

Rola homocysteiny w fizjologicznym rozwoju i patofizjologii zaburzeń układu nerwowego u dzieci

The role of homocysteine in the physiological development and pathophysiology of disorders of the nervous system in children

Anna Winczewska-Wiktor, Bogna Malendowicz-Major, Barbara Steinborn

Katedra i Klinika Neurologii Wieku Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

STRESZCZENIE

Homocysteina jest aminokwasem egzogennym powstającym w szlaku przemian metioniny. Jest niezbędna do prawidłowego rozwoju układu nerwowego, będąc źródłem grup metylowych. Podwyższone stężenie homocysteiny we krwi prowadzi do powstania szeregu zaburzeń, m.in. udarów mózgu, wrodzonych wad cewy nerwowej, padaczki, upośledzenie umysłowe i szeregu objawów nieneurologicznych. Praca prezentuje metabolizm homocysteiny oraz zaburzenia jej przemian prowadzące do szeregu nieprawidłowości. Występowanie hyperhomocysteinemii jest potencjalnie odwracalne co uwzględniono prezentując metody terapeutyczne.

Słowa kluczowe: homocysteina, hyperhomocysteinemia, homocystynuria, dzieci

ABSTRACT

Homocysteine is an amino acid formed in the exogenous pathway of methionine. It is essential for the proper development of the nervous system as a source of methyl groups. Increased levels of homocysteine in the blood lead to a number of disorders: stroke, congenital neural tube defects, epilepsy, mental retardation and a number of non-neurological symptoms. This paper presents the metabolism of homocysteine and the impairment of its transformation leading to a number of irregularities. The occurrence of hyperhomocysteinemia is potentially reversible which was considered in the presentation of therapeutic methods.

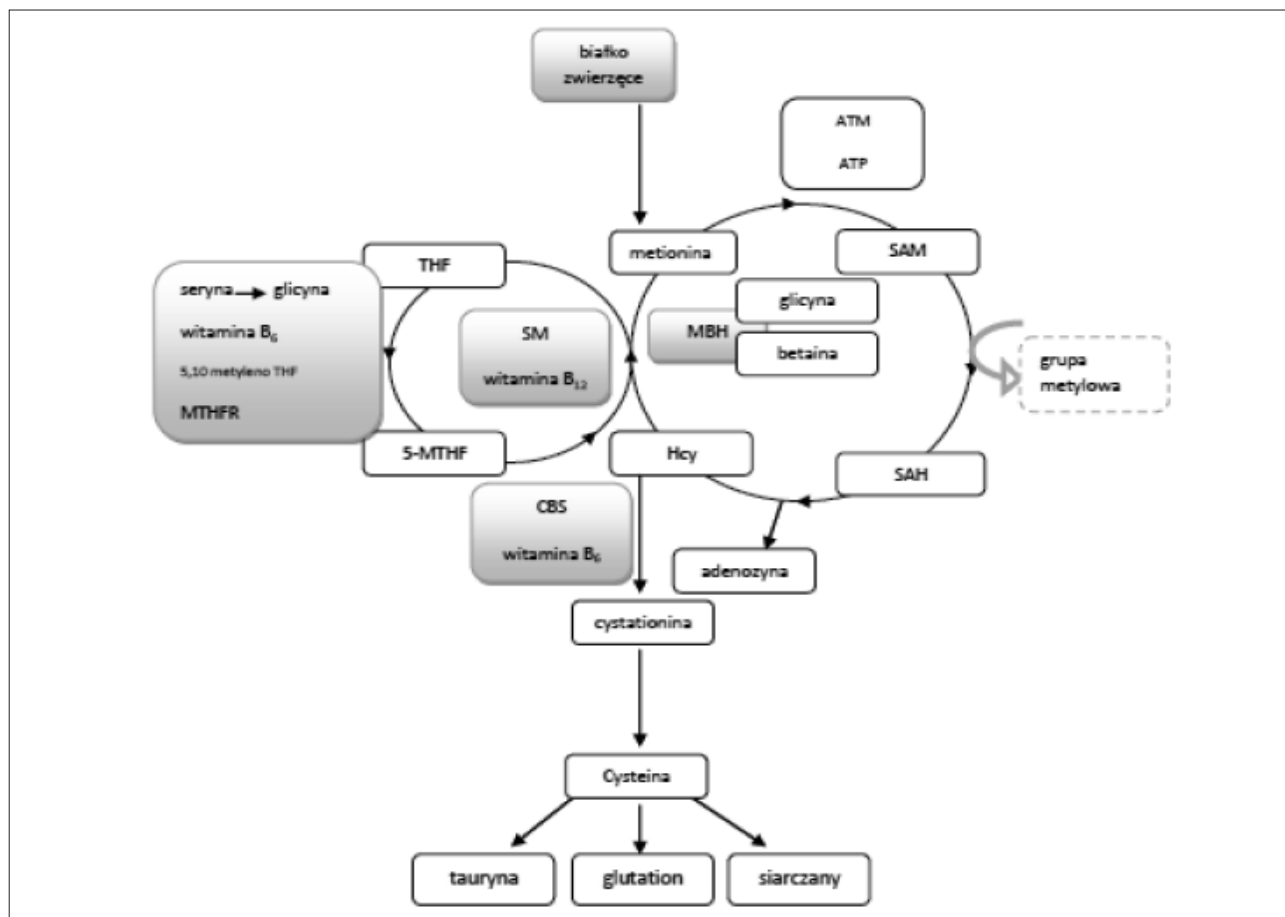
Key words: homocysteine, hyperhomocysteinemia, homocystinuria, children

Homocysteina (Hcy) jest aminokwasem siarkowym powstającym z metioniny pochodzącej z białek zwierzęcych, jedyne źródło homocysteiny dla człowieka. W organizmie człowieka Hcy ulega dwóm rodzajom przemian: remetylacji i transsulfuracji. Remetylacja jest procesem, w którym Hcy otrzymuje grupę metylową pochodzącą z reakcji konwersji 5-metylo-tetrahydrofolianu (5-MTHF) do tetrahydrofolianu (THF) lub konwersji betainy do N,N-dimetyloglicyny. Remetylacja grupą metylową pochodzącą z przemiany 5-MTHF wymaga obecności kofaktora: witaminy B₁₂ oraz enzymu: syntazy metioniny (SM) i przebiega we wszystkich tkankach organizmu. Metylacja grupą pochodzącą od betainy jest niezależna od obecności witaminy B₁₂ i wymaga obecności enzymu metylotransferazy betaina homocysteina (MBH). Remetylacja grupą pochodzącą z przemiany betainy jest drugorzędna i zachodzi wyłącznie w wątrobie. Hcy, która nie uległa remetylacji, ulega transsulfuracji. W nieodwracalnym procesie transsulfuracji Hcy kondensowana jest z seryną i w obecności enzymu: syntazy β-cystationiny (CBS) oraz kofaktora reakcji, jakim jest witamina B₆, powstaje cystationina. Cystationina w obecności γ-cystationazy katabolizuje do cysteiny i kwasu α-ketobutyro-

wego. W przypadku nadmiaru spożycia metioniny proces transsulfuracji jest szlakiem promowanym. Metionina ulega demetylacji, oddając grupę metylową S-adenozylometioninie (SAM) przy udziale adenozylotransferazy metioniny (ATM) i z wykorzystaniem ATP. SAM jest głównym donorem grup metylowych w szeregu procesów w całym organizmie. Po oddaniu grupy metylowej SAM przekształca się w S-adenozylhomocysteinę (SAH), która ulega hydrolizie prowadzącej do powstania Hcy i adenyzy [1–5] (ryc. 1).

