

Je hyperhomocysteinemie stále jen zajímavý, ale diagnosticky nevýznamný nálezn?

J. Hyánek¹, J. Matoušková², P. Kmoníček², P. Formánek², V. Kožich³, J. Zeman⁶, M. Orendáč⁵, M. Jánošík⁶, P. Lepší², K. Kopřiva², L. Dubská¹, J. Dvořáková¹, H. Veselá¹, K. Kupka⁴, B. Malec⁴, H. Pejznochová¹, R. Hoffmann¹, J. Balasz¹, V. Martiníková¹, M. Vodičková¹, J. Pola³, V. Maťoška¹, K. Koubek²

¹ oddělení klinické biochemie, metabolická a hematologická ambulance Nemocnice Na Homolce, Praha, přednosta prof. MUDr. J. Hyánek, DrSc.

² koronární jednotka intenzivní péče kardiologického oddělení Nemocnice Na Homolce, Praha, přednosta prof. MUDr. P. Niederle, DrSc.

³ interní oddělení Nemocnice, Tanvald, přednosta prim. MUDr. J. Pola

⁴ Ústav nukleární medicíny 1. lékařské fakulty UK a VFN, Praha, přednosta prof. MUDr. T. Šámal, DrSc.

⁵ Ústav dědičných metabolických poruch 1. lékařské fakulty UK, Praha, přednosta prof. MUDr. M. Elleder, DrSc.

⁶ Klinika dětí a dorostu 1. lékařské fakulty UK a VFN, Praha, přednosta doc. MUDr. J. Hoza, CSc.

Souhrn: Po nezbytném vysvětlujícím metabolickém úvodu popisují autoři 4 kazuistiky pacientů, kteří byli detekováni na jednotkách intenzivní péče Nemocnice Na Homolce s vysokou hladinou homocysteinu v plazmě. Jedná se o případ klasické homocystinurie s dědičným deficitem enzymu cystathionin- β -syntázy, která se rozpoznala až po prodělaném infarktu myokardu. Dále se jednalo o infarkt myokardu při suspektní perniciózní anémii, dále o akutní embolii plicnice s dosud nediagnostikovanou perniciózní anémií a konečně o hlubokou žilní trombózu s diagnostikovanou perniciózní anémií, ale nedostatečně léčenou pro alergickou reakci; u všech těchto pacientů se vyvinula výrazná hyperhomocysteinemie následkem těžkého deficitu kobalamínu pro remetylační reakci odstraňující homocystein z plazmy. Zařazení stanovení homocysteinu do rutinního vyšetřovacího spektra je diagnosticky přínosné především u pacientů s kardiovaskulárním postižením bez změn lipidového spektra, u kterých nejsou přítomny jiné rizikové faktory.

Klíčová slova: homocystein – hyperhomocysteinemie – homocystinurie – deficit vitamínu B₁₂ – deficit folátu – rizikové faktory – ateroskleróza

Hyperhomocysteinemia – is it still the only interesting but diagnostically insignificant finding?

After „metabolic prologue“ the authors describe 4 cases of the patients at whom the high level of homocystein in serum was detected within hospitalisation at intensive care unit of Hospital Na Homolce. There are the cases of typical homocystinuria with hereditary deficit of cystathionin-beta-synthase enzyme recognized only after a passed myocardial infarct. The next there were a myocardial infarct within suspect pernicious anaemia, an acute pulmonary embolism with till the time not diagnosed pernicious anaemia and finally a deep flebothrombosis with diagnosed pernicious anaemia but insufficiently treating for allergic reaction. The important homocysteinemia, which is occurred at all these patients, was as a result of an important deficit of cobalamin in remethyl reaction removing homocystein from plasma. The inclusion of homocystein examination into the routine diagnostic process could be fecund first of all in the patients with cardiovascular handicap; without changes of lipid spectrum and risk factors.

Key words: homocysteine – hyperhomocysteinemia – homocystinuria – vitamin B₁₂ deficiency – folate deficiency – risk factors – atherosclerosis

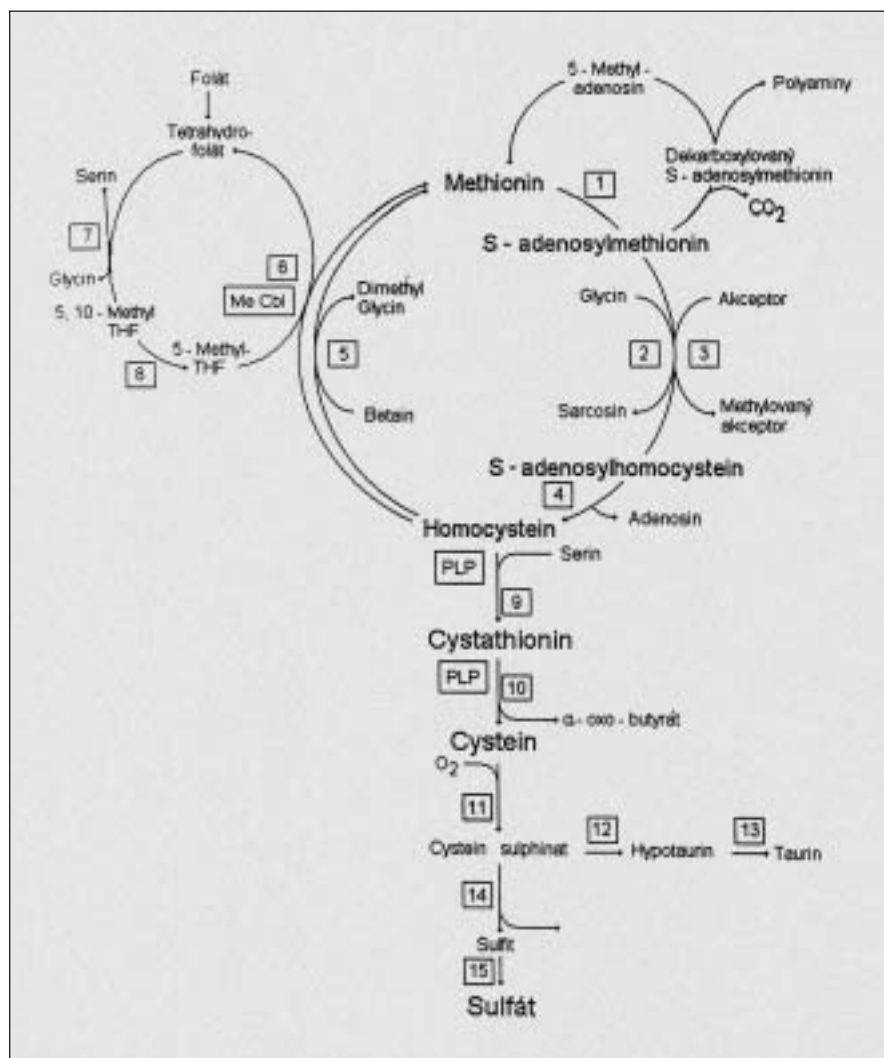
Úvod

Zvýšený cholesterol představuje již déle než půl století nejsnáze prokazatelný rizikový faktor podporující vznik kardiovaskulárních onemocnění (KVO) a jeho snižováním bylo dosaženo jejich výrazného poklesu. Ne však v takovém rozsahu, jak se předpokládalo. I v našich zemích byl

