechanismy, které často usmrcují: dráždí cévní výstelku k abnormální produkci působků, které zvyšují krevní srážlivost. Dále se zmenšuje průtok krve v místech rostoucích aterosklerotických plátů, což může vyústit v krvácení do plátu, které ho změní v nafukovací balonek. Nebo vznikne krevní sraženina na povrchu plátu a uzavře průtok krve úplně (Erben 2004; Vojáček et al. 2004).

Homocystein indukuje expresi tkáňového faktoru na minicytech a makrofázích, což zvyšuje trombofilii jak v žilním, tak v arteriálním řečišti. (Khajuria et al. 2000) Na endotelu dále inhibuje expresi trombomodulinu, a tím aktivaci proteinu C. Hyperhomocysteinemie je též provázena zvýšením aktivity FXII a FV v krevní plazmě. (Dardik et al. 2000)

Mechanismy, kterými se hyperhomocysteinemie podílí na atero- či trombogenezi nejsou dosud dostatečně objasněny.

3 Materiál a použité metody

Hlavním cílem této práce je zmapovat výskyt normálních i zvýšených hladin homocysteinu u pacientů s trombózami, kteří jsou na oddělení Hematologie posíláni na žádost svých ošetřujících lékařů z důvodu prodělání opakovaných trombóz, trombóz do čtyřicátého roku věku nebo na základě rodinných screeningů.

Dalším cílem bylo zjistit způsob, jakým byli postižení léčeni a zda jejich léčba byla úspěšná či selhala. Z tohoto důvodu bylo jako vhodný způsob zvoleno získání informací z lékařských karet pacientů. V rámci hodnocení byla zpracována data získaná z kartotéky Klinické hematologie v Nemocnici České Budějovice.

Do zpracování byli zařazeni chronologicky podle abecedy pacienti od S1 po Ši a od T po Ž, kterým byla během vyšetření měřena hladina homocysteinu. Vše bylo zaznamenáno do tabulky, kterou jsem umístila do příloh (viz příloha), společně s frekvencí výskytu při dalších odběrech. Dále u nich byly zjišťovány polymorfismy MTHFR včetně variant, tedy jsou-li v heterozygotní nebo homozygotní formě. V rámci získávaných dat bylo zjišťováno, zda postižený pacient byl léčen podáním kyseliny listové a zda byla léčba úspěšná, tedy došlo-li ke snížení hladiny homocysteinu, nebo léčba úspěšná nebyla a hladinu se snížit nepodařilo. Získaná data byla zpracována.

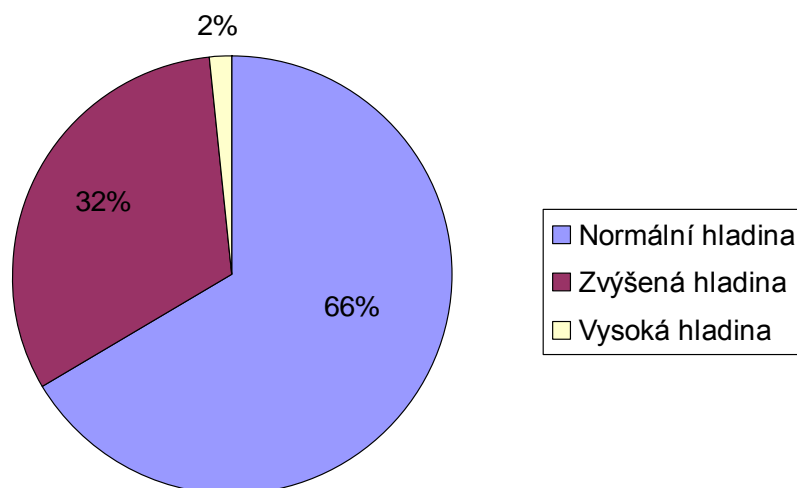
4 Výsledky

Celkem bylo zpracováno 235 karet pacientů, kteří byli sledováni na oddělení Hematologie. Ze získaných dat byla vybrána skupina 110 pacientů (100%), která byla v 19 případech (17,3 %) tvořena muži a v 91 (82,7) případech ženami, u nichž byla měřena hladina homocysteinu během jejich vyšetření. V jakých rozmezích se u vyšetřených pacientů pohybovala hladina homocysteinu po prvním odběru je zaznamenáno v tabulce (Tab. III, Obr. 5).