HOMOCYSTEINA – ZAKRES NORM

Za mieszczące się w granicach normy stężenia Hcy w populacji dzieci uważa się stężenia w zakresie do 95 centyla stężeń obserwowanych w danej populacji uwzględniając płeć i wiek [6–9]. W przypadku braku dostępności badań oceniających stężenie Hcy w populacji dzieci na danym terenie można stosować normy zaprezentowane przez panel ekspertów w roku 2004 [10]. W grupie dzieci, które nie otrzymują suplementacji kwasem foliowym i witaminami z grupy B, wartość dopuszczalna wynosi dla dzieci poniżej 15 roku życia 10 μmol/l i dla dzieci w wieku powyżej 15 roku życia 15 μmol/l. W przypadku dzieci, które stosują



Ryc. 1. Schemat metabolizmu homocysteiny: Hcy-homocysteina, ATM – adenozylotransferaza metioniny, ATP – adenozylotrifosforan, SAM – S adenozylometionina, SAH – S-adenozylhomocysteina, CBS – syntaza beta-cystationiny, %MTHF % – metyloctetrahydrofolian, SM – syntaza metioniny, MBH – metyloctransferaza betaina homocysteina, THF – tetrahydrofolian, MTHFR – reduktaza metyloctetrahydrofolianu, 5,10-metyloctTHF – 5,10 metyloctetrahydrofolian, na zielono zaznaczono etap powstawania grup metyloctwych w wyniku demetylacji *Schematic of homocysteine metabolism: Hcy-homocysteine, ATM – adenozyloctransferaza methionine, ATP – adenozyloctrifosforan, SAM – S adenosylmethionine, SAH – S-adenozylhomocysteina, CBS-cystathionine beta-synthase, %MTHF% – metyloctetrahydrofolian, SM – methionine synthase, MBH – methylctransferase betaine homocysteine, THF – tetrahydrofolate, MTHFR – metyloctetrahydrofolianu reductase, 5.10-metyloctTHF – 5,10 methyloctetrahydrofolate, the stage in the methyl groups through demethylation is marked in green*

suplementację kwasem foliowym lub witaminami z grupy B (witaminą B₆, witaminą B₁₂) stężenie dopuszczalne dla pacjentów w wieku poniżej 15 lat to 8 µmol/l i dla pacjentów w wieku powyżej 15 lat 12 µmol/l [10] (tab. I).

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA STĘŻENIE Hcy

Czynniki wpływające na stężenie Hcy można podzielić na modyfikowalne i niemodyfikowalne. Czynniki modyfikowalne to np. dieta, leki, alkohol, nikotyna, ciąża. Wśród

Tab. I. Prawidłowe stężenia Hcy w surowicy krwi obwodowej dzieci i dorosłych *The proper concentration of Hcy in the peripheral blood serum of children and adults*

Wiek pacjentów <i>Age of patients</i>	Górna granica normy dla Hcy w przypadku stosowania suplementacji <i>The upper limit of Hcy in the case of supplementation</i>	Górna granica normy dla pacjentów nie stosujących suplementacji <i>Upper limit of Hcy for patients not taking supplements</i>
Dzieci < 15 roku życia	8 µmol/l	10 µmol/l
Dzieci > 15 roku życia	12 µmol/l	15 µmol/l
Dorośli	12 µmol/l	15 µmol/l

Dopuszczalne, niewymagające leczenia stężenie Hcy w surowicy krwi w populacji dorosłych wynosi 15 µmol/l [11].

czynników niemodyfikowalnych wyróżnia się mutacje genetyczne enzymów biorących udział w przemianach Hcy, wiek, płeć, współwystępujące schorzenia. Czynniki wpływające na stężenie Hcy w surowicy krwi zamieszczono w tabelach II i III.

Tab. II. Czynniki wpływające na stężenie Hcy w surowicy krwi (nie zawiera leków). ↑ – Hcy w przedziale 15–30 μmol/l; ↑↑ – Hcy pomiędzy 31 a 100 μmol/l; ↑↑↑ – Hcy >100 μmol/l; (↑) – wzrost w zakresie norm, ↓ – obniżenie stężenia Hcy [10]. MTHFR – reduktaza metyloctetrahydrofolianu, CBS – synteza β-cystationiny, ↑ – wzrost; ↓ – obniżenie *Factors affecting the Hcy concentration in serum (no drug)*. ↑ – Hcy in the range of 15–30 mmol / l; ↑↑ – Hcy between 31–100 mmol / l; ↑↑↑ – Hcy > 100 mmol / l (↑) – an increase in the standards, ↓ – lowering Hcy concentrations [10]. MTHFR – metyloctetrahydrofolian reductase, CBS – the synthesis of b-cystathionine. ↑ – increase, ↓ – decrease

Czynniki <i>Factors</i>		Hcy
genetyczne	homocystynuria	↑↑↑
	heterozygota CBS	↑
	zespół Downa	↓
	MTHFR 677→T (homozygota)	↑
	inne polimorfizmy	(↑)↓
fizjologiczne	wiek	(↑)
	płeć męska	(↑)
	ciąża	↓
	okres pomenopauzalny	(↑)
	funkcja nerek - redukcja filtracji kłębuszkowej	(↑)
	wzrost masy mięśniowej	(↑)
związane ze stylem życia	suplementacja witaminami (B6,B12, kwas foliowy)	↓
	nikotynizm	(↑)
	kofeina	(↑)
	alkohol	(↑↓)
	wysiłek fizyczny	(↑↓)
patologiczne	niedobór kwasu foliowego	↑↑
	niedobór witaminy B12	↑↑↑
	niewydolność nerek	↑↑
	choroby rozrostowe	↑
	niedoczynność tarczycy	↑
	nadczynność tarczycy	↓
	cukrzyca - wczesny okres	↓
	cukrzyca - późny okres	↑

Tab. III. Wpływ wybranych leków na stężenie Hcy (leki przeciwpadaczkowe zostały ujęte w osobnej tabeli VII). COMT – katecholo-O-metylotransferaza, L-DOPA - L-3,4- dihydroksyfenyloalanina [10] *Effect of selected drugs on plasma Hcy*. COMT – catechol-O-methyltransferase, L-DOPA - L-3, 4 - dihydroxyphenylalanine [10]

Punkt uchwytu <i>Grasping point</i>	Lek <i>Drug</i>	Hcy	Mechanism <i>Mechanisms</i>
Kwas foliowy	metotreksat	↑	hamowanie reduktazy dihydrofolianu
	trimetoprim	↑	hamowanie reduktazy dihydrofolianu
	cholestyramina	(↑)	hamowanie absorpcji kwasu foliowego
Antagoniści witaminy B12	tlenek azotu	↑↑	inaktywacja syntetazy metioniny
	metformina	(↑)	hamowanie absorpcji witaminy B12
Antagoniści witaminy B6	niacyna	↑	hamowanie kinazy pirydoksalu
	teofilina	↑	hamowanie kinazy pirydoksalu
Synteza Hcy	analogi adenozyne	↓	hamowanie hydrolazy adenozyne homocysteina
	kreatyna	↓	redukuje syntezę kreatyniny
	L-DOPA	↑	substrat dla adenozyne-metionino zależnej COMT
Zawierające grupy siarkowe	D-penicylamina	↓	zamiana grup siarkowych
	N-acetylocysteina	↓	zamiana grup siarkowych
Steroidy	estrogeny	↓	?
	androgeny	(↑)	zwiększenie masy mięśniowej, zwiększenie syntezy kreatyniny
	tamoksyfen	↓	?
	aminoglutetiamide	↑	indukcja metabolizmu wątroby
Inne	betaine	↓	remetylacja Hcy
	cyklosporyna A	↑	uszkodzenie funkcji nerek
	simwastatyna	↓	?
	fibraty	↑	uszkodzenie nerek, zmiana metabolizmu kreatyniny
	diuretyki	↑	redukcja filtracji kłębuszkowej ?