Motto: „HHC je nový ekogenetický a nezávislý rizikový faktor s metabolickými důsledky ještě zcela neprozkoumanými.“

s velkým očekáváním sledován pokles („downing“) průměrné hladiny cholesterolu v krvi např. po dramatických ekonomických změnách roku 1989 (z 6,3 na 5,9 mmol/l), ale přesto

i v roce 2002 KVO z 52,8 % zůstávají hlavní příčinou mortality i morbidity [31]. Téměř u poloviny akutních infarktů myokardu nacházíme ne- zvýšenou hladinu celkového chole-



Obr. 1. Metabolické schéma přeměny methioninu; reakce č. 5 představuje složitý enzymový systém methionin syntázy a její reduktázy. Reakce č. 9 je katalyzována cystathionin-beta-syntázou (CBS). Reakce č. 8 označuje metylentetrahydrofolát reduktázu (MTHFR).

terolu; a tak zůstává cholesterol jen jedním z nejvíce sledovaných, ale pouze jedním ze 32 rizikových faktorů aterosklerózy (ATS) uznávaných WHO [26,35,36]. Nám pak nezbyvá, než hledat jiné patognomonické příčiny, vyhodnocovat další možné metabolické mechanismy a dokazovat praktický význam nových rizikových faktorů pro vznik KVO a ATS [1,3,26,34,36].

Při studiu dědičných metabolických poruch metabolismu methioninu (Met) jsme se už před 30 lety setkávali s klasickou homocystinurií (KH) a naši neléčení dětské pacienti umírali do 30 let věku na tromboembo-

lické cévní komplikace [11,25]. Bližší poznání metabolických změn u KH bylo příčinou odhalení etiologické souvislosti mezi zvýšenou hladinou homocysteinu a tromboembolickými cévními komplikacemi a akcelerace aterosklerotických změn u cévních onemocnění [33]. McCulleyho toto poznání přivedlo dokonce k odvážné „homocysteinové teorii“ vzniku ATS [23].

Zvýšení neesenciální aminokyseliny homocysteinu (Hcy) v plazmě – hyperhomocysteinemie (HHC) při remetylačních nebo transsulfuračních poruchách (obr. 1) má celou řadu nepříznivých toxických účinků pro-

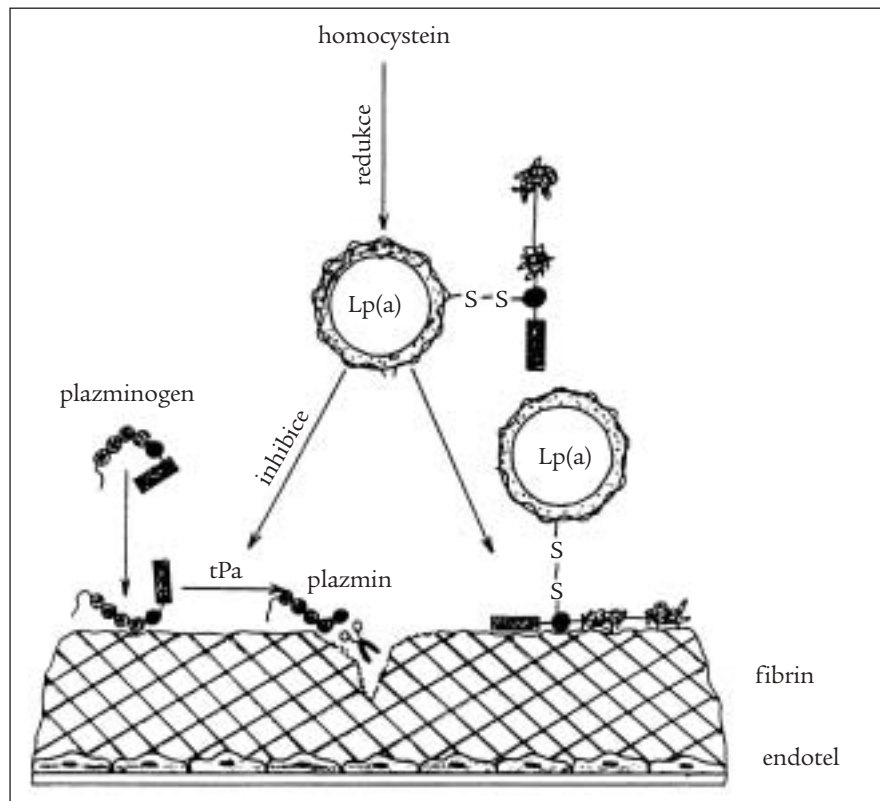
kazatelných in vitro; pro klinické posuzování však zde uvádíme jen známé účinky in vivo: a) přímý účinek Hcy na endoteliální buňky (deformace, exfoliace, indukce cytoadhezivních molekul a interleukinů aj); Hcy poškozují elastin a hladkou svalovinu intimy, zvyšuje produkci kolagenu; b) Hcy vyvolává změny koagulačních bílkovin zvyšujících prokoagulační aktivitu; c) Hcy svojí velmi reaktivní SH-skupinou zvyšuje oxidační stres, a tím i oxidaci a thiolaci cholesterolu a dalších lipidů; d) výrazně snižuje fibrinolýzu především u jedinců se zvýšeným Lp(a) (obr. 2). Vlivem zvýšeného Hcy (už nad 20 $\mu\text{mol/l}$) se modifikuje postranní řetězec lipoproteinu (a), jehož glykoproteinová molekula sdílí podobnou homologní strukturu s plazminogenem a soutěží s ním o jeho tkáňový aktivátor (tPA); váže se na plazminem změněný povrch fibrinu, a tak zabráňuje probíhající fibrinolýze [2]. Je to snad právě ten dlouho hledaný spojovací článek mezi atherogenezou a trombogenezou [10]?