Normální hladina homocysteinu v rozmezí 0-12 $\mu\text{mol/l}$ se vyskytuje u 73 pacientů (66,4 %), zvýšená hladina 13-30 $\mu\text{mol/l}$ u 35 pacientů (31,8 %) a vysoká hladina nad 31 $\mu\text{mol/l}$ je zastoupena 2 pacienty (1,8 %).

Tab. III: Rozmezí naměřených hladin homocysteinu při prvním odběru u pacientů z oddělení Hematologie a jejich procentuální zastoupení.

Vyšetření (1.odběr)	Normální hladina (0-12 $\mu\text{mol/l}$)		Zvýšená hladina (13-30 $\mu\text{mol/l}$)		Vysoká hladina (31-100 $\mu\text{mol/l}$)	
	počet	%	počet	%	počet	%
Homocystein	73	66,4	35	31,8	2	1,8



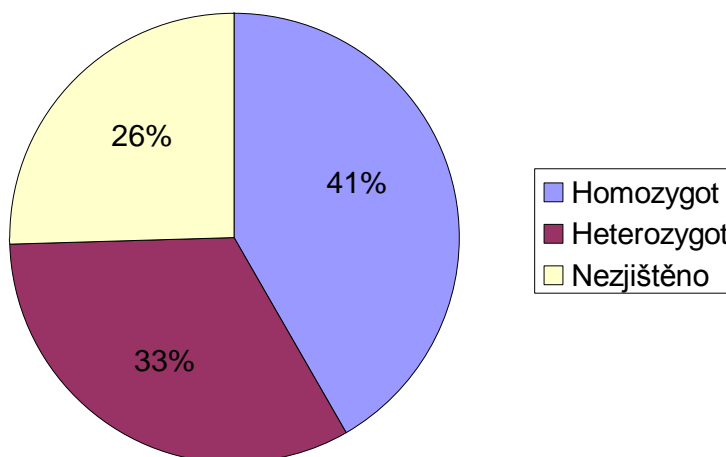
Obr. 5: Procentuální zastoupení naměřených hodnot homocysteinu u sledovaných pacientů.

Dále jsem sledovala genetická vyšetření - polymorfismy genu MTHFR a jejich výskyt v heterozygotní nebo homozygotní formě.

Z celkového počtu 110 nebylo genetické vyšetření na polymorfismy MTHFR provedeno u 28 pacientů (25,5 %). U zbývajících byla v 46 případech (41,8 %) nalezena genetická mutace homozygotního typu a v 36 případech (32,7 %) typu heterozygotního (Tab. IV).

Tab. IV: Výskyt polymorfismu MTHFR včetně variant.

Zjištěná mutace	Homozygot		Heterozygot		Nezjištěno	
	počet	%	počet	%	počet	%
Polymorfismus MTHFR	46	41,8	36	32,7	28	25,5



Obr. 6: Procentuální zastoupení pacientů s MTHFR včetně variant.

Dále jsem se zaměřila na vztah mezi MTHFR a zvýšeným homocysteinem včetně variant (Tab. V). Porovnála jsem, u kolika pacientů se zvýšenou hladinou Hcy se vyskytoval polymorfismus MTHFR v homozygotním stavu (17,3 %) a heterozygotním stavu (9,1 %). U vysoké hladiny Hcy se varianta homozygot i heterozygot vyskytuje v obou případech u 0,9 % postižených. U 79 případů (71,8 %) byl homocystein v normě, nebo nebylo provedeno genetické vyšetření.