DEFINICJA I PODZIAŁ HIPERHOMOCYSTEINEMII

Hiperhomocysteinemia (hHcy) oznacza obecność podwyższonego stężenia homocysteiny w surowicy krwi obwodowej wtórnie do wywołujących ją czynników genetycznych i niegenetycznych, stężenia powyżej norm przewidzianych dla wieku. Zakres norm uzależniony jest od stosowania lub nie suplementacji (witaminami B₆ i B₁₂, kwasem foliowym) przez pacjenta przed wykonaniem badania.

Hiperhomocysteinemię dzieli się na łagodną, umiarkowaną i ciężką w zależności od stężenia Hcy w surowicy. O łagodniej hHcy mówimy, gdy stężenie mieści się w granicach 15–30 μmol/l, umiarkowanej, gdy mieści się w przedziale 31–100 μmol/l i ciężkiej, gdy przekracza 100 μmol/l [10] (tab. IV). Łagodna hHcy obserwowana jest u od 5% do prawie 10% osób w populacji ogólnej, średnia u <1% populacji i ciężka u <0,02% [7,8,10]. Najczęstsze czynniki wywołujące łagodną hHcy to: niehigieniczny tryb życia (stosowanie używek, brak aktywności fizycznej), dieta, wegetarianizm, MTHFR677C→T polimorfizm, łagodny niedobór kwasu foliowego i witaminy B₁₂, niewydolność nerek, leki wpływające na stężenie Hcy, kwasu foliowego i witaminy B₁₂ błąd pomiaru. Wśród przyczyn wywołujących umiarkowaną hHcy podaje się: niedobór kwasu foliowego, witaminy B₁₂ lub uszkodzenie nerek. Przyczyną ciężkiej hHcy jest niedobór witaminy B₁₂ lub wady genetyczne prowadzące do homocystynurii [10].

HOMOCYSTYNURIA

Homocystynuria to pojęcie używane zwykle w przypadkach wrodzonych defektów metabolizmu Hcy, charakteryzujących się obecnością bardzo wysokich stężeń Hcy w surowicy. Termin pochodzi z czasów, kiedy stężenie homocysteiny oceniano na podstawie stężenia Hcy w moczu [2,12]. Homocystynuria tzw. klasyczna jest efektem niedostatecznej aktywności CBS i wynika z mutacji zlokalizowanych na 21 chromosomie (21q22.3). Objawem laboratoryjnym niedoboru CBS jest wzrost stężenia Hcy powyżej 100 μmol/l i występowanie podwyższonego stężenia metioniny. Choroba jest dziedziczona autosomalnie recesywnie, a częstość jej występowania oceniana jest na od 1/17800 do 1/344000 populacji ogólnej. Objawy są wieloukładowe, dotyczą gałki ocznej (ektopia soczewki, drżenie tęczówki, jaskra, dyslokacja soczewki), układu kostnego (osteoporoza, skolioza, nieprawidłowa budowa zębów, długie kości kończyn, stopy wydrążone, gotyckie podniebienie, ograniczenie ruchomości stawów), ośrodkowego układu nerwowego (upośledzenie umysłowe, padaczka, nieprawidłowości w badaniu elektroencefalograficznym – EEG, miopatia), układu naczyniowego (epizody zakrzepowo-zatorowe – najczęstsza przyczyna zgonów w tej grupie pacjentów, nadciśnienie tętnicze), wygląd „marfanoidalny”, różowa skóra, depigmentacja skóry, jasne włosy, przepukliny oraz zaburzenia dotyczące układu pokarmowego (stłuszczenie wątroby) [3,13] (tab. V).

NEUROTOKSYCZNE DZIAŁANIE HOMOCYSTEINY

Mechanizm, w którym hHcy uszkadza komórki nerwowe i śródbłonek naczyń krwionośnych, nie jest całkowicie jasny. Wyróżnia się kilka szlaków prowadzących do uszkodzenia komórki nerwowej: zwiększenie stresu oksydacyjnego, nadmierne wzbudzenie komórki, promowanie apoptozy, promowanie procesu prowadzącego do rozwoju choroby Alzheimera, zwiększenie ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Największe znaczenie w uszkadzaniu komórki nerwowej wydaje się mieć oddziaływanie hHcy na receptory jonowe (NMDA) i metabotropowe glutaminianu (mGluRs). Oddziaływanie to skutkuje kumulacją jonów wapnia wewnątrzkomórkowo, uruchomieniem kaskady zależnych od wapnia mechanizmów prowadzących do śmierci komórki. Dochodzi do aktywacji lipaz i proteaz, generowania wolnych rodników, dysfunkcji mitochondriów (zmniejszenie produkcji ATP) i zmniejszenia zasobów energetycznych komórki [14,15]. Hcy może modulować aktywność peroksydazy glutationu i NF – kappaB [16]. Procesy indukowane przez Hcy, powodujące nadmierne wzbudzenie komórek, prowadzą do zmian neurodegeneracyjnych opisywanych w wielu zespołach chorobowych (choroba Parkinsona, choroba Alzheimera, neuropatia, otępienie naczyniopochodne, zanik mózgu, zaburzenia psychiatryczne: zaburzenia funkcji poznawczych, depresja, schizofrenia) [16–19]. Hiperhomocysteinemia wpływa na stres oksydacyjny, zmniejsza aktywność enzymów antyoksydacyjnych komórek nerwowych prowadząc do śmierci komórki. Zaburzony metabolizm demetylacji i remetylacji Hcy prowadzi do zaburzeń w syntezie grup metylowych i uszkodzenia DNA na drodze nieprawidłowej metylacji DNA. Obserwowano kaspazo-zależną apoptozę komórek indukowaną hHcy [20]. Kolejnym mechanizmem prowadzącym do uszkodzenia komórek nerwowych i ich funkcji jest zaburzenie ekspresji białek cytoskieletu i białek biorących udział w tworzeniu połączeń międzykomórkowych oraz zaburzenie fosforylacji mikrotubularnego białka tau [21]. Zwiększone stężenie Hcy prowadzi do uszkodzenia naczyń krwionośnych i w mechanizmie naczyniowym do uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego. Bezpośredni szkodliwy wpływ zwiększonego stężenia Hcy na naczynia krwionośne polega na uszkodzeniu komórki endotelium, redukcji aktywności peroksydazy glutationu, działaniu stymulującym prokoagulanty, zaburzeniu funkcji antykoagulantów i szlaku fibrynolitycznego, wywołuje tzw. efekt mitogeny prowadzący do proliferacji komórek mięśni gładkich i promowania interakcji pomiędzy endotelium a leukocytami [22,23]. Uszkodzający wpływ hHcy obserwowano również wśród pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca (hHcy poprzez negatywny wpływ na remodeling powodujący zmniejszenie elastyczności ściany zaburzała kurczliwość mięśnia sercowego) [24] (tab. VII).