Odbourávání Hcy probíhá v endoteliálních buňkách výlučně cestou remetylace, která je závislá na dostatečných hladinách vitamínu B₁₂ (kobalaminu) a folátu, ale také riboflavinu a pyridoxinu [27,28] (obr. 1). Nezvratná transsulfurace, která nastává při nadbytku Hcy, zatím nebyla v endoteliích prokázána [29]. Proto je kardiovaskulární aparát mnohem vnímavější k toxickým účinkům HHC než jiné tkáně [3,18,24,30]. Při dědičném či získaném nedostatku těchto tzv. „kritických“ vitaminů enzymové systémy nepracují dostatečně efektivně; Hcy zůstává v krvi zvýšený delší dobu a tkáně jsou tak déle vystaveny jeho toxickým účinkům. Pro správné posouzení a diferencování hladiny homocysteinu v plazmě je třeba znát především ledvinovou funkci (filtrace, kreatininemie), hladiny kritických vitaminů (folát, kobalamin, pyridoxin, riboflavin) a přítomnost dědičně podmíněné enzymové

insuficience 5,10-metylentetrahydrofolát reduktázy (MTHFR) (genová mutace C677T).

10 let intenzivně sledovaný výskyt HHC u pacientů v Nemocnici Na Homolce, která je orientována především na kardiovaskulární pacienty, ukazuje, že nejčastější příčinou HHC je ledvinová insuficience, dále pak deficit vitamínu B₁₂ (hlavně u populace starší 60 let) a konečně enzymový deficit MTHFR [13]. Tento enzymový deficit se vyskytuje u 10 až 15 % naší populace, avšak v nemocniční populaci až ve 43 % [16,22].

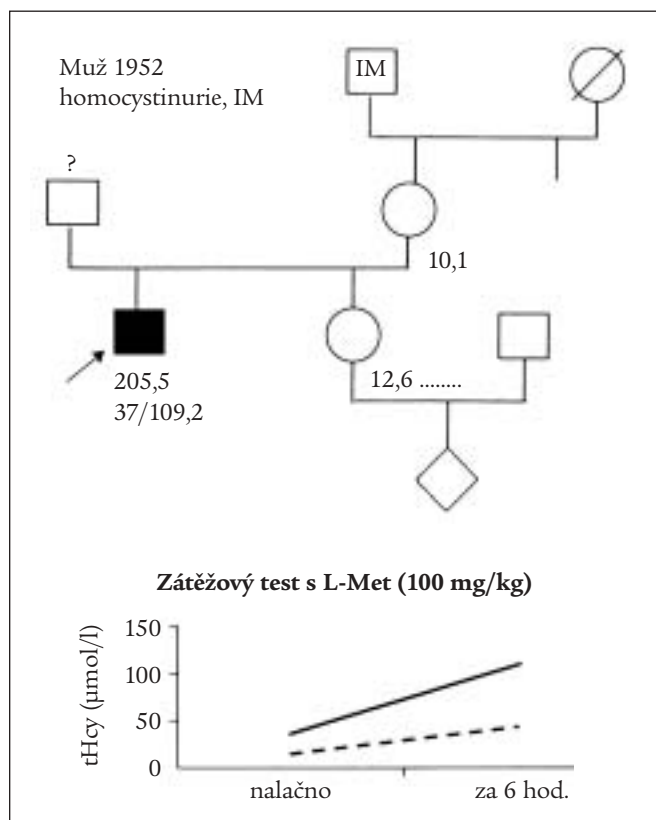
HHC z deficitu B₁₂ vzniká z mnoha příčin, nejčastěji při sníženém přívodu v potravě, zhoršené absorpci, deficitním receptorem intrinsic faktoru v ileu, při deficitním transportu transkobalaminu II a konečně při snížené inkorporaci kobalaminu do buněk [9,19,20,27,28]. Deficit folátu je nejčastěji způsobován: a) nedostatečným příjmem listové zeleniny, ve



Obr. 2. Schéma inhibice fibrinolýzy účinkem zvýšeného homocysteinu na Lp(a), který pak kompetitivně inhibuje syntézu plazminu [2].

Tab. 1. Laboratorní hodnoty základních parametrů u kazuistik s hyperhomocysteinemií.

	I. klas. homocystinurie	II. infarkt myokardu	III. embolie plicnice	IV. hluboká žilní
biochemie	troponin: I > 23,5 µg/l CK: 23,5 > µg/l myoglobin: > 300 mg/l CRP: 50,4 mg/l	troponin I: > 50 µg/l myoglobin: > 900 mg/l CK: > 100 µg/l CRP: 37,5 mg/l	kardiomarkery v normě CRP: 58,7 mg/l	v normě CRP: < 5 mg/l
hematologie & hemokoagulace	v normě	Hb: 131 g/l Ery: 3,3 T/l MVC: 123 % Leuko: 23,4 Htc: 0,41	fibrinogen: 1,2 g/l D-dimer +++ antitrombin III 75 % aPTT norm. MCV 98 % ostatní v normě	Hb: 155 g/l Ery: 4,2 T/l MVC: 114 % Htc: 0,42 aPTT a Quick v normě
lipidové spektrum	CCh: 3,8 mmol/l HDL: 2,5 mmol/l TAG: 1,3 mmol/l	CCh: 3,6 mmol/l HDL: 1,8 mmol/l TAG: 1,3 mmol/l	CCh 4,7 mmol/l HDL 2,1 mmol/l TAG 2,1 mmol/l	CCh: 7,5 mmol/l TAG: 1,7 mmol/l HDL: 2,0 mmol/l
vitaminy	B ₁₂ : 198 pmol/l folát: 10,8 nmol/l B ₆ : 8,7 ng/l	B ₁₂ : 98 pmol/l folát: 36 nmol/l B ₆ : 9,6 ng/l	B ₁₂ : < 75 pmol/l folát a B ₆ : v normě	B ₁₂ : 17,5 pmol/l folát: 36 nmol/l B ₆ : 6,9 ng/l
molekulární genetika	deficit CBS homozygotní mutace I278T (4,3 %)	heterozygot (CT) MTHFR 677	v normě	heterozygotka (CT) MTHFR 677
tHcy & zátěžový test s L-Met	screening > 200 µmol/l nalačno 48 µmol/l a za 6 hod. 135 µmol/l	screening 142 µmol/l nalačno 26 µmol/l za 6 hod. 76,5 µmol/l	screening 84 µmol/l nalačno 32 µmol/l za 6 hod. 79 µmol/l	screening 98 µmol/l nalačno 102 µmol/l zátěž neprovedena

