

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**ATEROSKLERÓZA A GENETICKÝ VLIV
POLYMORFISMU V GENU MTHFR**

Bakalářská práce

KRISTINA ŘEŽÁBKOVÁ

Školitelka: Mgr. Dagmar Bystřická, Ph.D.; Genlabs s.r.o.

České Budějovice 2017

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Řežábková, K. 2017: Ateroskleróza a genetický vliv polymorfismu v genu MTHFR [Atherosclerosis and genetic influence of polymorphism in the gene of methylenetetrahydrofolate reductase, Bachelor Thesis, in Czech] 45 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

ANOTATION

The aim of this work is to summarize the risk factors of atherosclerosis, and mostly highlight possible connection and impact of polymorphisms in the gene of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Further aim was to describe newly discovered polymorphisms that are often underestimated in present clinical examination.

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, datum

.....

PODĚKOVÁNÍ

Na prvním místě patří můj největší dík Mgr. Dagmar Bystřické, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce, cenné rady, odborný dohled a věcné připomínky. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a Amálce za obrovskou podporu při studiu, bez které by to v žádném případě nešlo.

OBSAH

ÚVOD.....	1
1 ATEROSKLERÓZA.....	2
1.1 PATOLOGIE ATEROSKLEROTICKÉ LÉZE.....	3
1.2 DYSFUNKCE ENDOTELU	3
1.2.1 TUKOVÉ PROUŽKY	4
1.2.2 FIBRÓZNÍ PLÁTY.....	4
1.2.3 KOMPLIKOVANÉ LÉZE.....	4
2 RIZIKOVÉ FAKTORY ATEROSKLERÓZY.....	6
2.1 NEOVLIVNITELNÉ FAKTORY	6
2.1.1 VĚK.....	6
2.1.2 POHLAVÍ	6
2.1.3 GENETICKÉ FAKTORY	6
2.2 OVLIVNITELNÉ FAKTORY	8
2.2.1 DYSLIPIDÉMIE	8
2.2.2 KOUŘENÍ.....	9
2.2.3 ARTERIÁLNÍ HYPERTENZE.....	10
2.2.4 DIABETES MELLITUS	12
2.2.5 OBEZITA.....	14
3 METHYLENTETRAHYDROFOLÁT REDUKTÁZA	16
3.1 POLYMORFISMY V GENU MTHFR.....	17
3.1.1 MTHFR C677T	19
3.1.2 MTHFR A1298C.....	20
3.1.3 MTHFR G1793A	21
4 HOMOCYSTEIN.....	22
4.1 METABOLISMUS HOMOCYSTEINU	22
4.2 HLADINA HOMOCYSTEINU V KRVÍ.....	23
4.3 INDIKACE K VYŠETŘENÍ HOMOCYSTEINU	24
4.4 HOMOCYSTEINURIE	24
4.5 HYPERHOMOCYSTEINÉMIE	24
5 HYPERHOMOCYSTEINÉMIE A RIZIKO KVO.....	26

6	ASOCIACE HYPERHOMOCYSTEINÉMIE S ATEROSKLERÓZOU	26
6.1	GENOMOVÁ METYLACE	26
7	DISKUZE.....	29
8	ZÁVĚR.....	31
9	ZDROJE	32
10	SEZNAM TABULEK.....	44
11	SEZNAM OBRÁZKŮ	45

SEZNAM ZKRATEK

AS	ateroskleróza
BMI	body mass index
cHcy	koncentrace homocysteinu
DM	diabetes mellitus
DM1T	diabetes mellitus 1. typu
DM2T	diabetes mellitus 2. typu
ED	endoteliální dysfunkce
FAD	flavinadenindinukleotid
FMD	vasodilatace závislá na endotelu
Hcy	homocystein
HDL	high-density lipoprotein
hHcy	hyperhomocysteinémie
HLP	hyperlipoproteinémie
ICHDK	ischemická choroba dolních končetin
ICHS	ischemická choroba srdeční
IL	interleukin
IMT	tloušťka intima-media
KV	kardiovaskulární
KVO	kardiovaskulární onemocnění
LDL	low-density lipoprotein
MTHFR	methylenetetrahydrofolát reduktáza
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
P	frekvence
OR	odds ratio (poměr šancí)

tHcy	celková hladina plazmatického homocysteinu
TK	tlak krve
TNF	tumor necrosis factor
WHO	World Health Organization

ÚVOD

Ateroskleróza, nebo také kornatění cév, je degenerativní onemocnění cévní stěny. Jde o dlouhodobý proces, při kterém se v závislosti na mnoha rizikových faktorech zužuje průsvit cév a poté dochází k omezenému přísunu krve k jednotlivým orgánům. Tento proces je způsoben ukládáním mnoha látek, ať už lipidů nebo buněčných částí, pod výstelku endotelu. Na stěně endotelu vzniká aterosklerotický plát, který v některých případech praská, a tím přes vznik trombu ucpává cévu, čímž zastavuje přívod krve na jednotlivá místa v těle pacienta.

Ateroskleróza (AS) bývá mimo jiné označována jako onemocnění 20. století a v evropských zemích je jednou z nejčastějších příčin úmrtí. Důvodem je, že v závislosti na poškozeném typu cévy je příčinou vzniku mnoha dalších chorob, jako je například náhlá příhoda mozková, ischemická choroba srdeční (*angina pectoris*) či akutní infarkt myokardu. Kromě mozkových a koronárních tepen mohou být aterosklerózou napadeny i tepny zásobující ledviny, z čehož plyne rozvoj nefrosklerózy. Při zasažení tepen dolních končetin jde pak o ischemickou chorobu dolních končetin.

Ve své rešerši se věnuji rizikovým faktorům aterosklerózy, přičemž bych kromě tradičních faktorů chtěla vyzdvihnout vliv hladiny celkového plazmatického homocysteinu v krvi na vznik aterosklerózy asociovaných s polymorfismy v genu pro methylentetrahydrofolát reduktázu (MTHFR). MTHFR je enzym katalyzující přeměnu 5,10-methyltetrahydrofolátu na 5-methyltetrahydrofolát, který je methyl-donor homocysteinu (Hcy). Tím se enzym MTHFR stává klíčovým při regulaci metabolismu Hcy. Mnoho metaanalýz dokázalo, že výskyt polymorfismů právě v genu pro MTHFR významně koreluje s enzymovou aktivitou, což ovlivňuje hladinu homocysteinu v krvi. Vzhledem k tomu, že Hcy je nezávislý rizikový faktor pro AS, mohou polymorfismy v genu MTHFR způsobovat onemocnění aterosklerózou.

1 ATEROSKLERÓZA

Ateroskleróza je jedním z nejčastějších chronických onemocnění a je také patologickým základem mnoha kardiovaskulárních chorob, jako je mrtvice a ischemická choroba srdeční. (Lin *et al.* 2016). Její výskyt se neustále zvyšuje v důsledku měnícího se životního stylu a s ní se bohužel také zvýšila úmrtnost na kardiovaskulární a cerebrovaskulární onemocnění. (Ross, 1999).

V současné době bývá ateroskleróza považována za zánětlivé onemocnění, jehož příčinou bývá poškození a dysfunkce vnitřní endotelové vrstvy, intimy. K tomuto poškození dochází vlivem mnoha rizikových faktorů. (Ridker, 2002) Jedním z rizikových faktorů, a zároveň po dlouhou dobu jedním z hlavních, je akumulace LDL (low-density lipoprotein) cholesterolu na stěnách tepen. Nicméně přes změny v životním stylu a s používáním nových léčiv snižujících hladinu cholesterolu, je kardiovaskulární onemocnění stále hlavní příčinou smrti v průměru u 51% u žen a 42% u mužů evropské populace. (Nichols *et al.*, 2014), přičemž úmrtnost v České republice se řadí na první místa z celé Evropy. (Češka, 2005). Je tedy jasné, že LDL cholesterol a ostatní tradiční faktory způsobující KVO nejsou jedinými příčinami, a tak se dostává do popředí například i dlouho opomíjené hladiny homocysteinu a jeho souvislost právě s KVO. (Erben, 2015).