Tab. IV. Postacie hyperhomocysteinemii (hHcy) *Types of hyperhomocysteinemia (hHcy)*

Rodzaj hHcy <i>hHcy type</i>	Wartości stężeń Hcy w surowicy krwi obwodowej <i>Hcy concentrations in the peripheral blood serum</i>	Częstość występowania w populacji ogólnej <i>Incidence in the general population</i>
łagodna	15-30 $\mu\text{mol/l}$	<10%
umiarkowana	31-100 $\mu\text{mol/l}$	<1%
ciężka	> 100 $\mu\text{mol/l}$	<0,02%

Tabela V. Objawy homocystynurii *The symptoms of homocystinuria*

Miejsce występowania zaburzenia <i>Place of impaired</i>	Objawy kliniczne <i>Clinical symptoms</i>
Układ nerwowy	Upośledzenie umysłowe Opóźnienie rozwoju Napady padaczkowe Udary mózgu Miopatia Hypotonia mięśniowa Zaburzenia psychiatryczne
Narząd wzroku	Podwichnięcie soczewki Znaczna krótkowzroczność Zez Zaćma Jaskra Zwyrodnienie siatkówki Myopia
Układ sercowo naczyniowy	Zator płuc Zawał serca Zakrzepica naczyń obwodowych Miażdżycy tętnic
Układ kostny	Osteoporoza Skolioza Stopa wydrążona Dwuukłęsłe kręgi Wady nasad kości Wydłużenie kości Nieprawidłowa budowa zębów "Gotyckie" podniebienie Deformacje klatki piersiowej Powiększenie kości nadgarstka Koślawość kolan
Skóra	Hypopigmentacja Rumień policzków Cienka skóra Siność siatkowata
Układ pokarmowy	Zapalenie trzustki Stłuszczenie wątroby
Układ moczowy	"Cuchnący" mocz

Tab. VI. Genetycznie uwarunkowane hiperhomocysteinemie *Genetically determined hyperhomocysteinemia*

Rodzaj defektu <i>Type of defect</i>	Gen <i>Gen</i>	Chromosom <i>Chromosome</i>	Objawy <i>Symptoms</i>	Leczenie <i>Treatment</i>
Defekt remetylacji Ciężki niedobór MTHFR	MTHFR	1p36.3	Występowanie objawów: od okresu noworodkowego do wieku dorosłego Opóźnienie rozwoju, zaburzenia chodu i postawy, mikrocefalia, napady padaczkowe	Betaine 2–3g/dzień (niemowlęta), 6–9 g/dzień (dzieci) Kontrowersje dotyczą stosowania kwasu foliowego, metioniny, witaminy B12, witaminy B6, ryboflawiny, karnityny
Defekt transsulfuracji Niedobór CBS	CBS	21p22.3	Opóźnienie rozwoju, upośledzenie umysłowe, zaburzenia psychiatryczne, ektopia soczewki, wygląd marfanoidalny, osteoporoza, hypermetioninemia, zaburzenia krzepnięcia	Witamina B6: 200–1200mg/dzień (jeżeli odpowiada na leczenie); w przypadku braku odpowiedzi: betaina 6–9g/dzień, usunięcie z diety metioniny

Tab. VII. Podstawowe mechanizmy neurotoksyczności homocysteiny [29] *Basic mechanisms of neurotoxicity of homocysteine [29]*

Mechanizmy neurotoksyczności hHcy / Mechanisms of hHcy neurotoxicity	
1	Zwiększenie stresu oksydacyjnego: – zwiększenie produkcji podtlenku i nadtlenu wodoru – zmniejszenie aktywności peroksydazy glutationu – zmniejszenie biodostępności tlenu azotu – redukcja stężeń witamin C, A i E
2	Pobudzenie komórek: – aktywacja NMDA i mGluRs – metabolity homocysteiny (kwas homocystynowy i cystynowy), agoniści receptorów jono- i metabotropowych glutaminianu – częściowi agoniści receptora glicynowego – aktywacja kinazy białka C i zwiększenie śródkomórkowego stężenia IP3
3	Promowanie apoptozy: – upośledzenie transmetylacji DNA – indukcja stresu oksydacyjnego poprzez zwiększenie aktywności NF-kappaB – wzrost śródkomórkowego stężenia wapnia – zwiększona odpowiedź na stres poprzez zwiększoną ekspresję białek chaperonowych i niechaperonowych
4	Promowanie procesów prowadzących do rozwoju choroby Alzheimera: – zwiększenie toksyczności A β – zwiększenie fosforylacji białka tau – zwiększenie ekspresji HERP prowadzące do apoptozy
5	Ryzyko chorób sercowo-naczyniowych: – uszkodzenie endotelium – uszkodzenie endogennego tkankowego aktywatora plazminogenu – zwiększenie agregacji płytek krwi – aktywacja czynników V, Va, X – hamowanie naturalnych antykoagulantów – indukcja czynników tkankowych

WPŁYW STOSOWANIA LEKÓW PRZECIWPADACZKOWYCH NA STĘŻENIE HCY

Dane z literatury oceniające wpływ leków przeciwpadaczkowych (LPP) na występowanie hHcy są sprzeczne. Liczba prac jest ograniczona i często odnosi się do małych grup pacjentów. Badania dotyczą głównie karbamazepiny (CBZ), okskarbazepiny (OXC), kwasu walproinowego (VPA), lamotryginy (LTG), fenobarbitalu (PB) i fenytoiny (PHT) [25–37]. Niejasna pozostaje kwestia mechanizmu, w którym miałyby dochodzić do hHcy na skutek działania LPP. Najbardziej prawdopodobny i najczęściej sugerowany wydaje się wpływ LPP na stężenie Hcy poprzez zmniejszenie stężenia kwasu foliowego lub pozostałych kofaktorów metabolizmu Hcy (witaminy B₆ i B₁₂), niezbędnych w procesie remetylacji [39]. W przypadku dzieci z padaczką konieczne jest włączenie leczenia LPP i utrzymanie go przynajmniej przez okres kilku lat, a czasem przez całe życie. Potencjalny wpływ LPP na stężenie Hcy może być modyfikowany poprzez stosowanie suplementacji kwasem foliowym oraz witaminami B₆ i B₁₂ [33,40–42]. Nie ma jednak terapii, która nie jest obciążona występowaniem działań niepożądanych. W przypadku kilku pacjentów leczonych równocześnie LPP i suplementacją kwasem foliowym obserwowano leukopenię i „maskowanie” niedokrwistości megaloblastycznej, która wynikała z niedoboru witaminy B₁₂ [41]. Donoszono również o możliwym związku kwasu foliowego z epileptogenezą, z procesami nowotworzenia, z trudnościami w diagnostyce współistniejącej anemii, promowaniem napadów poprzez obniżanie stężenia LPP we krwi [43,44]. Z tego

powodu ocena stężenia Hcy i ewentualnego występowania hHcy w populacji dzieci z padaczką leczonych LPP powinna poprzedzać włączenie suplementacji kwasem foliowym, witaminami B₆ i B₁₂.

WPŁYW hHcy NA ROZWÓJ I FUNKCJĘ UKŁADU NERWOWEGO

Rozpatrując rolę Hcy w prawidłowym rozwoju i funkcji układu nerwowego u dziecka, nie można ograniczyć się wyłącznie do rozpatrywania wpływu samego stężenia Hcy. Istotna dla prawidłowego metabolizmu Hcy jest również podaż białek zwierzęcych jako źródła metioniny. Powstawanie grup metylowych potrzebnych do szeregu przemian w układzie nerwowym i całym organizmie wydaje się kluczowe dla rozwoju i funkcji układu nerwowego efektem metabolizmu Hcy. W związku z tym wszystkie czynniki zaburzające tworzenie grup metylowych wpływają na formowanie rozwijającego się układu nerwowego lub już ukształtowanego, powodując wystąpienie zaburzeń rozwoju.

Zaburzenia metabolizmu Hcy w zależności od momentu wystąpienia mogą powodować powstanie wad cewy nerwowej lub zaburzać funkcjonowanie prawidłowo ukształtowanego układu nerwowego. Odrębnym zagadnieniem jest wpływ hHcy na ciążę.

WPŁYW hHcy NA CIĄŻĘ

Pacjentki z hHcy znajdują się w grupie ryzyka wystąpienia szeregu nieprawidłowości zagrażających zarówno matce,

jak i dziecku. W populacji ciężarnych z hHcy obserwuje się większe ryzyko wystąpienia ciąż ektopowych, poronień, martwych urodzeń, wady cewy nerwowej (neural tube defect, NTD), preeklampsji, odklejania się łożyska, przedwczesnych porodów, wrodzonych wad serca płodu, zespołu Downa, upośledzenia wzrostu wewnątrzmacicznego i nawracających poronień [45]. Ze względu na wpływ Hcy na ścianę naczyń, promowanie miażdżycy i zaburzenie czynników krzepnięcia wskazana jest profilaktyka przeciwzakrzepowa w postaci stosowania heparyn przed porodem i w połogu [46]. Podczas ciąży dochodzi do redukcji krążącej Hcy do 36% wartości sprzed ciąży. Powraca ona do wyjściowych wartości sprzed ciąży pod koniec trzeciego trymestru. Zaburzenia związane ze wzrostem poziomu Hcy mogą w rzeczywistości wynikać z niedoborów kofaktorów lub mutacji enzymów biorących udział w przemianach Hcy, jak również ze zmiany ich wrażliwości i aktywności. Zwiększony poziom Hcy może też stanowić marker występujących niedoborów metioniny lub witamin [45].