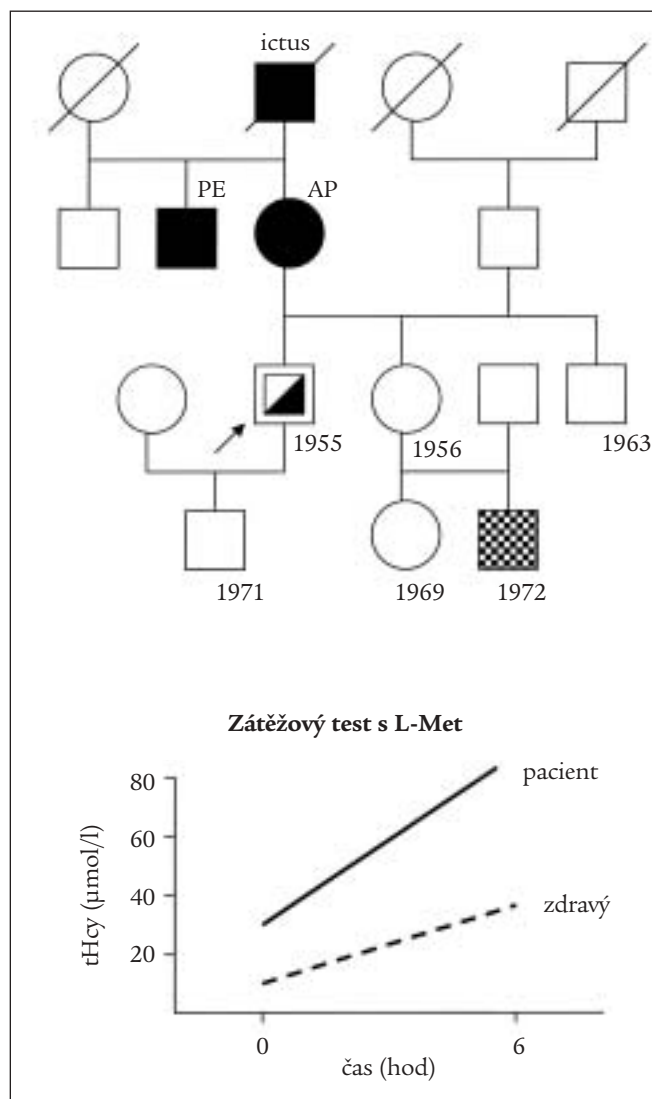


Obr. 3. Rodokmen pacienta s klasickou homocystinurií a infarktem myokardu doplněný o výrazně pozitivní výsledek zátěžového testu s L-methioninem.

keré je kyselina listová nejvíce obsažena, b) špatnou přípravou listové zeleniny, při níž se varem či konzervací zničí až 90 % kyseliny listové, c) dědičným enzymovým deficitem MTHFR – enzymu odpovědného za syntézu substrátu – metyltetrahydrofolátu. Tento je jedinou využitelnou formou cirkulujícího folátu v organismu nezbytnou pro složitou remetylační reakci methionin syntázy a její reduktázy (obr. 1) [27,28].

Výsledky našich předchozích grantových studií zaměřených na detekci zvýšených hladin Hcy u 11 500 pacientů (1993–2003) ukázaly překvapivě vysokou frekvenci HHC v nemocniční populaci [13]. Respektujíc rozdělení podle Kanga et al – mírná HHC (15–30 μmol/l) byla nalézána ve frekvenci 1 : 3,40; střední (moderate) HHC (30–100 μmol/l) 1 : 45,3 a těžká (> 100 μmol/l) 1 : 760 [16]. Tento alarmující nález nás přinutil k zavedení dostupné rutinní metody

stanovení celkového homocysteinu k vyšetření všech pacientů s kardiovaskulárním rizikem už v rámci předoperačního vyšetření nebo před invazivním zákrokem. Tak se nám podařilo kromě stovek mírných HHC zachytit nejenom vysokou hladinu Hcy > 200 μmol/l u pacienta s KH [12], ale i několik těžkých HHC u pacientů se zřetelným deficitem kobalaminu (< 75 pmol/l). Je zvláště poučné, že jsme tyto pacienty nalézali na JIP s infarktem myokardu nebo plicní embolií bez zvýšeného cholesterolu v krvi. Tato pozorování považujeme za velmi poučná a jelikož je HHC ve srovnání se západními zeměmi u nás jen výjimečně publikována [32], předkládáme tyto kazuistiky k uvážení s cílem přesvědčit internis-

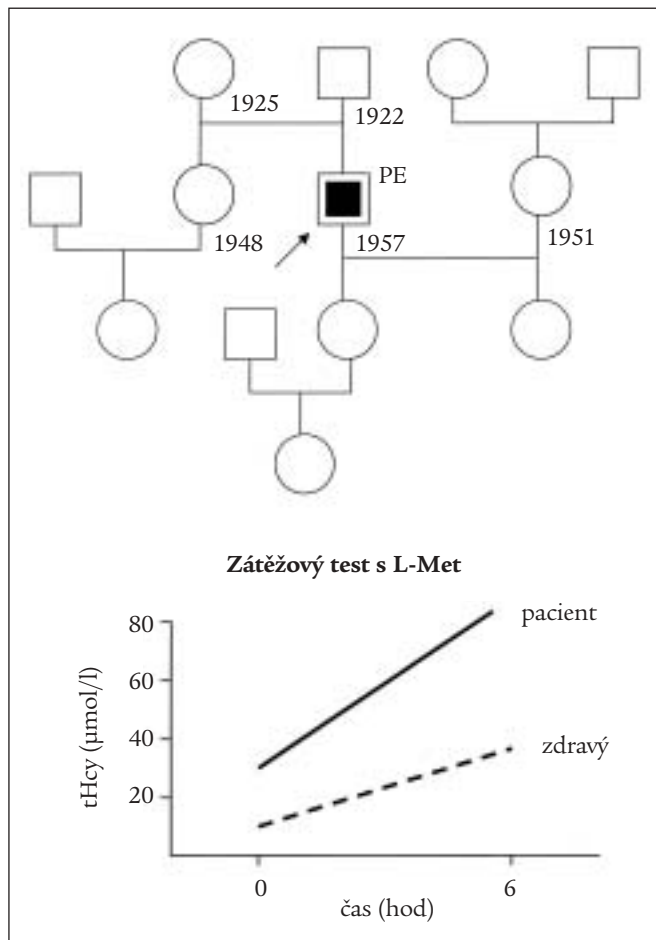


Obr. 4. Rodokmen pacienta s hyperhomocysteinémií z deficitu vitamínu B₁₂ při akutním infarktu myokardu. Vpravo pozitivní výsledek zátěžového testu pacienta s L-methioninem za 6 hod.

ty, kardiology, neurology a ostatní lékaře, že zvýšený Hcy je významným, přínosným a diagnosticky vděčným laboratorním nálezem, i když ne zcela zatím úspěšně vysvětlitelným.

Metody stanovení

Stanovení celkového homocysteinu (tHcy) v plazmě (= souhrn všech forem homocysteinu po redukcí) bylo provedeno na automatickém analyzátoru Synchron LX 20 (Beckman Coulter) homogenní enzymatickou metodou (Carolina, Liquid Chemistries Corp. HCY, kat. č. CC202) [6]. Toto vyšetření je zařazeno do



Obr. 5. Rodokmen a pozitivní výsledek zátěžového methioninového testu u pacienta s embolií plicnice a hyperhomocysteinemií z deficitu kobalaminu.

spektra rutinních vyšetření na jednotkách intenzivní péče vedle rutinních biochemických analýz včetně lipidového spektra, stanovovaného na tomtéž analyzátoru.