1.1 PATOLOGIE ATEROSKLEROTICKÉ LÉZE

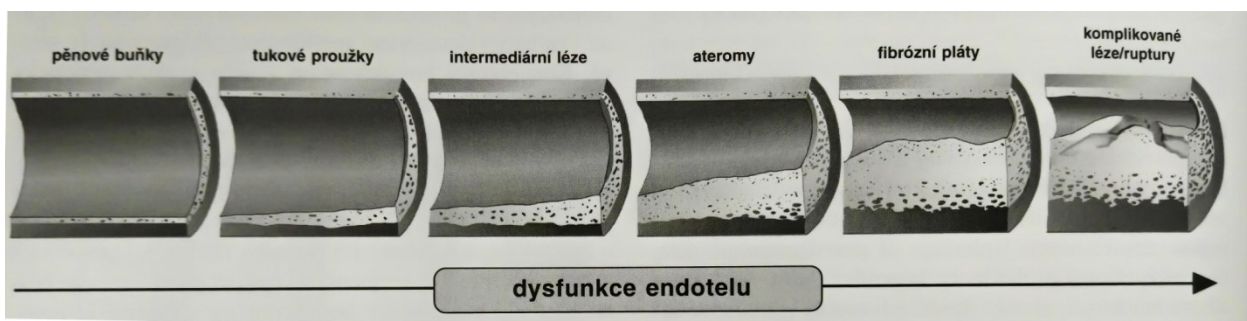
I když je ateroskleróza považovaná za celkové onemocnění, její léze se vyskytují pouze ve specifických místech velkých a středních arterií. Nejčastěji postiženými tepnami jsou například koronární arterie, břišní aorty, hrudní aorty, krkavice nebo tepny dolních končetin. (Ateroskleróza. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]; Češka *et al.*, 2005).

1.2 DYSFUNKCE ENDOTELU

Dysfunkce endotelu je patologický stav endotelu neboli vnitřní výstelky cév (Deanfield *et al.*, 2005). Normální funkce endoteliálních buněk zahrnují zprostředkování koagulace, adhezi krevních destiček, imunitní funkce a kontrolu objemu a elektrolytu v intravaskulárním a extravaskulárním prostoru. Endoteliální dysfunkce (ED) je hlavní fyziopatologický mechanismus, který vede k onemocnění koronárních tepen a dalších aterosklerotických onemocnění (Flammer *et al.*, 2012). ED je spojena se sníženou antikoagulační vlastností, stejně tak, jako se zvýšenou expresí adhezní molekuly, chemokinů a uvolňování cytokinů. To vede k zánětu a myofibroblastické migraci a proliferaci uvnitř cévy, z nichž všechny tyto faktory hrají důležitou roli v rozvoji aterosklerózy (Gokce, 2011).

Z patologicko-anatomického rozlišujeme tři základní formy aterosklerózy:

- tukové proužky
- fibrózní pláty (ateromy)
- komplikované léze



Obr. 1: Schéma vývoje aterosklerózy na průřezu artérie (převzato a upraveno dle Aschermann *et al.*, 2004).

1.2.1 TUKOVÉ PROUŽKY

Tukové proužky (fatty streaks) si získaly mimo jiné svůj název zejména kvůli svému vzhledu, který připomíná tukové vrstvy svaloviny (Singh & Mengi *et al.*, 2002). Vyskytují se běžně již v dětském věku, dokonce i u novorozenců. Nacházejí se v intimě velkých cév a jeví se jako bílo-žluté obyčejné zabarvení, běžně viditelné pouhým okem a skládají se z několika elementů, jako jsou pěnové buňky, jež vznikají z makrofágů, T-buňky, agregované destičky a buňky hladkého svalstva (Guyton & Hall, 2006).

1.2.2 FIBRÓZNÍ PLÁTY

Fibrózní pláty (ateromy) jsou seskupení degenerativních ložisek na vnitřní straně stěny arterie. Tato ložiska se skládají z makrofágů, velkého množství proliferujících buněk hladkých svalů a lymfocytů (Hotamisligil, 2010). Směs těchto elementů je uložena ve hmotě skládající se z kolagenní matrix a tuků, a pokud je uložena v ložisku v hlubších vrstvách arterie, tak může dojít k případné nekróze této tkáně (Češka, 2005).

1.2.3 KOMPLIKOVANÉ LÉZE

Komplikované léze se tvoří z fibrózních plátů procesem kalcifikace odumřelých buněk, kdy se degenerují svalové buňky sousedící s ateromy nebo buňky přímo na samotném ateromu (Miller, 2013). Místo komplikované léze se pak stává adhezivní pro trombocyty, což podněcuje a zároveň současně organizuje trombózu. Makroskopicky se tato léze jeví podobně jako ateroma, ale vyskytuje se zde více erytrocytů v důsledku trombózy (Češka, 2005).

Aterosklerotické pláty lze dělit na *stabilní* a *nestabilní*. Stabilní plát nemá tak vysoký obsah tuků, tudíž nemá takový předpoklad k ruptuře, která zapříčiňuje trombózu, tak jako plát nestabilní, který je bohatý na lipidy a často na okrajích díky tomu praská a tím dává vznik trombóze, která se projeví jako akutní cévní příhoda (Češka, 2005).

V případě, že se vláknitá měkká čepička, která odděluje aterom od krevního řečiště, protrhne, do tepny se uvolní fragmenty tkáně. Tyto tkáňové fragmenty jsou vysoce srážlivé, protože obsahují kolagen a tkáňový faktor, který aktivuje krevní destičky a aktivuje systém koagulace. Výsledkem je tvorba trombu (krevní sraženiny) překrývající aterom, který akutně znemožní průtok krve v cévě. To znemožní přísun kyslíku a živin do tkáně. Jednotlivé aterosklerotické pláty nemusí zůstat pouze na jednom místě, ale mohou být distribuovány nehomogenně krevním řečištěm na jiná místa působení (Maton & Anthea, 2003).

2 RIZIKOVÉ FAKTORY ATEROSKLERÓZY

2.1 NEOVLIVNITELNÉ FAKTORY

2.1.1 VĚK

Ateroskleróza je proces probíhající desítky let a pravděpodobnost jejího projevu roste s věkem. Nejenže se stoupajícím věkem se hromadí cholesterol v endotelu tepen, ale také samotné cévní a buněčné stárnutí je spojené se zvýšenou expresí protizánětlivých cytokinů a adhezních molekul, které podporují zánětlivá onemocnění jako je ateroskleróza. (Wang, 2012). Za rizikový věk z hlediska ischemické choroby srdeční (ICHS) je mezní věk nad 45 let u mužů a nad 55 let u žen. Hranice u žen koreluje s kolísající hladinou estrogenu, takže například u ooforektomie (odstranění vaječnicků) bez doplňkové léčby estrogenu se věková hranice pro riziko aterosklerózy snižuje. (Aschermann *et al.*, 2004)

2.1.2 POHLAVÍ

Je prokázáno, že je výrazně vyšší riziko postižení aterosklerózou u mužů. U žen po menopauze riziko vzrůstá, protože přestávají působit estrogenu jako ochranný faktor. Ženy před menopauzou profitují ze zvýšené koncentrace HDL-cholesterolu (high-density lipoprotein) právě díky estrogenu. (Aschermann *et al.*, 2004) HDL-cholesterol má za úkol reverzně transportovat cholesterol z periferních tkání do jater, kde je dále metabolizován. (HDL. In: *WikiSkripta* [online]).

2.1.3 GENETICKÉ FAKTORY

Genetické faktory jdou ruku v ruce s těmi tradičními, stejně tak, jako u většiny

kardiovaskulárních (KV) chorob. Hlavními ukazateli heritability aterosklerózy a ostatních KV chorob je tloušťka intima-media (IMT – intima.media thickness) a vazodilatace závislá na endotelu (FMD – flow-mediated dilation), které jsou zároveň i prediktivními ukazateli následného infarktu myokardu (Fox, 2003).

IMT a FMD odrážejí strukturální a funkční vlastnosti cév a díky tomu dobře předvídají kardiovaskulární výsledek. IMT představuje kvantitativní marker generalizované aterosklerózy. Zvýšená IMT a cévní reaktivita je často doprovázena rodinnou anamnézou postiženou hypertenzí, ischemickou chorobou srdeční, předčasným infarktem myokardu nebo předčasnou mrtvicí (Ryabikov, 2007).