Tab. V: Vztah mezi MTHFR a zvýšeným homocysteinem včetně variant.

Varianta	Zvýšená hladina		Vysoká hladina	
	počet	%	počet	%
Homozygot	19	17,3	1	0,9
Heterozygot	10	9,1	1	0,9

Ze zjištěných údajů můžeme vyčíst, že ve více případech se u pacientů s naměřenou vyšší hladinou homocysteinu po 1. odběru vyskytuje genetická mutace MTHFR homozygotního typu. Tyto výsledky jsou v rozporu s literárním doložením, protože Colman et al. 2006 tvrdí, že homozygotní varianta je u evropské populace zastoupena jen v 10 % případech.

Právě polymorfismus homozygotního typu je spojován jako jeden z hlavních genetických faktorů pro vznik hyperhomocysteinémie a s tím spojených zdravotních problémů.

Nosičství mutace pro MTHFR gen je dle dostupné literatury spojován se zvýšeným rizikem aterosklerózy na základě zvýšené hladiny homocysteinu. Pacientům bylo za účelem snížení hladiny Hcy doporučeno užívat Acidum Folicum, což je kyselina listová (vitamin ze skupiny B) v podobě léků, nebo obohatit stravovací návyky větším příjmem kyseliny listové v zelenině.

Z celkového počtu 110 sledovaných pacientů, bylo doporučeno podávání Ac.Folicum v 47 případech (42,7 %). Počet případů, kdy bylo předepsáno Ac.Folicum je vyšší než počet případů, kdy byla naměřena vyšší hladina Hcy, protože tento způsob prevence se často používá i u pacientů, u nichž se vyskytuje hluboká žilní trombóza v rodinné anamnéze.

Jaký efekt mělo podání kyseliny listové na snížení hladiny Hcy je znázorněno v tabulce (Tab.VI). Výsledky jsou udány v souvislosti s jednotlivými variantami mutace genu MTHFR a to početně i procentuálním zastoupením v pozorované skupině.

U homozygotní mutace byl pozitivní efekt zaznamenán u 10 pacientů (9,1 %), léčba selhala u 2 pacientů (1,8 %), efekt léčby nebyl zjištěn u 6 pacientů (5,5 %). U heterozygotní mutace byl pozitivní efekt pozorován u 5 pacientů (4,5 %), léčba neselhala ani v jednom případě, efekt léčby nebyl zjištěn u 4 pacientů (3,6 %).

Tab. VI: Efekt kyseliny listové na snížení hladiny Hcy v souvislosti s variantami polymorfismu MTHFR.

Polymorfismus MTHFR	Vliv kyseliny listové			
	Pozitivní efekt		Selhání léčby	
	počet	%	počet	%
Homozygot	10	9,1	2	1,8
Heterozygot	5	4,5	0	0

U zbývajících 20 pacientů, kterým byla doporučena kyselina listová nás efekt léčby nezajímá, protože jim nebylo Ac.Folicum předepsáno za účelem snížení Hcy, nebo jim nebylo provedeno genetické vyšetření. Tudíž nevíme, zda se mutace genu MTHFR vyskytuje v homozygotní nebo heterozygotní formě.

5. Diskuse

Zvýšená hladina homocysteinu v plazmě je široce zapletena do různých klinických stavů a je považována za nezávislý rizikový faktor pro kardiovaskulární onemocnění. Ale souvislost a interakce mezi zvýšenou hladinou homocysteinu a ostatními rizikovými faktory jsou dosud nejasné.

Homocystein působí škodlivými účinky na cévní stěnu, zejména na endoteliální buňky, snižuje biologickou dostupnost NO, zvyšuje intracelulární oxidační stres a spouští tzv. pro-atherogenní mechanismy. Na základě řady publikací je jasné, že středně těžká a těžká hyperhomocysteinémie je spojena s tromboembolickou nemocí (<http://jama.ama-assn.org>).