Zátěžový test s L-methioninem (100 mg/kg hmotnosti) pro diferencování HHC byl prováděn nalačno a za 6 hod po požití substance rozpuštěné v inertním čaji.

Vitamin B₁₂ MEIA byl stanoven na Abbott AxSYM; folát v séru chemiluminiscenční EIA na analyzátoru Immulite (DPC); vitamin B₆ HPLC na Gold Beckman sety Chromsystems. Rutinní stanovení biochemických markerů v plazmě byla prováděna na analyzátoru Synchron LX 20 Beckman COULTER; u rutinních markerů hematologických byl použit analyzátor Advia 120 Bayer; hemokoagulační vyšetření Protein C,

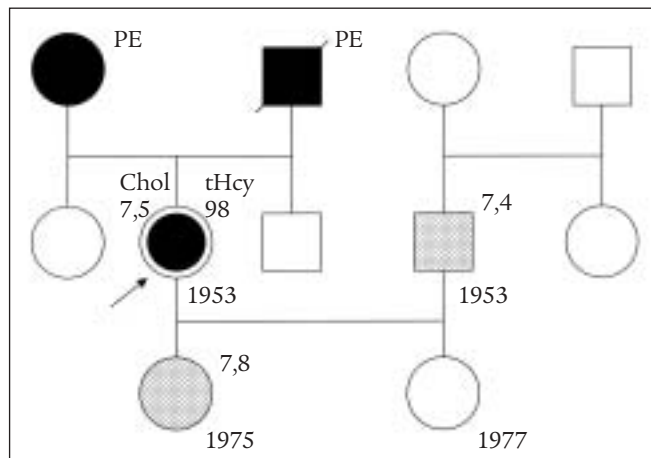
v krvi bylo prováděno metodou GC-MS na přístroji Finnigan MAT 210.

Určení trombofilních mutací: pro gen 677C>T MTHFR – provedeno dle Frosst et al [8]; leidská mutace v genu faktoru V a mutace G2021A v genu pro protrombin II byly stanoveny FRET-analýzou. Stanovení deficitu vstřebávání vitaminu B₁₂ bylo provedeno standardním Schillingovým testem – vyšetřením 24hodinové močové exkrece perorálně podaného vitaminu B₁₂ označeného ⁵⁷Co. U pozitivních nálezu pak bylo potvrzeno přesnějším vyšetřením retence radioaktivního vitaminu B₁₂ v těle po jeho perorálním podání pomocí celotělového detektoru.

Výsledek

Kazuistika I

U 48letého muže, hospitalizovaného pro akutní infarkt myokardu



Obr. 6. Rodokmen pacientky s hlubokou žilní trombózou a hyperhomocysteinemií.

S a APCR provedena na analyzátoru Electra 200. Stanovení Met a ostatních volných aminokyselin proběhlo na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 339 Mikrotechna. Stanovení kyseliny metylmalonové (MMA)

spodní stěny, byla na koronární jednotce nalezena vysoká hladina tHcy 205 μmol/l. Z přijímacího dekursu: nevýznamná rodinná anamnéza, nikdy nestonal; v dětství provedena operace vrozené katarakty (!); až dosud zdravý kuřák (20 cigaret/den), asi 1 hod před přijetím pocítil krutou retrosternální bolest s vegetativním doprovodem, přivezen na koronární jednotku, kde byla na EKG nalezena typická Pardeeho vlna na spodní stěně, provedena direktlní PTCA ACD s implantací stentu s nutností podání ReoPro i.c. a následně i i.v. pro embolizaci trombotických hmot do periferie ACD; tepna zprůchodněna. Dále provedena PTCA RIVP a PTCA RPLD se založením stentu. Po výkonu přetrvávaly elevace ST na spodní stěně. Fyzikální nále? v mezích normy; základní laboratorní vyšetření uvedena v tab. 1. EKG: při příjmu Pardeeho vlna na spodní stěně, zrcadlové změny I a VL; dále typický vývoj s vytvořením úzkého qII, III, aVF s ještě lehce naznačenou elevací ST II, III, aVF a s negativním T III. ECHO kardio: nevelká porucha kinetiky ve smyslu hypokinezy v posterobazální oblasti, dobrá EF kolem 60 %. Lehká porucha diastolického plnění LK. RTG S + P: bez patologického nálezu.

Propuštěn ve stabilizovaném stavu. Medikace: Ticlid 1–0–1 po dobu 4 týdnů, Anopyrin (100 mg) 0–1–0, Vaso-

cardin 1/2–0–1/2, Gopten 1–0–0, NTG s.l.d.

Metabolická vyšetření: za 6 týdnů po propuštění z koronární jednotky bylo doplněno vyšetření vitaminů a proveden zátěžový test s L-Met. Výsledek byl výrazně pozitivní (tHcy 112 $\mu\text{mol/l}$, Met 123 $\mu\text{mol/l}$) – suspekt pro homozygota KH (obr. 3). Hodnoty vitaminů uvádí tab. 1. Vyšetření enzymové aktivity CBS v kultuře kožních fibroblastů potvrzuje jen 4,3% aktivitu, tj. výrazně sníženou s nálezem homozygotní mutace I278T (genotyp c.833 T-C), responzivní na pyridoxin. U matky probanda hladina tHcy v mezích normy (10,2 $\mu\text{mol/l}$). Otec pro biochemické i genetické vyšetření nedostupný. Rodokmen zachycuje obr. 3.

V metabolické ambulanci Ústavu dědičných metabolických poruch 1. LF UK Praha byl pacient naveden na nízkomethioninovou dietu za použití směsi aminokyselin bez Met M-AM3 (Scientific Hospital Supplies) v dávce 3krát 5 g/den doplňovanou megadávkou (500 mg/den) vitamínu B₆ spolu a 10 mg folátu/den. Dosaženo snížení hladiny tHcy na 22,5 $\mu\text{mol/l}$ a Met na 43 $\mu\text{mol/l}$.

Po prostudování zdravotních záznamů z archivu dětského a praktického lékaře je nutno doplnit předchozí anamnézu pacienta ještě o tyto pro KH typické pozitivní nálezy: a) oční (ve věku 8 let) – oboustranná afakie po operaci ektopie očních čoček; pacient má správné brýle a je schopen vykonávat jakékoliv zaměstnání, b) neurologické (ve věku 28 let) – pro drobné psychomotorické záchvaty (Epi-ekvivalenty) léčen 2 roky Sodantonem při lehce abnormním záznamu EEG s výskytem nízké vlny theta, c) interní (ve věku 30 let) – astenický habitus, dolichostenomelie, arachnodaktylie; prekolapsové stavy v.s. vegetativní etiologie; TK 110/70 mm Hg, pulz 72/min; výrazně neurovegetativní osobnost; suspekt Marfanův syndrom(!).