2.2 OVLIVNITELNÉ FAKTORY

2.2.1 DYSLIPIDÉMIE

Dyslipidémie, dříve označovaná jako hyperlipoproteinémie (HPL), je definována jako onemocnění metabolismu, jež má za následek vyšší koncentraci lipidů nebo lipoproteinů v plazmě (Dyslipidémie. In: *Wikiskripta* [online]).

Dyslipidémie se klasifikuje na:

- **primární dyslipidémii**
- **sekundární dyslipidémii**

Primární dyslipidémie (nebo také familiární) je autozomálně dominantní onemocnění, které je zapříčiněno různými mutacemi postihující gen pro LDL (low-density protein) receptor, který leží na krátkém raménku 19. chromozomu. Postižení pacienti buď netvoří žádné LDL receptory nebo jsou tyto receptory tvořeny normálně, ale nejsou transportovány na povrch buňky, tudíž neplní svou funkci. Mezi další příčiny může patřit špatné navázání LDL receptoru na lipoprotein, čímž vážne internalizace komplexu receptor-lipoprotein do buňky (Češka *et al.*, 2005).

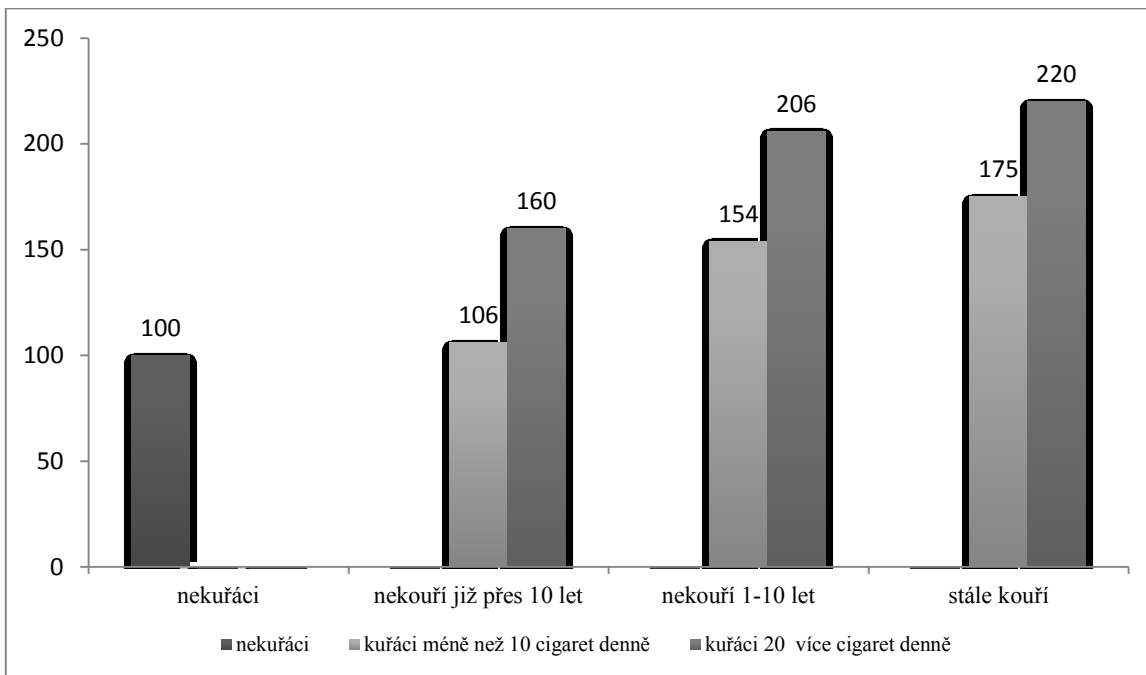
Sekundární dyslipidémie (nebo získaná) často podobná primární formě dyslipidémie a může mít podobné následky (Chait & Brunzell, 1990). Může mít za následek zvýšené riziko předčasné aterosklerózy, nebo pokud je spojována s výraznou hypertriglyceridémií, může vést k pankreatitidě a dalším komplikacím. Mezi nejčastější příčiny získané dyslipidémie patří diabetes mellitus, užívání léků, jako jsou thiazidová diuretika, beta blokátory a estrogenery. Mezi jiné příčiny patří například hypotyreóza, selhání ledvin nebo nefrotický syndrom (Boman *et al.*, 1975).

2.2.2 KOUŘENÍ

Není pochyb o tom, že kouření patří k jedné z nejčastějších příčin kardiovaskulárního onemocnění. Koronární onemocnění je způsobeno z 35-40% právě kouřením, což bylo dokázáno v mnoha studiích (Ezzati & Lopez, 2004). Kouření přispívá ve velké míře k ateroskleróze a akutním trombotickým příhodám, což bývá znatelné již v mladém věku jedince, při spotřebě více než 20 kusů cigaret denně. Takovýto jedinec má 5,6x vyšší riziko akutního infarktu myokardu a trombózy než nekuřák stejného věku (Teo *et al.*, 2006). Cigaretový kouř obsahuje více než 4000 chemických látek včetně polycyklických aromatických uhlovodíků a oxidačních plynů, z nich většina mimo jiné působí negativně svým karotidickým účinkem. Přesná povaha a toxický mechanismus mnoha těchto látek však nebyla úplně přesně objasněna (Ambrose & Barua, 2004).

Kouření má přímý vliv na vznik aterosklerózy, buď poškozením endotelu cévy (Zimmermann *et al.*, 1987), zvýšenou adhezí trombocytů či zvýšeným účinkem nikotinu a oxidu uhelnatého (McGovern *et al.*, 1996).

Mezi další následky kouření nepatří však jen vznik, ale i samotná akcelerace aterosklerotických procesů. O tomto faktu vypovídá rozsáhlá studie dvojčat, kdy jedno dvojče kouřilo a druhé ne. Výsledkem byly prokazatelné až 3x větší plaky na karotidách než u nekouřících osob. Velikost plaků je úměrně závislá na velikosti a poté samotném zúžení cév, což u koronárních arterií zvyšuje riziko infarktu (Haapnen *et al.*, 1989).



Obr. 2: Poměrná úmrtnost na kardiovaskulární nemoci podle kuřáckých zvyků (úmrtnost nekuřáků =100); (převzato a upraveno podle Aschermann *et al.*, 2004).

2.2.3 ARTERIÁLNÍ HYPERTENZE

Za arteriální hypertenzi (systolicko-diastolickou) považujeme u osob nad 18 let opakovaně zjišťované zvýšení tlaku krve (TK) na hodnoty 140/90 mm Hg nebo vyšší alespoň u dvou ze tří měření TK, pořízených při dvou různých návštěvách. Arteriální hypertenze se dělí, jak je patrné z tabulky I, na mírnou (TK 140-159/90-99 mm Hg), středně závažnou (TK 160-179/100-109 mm Hg) a těžkou (TK > 180/110 mm Hg) (European Society of Hypertension, 2016).

Dále je možné hypertenzi dělit na dvě skupiny, a to **primární** a **sekundární**.

Tab. I: Klasifikace hypertenze podle výše krevního tlaku a stratifikace normálního krevního tlaku pro dospělé osoby starší 18 let (Aschermann *et al.*, 2004).

	Systolický TK (mm Hg)	Diastolický TK (mm Hg)
Normotenze	< 140	< 90
optimální TK	< 120	< 80
normální TK	120-129	80-84
vyšší normální	130-139	85-89
Hypertenze	≥ 140	≥ 90
stupeň 1 (mírná)	140-159	90-99
stupeň 2 (středně závažná)	160-179	100-109
stupeň 3 (těžká)	≥ 180	≥ 110

Dále je možné hypertenzi dělit na dvě skupiny, a to **primární** a **sekundární hypertenzi**.

Primární hypertenze (nebo také idiopatická či esenciální) je běžná forma vyskytující se až u 95 % pacientů s hypertenzí (Oparil *et al.*, 2003). Ze své podstaty nemá žádnou identifikovatelnou příčinu a je pravděpodobné, že je důsledkem kombinace genetických faktorů a životního stylu. Primární hypertenze má za následek zvýšení rizika mozkové, srdeční či renální příhody (Hall, 2006).