ROLA ZABURZEŃ METABOLIZMU Hcy W POWSTAWANIU WAD CEWY NERWOWEJ

Istnieje wiele czynników genetycznych leżących u podłoża NTD. Rozszczep kręgosłupa jest często opisywany w chromosomopatiach, autosomalnych trisomiach. Występowanie NTD opisywano w zespołach dziedziczonych jednogenu, jak: zespół mózgowo-żebrowo-zuchwowy (cerebrocostalmandibular syndrome), zespół Frasera, zespół Meckel-Grubera, zespół Waardenburga [47–51]. Nie udało się dotychczas znaleźć jednego genu, którego mutacja byłaby odpowiedzialna za wystąpienie NTD. Wystąpienie wady w poprzedniej ciąży lub dodatni wywiad rodzinny w tym kierunku znamienne zwiększa ryzyko ponownego pojawienia się wady w kolejnej ciąży (rzędu 2–5% szansy wystąpienia NTD w kolejnej ciąży w przypadku np. przepukliny oponowo-rdzeniowej, 2,95% w przypadku wodogłowia, 3,47% dla wszystkich NTD łącznie) [52,53]. Równocześnie obserwowane ryzyko jest znacznie mniejsze niż spodziewane w przypadku dziedziczenia mendelowskiego. W bezmózgowiu ryzyko powtórzenia w kolejnej ciąży wynosi 2–5%, podczas gdy ryzyko mendelowskie byłoby rzędu 25% w przypadku dziedziczenia recesywnego lub 50% w przypadku dziedziczenia dominującego [48,53]. Na podstawie tych obserwacji wysunięto wniosek, że przyczyną wystąpienia NTD musi być raczej interakcja pomiędzy podłożem genetycznym leżącym u podłoża zmiany a wpływem środowiska, być może modyfikującym wpływ pierwszego [54–56].

Do czynników środowiskowych NTD należą: szerokość geograficzna, czynnik ekonomiczny, pora roku koncepcji, czynniki uszkodzające, tj. promieniowanie X, hipertermie, stres, leki (thalidomid, androgeny, leki przeciwpadaczkowe), hiperwitaminoza A, substancje chemiczne, alkohol, infekcje u matki, choroby metaboliczne matki itd. [57–60].

Poza czynnikami środowiskowymi i genetycznymi uwarunkowaniami kluczowe znaczenie dla prawidłowego procesu brudowania, neurulacji i dalszego wzrostu embrionu a następnie płodu mają substancje odżywcze

dostarczane w diecie matki i ojca (jakość gamet) [61,62]. Wśród czynników pokarmowych największe znaczenie ma kwas foliowy. W roku 1976 Smithells zaobserwował związek pomiędzy występującymi wadami cewy nerwowej u płodu a stwierdzeniem obniżonego stężenia kwasu foliowego we krwi matek chorych dzieci [63]. Kolejne badania wykazały czterokrotny spadek występowania wad cewy nerwowej u dzieci matek, które stosowały suplementację kwasem foliowym [64]. W dużym badaniu nad wpływem suplementacji kwasem foliowym, które objęło ponad 1800 kobiet mających w wywiadzie dziecko z NTD, wykazano redukcję liczby wad o 72% wartości pierwotnej, w kolejnej ciąży [65].

ROLA Hcy W POWSTAWANIU WAD CEWY NERWOWEJ

Metabolizm Hcy prowadzi do powstawania grup metylowych. Są one niezbędne do metylacji DNA, RNA, białek, neurotransmiterów i fosfolipidów. Wszelkie zaburzenia, które będą prowadziły do zaburzeń szlaku Hcy, w efekcie będą powodowały redukcję i zmniejszenie dostępności grup metylowych koniecznych do dalszych procesów metylacji. Brak możliwości metylacji uniemożliwia prawidłowy rozwój. W związku z tym należy rozpatrywać wpływ wszystkich czynników (kofaktorów i enzymów), które uczestniczą w metabolizmie Hcy na rozwój płodu [66].

WPLYW KWASU FOLIOWEGO NA METABOLIZM Hcy

Kwas foliowy jest integralnym elementem metabolizmu Hcy poprzez fakt, że jest niezbędny do prawidłowego przebiegu procesu jej remetylacji. W procesie tym dochodzi do utworzenia metioniny, z której następnie mogą być syntetyzowane grupy metylowe. W metabolizmie samego kwasu foliowego dochodzi do powstawania produktów reakcji koniecznych do syntezy DNA i RNA. Redukuje to poziom Hcy i umożliwia syntezę grup metylowych. Zaburzenia dotyczące kofaktora Hcy, jakim jest kwas foliowy, rozpatrywano w kontekście dostępności kwasu foliowego, jego wchłaniania, wewnątrzkomórkowego przechowywania i szeregu mutacji dotyczących enzymów zaangażowanych w przemiany Hcy i kwasu foliowego, m.in. MTHFR, CBS, MS, dehydrogenazy metylenotetrahydrofolianu (MTHFD) oraz pozostałych kofaktorów reakcji (witaminy B). Wchłanianie kwasu foliowego w przewodzie pokarmowym poprzez błonę komórkową drogą dyfuzji jest ograniczone i głównie odbywa się z udziałem białka transportującego (transporter zredukowanego folianu, reduced folate carrier, RFC). Mutacja w obrębie RFC redukująca stężenie kwasu foliowego zaburza proces syntezy grup metylowych i w ten sposób wpływa na wystąpienie NTD [67,68]. Transport kwasu foliowego przez błonę musi być poprzedzony połączeniem z receptorem kwasu foliowego. Obecnych jest kilka receptorów należących do grupy glikoprotein. Wyróżnia się cztery rodzaje receptorów: FA- α , FA- β , FA- γ i FA- δ . W badaniach doświadczalnych nad zarodkami zwierzęcymi największe znaczenie i powinowactwo do 5-metylotetrahydrofolianu ma receptor FA- α (dokładnie u zwierząt Fbp1, odpowiednik FA- α). Nie tylko jest on niezbędny do dostarczenia kwasu foliowego koniecznego do dalszych przemian w cyklu Hcy,

ale również jego ekspresja w komórkach embrionu wydaje się spełniać rolę sygnału inicjującego neurulację. Połączenie kwasu foliowego z FA- α konieczne jest do przeżycia zarodka, różnicowania neuroepitelium, rozpoczęcia namnażania, łączenia i migracji komórek nerwowych [69,70].

WPLYW POLIMORFIZMÓW ENZYMÓW ZAANGAŻOWANYCH W PRZEMIANY HCY I KWASU FOLIOWEGO NA METABOLIZM HCY

Zaburzenia dotyczące przemian kwasu foliowego, najczęściej analizowane w kontekście NTD, to mutacje i polimorfizmy MTHFR. Zdania na temat ewentualnego związku pomiędzy występowaniem określonych polimorfizmów a zwiększoną częstością występowania NTD w tej grupie pacjentów są podzielone. Część autorów uważa, że mutacje C677T i A1298C są związane z występowaniem NTD, podczas gdy w pracach innych autorów nie wykazano występowania tego związku [71–74].