Nicméně, je stále nejasné, zda zvýšený výskyt homocysteinu v plazmě můžeme nazývat jako rizikový faktor aterosklerózy, protože výsledky, pokud jde o vliv homocysteinu a snížení jeho hladiny pomocí léčby na kardiovaskulární riziko, jsou rozporuplné. I přes pokles kardiovaskulárního rizika v Severní Americe po zavedení tzv. fortifikace (=obohacování) potravin (hlavně cereálií) kyselinou listovou (Češka et al. 2005).

Jedním z hlavních kroků ke zjištění účinnosti vitamínů řady B a kyseliny listové na snížení rizika vzniku KVO byla Grahamova studie, která prokázala, že užívání těchto vitamínů snižuje riziko KVO o 62%. Tato studie byla prováděna na lidech vybraných z 19 měst 9 evropských států. Do výzkumu bylo vybráno 750 pacientů s aterosklerotickým vaskulárním onemocněním (srdeční, mozkové nebo periferní oblasti). A v kontrolní skupině bylo 800 osob zastoupených oběma pohlavími mladších 60 let.

Účastněným se během výzkumu měřila hladina homocysteinu v plazmě, a to ve stavu nalačno a po methionin-zátěžovém testu, který spočíval v podání 100 mg methioninu na 1 kg váhy. Dále byly měřeny hladiny kobalaminu v plasmě, pyridoxal 5-fosfátu, kyseliny listové v červených krvinkách, sérového cholesterolu. Velký důraz byl kladen i na krevní tlak a kouření.

Na základě výzkumu bylo zjištěno, že uživatelé suplementů obsahující kyselinu listovou, vitamín B6 a B12 mají relativní riziko pro kardiovaskulární onemocnění 2,2 (95 % interval spolehlivosti je v rozmezí 1,6 - 2,9) v porovnání s pacienty, kteří tyto vitamíny nesuplementují. Dalším výsledkem výzkumu byl fakt, že zvýšená hladina homocysteinu

v plazmě je nezávislým rizikem cévních onemocnění stejně jako kouření nebo hyperlipidémie a že silně zvyšuje riziko těchto onemocnění ve spojení s kouřením a hypertenzí (Graham et al. 1997).

Před několika lety prezentovaná klinická studie NORVIT neprokázala cílený záměr o snížení hladiny homocysteinu pomocí farmakologické léčby u pacientů s koronární aterosklerózou. Na základě této studie začal být zpochybňován celý náhled na homocystein jako na rizikový faktor způsobující aterosklerózu. Dále studie prokázala, že podávání vitamínů skupiny B a kyseliny listové sice vedlo ke snížení hladiny homocysteinu, ale nemělo žádný pozitivní vliv na snížení kardiovaskulárních příhod. Ačkoli se snížil homocystein o cca 30%, stoupl při tom výskyt KVO o 22% (<http://www.ansia.cz>).

Naopak se snažila ukázat, že podáváním těchto vitamínů se zdravotní stav pacientů s KVO zhoršuje. U téměř 4 tisíc nemocných léčba vitamíny B a kyselinou listovou nejen nesnížila výskyt kardiovaskulárního onemocnění, ale u léčených vyšší dávkou kyseliny listové došlo k nárůstu výskytu nádorů (Češka 2005).

Důležitý rozdíl mezi těmito dvěma studiemi je v tom, že ve studii NORVIT jsou pacienti s KVO, kdežto v Grahamově studii jsou zdraví jedinci. Podle výsledků z obou těchto studií vyplývá, že je nutné předcházet vzniku KVO podle Grahama, tedy u zdravých lidí, protože podle studie NORVIT je snižování hladiny homocysteinu podáváním vitamínů nemocným lidem nebezpečné. Závěr je jednoznačný – je lepší nemocem předcházet, než je pak léčit.