Druhý typ, **sekundární hypertenzi** definujeme jako formu hypertenze, jež vzniká na základě podložitelné primární příčiny. Je mnohem méně častý než typ první a postihuje pouze 5% pacientů s hypertenzí (O'Brien *et al.*, 2007). Mezi příčiny vzniku sekundární hypertenze patří například endokrinní onemocnění (Samuel, 2003), vedlejší účinky léků (Akinbamowo *et al.*, 2008), těhotenství a mnoho dalších (Kang & Struben, 2008).

2.2.4 DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus (DM) je považován v dnešní společnosti za pandemické onemocnění, které je chronické a vede k vysoké morbiditě či invaliditě (Rybka, 2000).

Diabetes je způsoben buď tím, že slinivka neprodukuje dostatečné množství inzulínu, nebo tím, že buňky z těla neumí správně reagovat na vytvářený inzulín (Shoback, 2011).

Současná klasifikace rozděluje DM na tyto typy:

- *Diabetes mellitus 1.typu*
- *Diabetes mellitus 2.typu*
- *Gestační diabetes mellitus*

Diabetes mellitus 1. typu (DM1T) je charakterizován ztrátou až 90% beta buněk, produkujících inzulín v Langerharsových ostrůvcích v pankreatu. DM1T se klasifikuje jako autoimunitní reakce, kdy T-lymfocyty mohou rozpoznat antigeny β -buněk. (Rother, 2007). Aby mohlo dojít k rozvoji DM1T, je vždy nutná genetická predispozice (Bureš, 2014).

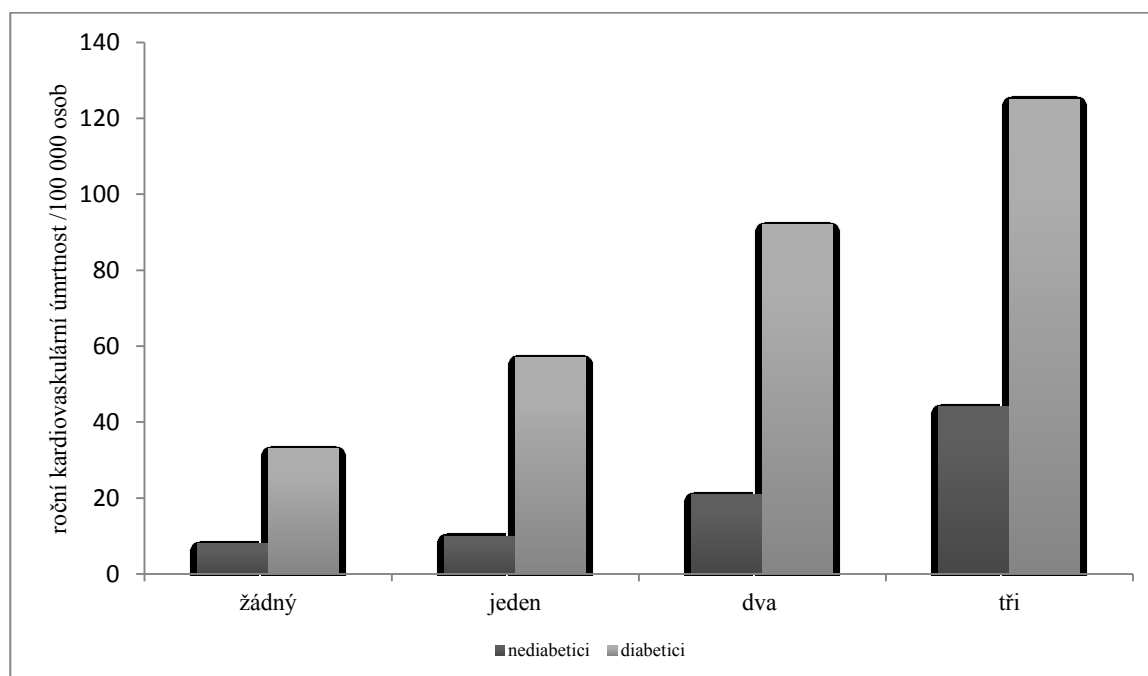
Diabetes mellitus 2. typu (DM2T) se vyznačuje rezistencí na inzulín, která může být v kombinaci s relativně sníženou sekrecí inzulínu (Gardner, 2011). Defekt se tedy předpokládá v určitých tkáních, které na inzulín nereagují tak, jak by měly. DM2T vzniká na základě faktorů životního stylu a genetiky. Co se týče životního stylu, na vzniku DM se podílí obezita, nedostatek fyzické aktivity, špatné stravovací návyky (velká spotřeba cukrů nebo nasycených tuků a trans mastných kyselin) nebo i stres (Risérus & Willett *et al.*, 2009).

Gestační diabetes mellitus je stav, který se u žen objeví pouze v době těhotenství a může zvyšovat riziko například preeklampsie (Těhotenský diabetes. In: : *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]).

Asi 75% pacientů s DM2T a 35% diabetiků 1. typu umírá na kardiovaskulární onemocnění. DM

je typický tím, že jedinci jím postižení trpí hyperglykemií, která má za následek rozvoj metabolických odchylek, jež způsobují v závislosti na délce trvání patologické změny tkání a orgánů. Tyto metabolické odchylky nejsou ale vyvolávány pouze jedním patologickým mechanismem, nýbrž se na něm podílí například polyolová cesta, kdy buňka kvůli metabolickým změnám spotřebovává více NAD^+ , což vede k ischemii myokardu. Dále se na odchylkách podílí mimo jiné i zvýšený oxidační stres nebo zvýšená aktivita proteinkinázy C (Stamler *et al.*, 1993).

DM může ovlivňovat nejen všechny struktury myokardu, ale také koronární cévy urychlenou dysfunkcí endotelu, a na rozvoj aterosklerózy mimo jiné působí i počet a kombinace rizikových faktorů.



Obr. 3: Kardiovaskulární mortalita diabetiků a nediabetiků podle počtu přítomných rizikových faktorů (převzato a upraveno podle Aschermann *et al.*, 2004).

Podle rozsahu postižení a změn v cévním řečišti se rozlišuje *mikroangiopatie* a *makroangiopatie*.

V případě mikroangiopatie se jedná o onemocnění malých krevních cév, přičemž se zhoršuje nebo zcela zastavuje přívod krve do dané oblasti (Microangiopathy. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]), na rozdíl od makroangiopatie, což označuje aterosklerotické projevy na větších tepnách (Macroangiopathy. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]).

2.2.5 OBEZITA

Několik průřezových studií prokázalo, že pravidelná fyzická aktivita má vliv na snížení rizika kardiovaskulárních chorob (Rosengren & Wilhelmsen, 1997). Pohyb má příznivé účinky zejména na hodnoty krevního tlaku, udržování tělesné hmotnosti, profilu lipidů a kontroly glukózové tolerance. Cvičení také příznivě ovlivňuje správnou funkci endotelu a snižuje reaktivitu trombocytů. Obezita jako taková je podle WHO zdravotní stav, v němž je nadbytek tělesného tuku nahromaděného do té míry, že by mohl mít nepříznivý vliv na zdravotní stav jedince. Je definována hodnotami body mass indexu (BMI) a dále se hodnotí s rozložením tělesného tuku a rizikovými faktory pro kardiovaskulární onemocnění (Sweeting, 2007).

BMI je definován jako hmotnost subjektu dělená druhou mocninou jejich výšky a vypočte se následujícím způsobem:

$$\text{BMI} = \frac{m}{h^2}$$

Klasifikaci podle hodnot BMI lze vidět v tabulce II.

Tab. II: Klasifikace tělesné hmotnosti na základě vypočtených hodnot BMI (World Health Organization, 2014).

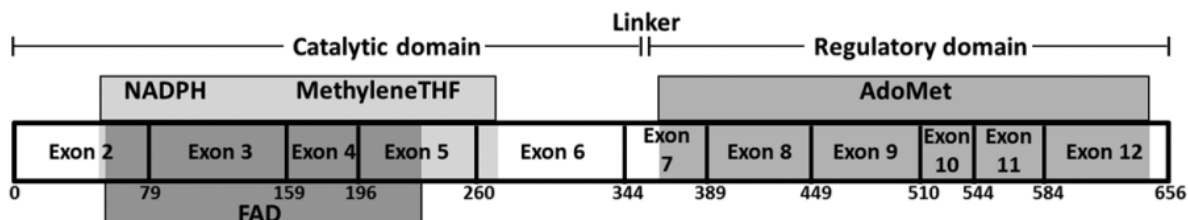
BMI (kg/m ²)		klasifikace
	≤18,5	podváha
18	25	normální váha
25	30	nadváha
30	35	obezita 1. stupně
35	40	obezita 2. stupně
40 ≤		obezita 3. stupně

Očekávaná délka života je vyšší při BMI v rozmezí 20-25. Obezita sama o sobě představuje predispozici k inzulinové rezistenci, DM a dyslipidémii, ale zároveň sama tuková tkáň produkuje množství látek podílejících se na aterogenezi. Mezi tyto látky patří cytokiny jako TNF α a nebo IL-6 (interleukin) (Češka *et al.*, 2005).