W przemiany Hcy i kwasu foliowego zaangażowane są witaminy. Część autorów donosi o znaczeniu interakcji pomiędzy polimorfizmami występującymi u matki prowadzącymi tylko do obniżenia a nie niedoboru kwasu foliowego, które stanowią korzystne warunki do powstania NTD w przypadku pojawienia się kolejnego czynnika, np. niedoboru witaminy B12 [75]. Nie tylko niezależny czynnik genetyczny, ale również interakcja pomiędzy genami, zarówno gen-gen u dziecka, jak i gen-gen dziecko-matka i modyfikacja efektu stężeniem i dostępnością pozostałych kofaktorów wpływa na wystąpienie NTD [76]. Wyniki badań nie są jednoznaczne, część autorów nie obserwowała wpływu mutacji syntazy metioniny i reduktazy syntazy metioniny pojedynczo, jak i w kombinacjach ze sobą i innymi polimorfizmami enzymów cyklu kwasu foliowego [61,77].

Witamina B12 ma istotny wpływ na prawidłowy metabolizm Hcy i kwasu foliowego. Istnieje szereg mechanizmów prowadzących do niedoborów witaminy B12, a w konsekwencji do wzrostu poziomu Hcy. Najczęściej niedobór kobalaminy występuje u osób starszych i w wieku średnim. Znane są rzadkie wrodzone zespoły upośledzające prawidłowe wchłanianie i metabolizowanie wit. B12. Należą tu mutacje prowadzące do wrodzonych zaburzeń absorpcji (niedobór czynnika wewnętrznego i kubuliny, zespół Imerslund i Grasbecka), transportu kobalaminy lub metabolizmu kobalaminy. Zaburzenia transportu witaminy B12 objawiają się w okresie niemowlęcym niedokrwistością megaloblastyczną, opóźnieniem psychoruchowym, łagodną hHcy i kwasicą metylomalonową. W defektach metabolizmu objawy kliniczne mogą być różnie nasilone i przejawiać się: zaburzeniami zachowania, upośledzeniem umysłowym, opóźnieniem rozwoju psychoruchowego, zahamowaniem wzrostu, zaburzeniami świadomości, napadami padaczkowymi, problemami hematologicznymi (tj. anemia megaloblastyczna, makrocytarna), wodogłowie, retinopatia, zwyrodnienie siatkówki, zaburzenia kardiologiczne, kardiomiopatia.

Zaburzenia dotyczące kobalaminy mogą wynikać z mutacji prowadzącej do powstania homocystynurii, kwasicy metylomalonowej lub postaci mieszanej, w zależności od rodzaju występującej mutacji. W badaniach laborato-

ryjnych obserwuje się: hiperhomocysteinemię, hiperhomocystynemię, homocystynurię, kwasicę metylomalonową. Stężenie cystyny i metioniny nie ulega zwiększeniu [46,78,79]. Występowanie kwasicy metylomalonowej i hiperhomocysteinemii jest wskaźnikiem niedoboru witaminy B12 [80]. Wzrost stężenia kwasu metylomalonowego w surowicy $>0,376 \mu\text{mol/l}$ świadczy o niedoborze kobalaminy [81].

MUTACJE CBS A WYSTĘPOWANIE NTD

Obecność mutacji CBS zwiększa ryzyko wystąpienia NTD dwukrotnie poprzez zwiększenie stężenia Hcy [47]. Wyróżnia się łagodniejsze postaci homocystynurii – witamino B6 zależnej i cięższe postaci homocystynurii – niewrażliwe na witaminę B6 [82]. Obecnie znanych jest ponad 100 mutacji w obrębie CBS [83]. Częstość występowania mutacji CBS na świecie ocenia się na 1/344 000, 1/50 000 w krajach zachodnich, 1/17 800 w Niemczech, 1/65 000 w Irlandii [84]. Ostatnie badania opierające się na skryningu noworodków wykazały częstość występowania mutacji rzędu 1/58 000 do 1/100 000 [79]. Najbardziej charakterystycznym objawem jest podwichnięcie soczewki, występujące u nieleczonych chorych zwykle około 8 roku życia i obserwowane u 70% pacjentów powyżej 10 roku życia [85]. Zaburzenia dotyczące układu nerwowego to upośledzenie umysłowe, opóźnienie rozwoju psychoruchowego, zaburzenia psychiatryczne, rzadziej padaczka, udary mózgu, deficyty w badaniu neurologicznym, nieprawidłowości w badaniu EEG, miopatia, hipotonia mięśniowa. Ryzyko wystąpienia incydentu naczyniowego wynosi 30% w przypadku pacjentów w wieku 20 lat i 50% wśród pacjentów trzydziestoletnich [85]. W populacji 629 pacjentów z homocystynurią 25% miało epizod zatorowo-zakrzepowy. Wśród epizodów niedokrwiennych: 32% doznało zatoru płucnego, 11% zakrzepicy w naczyniach obwodowych, 4% zawału mięśnia sercowego. Poza tym obserwowano zwyrodnienie błony środkowej aorty i dużych tętnic, przerost i włóknienie błony wewnętrznej [86,87]. Wśród wad układu kostnego wyróżnia się: osteoporozę, dwuwklęsłe kręgi, skoliozę, wydłużone kości, nieprawidłowości zębów, ograniczenie ruchomości stawów, nieprawidłowe przynasady kości długich, koślawe kolana, „gotyckie” podniebienie, arachnodaktylię, deformację klatki piersiowej, powiększenie kości nadgarstka. W 15 roku życia u 50% pacjentów stwierdza się osteoporozę w badaniu radiologicznym [84,85]. Wśród innych objawów wymienia się: zmiany dotyczące skóry (hypopigmentacja, siność siatkowata, rumień policzków), nerki (cuchnący moczu), przewód pokarmowy (zapalenie trzustki, stłuszczenie wątroby), wygląd (wygląd marfanoidalny, przepukliny pachwinowe, wieloogniskowe zapalenie kaletek maziowych, odma opłucnowa, zaburzenia endokrynologiczne) [46, 79,84,85]. Leczenie wprowadzone szybko zapobiega pojawieniu się objawów klinicznych, a chorzy intelektualnie funkcjonują prawidłowo [46]. Leczenie polega na podaży: witaminy B6 (dla dzieci 150–500 mg/dobę), kwasu foliowego (5 mg/dobę), diety niskometioninowej, ewentualnie stosowania betainy (200–250 mg/kgmc/dobę w 2–3 dawkach u dzieci), choliny, witaminy B12, stosowaniu leczenia przeciwzakrzepowego [46].

PODSUMOWANIE

Hiperhomocysteinemia charakteryzuje się różnorodnością objawów klinicznych. Nieprawidłowy poziom Hcy istotnie wpływa zarówno na rozwijający się płód, jak i na dziecko. hHcy może być efektem mutacji, objawem niedoboru lub konsekwencją stosowanego leczenia. Równocześnie znana,