Komentář: Lékař ošetřující dospělého pacienta s infarktem myokardu a enormně vysokým homocysteinem by měl vědět, že dobře léčení pacientů s dědičnou metabolickou poruchou jako např. klasickou homocystinurií se dnes už dožívají dospělého věku, nebo že homocystinurie mají i mírnou klinickou formu, pro kterou byla anamnéza tohoto pacienta typická.

Kazuistika II

54letý muž, kuřák s pozitivní rodinnou anamnézou. Pro silné parasternální bolesti, slabost, pocení přivoláný lékař diagnostikuje akutní infarkt myokardu přední stěny na EKG ověřený typickou Pardeeho vlnou; přeložen na koronární jednotku NNH k provedení přímé PTCA na RIA. Za-

vedeny 3 stenty, aplikováno ReoPro (abciximab). Průběh Q–infarktu byl bez komplikací. EKG ukazovalo přetrvávající Pardeeho vlnu; EF 55 %. Biochemie: kardiomarkery silně pozitivní (tab. 1). Selektivní screening tHcy 142,5 $\mu\text{mol/l}$, lipidové parametry v normě, vitamin B₁₂ jen 82 pmol/l(!), MCV 123 % dokazuje makrocytózu; ostatní viz tab. 1.

MMA zřetelně zvýšená 1,7 $\mu\text{mol/l}$. Zátěžový test s L-Met silně pozitivní (obr. 4). Analýza mutace pro gen MTHFR 677C>T svědčí pro heterozygota. Vyšetření Schillingovým testem dokládá deficit resorpce – 24hodinová močová exkrece ⁵⁷Co vitamin B₁₂ = 1,3 % podané aktivity. Žaludeční biopsie provedená za měsíc po propuštění prokazuje biopsicky hypertrofickou gastritis s intestinální

metaplazií a upřesňuje diagnózu perniciózní anémie. Suplementace vitamínem B₁₂ 1 000 µg/týdně, zahájená mezitím obvodní lékařkou, normalizuje v průběhu měsíce jak makrocytózu, tak HHC i MMA. Protože při dalším ambulantním monitorování hladin vitaminů dochází při léčbě k poklesu hladiny folátu, kardiologická a kobalaminová léčba doplněna o dávku 5 mg folátu/týdně. Rodokmen dokládá výraznou rodinnou kardiovaskulární zátěž ze strany matky (obr. 4).

Komentář: Makrocytóza spolu s vysokým homocysteinem by měla vést lékaře k podezření na deficit kobalaminu a z jeho chronického nedostatku indukované hyperhomocysteinemie.

Kazuistika III

47letý muž, aktivní sportovec, kuřák (5–10 cigaret/den), rodinná anamnéza bezvýznamná. Pro rychle se vyvíjející dušnost v posledních 4 dnech a parasternální bolesti vysloveno podezření na infarkt myokardu. Přeložen na kardiologickou JIP, kde byla diagnostikována masivní embolizace plicnice s přetížáním pravé komory; na CT-angio-plicnice (kraniokaudální scanování): patrně rozšíření plicnice na asi 55 mm. V kmenech obou pulmonálních arterií patrně hypoechogenní hmoty denzity okolo 30 HU – emboly, které jsou již z části obtékány kontrastní látkou, emboly se též propagují do lobárních a segmentálních větví oboustranně, přičemž lobární větve jsou vyplněny téměř kompletně. ECHOKardio: pokročilá plicní hypertenze (ACT 40 ms); dilatace pravé komory (34 mm) a paradoxní pohyb septa – náález podporuje diagnózu plicní embolie. Krevní plyny: pH 7,54; hypoxemie (6,8 kPa), hypokapnie (2,7 kPa); hyposaturace (90,6 %). TK 119/80 mm Hg; TF 74/min. 2. den pobytu provedena trombolýza – Actilysa 100 mg/2 hod i.v., následovala 2denní kontinuální heparinizace dle aPPT, pak převeden na Warfarin.

Po celou dobu byl oběhově stabilní. Laboratorní nálezy ukazuje tab. 1. Potvrzena zvýšená hladina tHcy 72 µmol/l nalačno i po zátěži při normální hladině Met (obr. 5); zvýšená MMA 1,7 µmol/l; lipidové spektrum v normě (!). Výrazné snížení vitaminu B₁₂ (< 75 pmol/l) při vysoké hladině folátu a pyridoxinu.

Výsledek Schillingova testu nehodnotitelný pro interferenci s plicním scanem; test opakován za 1 týden s výsledkem močové exkrece ⁵⁷Co pouze 1,8 %! Gastroskopie potvrzuje chronickou gastritis; doloženy pozitivní protilátky proti parietálním buňkám. Po i.m. podání 5krát 300 µg vitaminu B₁₂ je kromě kardiologické léčby podáván METAVIT – (Biomedica Praha – směs pro metabolizmus Hcy kritických vitaminů v sirupu: folát, B₁₂, B₆, B₂) 1 lžice/den. Monitorování tHcy, folátu, B₁₂ a B₆ ukazuje normální hodnoty, makrocytóza vymizela.

Komentář: Závažná tromboembolická příhoda bez zvýšení celkového cholesterolu (CCh) by měla indikovat hledání dalších rizikových faktorů, jakým je např. vysoký homocystein.

Kazuistika IV

54letá žena s výraznou rodinnou tromboembolickou zátěží byla zachycena selektivním screeningem na homocystein v cévní ambulanci, kde byla vyšetřována pro hlubokou žilní trombózu PDK; tato se vyvinula v 6. měsíci po hysterektomii; warfarinizována (3 mg) a při dalších kontrolách nalezena makrocytóza, vysloveno podezření na perniciózní anémii, ale protože byla warfarinizována (3 mg/den), nebyla biopsie žaludeční sliznice provedena; gastroskopie s normálním nálezem. Zahájena léčba injekčně podávaným vitamínem B₁₂ (1000 µg), ale pro alergickou vyrážku léčba přerušena. V ambulanci pro profesionální dermatózy (VFN Praha) potvrzena přecitlivělost na nikl a ev. další těžké kovy, proto od další injekční léčby B₁₂ upuštěno. V me-

tabolické ambulanci nalezen deficit vitaminu B₁₂ 17,5 pmol/l (!); protilátky proti parietálním buňkám pozitivní; výrazná HHC 98 µmol/l; vysoká MMA 0,8 µmol/l. MCV 114 %, heterozygotka pro MTHFR mutaci; ostatní viz tab. 1. Schillingův test ukazuje jen 2,7 % absorbovaného množství ⁵⁷Co. Po zajišťující antialergické léčbě (Zyrtec 10 mg/den) podáno perorálně 50 µg/den cyanokobalaminu (Milgamma) bez alergizujících účinků. Dávka zvyšována až na 200 µg/d. Do 1 měsíce vymizela makrocytóza, HHC i MMA. Mírná alergická reakce však přetrvává. Dcera pacientky je rovněž heterozygotka pro MTHFR mutaci. Rodokmen uvádí obr. 6.