V mé práci jsem se soustředila na pacienty, kterým během jejich vyšetření byla změřena hladina homocysteinu. U 34% vyšetřených byla naměřena vyšší hladina než je předepsaná norma (0-12 $\mu\text{mol/l}$). U těchto pacientů jsem pak přezkoumala genetické vyšetření, tedy zda se jedná o polymorfismus genu MTHFR v homozygotní či heterozygotní formě.

Dle dostupné literatury je náchylnost ke kardiovaskulárnímu onemocněním vyšší u pacientů s polymorfismem varianty homozygot. Podle Colmana et al. 2006 se však homozygotní varianta polymorfismu MTHFR vyskytuje jen v 10% případu, což je v rozporu se zjištěnými údaji, protože u pacientů, které jsem zařadila do své práce se tento typ genetické mutace vyskytuje ve 41%. Tato procentuální neshoda je možná dle výběru pacientů z kartotéky, jelikož jsem používala karty dle abecedního pořadí. Mohla se zde

projevit rodinná anamnéza, tedy to, že tato mutace je dědičná, tudíž pacienti se shodným příjmením mohli být v příbuzenském vztahu. Dalším důvodem může být to, že genetické vyšetření nebylo provedeno vícero pacientům, protože pak by se procento výskytu této mutace snížilo.

Další kritérium, které mě zajímalo, bylo snížení hladiny homocysteinu externím podáváním kyseliny listové (Ac.Folicum). Léčba selhala jen ve dvou případech (2%), kdy nedošlo ke snížení hladiny Hcy.

Protože jsem ze zdravotních karet pacientů získávala jen informace o naměřených hladinách Hcy a následného snížení pomocí léčby podáváním Ac.Folicum, nemohu porovnat případný vztah k výskytu KVO či jiným tromboembolickým onemocněním.

6. Závěr

Role homocysteinu v patogenezi trombózy není zcela objasněna a další možné mechanismy jeho působení jsou v současnosti předmětem mnoha odborných studií (Forges et al. 2007). Některé z nich staví homocystein na pozadí prakticky všech patologických procesů. Na druhé straně stojí ti, kteří molekule homocysteinu nepřisuzují velký význam.

Opakované prokazování výskytu zvýšené koncentrace homocysteinu u nemocných s kardiovaskulárními chorobami vedlo k zdůrazňování významu hyperhomocysteinémie. Avšak několik menších studií naopak prokázalo, že snížení hladiny homocysteinu nezlepšuje kardiovaskulární onemocnění. Po provedeném shrnutí zůstávají pouze důkazy potvrzující souvislost mezi zvýšením hladiny homocysteinu a vznikem KVO.

Rozporuplné studie na toto téma ale dokazují nezbytnost primární prevence KVO v duchu Grahamovy studie, tedy podáváním vitamínů, dokud je člověk bez KVO. Podávání vitamínů se tak stává nejúčinnější metodou zlepšení zdravotního stavu populace, která žije v civilizovaných podmínkách. Dalším důvodem je fakt, že podle studie NORVIT pacientům s KVO vitamíny nepomáhají, ale spíše škodí.

Je důležité poznamenat, že v oblasti dědičných metabolických onemocnění neustále dochází k novým objevům, a to jak v oblasti screeningu a diagnostiky, tak i v oblasti nových léčebných postupů.

7. Seznam citované literatury

Anděl, M., et al., 2001. Diabetes mellitus a další poruchy metabolismu, 1.vydání, Galén, Praha, 143 – 188.

Aschermann, M. 2004. Kardiologie 1.díl. Rizikové faktory, hypotenze, ateroskleróza. Galén, Praha, 413-588.

Carmel, R., Jacobsen, D.W., 2001. Homocysteine in health and disease., 1st edition, Cambridge University Press, Cambridge, 526 str.