stosunkowo bezpieczna i tania metoda leczenia, jakim jest suplementacja witaminami z grupy B, oraz w większości przypadków bardzo dobre rokowanie po włączeniu leczenia, nakazuje lekarzowi prowadzącemu brać pod uwagę jako podłoże obserwowanych zaburzeń zaburzenia metabolizmu Hcy.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Perry D.J.: Hyperhomocysteinemia. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 1999; 12: 451–477.
- [2] Shinawi M.: Hyperhomocysteinemia and cobalamin disorders. *Mol Genet Metab* 2007; 90: 113–121.
- [3] Levasseur R.: Bone tissue and hyperhomocysteinemia. *Joint Bone Spine* 2009; 76: 234–240.
- [4] Bjorke Monsen A.L., Ueland P.M.: Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 7–21.
- [5] Dorszewska J., Winczewska-Wiktor A., Śnieżawska A., et al.: Homocysteine and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in epilepsy. *Przegl Lek* 2009; 66: 448–452.
- [6] Osganian S., Stampfer M., Spiegelman D., et al.: Distribution of and factors associated with serum homocysteine levels in children: Child and Adolescent Trial for Cardiovascular Health. *JAMA* 1999; 281: 1189–1196.
- [7] Ueland M., Refsum H., Beresford S. A.A., et al.: The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 324–332.
- [8] Welch G.N., Loscalzo J.: Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338:1042–1050.
- [9] Vilaseca M. A., Moyano D., Ferrer I., et al.: Total homocysteine in pediatric patients. *Clin Chem* 1997; 43: 690–692.
- [10] Refsum H., Smith A. D., Ueland P. M., et al.: Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50: 3–32.
- [11] Kang S.S., Wong P.W., Malinow M.R.: Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 279–298.
- [12] Mudd S. H., Finkelstein J. D., Refsum H., et al.: Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1704–1706.
- [13] Linnebank M., Linnebank M., Homberger A., et al.: High prevalence of the I278T mutation of the human cystathionine beta-synthase detected by a novel screening application. *Thromb Haemost* 2001; 85: 986–988.
- [14] Qureshi G. A., Baig S., Sarwar M., et al.: Neurotoxicity, oxidative stress and cerebrovascular disorders. *Neurotoxicology* 2004; 25: 121–138.
- [15] Loureiro S. O., Heimfarth L., Pelaez P. de L., et al.: Homocysteine activates calcium-mediated cell signaling mechanisms targeting the cytoskeleton in rat hippocampus. *Int J Dev Neurosci* 2008; 26: 447–455.
- [16] Apeland T., Frøyland E. S., Kristensen O., et al.: Drug-induced perturbation of the aminothioli redox-status in patients with epilepsy: improvement by B-vitamins. *Epilepsy Res* 2008; 82: 1–6.
- [17] Rosche J., Uhlmann C., Froscher W.: Low serum folate levels as a risk factor for depressive mood in patients with chronic epilepsy. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 2003; 15: 64–66.
- [18] Adler Nevo G., Meged S., Sela B. A., et al.: Homocysteine levels in adolescent schizophrenia patients. *Eur Neuropsychopharmacol* 2006; 16: 588–591.
- [19] Kaluzna-Czaplinska J., Michalska M., Rynkowski J.: Vitamin supplementation reduces the level of homocysteine in the urine of autistic children. *Nutr Res* 2011; 31: 874.
- [20] Duan W., Ladenheim B., Cutler R. G., et al.: Dietary folate deficiency and elevated homocysteine levels endanger dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2002; 80: 101–110.
- [21] Williams H.M., Lippok H., Doherty G.H.: Nitric oxide and peroxynitrite signalling triggers homocysteine-mediated apoptosis in trigeminal sensory neurons in vitro. *Neurosci Res* 2008; 60: 380–388.
- [22] Thambyrajah J., Townend J.N.: Homocysteine and atherothrombosis-mechanisms for injury. *Eur Heart J* 2000; 21: 967–974.
- [23] Topal G., Brunet A., Millanvoye E., et al.: Homocysteine induces oxidative stress by uncoupling of NO synthase activity through reduction of tetrahydrobiopterin. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1532–1541.
- [24] Herrmann M., Taban-Shomal O., Hubner U., et al.: A review of homocysteine and heart failure. *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 571–576.
- [25] Sachdev P.S.: Homocysteine and brain atrophy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 1152–1161.
- [26] Kurul S., Unalp A., Yis U.: Homocysteine levels in epileptic children receiving antiepileptic drugs. *J Child Neurol* 2007; 22: 1389–1392.
- [27] Vurucu S., Demirkaya E., Kul M., et al.: Evaluation of the relationship between C677T variants of methylenetetrahydrofolate reductase gene and hyperhomocysteinemia in children receiving antiepileptic drug therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 844–848.
- [28] Tamura T., Aiso K., Johnston K.E., et al.: Homocysteine, folate, vitamin B-12 and vitamin B-6 in patients receiving antiepileptic drug monotherapy. *Epilepsy Res* 2000; 40: 7–15.
- [29] Verrotti A., Pascarella R., Trotta D., et al.: Hyperhomocysteinemia in children treated with sodium valproate and carbamazepine. *Epilepsy Res* 2000; 41: 253–257.
- [30] Vilaseca M.A., Monros E., Artuch R., et al.: Anti-epileptic drug treatment in children: hyperhomocysteinemia, B-vitamins and the 677C->T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Eur J Paediatr Neurol* 2000; 4: 269–277.
- [31] Tan T.Y., Lu C.H., Chuang H.Y., et al.: Long-term antiepileptic drug therapy contributes to the acceleration of atherosclerosis. *Epilepsia* 2009; 50: 1579–1586.
- [32] Tumer L., Serdaroglu A., Hasanoglu A., et al.: Plasma homocysteine and lipoprotein (a) levels as risk factors for atherosclerotic vascular disease in epileptic children taking anticonvulsants. *Acta Paediatr* 2002; 91: 923–926.
- [33] Karabiber H., Sonmezgoz E., Ozerol E., et al.: Effects of valproate and carbamazepine on serum levels of homocysteine, vitamin B12, and folic acid. *Brain Dev* 2003; 25: 113–115.
- [34] Attilakos A., Papakonstantinou E., Schulpis K., et al.: Early effect of sodium valproate and carbamazepine monotherapy on homocysteine metabolism in children with epilepsy. *Epilepsy Res* 2006; 71: 229–232.
- [35] Belcastro V., Striano P., Gorgone G., et al.: Hyperhomocysteinemia in epileptic patients on new antiepileptic drugs. *Epilepsia* 2010; 51: 274–279.
- [36] Unal O., Deda G., Teber S., et al.: Thrombophilic risk factors in epileptic children treated with valproic acid. *Pediatr Neurol* 2009; 40: 102–106.
- [37] Gidal B. E., Tamura T., Hammer A., et al.: Blood homocysteine, folate and vitamin B-12 concentrations in patients with epilepsy receiving lamotrigine or sodium valproate for initial monotherapy. *Epilepsy Res* 2005; 64: 161–166.
- [38] Ozdemir O., Yakut A., Dinleyici E. C., et al.: Serum asymmetric dimethylarginine (ADMA), homocysteine, vitamin B(12), folate levels, and lipid profiles in epileptic children treated with valproic acid. *Eur J Paediatr* 2011; 170: 873–877.