3 METHYLENTETRAHYDROFOLÁT REDUKTÁZA

Metylentetrahydrofolát reduktáza (MTHFR) představuje významný cytosolický enzym, který má za úkol katalyzovat redukci 5,10-metylentetrahydrofolát na 5-metyltetrahydrofolát (Murali *et al.*, 2016). Ten je nezbytný pro následný metabolismus homocysteinu (Yang *et al.*, 2014). MTHFR obsahuje nekovalentně vázaný FAD (flavin-adenin-dinukleotid) jako kofaktor a používá NADPH (nikotinamidadenindinukleotidfosfát) jako redukční činidlo (Liew, 2015). Dále je zodpovědný za přeměnu cirkulující formy folátu 5,10-metylentetrahydrofolát na 5-metyltetrahydrofolátu ve vícestupňových procesech, které převádí homocystein na methionin a S-adenosyl methionin, což je společný methyl-donor pro udržení několika biologických procesů. Tělo používá methionin k syntéze proteinů a dalších důležitých látek pro růst a normální metabolismus. Dále cílená methylace zefektivňuje vylučování škodlivých látek a metabolitů (Alam, 2016).

Lidský gen pro MTHFR je homodimer (obě monomerové složky jsou stejné). Každá podjednotka obsahuje N-terminální katalytickou doménu, kterou tvoří aminokyseliny aa 1-356. Tento N-konec váže methylenTHF, NADPH, FAD⁻. Dále obsahuje C-koncovou regulační doménu, kterou tvoří proteiny aa363-656. Tyto domény konce jsou propojeny krátkou spojovací oblastí. Katalytická doména je schopná provádět celou enzymatickou reakci (Froese *et al.*, 2015).



Obr. 4: Proteinové schéma MTHFR (převzato a upraveno dle Froese *et al.*, 2015).

3.1 POLYMORFISMY V GENU MTHFR

U lidí je gen MTHFR lokalizován na chromozomu 1p36.3 (p = krátké raménko chromozomu) a byl podle studií z roku 1998 popsán jako gen obsahující 11 exonů (Goyette *et al.*, 1998). Současné studie však prokázaly, že gen MTHFR obsahuje exonů 12. (Froese *et al.*, 2016).

Polymorfismus je definovaný tím, že se v populaci objeví pro určitý genotyp alespoň 2 genetické varianty, neboli alely, a zároveň musí frekvence jeho výskytu překročit v populaci 1%. Aby se takovýto polymorfismus mohl nějak projevit, musí se vyskytovat v tzv. kódujících oblastech – exonech. (Polymorfismus. In: *WikiSkripta* [online]). V lidské populaci bylo podle studie z roku 2000 rozpoznáno až 24 polymorfismů v genu MTHFR (Sibani *et al.*, 2000).

Pozdější studie ale překvapily objevem více než 109 mutací a polymorfismů v rámci 171 rodin v MTHFR genu (Froese *et al.*, 2016), ale mezi ty nejvíce vyšetřované stále patří polymorfismy C667T a A1298C (Jadavji *et al.*, 2015).

Mutace a polymorfismy pro gen MTHFR byly zjištěny v každém z 12 exonů, až na exon číslo 1, který jako jediný nekóduje žádnou sekvenci. Tyto polymorfismy způsobují buď vadu při procesu splicingu, posun čtecího rámce a předčasné ukončení translace (Froese *et al.*, 2016). V tabulce III je možné se přesvědčit o hojném výskytu variability MTHFR genu.

Uvedené varianty genu patří převážně do skupiny missense mutací, jež způsobují zařazení jiné aminokyseliny, čímž je zapříčiněna změna genového produktu, anebo úplné znemožnění jeho funkce. Další mutace jsou tzv. nonsense mutace, jež způsobí substituci, která dává vznik novému stop kodonu. Tím se krátí genový produkt, který s největší pravděpodobností bude nefunkční (Mutace. In: *WikiSkripta* [online]).

Tab. III: Výběr variant polymorfismů v MTHFR u rodin s těžkým deficitem MTHFR, zmíněné dopsud v odborné literatuře (převzato a upraveno dle Froese et al., 2016).

Nukleotidová změna	Exon/Intron	Počet alel	Počet rodin	Studie
1C41-40T	Intron 1	1	1	(Burda <i>et al.</i> , 2015)
C148T	Exon 2	3	2	(Burda <i>et al.</i> , 2015)
G167A	Exon 2	10	8	(Goyette <i>et al.</i> , 1995)
1G248A	Intron 2	2	1	(Wong <i>et al.</i> , 2015)
G358A	Exon 3	2	2	(Arai & Osaka, 2011)
G482A	Exon 3	9	6	(Michot <i>et al.</i> , 2008)
C559T	Exon 4	10	6	(Goyette <i>et al.</i> , 1994)
G590A	Exon 4	1	1	(Tonetti <i>et al.</i> , 2003)
C772T	Exon 5	2	1	(Burda <i>et al.</i> , 2015)
1G792A	Intron 5	4	2	(Goyette <i>et al.</i> , 1995)
T1027G	Exon 6	12	5	(Kluijtmans <i>et al.</i> , 1998)
T1025C	Exon 6	6	5	(Sibani <i>et al.</i> , 2003)
C1081T	Exon 7	9	2	(Goyette <i>et al.</i> , 1995)
C1141T	Exon 7	15	10	(Goyette <i>et al.</i> , 1996)
T1316C	Exon 8	3	2	(Urreizti <i>et al.</i> , 2010)
1G1359A	Intron 8	2	2	(Prasad <i>et al.</i> , 2011)
G1542A	Exon 9	25	13	(Richard <i>et al.</i> , 2013)
2T1542C	Intron 9	1	1	(Burda <i>et al.</i> , 2015)
C1615T	Exon 10	4	2	(Tonetti <i>et al.</i> , 2001)
2T1644G	Intron 10	4	3	(Burda <i>et al.</i> , 2015)
C1711T	Exon 11	8	5	(Kluijtmans <i>et al.</i> , 1998)
18G1765A	Intron 11	7	4	(Burda <i>et al.</i> , 2015)
G1982C	Exon 12	5	2	(Tonetti <i>et al.</i> , 2003)

3.1.1 MTHFR C677T

Polymorfismus MTHFR C677T, kdy dochází k substituci cytosinu za thymin na pozici 677 (C677T) byla poprvé popsána v roce 1991 a později, v roce 1995 byla poprvé geneticky charakterizována (Wilcken *et al.*, 2003). Výše popsaná substituce má za následek výměnu alaninu za valin, což redukuje enzymovou aktivitu zhruba o 35% u heterozygotů (CT genotyp) a o 70% u homozygotů (TT genotyp) (van der Put, 1998). Prevalence této mutace byla poprvé popsána u francouzských Kanadánů s touto alelovou frekvencí: 38% pro homozygotní TT genotyp. Později byla frekvence T alely stanovena v kavkazské populaci na 36%, v asijské na 40%, a v afroamerické na 5% (Franco *et al.*, 1998). Jiná studie uvádí, že v evropské populaci se vyskytuje až 12% homozygotů TT, 43% heterozygotů CT a 45% homozygotů CC pro tento polymorfismus (Prinz-Langenohl *et al.*, 2009).

MTHFR C677T polymorfismus je dále charakterizován větší citlivostí na tepelnou inaktivaci v porovnání s normálním enzymem *in vitro*. Pokud byly lymfocyty inkubovány při 46 ° C po dobu 5 minut, zbytková aktivita tohoto variantního enzymu MTHFR byla výrazně nižší než u normálního enzymu, a proto byla tato mutace také pojmenována jako termolabilní MTHFR (Stern *et al.*, 2000). MTHFR C667T polymorfismus je také úzce spojen s celkovou hladinou plasmatického homocysteinu (tHcy), a to právě díky snížené enzymové aktivitě, která vede k jeho poklesu (Lin,2016).