Komentář: Nevysvětlená příčina hluboké žilní trombózy u heterozygotky MTHFR spolu s makrocytózou a suspektní perniciózní anémií si žádala stanovení Hcy, kterým by se vysvětlily obě příčiny vzniku HHC a jejího toxického působení.

Diskuse

Při současném stadiu poznání se zvýšená hladina Hcy považuje za diagnostický marker deficitní remetylace, z níž rezultuje snížená metylace DNA, mDNA, neurotransmiterů, fosfolipidů, biogenních aminů aj [14,27,28]. Snížená metylace může zasahovat svým nepříznivým účinkem nejenom do patogenezy KVO a defektů neurální trubice (NTD), ale také urychlovat rozvoj demence, působí kolagenové poruchy a zasahuje do metabolismu nádorového bujení [5].

Shora uvedené vybrané kazuistiky sebrané v průběhu posledních 2 let jsou názorným příkladem užitečnosti a diagnostického významu rutinního stanovení hladiny tHcy v krvi jako markeru signalizujícího kardiovaskulární či tromboembolické postižení [1,3,12,17,25,29]. Zvláště užitečné je vyšetření hladiny Hcy u pacientů, u kterých jsou lipidové markery typické pro ATS negativní.

U popisovaných pacientů byly hladiny CCh normální a rodinná anamnéza nevýznamná. Pouze kouření u obou mužů bylo známým rizikovým faktorem, který ale potencuje i rozvoj HHC [24]. Zdálo by se, že infarkt nebo embolie uhodily nečekaně z plného zdraví, což ale není pravda. Zvýšená hladina Hcy v krvi trvala již 15–20 let a svým toxickým účinkem poškozovala všechny mezenchymální tkáně včetně endoteliální výstelky. U pacienta s homocystinurií působilo poškození již od útlého dětství; typický marfanoidní habitus, bilaterální operace očních čoček měly u vzdělaného lékaře vzbudit alespoň podezření na homocystinurii a odeslat pacienta ke genetikovi nebo do metabolické ambulance [11,17,25,27].

Predikovat infarkt nebo tromboembolickou příhodu bez stanovení Hcy nebylo u našich pacientů možné, neboť nemocní nikdy žádné potíže typické pro ICHS až do kritického okamžiku tromboembolické příhody nevykazovali. Vysvětlení zvýšené hladiny Hcy u našich pacientů je snadné: výrazný a zřejmě dlouhotrvající deficit vitamínu B₁₂ – koenzymu klíčové remetylační reakce methionin-syntázy a její reduktázy (obr. 1) [9]. Dlouhodobý nedostatek vitamínu B₁₂ dokazovala i vysoká hladina MMA, která je u nás málo indikována, zatímco ve skandinávských zemích doporučována jako potvrzující vyšetření deficitu kobalaminu spolu s tHcy. Deficit vstřebávání B₁₂ byl u všech našich pacientů potvrzen Schillingovým testem; jeho provedení v modifikaci celotělového počítáče považujeme za velmi efektivní a přínosné pro odlišení alespoň těch nejčastějších metabolických poruch provázených sníženým kobalaminem a folátem. Dědičné metabolické poruchy provázené megaloblastickou anémií musíme při neúspěchu ponechat odborníkům, protože přímá stanovení transcobalaminu II

a frakce kobalaminů C, F, E, G jsou pro nás zatím obtížně dostupná.

Oceňujeme, že od 70. let minulého století už není věnována zvýšená pozornost jen energetickému příjmu potravy ve smyslu nadvýživy nebo podvýživy, ale objevuje se nový prvek tzv. „funkčního významu“ přijímaných potravin – vitamínů skupiny B [4,9,15,24,30]. Úspěch podávání folátu nebo folátem obohacených potravin těhotným s cílem snížení výskytu NTD v posledním desetiletí výrazně urychlil zahájení fortikace potravin s cílem následného snížení homocysteinemie [21]. Tím bylo dosaženo i snížení tromboembolických komplikací jak u cerebro- tak u kardiovaskulárních onemocnění, což prokazuje Framinghamská studie u seniorů [18]. Studie vyvolala entuziasmus pro tuto preventivní činnost, který však dosud nepřináší jednoznačné pozitivní výsledky. Metabolické pozadí této skutečnosti, která se moderně nazývá „folátová nutrigenomika“ nebo „ekogenetika“, je totiž mnohem složitější [19,20]. Uplatňuje se především v metylaci 5-cytosinu a 5-uracilu a udržení vhodných metylačních poměrů v lidském genomu. Při její poruše se může manifestovat různě intenzivně a na různých orgánech. Intenzivní studium patogenezy HHC ukazuje, že Hcy je až ten následný článek celého řetězu metabolických a genetických reakcí, jenž mohou toxické účinky Hcy někdy potencovat, jindy naopak inhibovat [5,7]. Deficitní mutovaná MTHFR se významně uplatňuje hlavně u homozygotních nosičů (TT), pokud mají nízkou hladinu folátu v krvi.

Pro lékaře však znamená nález výrazně zvýšené hyperhomocysteinemie (> 30 μmol/l) vždy významný rizikový faktor, který je negativně prognosticky důležitý hlavně tam, kde jsou lipidové rizikové faktory negativní. Stanovení tHcy však musí být potřebným pacientům dostupné rutinní lacinou metodou proveditelnou v každé okresní laboratoři (viz

naše metodika). Definitivní rozhodnutí o významnosti snižování homocysteinemie přinese až výsledek celopopulační studie folátem a kobalaminem fortifikované stravy probíhající druhým rokem v USA [21].

S léčebným podáním kritických vitaminů, které hladinu homocysteinu výrazně snižují a jsou cenově dostupné, bychom podle dosavadních dobrých zkušeností však neměli podle našich zkušeností váhat [4,13,15,18,21].