- [39] Cheng L.S., Prasad A.N., Rieder M.J.: Relationship between antiepileptic drugs and biological markers affecting long-term cardiovascular function in children and adolescents. *Can J Clin Pharmacol* 2010; 17: 5–46.
- [40] Huemer M., Ausserer B., Graninger G., et al.: Hyperhomocysteinemia in children treated with antiepileptic drugs is normalized by folic acid supplementation. *Epilepsia* 2005; 46: 1677–1683.
- [41] Asadi-Pooya A. A., Ghetmiri E.: Folic acid supplementation reduces the development of some blood cell abnormalities in children receiving carbamazepine. *Epilepsy Behav* 2006; 8: 228–231.
- [42] Apeland T., Mansoor M. A., Pentieva K., et al.: The effect of B-vitamins on hyperhomocysteinemia in patients on antiepileptic drugs. *Epilepsy Res* 2002; 51: 237–247.
- [43] Reynolds E.: Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* 2006; 5: 949–960.
- [44] Belcastro V., Striano P.: Vitamin B12, folate and hyperhomocysteinemia in patients with epilepsy. *Ann Neurol* 2011; 69: 1067–1068.
- [45] Varela-Moreiras G., Murphy M. M., Scott J. M.: Cobalamin, folic acid, and homocysteine. *Nutr Rev* 2009; 67: 69–72.
- [46] Hozyasz K.: Wybrane choroby metaboliczne u dzieci, ed. B. Cabalska. Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa 2002; 134–170.
- [47] Saxena A. K., Gupta J., Pandey S., et al.: Prevalence of cystathionine beta synthase gene mutation 852Ins68 as a possible risk for neural tube defects in eastern India. *Genet Mol Res* 2011; 10: 2424–2429.
- [48] Padmanabhan R.: Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenit Anom (Kyoto)* 2006; 46: 55–67.
- [49] Wisniewska K., Wysocki J.: Primary prevention of neural tube defects by means folic acid supplementation – a summary of current recommendations in some European countries. *Standarty Medyczne* 2011; 8: 53–59.
- [50] Nye J.S., Balkin N., Lucas H., et al.: Myelomeningocele and Waardenburg syndrome (type 3) in patients with interstitial deletions of 2q35 and the PAX3 gene: possible digenic inheritance of a neural tube defect. *Am J Med Genet* 1998; 75: 401–408.
- [51] Ahdab-Barmada M., Claassen D.: A distinctive triad of malformations of the central nervous system in the Meckel-Gruber syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 1990; 49: 610–620.
- [52] Papp C., Adam Z., Toth-Pal E., et al.: Risk of recurrence of craniospinal anomalies. *J Matern Fetal Med* 1997; 6: 53–57.
- [53] Sebold C.D., Melvin E.C., Siegel D., et al.: Recurrence risks for neural tube defects in siblings of patients with lipomyelomeningocele. *Genet Med* 2005; 7: 64–67.
- [54] Zlotogora J.: Major gene is responsible for anencephaly among Iranian Jews. *Am J Med Genet* 1995; 56: 87–89.
- [55] Frey L., Hauser W.A.: Epidemiology of neural tube defects. *Epilepsia* 2003; 44: 4–13.
- [56] Volcik K.A., Blanton S.H., Kruzel M.C., et al.: Testing for genetic associations in a spina bifida population: analysis of the HOX gene family and human candidate gene regions implicated by mouse models of neural tube defects. *Am J Med Genet* 2002; 110: 203–207.
- [57] Dietl J.: Maternal obesity and complications during pregnancy. *J Perinat Med* 2005; 33: 100–105.
- [58] Ray J.G., Vermeulen M.J., Meier C., et al.: Risk of congenital anomalies detected during antenatal serum screening in women with pregestational diabetes. *QJM* 2004; 97: 651–653.
- [59] Shaw G.M., Nelson V., Olshan A.F.: Paternal occupational group and risk of offspring with neural tube defects. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2002; 16: 328–333.
- [60] Shepard T.H., Brent R.L., Friedman J.M., et al.: Update on new developments in the study of human teratogens. *Teratology* 2002; 65: 153–161.
- [61] O'Leary V.B., Mills J.L., Pangilinan F., et al.: Analysis of methionine synthase reductase polymorphisms for neural tube defects risk association. *Mol Genet Metab* 2005; 85: 220–227.
- [62] Wong W.Y., Merkus H.M., Thomas C.M., et al.: Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril* 2002; 77: 491–498.
- [63] Smithells R.W.: Epidemiology of malformations: inspiration and perspiration. *Teratology* 1974; 10: 217–220.
- [64] Blom H.J.: Folic acid, methylation and neural tube closure in humans. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2009; 85: 295–302.
- [65] Wald N., Sneddon J., Densem J., et al.: Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. MRC Vitamin Study Research Group. *Lancet* 1991; 338: 131–137.
- [66] Blom H.J., Smulders Y.: Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J Inher Metab* 2011; 34: 75–81.
- [67] Maddox D.M., Manlapat A., Roon P., et al.: Reduced-folate carrier (RFC) is expressed in placenta and yolk sac, as well as in cells of the developing forebrain, hindbrain, neural tube, craniofacial region, eye, limb buds and heart. *BMC Dev Biol* 2003; 3: 6.
- [68] Zhao R., Russell R. G., Wang Y., et al.: Rescue of embryonic lethality in reduced folate carrier-deficient mice by maternal folic acid supplementation reveals early neonatal failure of hematopoietic organs. *J Biol Chem* 2001; 276: 10224–10228.
- [69] Piedrahita J.A., Oetama B., Bennett G.D., et al.: Mice lacking the folic acid-binding protein Folbp1 are defective in early embryonic development. *Nat Genet* 1999; 23: 228–232.
- [70] Saitsu H., Ishibashi M., Nakano H., et al.: Spatial and temporal expression of folate-binding protein 1 (Fbp1) is closely associated with anterior neural tube closure in mice. *Dev Dyn* 2003; 226: 112–117.
- [71] Houcher B., Bourouba R., Djabi F., et al.: Polymorphisms of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase and cystathionine beta-synthase genes as a risk factor for neural tube defects in Setif, Algeria. *Pediatr Neurosurg* 2009; 45: 472–477.
- [72] Erdogan M.O., Yildiz S.H., Solak M., et al.: C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene does not affect folic acid, vitamin B12, and homocysteine serum levels in Turkish children with neural tube defects. *Genet Mol Res* 2010; 9: 1197–1203.
- [73] De Marco P., Calevo M.G., Moroni A., et al.: Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factors for NTD in the Italian population. *J Hum Genet* 2002; 47: 319–324.
- [74] Richter B., Stegmann K., Roper B., et al.: Interaction of folate and homocysteine pathway genotypes evaluated in susceptibility to neural tube defects (NTD) in a German population. *J Hum Genet* 2001; 46: 105–109.
- [75] Kirke P.N., Molloy A.M., Daly L.E., et al.: Maternal plasma folate and vitamin B12 are independent risk factors for neural tube defects. *Q J Med* 1993; 86: 703–708.
- [76] Relton C.L., Wilding C.S., Pearce M.S., et al.: Gene-gene interaction in folate-related genes and risk of neural tube defects in a UK population. *J Med Genet* 2004; 41: 256–260.
- [77] Brody L.C., Baker P.J., Chines P.S., et al.: Methionine synthase: high-resolution mapping of the human gene and evaluation as a candidate locus for neural tube defects. *Mol Genet Metab* 1999; 67: 324–333.
- [78] Shinawi M.: Hyperhomocysteinemia and cobalamin disorders. *Mol Genet Metab* 2007; 90: 113–121.
- [79] Cabalska B.: Wybrane choroby metaboliczne u dzieci. Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa 2002.
- [80] Bolann B.J., Solli J.D., Schneede J., et al.: Evaluation of indicators of cobalamin deficiency defined as cobalamin-induced reduction in increased serum methylmalonic acid. *Clin Chem* 2000; 46: 1744–1750.
- [81] Holleland G., Schneede J., Ueland P.M., et al.: Cobalamin deficiency in general practice. Assessment of the diagnostic utility and cost-benefit analysis of methylmalonic acid determination in relation to current diagnostic strategies. *Clin Chem* 1999; 45: 189–198.
- [82] Testai F.D., Gorelick P.B.: Inherited metabolic disorders and stroke part 1: Fabry disease and mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes. *Arch Neurol* 2010; 67: 19–24.

- [83] Kraus J.P., Janosik M., Kozich V., et al.: Cystathionine beta-synthase mutations in homocystinuria. *Hum Mutat* 1999; 13: 362–375.
- [84] Levasseur R.: Bone tissue and hyperhomocysteinemia. *Joint Bone Spine* 2009; 76: 234–240.
- [85] Yap S., Boers G.H., Wilcken B., et al.: Vascular outcome in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency treated chronically: a multicenter observational study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 2080–2085.
- [86] Mudd S.H., Skovby F., Levy H.L., et al.: The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 1–31.
- [87] Chiżyński K.: Hiperhomocysteinemia – ważny czynnik ryzyka choroby niedokrwiennej serca. *Polski Przegląd Kardiologiczny* 2002; 4: 103–108.

Adres do korespondencji:

Anna Winczewska-Wiktor, Katedra i Klinika Neurologii Wieku Rozwojowego, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań, awwiktor@ump.edu.pl