Colman R.W., Marder V.J., Clowes A.W.2006. Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practise, (5th edition), Lippincott Williams & Wilkins, ISBN: 0-7817-4996-4.

Dardik, R., Varon, D., Tamarin, I., et al. 2000. Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhance platelet adhesion to endothelial cells under flow condition: distinct mechanisms of thrombotic modulation. *Tromb. Haemost.*, 83, 338-344.

Erben, K. 2004. Jak pomoci tělu, aby se vyléčilo samo: Klíč ke zdraví je homocystein., 1. vydání, Formát, Praha, 117 str.

Forges, T., Monnier-Barbarino, P., Alberto, J.M., Guéant-Rodriguez, R.M., Daval, J.L. Guéant, J.L.2007. Impact of folate and homocysteine metabolism on human reproductive health. *Human reproductive update*, Vol.13, No.3, 225 – 238

Frosst, P., Blom, H., J., Milos, R., et al. 1995. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat. Genet.*, 10, 111-118.

Gerhard, G.T., Duell, P.B., 1999. Homocysteine and atherosclerosis., *Curr Opin Lipidol*, 10, 417-428.

Greer, J.P., Foerster, J., Rodgers, G.M., Paraskevas, F., Glader, B., Arber, D.A., Means, R.T. 2007. *Wintrobe's clinical hematology*, 12th edition, Lippincott Williams & Wilkins, ISBN: 978-0-7817-6507-7.

Chambers, J.C., McGregor, A., Jean Marie, J., Kooner, J.S., 1997. Acute hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction., *Lancet*, 351: 7 - 36.

Chambers, J.C., Kooner, J.S., 2001. Homocysteine-an innocent bystander in vascular disease?, *Eur Heart*, 717-719.

Jacobsen, D.W., 2000. Biochemistry and metabolism. In: Killian, R. (eds.): *Homocysteine and Vascular Disease.*, 1. vydání, Springer, New York, 447 str.

Khajuria, A., Houston, D., S., 2000. Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. *Blood*, 96, 966.

Loscalzo, J., 1996. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia., *J Clin Invest*; 98: 5-7.

McCully, K. 1969. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*, 56:111-128.

Orkin, S.H., Nathan, D.G., Ginsburg, D., Look, T.A., Fischer, D.E., Lux, S.E., 2009. *Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood*, 7th edition, Saunders elsevier, Philadelphia, 498-500.

Paterová T., Zeman, J. a Kožich, V., 2004. *Homocystinurie z deficitu CBS.*, 1. vydání, VFN a 1. LF UK Ústav DMP, SHS-Nutricia a. s., Praha, 19 str.

Penka M., Buliková A., Matýšková M., Zavřelová J. 2001. Hematologie I: neonkologická část, Grada Publishing, 142-162.

Poul, H., 2006, Trombofilní stavy významné v patogenezi žilní tromboembolické nemoci. Doporučení pro klinickou praxi, Sanofi-Aventis, 12 str.

Přistoupilová, K., Přistoupil, T.I. a Heyrovský, M. 1999. Homocystein – molekula těšící se rostoucí pozornosti., Chemické Listy, 93: 365 – 374.

Racek, J., et al. 2006. Klinická biochemie., 2.vydání, Galén, ISBN 80-7262-324-9.

Selhub, J. 1999. Homocysteine metabolism, Annu Rev Nutr, 19, 217-246.

Voet, D. a Voetová, J.G. 1995. Biochemie. Praha, Victoria Publishing, 490 str.

Voet, D., Voet, J.G., 2004. Biochemistry. 3. vydání, Wiley international edition, USA, 1591 str.

Vojáček, J., Malý, M., et al., 2004. Arteriální a žilní trombóza v klinické praxi, Grada Publishing, a.s., Praha, ISBN 80-247-0501-X.

Vokurka, M., 1994. Praktický slovník medicíny, Maxdorf, 332 str.