*Podpořeno grantem IGA MZCR
č. NA 6497-3.*

Seznam zkratek používaných v textu:

ACD – arteria coronaria dextra; AP – angina pectoris; CBS – cystathionin-beta-syntáza; CCh – celkový cholesterol; Co – kobalt; CRP – C-reaktivní protein; FBG – fibrinogen; Hcy – homocystein; tHcy – celkový homocystein (total homocysteine); HHC – hyperhomocysteinemie; ICHS – ischemická choroba srdeční; L-Met – L-methionin; Lp(a) – lipoprotein a; KH – klasická homocystinurie; KVO – kardiovaskulární onemocnění; MMA – kyselina metylmalonová; MS – methionin syntáza; MTRR – reduktáza methionin syntázy; MTHFR – 5,10-metylentetrahydrofolát-reduktáza; NNH – Nemocnice Na Homolce; NTD – defekty neurální trubice (neural tube defect); PE – plicní embolie; PGA – pteroylglutamát; PTCA – perkutánní transluminální koronární angioplastika; WHO – Světová zdravotnická organizace; TAG – triacylglyceroly; tPA – tkáňový aktivátor plazminogenu

Literatura

1. Chambers J. Homocysteine and vascular disease. Euromedlab Barcelona 2003, 50.
2. Chapman MJ, Huby T, Nigon J. Lipoprotein(a) implication in atherogenesis. Atherosclerosis 1994; 110: 69–72.
3. Clarke R, Lewington S. Homocysteine and prediction of coronary heart disease and stroke. Klin Biochem Metab 2003; 11(32): 132–135.
4. Constans J, Blonn DA, Resplandy F et al. Three months supplementation of hyperhomocysteinemic patients with folic acid and vitamin B6 improves biological markers of endothelial dysfunction. Brit J Haematol 1999; 107: 776–778.
5. Dong C, Yoon W, Goldschmidt-Cler-

- mont PJ. DNA Methylation and Atherosclerosis. *J Nutr* 2002; 132: 2406S–2409S.
6. Dubská L, Hyánek J, Pejznochová H et al. Stanovení celkového homocysteinu homogenní enzymatickou metodou na analyzátoru Synchron LX20, Beckman Coulter. *Klin Biochem Metab* 2003; 11(32): 231–234.
7. Friso S, Choi SW, Girelli D et al. A common mutation in the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene affects genomic DNA methylation through an interaction with folate status. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 5606–5611.
8. Frosst P, Blom HJ, Milos R et al. A candidate genetic risk factor for vascular diseases: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genet* 1995; 10: 111–113.
9. Green R, Miller JW. Folate deficiency beyond megaloblastic anemia: hyperhomocysteinemia and other manifestations of dysfunctional folate status. *Semin Hematology* 1999; 36: 47–64.
10. Harpel PC, Chang VT, Boirth W et al. Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of Lp(a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis and sulfhydryl compound metabolism. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992; 89: 10193–10197.
11. Hyánek J, Kavka J, Seemanová E. Homocystinurie. *Čs Pediat* 1972; 27: 394–398.
12. Hyánek J, Matoušková J, Kmoníček P. Selektivním screeningem detekovaná homocystinurie až po Q-infarkt myokardu na koronární jednotce. *Cor et Vasa* 2003; 45(9): 459–462.
13. Hyánek J. Hyperhomocysteinemie a její diagnostický význam u pacientů na jednotkách intenzivní péče. Grant č. NA 6497–3, IGA MZČR, 2003.
14. James SJ, Melnyk S, Pogribna M et al. Evaluation in S-Adenosylhomocysteine and DNA Hypomethylation: Potential Epigenetic Mechanism for Homocysteine-related Pathology. *J Nutr* 2002; 132(Suppl): 2361S–2366S.
15. Joosten E, v. den Berg A, Riezler R et al. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate, and vitamin B-6 occur commonly in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 468–476.
16. Kang SS, Wong PW, Bock HG et al. Intermediate hyperhomocysteinemia resulting from compound heterozygosity of methyltetrahydrofolate reductase mutations. *Am J Hum Genet* 1991; 48: 546–551.
17. Kožich V, Kraus J, Hyánek J. Homocystein, geny a vitaminy: souvislost s kardiovaskulárním onemocněním a komplikacemi v těhotenství. *DMEV* 1999; 3: 113–120.
18. Lindebaum J, Rosenberg IH, Wilson P et al. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly. *J Clin Nutr* 1994; 60: 2–11.
19. Lucoc M. Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention? *BMJ* 2004; 328: 211–214.
20. Lucoc M. Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology and role in disease processes. *Mol Genet Metab* 2000; 71: 121–128.
21. Malinow MR, Bostom AG, Krauss RG. Homocyst(e)ine, diet and cardiovascular diseases: a statement for health care professionals from Nutrition Committee American Heart Association. *Circulation* 1999; 99: 178–182.
22. Matalon R, Rady S, Szucs K et al. Polymorphism MTHFR and MTRR in Czech Patients with Cardiovascular Diseases and Stroke. *Čes Slov Pediat* 2003; 58: 403–404.
23. McCulley KS, Radsgale BD. Production of atherosclerosis by homocysteinemia. *Am J Pathol* 1970; 61: 1–8.
24. Nygaard O, Vollset SE, Refsum H. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. *J Amer Med Ass* 1995; 274: 1526–1533.
25. Orendáč M, Kožich V, Zeman J et al. Klinický obraz homocystinurie z deficitu cystathionin-beta-syntházy u devatenácti českých a slovenských pacientů. *Čas Lék Čes* 2000; 139: 500–507.
26. Ravnkov U, Pollmeer U. *Mythos Cholesterin: die Zehn Grösten Irrtümer*. Stuttgart: S Hirzel Verlag 2002.
27. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al. *The metabolic and genetic bases of inherited disease*. New York: McGraw Hill 1995.
28. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Ann Rev Nutr* 1999; 19: 217–246.
29. Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K et al. *Koncensus der D.A.CH. – Liga Homocystein über der rationalen kardiovaskulären und trombotischen Erkrankungen-Richtlinien und Empfehlungen*. *J Kardi* 2003; 10(5): 190–199.
30. Škodová Z, Píša Z, Poledne R et al. Je nedávný pokles cholesterolemie v ČR průkazný? *Čas Lék Čes* 1996; 135: 589–593.
31. Švehlová M, Štěpánková L, Kaupcová P et al. Trombóza portální žíly u pacienta s hyperhomocysteinémií. *Vnitř Lék* 2002; 48(7): 671–674.
32. Ueland J et al. The Hordaland Homocysteine Studies. *Lipids* 2001; 36: S33–S39.
33. Wilcken DEL, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease: possible role of methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976; 57: 1079–1082.
34. Worthley SG et al. Coronary artery disease: pathogenesis and acute coronary syndrome. *Mt Sinai J Med* 2001; 68: 167–181.
35. Familial Hypercholesterolemia. Report of WHO Consultations. WHO Press, 1998.
36. Harmonized Clinical Guidelines on Prevention of Atherosclerotic Vascular Disease. Executive Summary IAS 2003.

prof. MUDr. Josef Hyánek, DrSc.
www.homolka.cz
e-mail: josef.hyanek@homolka.cz

Doručeno do redakce: 11. 5. 2004
Přijato po recenzi: 22. 6. 2004