Tab. IV: Procentuální zastoupení polymorfismu C667T ve vybraných populacích (převzato a upraveno dle MDL [online]).

Populace	Genotypová frekvence (%)		
	CC	CT	TT
Asijská	30-60	35-50	3-20
Africká	78	20	2
Bělošská	30-55	40-50	4-25
Hispanšská	20-45	40-50	20-30

3.1.2 MTHFR A1298C

MTHFR A1298C je druhý nejvíce zmiňovaný prevalentní polymorfismus v genu MTHFR. Má spojitost se sníženou enzymovou aktivitou *in vitro*, tak jako to mu je u polymorfismus C677T. Tato genetická varianta zahrnuje výměnu adeninu za cytosin v pozici 1298, což má za následek substituci kyseliny glutamátové za alanin v aminokyselinovém řetězci. (Frosst *et al.*, 1995).

Tab. V: Procentuální zastoupení polymorfismu A1298C ve vybraných populacích (převzato a upraveno dle MDL [online]).

Populace	Genotypová frekvence (%)		
	AA	AC	CC
Asijská	50-65	30-45	2-4
Africká	65	30	3
Bělošská	45-50	40-45	10-12
Hispanšská	50-65	25-35	2-6

3.1.3 MTHFR G1793A

V roce 2002 (Rady *et al.*, 2002) bylo poprvé popsáno nové polymorfnní místo v genu MTHFR, a to polymorfismus nesoucí název G1793A. Jedná se o variantu, u které došlo k výměně guaninu za adenin v pozici 1793, což má za následek syntézu argininu místo glutaminu. V průběhu let bylo ukázáno, že varianta alela souvisí s citlivostí na několik druhů rakoviny. Bohužel je nedostatečná distribuce vyšetření tohoto polymorfismu po celém světě. Polymorfismus G1793A je ve vazebné nerovnováze s oběma zmíněnými polymorfismy, C667T a A1298C (Shen., 2015). Procentuální zastoupení polymorfismu ve vybraných populacích vidíme v tabulce VI.

Tab. VI: Procentuální zastoupení polymorfismu G1793A ve vybraných populacích (převzato a upraveno podle Renfang *et al.*, 2008).

Populace	Počet vzorků	Genotypová frekvence (%)		
		GG	GA	AA
Asijská	923	82,1	17,2	0,7
Africko-americká	97	93,8	6,2	0,0
Bělošská	159	86,8	12,6	0,6
Hispánská	96	88,4	11,6	0

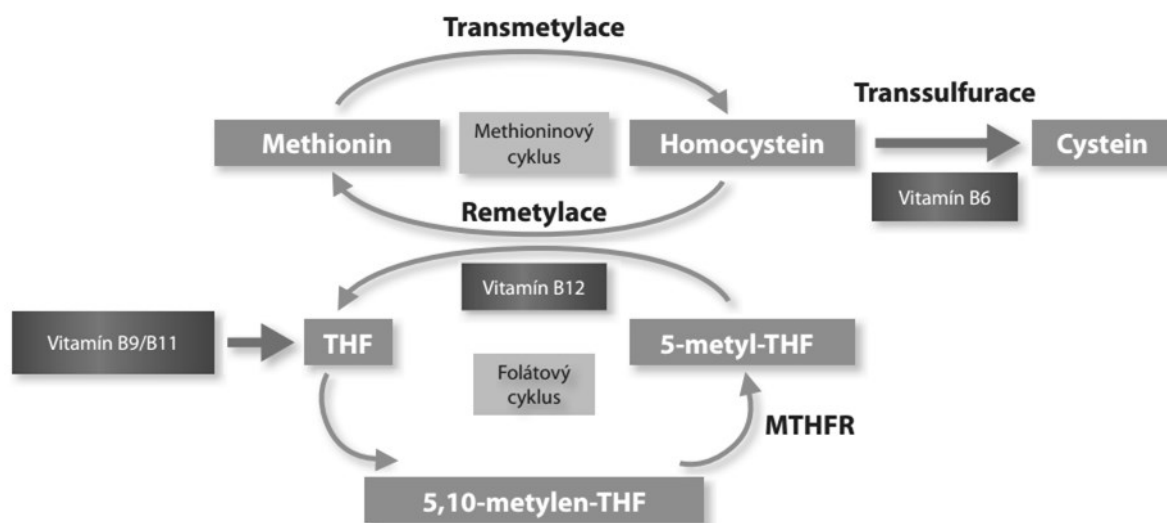
V lidské populaci bylo rozpoznáno mnoho dalších polymorfismů v genech kódující enzymy podílející se na metabolismu Hcy, kterým však není prozatím přikládána velká váha, a proto studie na těchto polymorfismech teprve probíhají.

4 HOMOCYSTEIN

Homocystein (2-amino-4-merkpto-máselná kyselina) je sirná aminokyselina obsažená v savčích organismech, jež je výsledkem demetylace metioninu, esenciální aminokyseliny, která je buď derivátem proteinů přijímaných stravou, nebo pochází z endogenního metabolismu proteinů (Whayne, 2015).

4.1 METABOLISMUS HOMOCYSTEINU

Metabolismus homocysteinu probíhá dvěma způsoby. Obvykle zhruba jedna polovina veškerého homocysteinu obsaženého uvnitř buněk projde procesem transsulfurace, jehož se účastní cystathionin β a cystathionáza. Oba tyto enzymy ke správné funkci potřebují jako kofaktor vitamin B6. Zbytek Hcy je přeměněn na metionin jednou z remetylačních cest (z celkových dvou). Při první cestě, která bývá také označována jako cyklus kyseliny listové, hraje klíčovou roli právě enzym MTHFR, který je donorem metylové skupiny, jež se přemění methionin na Hcy. Při této cestě se aktivně účastní metionin syntáza, která potřebuje pro svou funkci vitamin B12 a folát. Nedostatek B6, B12 a folátu by mohl mít významný účinek na plazmatické hladiny Hcy. Druhá remetylační cesta využívá nevratnou přeměnu metylové skupiny na Hcy z betainu (Whayne, 2015; Přistoupilová & Přistoupil, 2002).



Obr. 5: Metabolismus homocysteinu (převzato a upraveno dle Pokorný & Minárik, 2013).

4.2 HLADINA HOMOCYSTEINU V KRVI

Bylo dokázáno, že hladina homocysteinu v krvi stoupá s věkem. Studie 500 mužů a žen s průměrným věkem 81 let dokázala, že pokud stoupne hodnota odds ratio (OR)¹ o 1,205 při zvýšení plazmatického homocysteinu o 1 μmol . (Aronow, 2000). Dále připadá nárůst o zhruba 5% na 10 let věku podle studie od Brratstroma z roku 2000 (Brratstrom *et al.*, 2000). V současné době se normální koncentrace celkového homocysteinu (tHcy), obsaženého v krevní plazmě nalačno pohybuje v rozmezí 5,0-15,9 $\mu\text{mol/L}$. Tehdy, kdy bazální koncentrace celkového homocysteinu v krvi překročí tuto hranici, hovoříme o hyperhomocysteinémii (hHcy). (Aschermann *et al.*, 2004). Hladina homocysteinu se v průběhu života člověka mění v závislosti na několika faktorech jako je například kouření. Důsledkem toho se hladina celkového Hcy zvyšuje v průměru o 20%. což je zapříčiněno zvýšenou spotřebou kyseliny listové a vitaminů B6 a B12. Celkem razantní rozdíl v koncentraci Hcy je popisován vzhledem k pohlaví, a to v závislosti na hladině estrogenu v krvi. Muži mají koncentraci o 10-20% vyšší než ženy, načež se tento rozdíl vyrovná v důsledku menopauzy u žen, kdy hladina Hcy může začít lehce převyšovat hodnoty u mužů stejného věku (Bolander, 2002).