Wilcken, D.E.L. and Wilcken, B. 2001. Historical overview and recent perspective. In: Carmel, R. and Jacobsen, D. W. (eds.): Homocysteine in health and disease. 1. vydání, Cambridge University Press, Cambridge, 526 str.

Zima, T., et al. 2002. Laboratorní diagnostika, 1.vydání, Galén, Praha, ISBN 80-7262-201-3.

Internetové zdroje:

<http://www.sutree.com/how-to/15571/What-Is-Thrombosis>

<http://www.jama.ama-assn.org>

<http://www.ansia.cz>

8. Přílohy

Souhrnná tabulka č.1: Hladina homocysteinu u zkoumaných pacientů.

Pacient	Hladina homocysteinu (norma 0 - 12 $\mu\text{mol/l}$)										
	1.odběr	2.odběr	3.odběr	4.odběr	5.odběr	6.odběr	7.odběr	8.odběr	9.odběr	10.odběr	11.odběr
1.	v normě										
2.	v normě										
3.	v normě										
4.	v normě										
5.	zvýšená										
6.	zvýšená										
7.	v normě	v normě	zvýšená								
8.	v normě										
9.	v normě										
10.	v normě										
11.	zvýšená	zvýšená	v normě								
12.	zvýšená	v normě	v normě								
13.	v normě										
14.	v normě										
15.	v normě										
16.	v normě										
17.	v normě										
18.	v normě	v normě									
19.	v normě										
20.	zvýšená										
21.	zvýšená	v normě	v normě								
22.	zvýšená	v normě	zvýšená								
23.	zvýšená										
24.	zvýšená	v normě									
25.	zvýšená	v normě									
26.	zvýšená										
27.	zvýšená	v normě									
28.	v normě										
29.	v normě										
30.	v normě										
31.	v normě										
32.	v normě										
33.	zvýšená	v normě	v normě								
34.	zvýšená	v normě	v normě	zvýšená							
35.	v normě										
36.	v normě										
37.	zvýšená										
38.	v normě										
39.	v normě	v normě	v normě								

40.	v normě											
41.	v normě											
42.	v normě	v normě	v normě	zvýšená	v normě	v normě						
43.	v normě											
44.	v normě											
45.	v normě											
46.	zvýšená	zvýšená	zvýšená	v normě	v normě	zvýšená	v normě	zvýšená	v normě	zvýšená	zvýšená	
47.	v normě											
48.	zvýšený	v normě										
49.	zvýšený											
50.	v normě											
51.	v normě											
52.	v normě											
53.	zvýšený											
54.	v normě											
55.	v normě											
56.	v normě											
57.	v normě											
58.	zvýšená	zvýšená	v normě	v normě								
59.	vysoká											
60.	v normě											
61.	v normě											
62.	zvýšená											
63.	v normě											
64.	v normě											
65.	v normě											
66.	v normě	v normě										
67.	zvýšená											
68.	v normě											
69.	zvýšená	v normě	zvýšená	v normě								
70.	v normě	v normě										
71.	v normě											
72.	zvýšená	zvýšená										
73.	zvýšená	v normě	v normě									
74.	zvýšená	v normě										
75.	v normě											
76.	v normě											
77.	zvýšená	v normě	zvýšená	v normě								
78.	v normě											
79.	v normě	v normě	v normě	v normě	v normě							
80.	v normě	v normě	v normě	v normě	v normě							
81.	v normě											
82.	v normě											
83.	v normě											