¹ odds ratio (OR) – používá se pro studii případů a kontrol, kde není možné použít relativní riziko, protože není známa relativní incidence (Odds ratio. In: Wikiskripta [online])

4.3 INDIKACE K VYŠETŘENÍ HOMOCYSTEINU

Mezi indikace k vyšetření plazmatického homocysteinu patří například sekundární prevence aterosklerotických komplikací, trombofilie, opakované spontánní potraty, rozštěpové vady páteře nebo izolovaná systolická hypertenze (Aschermann *et al.*, 2004). Pro zajištění spolehlivého stanovení hladiny homocysteinu v krvi, je nezbytný správný odběr a správné zpracování vzorku. Důležitá je separace krevních elementů centrifugací a poté jejich skladování ve vhodných podmínkách (zmrazený stav -20°C) až do samotného zpracování. Převážná část Hcy ($> 70\%$) se váže na proteiny. Pouze malá část cirkuluje jako volný Hcy. pro posouzení hladiny volného Hcy v krvi, je proto nezbytné kromě správného zacházení se vzorky také dobře použité redukční činidlo (Frick *et al.*, 2003).

4.4 HOMOCYSTEINURIE

Homocysteinurie je zřídka se vyskytující autozomálně recesivní onemocnění, které je obvykle výsledkem nedostatku cystathionin β -syntázy u homozygotních jedinců, enzymu, potřebného pro metabolismus methioninu při přeměně homocysteinu na cystathionin. Pacienti s homocystinurií obvykle mají hladinu celkového homocysteinu (hodnota volné v součtu s protein-vázanou formou) větší než $250\ \mu\text{mol/L}$, ve srovnání s referenčním rozmezím u zdravých jedinců a mají vyšší riziko předčasné aterosklerózy a tromboembolických nemocí zasahující zejména mozkové tepny a žíly, ale také ty periferní (Christen *et al.*, 2000). Zatímco může být homocysteinurie způsobena i jinými enzymatickými defekty, bylo zjištěno, že toto onemocnění je zodpovědné za cévní abnormality bez ohledu na zdroj defektu (McCully, 1969).

4.5 HYPERHOMOCYSTEINÉMIE

Hyperhomocysteinémie (hHcy) patří mezi onemocnění definované jako metabolický syndrom, k němuž může vést celá řada indikací, které mohou být genetického či metabolického původu (Žák, 2011; Brattstrom *et al.*, 2000).

Hyperhomocysteinémie může být následkem zvýšené tvorby homocysteinu nebo jeho zpomaleného odbourávání v transsulfurační či remethylační cestě. U hHcy se rozlišují tři stupně a to dle naměřených hodnot plazmatického homocysteinu v krvi, a to mírná hHcy, střední hHcy a těžká hHcy. Rozdělení dle hodnot plazmatického homocysteinu je uvedeno v tabulce VI.

Tab. VII: Rozdělení hyperhomocysteinémie podle hodnot tHcy (převzato a upraveno od Selhub, 1999).

Stupeň hyperhomocysteinémie	μmol/l
mírná hHcy	16-30
střední hHcy	30-100
těžká hHcy	≥100

5 HYPERHOMOCYSTEINÉMIE A RIZIKO KVO

Homocystein degraduje a inhibuje tvorbu tří hlavních konstrukčních prvků tepen: kolagenu, elastinu a proteoglykanu. V proteinech, homocystein trvale snižuje cystein-disulfidové můstky a lysin-aminokyselinové zbytky (Jakubowski, 2006). Z populačního hlediska lze mírné hHcy přisoudit přibližně 10% riziko pro vznik ischemické choroby srdeční (ICHS). Donedávna se předpokládalo, že zvýšení koncentrace Hcy o každých 5 μ mol/L představuje zvýšení rizika vzniku ICHS, které je ekvivalentní nárůstu celkového cholesterolu v plazmě o 0,52 μ mol/L. Toto zvýšení koncentrace homocysteinu je ekvivalentní nárůstu rizika ICHS zhruba o 20%. Někteří autoři usuzují, že léčba mírné hHcy by mohla zabránit až 25% kardiovaskulárních příhod (Clarke & Armitage, 2000; Stanger *et al.*, 2003). Opakovaně bylo prokázáno, že koncentrace celkového homocysteinu jsou z hlediska klinicky přítomné aterosklerózy u symptomaticky nemocných až o 10-40% vyšší než u kontrolních osob (Selhub, 1999). Předpokládá se, že asi polovinu CV komplikací u mírné hHcy představuje žilní trombóza a tromboembolická nemoc (D'Angelo & Selhub, 1997).

6 ASOCIACE HYPERHOMOCYSTEINÉMIE S ATEROSKLERÓZOU

6.1 GENOMOVÁ METYLACE

V asociaci hHcy s aterosklerózou je klíčový polymorfismus v genu MTHFR, konkrétně C667T. Výsledky studií poukazují na to, že pacienti s aterosklerózou měly nižší úroveň genomové methylace než u kontrolní skupina (Greissel *et al.*, 2015). Výskyt aterosklerózy je úzce spojen se snížením úrovně methylace genomu, a současně polymorfismus MTHFR C667T souvisí s výskytem aterosklerózy. TT genotyp je charakterizován vyšším rizikem AS, to znamená, že MTHFR 677TT je charakterizován vyšším rizikem AS než genotyp MTHFR (Lin *et al.*, 2016). V tabulce VIII vidíme rozdělení polymorfismu C667T u zdravých kontrol a pacientů postižených aterosklerózou.

Tab. VIII: Rozdělení polymorfismu C667T u zdravých kontrol a pacientů postižených aterosklerózou (převzato a upraveno podle Lin et al., 2016).

Skupina	Genotyp			Alela	
	CC	CT	TT	C	T
	Případů (%)	Případů (%)	Případů (%)	Případů (%)	Případů (%)
Kontrola	63(60,0)	35 (33,3)	7 (6,7)	161 (76,7)	49 (23,3)
Pacient	45 (42,9)	42 (40,0)	18 (17,1)	132 (62,9)	78 (37,1)

Většina retrospektivních průřezových studií a srovnávacích studií prokázala u osob s ICHS, cévními onemocněními mozku i ischemickou chorobou dolních končetin (ICHDK) vyšší průměrné koncentrace celkového Hcy nalačno i po zátěži metioninem nebo vyšší frekvenci mírné hHcy. Ta představovala zvýšené relativní riziko ICHS, vyjádřené poměrem šancí (OR) v hodnotách 2,90-6,65 (Boushey *et al.*, 1995). Výsledky prospektivních studií neprokázaly u osob s ICHS a cévními onemocněními mozku významně vyšší koncentrace celkového Hcy a současně zjistily nižší stupeň propojení hHcy s aterosklerotickými komplikacemi.

V prospektivních studiích se rovněž zjistilo, že výrazné relativní riziko aterosklerózy ve spojení s hHcy bylo v prvních letech vyšší (OR cca 3,0) než po delším sledování, kdy došlo k jeho zmírnění (OR přibližně 1,3) (Hanson *et al.*, 2001).

Srovnávací studie zjistila u obou pohlaví a u všech věkových kategorií zvýšení rizika ICHS na 1,32, při každém zvýšení celkové koncentrace Hcy o 4,0 $\mu\text{mol/L}$ při absenci prahové hodnoty. V jiných studiích bylo také zjištěno, že u osob s hHcy (koncentrace vyšší než 12,0 $\mu\text{mol/L}$) je 2,2x vyšší riziko postižení aterosklerózou ve srovnání s osobami s koncentracemi celkového

Hcy menšími než 7,0 $\mu\text{mol/L}$, přičemž přírůstek jeho koncentrace o 5,0 $\mu\text{mol/L}$ byl spojen se zvýšením rizika aterosklerotických komplikací o 30% u mužů a o 40% u žen (Boushey *et al.*, 1995).

Na rozdíl od slabé asociace mezi hHcy a KVO, zjištěné v prospektivních studiích u zdravých osob, sledování nemocných s ICHS, systémovým lupus erythematoses nebo renálním selháním, *diabetes mellitus* či tromboembolickou nemocí prokázalo, že hHcy je u těchto osob velmi silným ukazatelem kardiovaskulární mortality a morbidity (Clarke & Stansbie, 2001).