84.	v normě										
85.	v normě										
86.	v normě	v normě									
87.	v normě										
88.	zvýšená										
89.	zvýšená	v normě									
90.	v normě										
91.	v normě										
92.	v normě										
93.	v normě	v normě									
94.	zvýšená	v normě	v normě								
95.	v normě										
96.	v normě										
97.	v normě										
98.	v normě	v normě	v normě								
99.	v normě	v normě	v normě	v normě							
100.	v normě										
101.	v normě										
102.	v normě	v normě									
103.	v normě	v normě	zvýšená	v normě	v normě	v normě	v normě	v normě	v normě		
104.	zvýšená	v normě	v normě								
105.	v normě										
106.	zvýšená	v normě	v normě	zvýšená	zvýšená						
107.	zvýšená										
108.	vysoká	zvýšená									
109.	zvýšená										
110.	zvýšená	v normě									

Souhrnná tabulka č.2: Genetické vyšetření zkoumaných pacientů, způsob a efekt léčby.

Pacient	Polymorfismus MTHFR			Léčba	Efekt léčby
	Homozygot	Heterozygot	Neprokázáno	Ac. Folicum	
1.	ANO				
2.			ANO		
3.			ANO		
4.	ANO				
5.	ANO			ANO	Nezjištěno
6.	ANO				
7.		ANO		ANO	-
8.		ANO			
9.	ANO				
10.			ANO		
11.	ANO			ANO	+
12.		ANO		ANO	+
13.			ANO		
14.		ANO			
15.	ANO				
16.			ANO		
17.			ANO		
18.	ANO			ANO	
19.	ANO				
20.	ANO				
21.	ANO			ANO	+
22.	ANO			ANO	+
23.			ANO		
24.	ANO				+
25.	ANO			ANO	+
26.			ANO	ANO	Nezjištěno
27.			ANO	ANO	+
28.			ANO		
29.			ANO		
30.		ANO			
31.		ANO			
32.	ANO				
33.		ANO		ANO	+
34.	ANO			ANO	-
35.		ANO			
36.	ANO			ANO	Nezjištěno
37.		ANO			
38.			ANO		
39.		ANO		ANO	+
40.	ANO				
41.		ANO			
42.	ANO			ANO	+

43.		ANO			
44.		ANO			
45.		ANO			
46.	ANO			ANO	-
47.		ANO			
48.			ANO	ANO	+
49.	ANO			ANO	Nezjištěno
50.	ANO				
51.		ANO			
52.			ANO		
53.	ANO			ANO	Nezjištěno
54.		ANO			
55.	ANO				
56.		ANO			
57.			ANO		
58.	ANO			ANO	+
59.		ANO		ANO	Nezjištěno
60.		ANO			
61.		ANO			
62.	ANO			ANO	Nezjištěno
63.	ANO				
64.		ANO			
65.	ANO				
66.		ANO			
67.	ANO			ANO	Nezjištěno
68.	ANO			ANO	Nezjištěno
69.		ANO		ANO	+
70.		ANO		ANO	Nezjištěno
71.		ANO			
72.		ANO			
73.	ANO			ANO	+
74.	ANO			ANO	+
75.	ANO				
76.	ANO				
77.		ANO		ANO	+
78.		ANO			
79.		ANO			
80.	ANO			ANO	+
81.		ANO			
82.			ANO		
83.			ANO		
84.		ANO		ANO	Nezjištěno
85.			ANO		
86.			ANO		

87.			ANO		
88.	ANO			ANO	Nezjištěno
89.			ANO	ANO	Nezjištěno
90.	ANO			ANO	Nezjištěno
91.			ANO		
92.	ANO				
93.	ANO			ANO	Nezjištěno
94.		ANO		ANO	+
95.			ANO		
96.			ANO		
97.			ANO		
98.	ANO			ANO	+
99.	ANO			ANO	+
100.			ANO		
101.			ANO		
102.	ANO			ANO	+
103.	ANO			ANO	+
104.		ANO		ANO	Nezjištěno
105.	ANO			ANO	Nezjištěno
106.			ANO	ANO	-
107.		ANO		ANO	Nezjištěno
108.	ANO			ANO	+
109.		ANO		ANO	Nezjištěno
110.	ANO			ANO	+