7 DISKUZE

Cílem této bakalářské práce bylo kromě přiblížení nejdůležitějších rizikových faktorů pro aterosklerózu, prokázat její možnou asociaci s polymorfismy v genu pro MTHFR. Podle nejnovějších studií bylo v tomto genu detekováno více než 109 mutací a polymorfismů (Froese *et al.*, 2016), přestože v původních studiích bylo zmíněno pouze 24 polymorfismů (Sibani *et al.*, 2000). Ačkoliv stále patří mezi nejvíce vyšetřované polymorfismy C667T a A1298C, v práci je zmíněn i polymorfismus G1793A, který by se mohl stát zajímavým cílem dalšího vyšetřování celého genu.

Z literatury vyplývá, že polymorfismus MTHFR C677T je nejvíce vyšetřovaným polymorfismem, který je v bělošské populaci hojně zastoupen. Dalším významným sledovaným polymorfismem je MTHFR A1298C. Pokud porovnáme výskyt varianty 677TT, která se vyskytuje v bělošské populaci v rozmezí 4-25% a varianty 1298CC vyskytující se u 10-12% populace, je homozygotní genotyp 1298CC méně častý, přesto že se jedná méně významnou odchylku z hlediska aktivity enzymu MTHFR. Je možné, že je tento polymorfismus původně mladší a není tolik v populaci fixován. V případě heterozygotů se výskyt pro genotyp 677CT pohybuje v rozmezí 40-50% a genotyp 1298AC 40-45%.

Nově sledovaný polymorfismus G1793A je v bělošské populaci zastoupen daleko méně. V případě homozygotního genotypu 1793AA je v populaci zastoupen pouze 0,6% a u heterozygotního genotypu 1793GA je to 12,6% (MDL [online]; Renfang *et al.*, 2008). Nízká frekvence naposledy uvedeného polymorfismu může být způsobena tím, že daný polymorfismus není běžně vyšetřován a také tím, že může oslabovat aktivitu enzymu výrazněji, než oba výše zmíněné polymorfismy. (MDL [online]; Renfang *et al.*, 2008).

Ateroskleróza, způsobena ovlivnitelnými, neovlivnitelnými rizikovými faktory, nebo jejich kombinací, je chronické zánětlivé onemocnění, jehož příčinou bývá poškození a dysfunkce vnitřní endotelové vrstvy. Její patogeneze nebyla dosud zcela objasněna, ale ve většině případů

se teoretizuje o faktorech, jako je reakce na poranění výstelky cév či hladiny celkového plazmatického homocysteinu v krvi (Lin *et al.*, 2016).

Homocystein je aminokyselina obsahující síru. Při jeho metabolismu hraje významnou roli právě enzym MTHFR, který je donorem methylové skupiny, která má zásadní vliv pro vznik Hcy (Whayne, 2015). Hladina Hcy v krvi je úzce spojena s úrovní genomové methylace a může ovlivnit vznik AS a její další vývoj.

Srovnávací studie z roku 1995 zjistila u obou pohlaví a u všech věkových kategorií zvýšení rizika cévních příhod, jejichž predispozicí je AS na 1,32 při každém zvýšení tHcy o 4,0 $\mu\text{mol/L}$. V jiných studiích bylo také zjištěno, že u osob s hHcy (koncentrace vyšší než 12,0 $\mu\text{mol/L}$) je 2,2x vyšší riziko ve srovnání s osobami s koncentrací celkového Hcy nižší než 7,0 $\mu\text{mol/L}$, přičemž přírůstek jeho koncentrace o 5,0 $\mu\text{mol/L}$ byl spojen se zvýšením rizika aterosklerotických komplikací o 30% u mužů a o 40% u žen (Boushey *et al.*, 1995).

Naopak, výsledky prospektivních studií neprokázaly u osob s ICHS a cévními onemocněními mozku významně vyšší koncentrace celkového Hcy a současně zjistily nižší stupeň propojení hHcy s aterosklerotickými komplikacemi.

V prospektivních studiích se rovněž zjistilo, že výrazné relativní riziko aterosklerózy ve spojení s hHcy bylo v prvních letech vyšší (OR cca 3,0) než po delším sledování, kdy došlo k jeho zmírnění (OR přibližně 1,3) (Hanson *et al.*, 2001).

Celosvětově se enzym MTHFR nedoporučuje vyšetřovat, protože se nepředpokládá jeho zásadní význam pro metabolismus. Ačkoliv je v literatuře běžně uváděn v souvislosti s AS a kardiovaskulárními chorobami, je mimo jiné úzce spojován i s jinými zdravotními komplikacemi, jako jsou předčasné spontánní potraty, cerebrovaskulární onemocnění a mnoho dalších, tudíž by jeho vyšetřování mělo být zváženo a používáno jako pomocný ukazatel pro mnoho onemocnění s ním asociovaných.

8 ZÁVĚR

Úkolem první části předložené rešerše bylo přiblížit rizikové faktory aterosklerózy a popsat, jak samotný proces ateroskleróz probíhá. Mezi rizikové faktory byly zahrnuty jak faktory ovlivnitelné (dyslipidémie, kouření, hypertenze, *diabetes mellitus* a obezita), tak i ty neovlivnitelné (věk, pohlaví a genetické faktory)

Druhá část je zaměřena na enzym methylenetetrahydrofolát reduktázu, který je klíčový při regulaci metabolismu homocysteinu. Polymorfismy tohoto genu, zejména MTHFR C667T, se aktivně podílí na kolísání hladiny homocysteinu v krvi. Přičemž se právě homocystein se jeví jako významný nezávislý rizikový faktor pro vznik aterosklerózy. V bakalářské práci jsem čerpala z průřezových zahraničních studií, dokazující asociaci mezi polymorfismy v genu MTHFR a aterosklerózou ověřenou na základě porovnávání hladin plazmatického Hcy v krvi.

9 ZDROJE

1. AKINBAMOWO, A. O., SALZBERG, D. J., & WEIR, M. R. (2008): Renal consequences of prostaglandin inhibition in heart failure. *Heart failure clinics*, **4**(4), 505-510. ISSN 1551-7136.
2. ALAM, M. A. (2016): Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms and Cardiovascular Diseases. *Cell and Developmental Biology*, **5**(172), 2. ISSN 1084-952.
3. AMBROSE, J. A., & BARUA, R. S. (2004): The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *Journal of the American college of cardiology*, **43**(10), 1731-1737. ISSN 0735-1097.
4. ARAI, M., & OSAKA, H. (2011). Acute leukoencephalopathy possibly induced by phenytoin intoxication in an adult patient with methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Epilepsia*, **52**(7), e58-e61 ISSN 1528-1167.
5. ARONOW, W. S. (2000). Association between plasma homocysteine and vascular atherosclerotic disease in older persons. *Preventive cardiology*, **3**(2), 89-91. ISSN 1751-7141.
6. ASCHERMANN, M., ASCHERMANN, O., BARTŮNĚK, P., BENEŠ, J., ...ŽÁK, A. (2004): Kardiologie. ISBN 80-7262-290-0.
7. BOLANDER-GOUAILLE, C. (2002). Focus on Homocysteine and the Vitamins Involved in its metabolism: Involved in Its Metabolism. *Springer Science & Business Media*. ISSN 0148-2963.
8. BOMAN, H., HAZZARD, W. R., ALBERS, J. J., COOPER, M. N., & MOTULSKY, A. G. (1975): Frequency of monogenic forms of hyperlipidemia in a normal population. *American Journal of human Genetics*. **27**(6), A19. ISSN 0002-9297.
9. BOUSHEY, C. J., BERESFORD, S. A., OMENN, G. S., & MOTULSKY, A. G. (1995). A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama*, **274**(13), 1049-1057 ISSN 1538-3598.

10. BRATTSTRÖM, L., & WILCKEN, D. E. (2000): Homocysteine and cardiovascular disease: cause or effect?. *The American journal of clinical nutrition*, **72**(2), 315-323 ISSN 1938-3207.
11. BURDA, P., SCHÄFER, A., SUORMALA, T., RUMMEL, T., BÜRER, C., HEUBERGER, D., ... & KOŽICH, V. (2015). Insights into Severe 5, 10- Metylenetetrahydrofolate Reductase Deficiency: Molecular Genetic and Enzymatic Characterization of 76 Patients. *Human mutation*, **36**(6), 611-621. ISSN 1098-1004.
12. BUREŠ, J. (2014): Vnitřní lékařství 2. Druhé, přepracované a rozšířené vydání. Praha: Galén, 1017. ISBN 978-80-7492-145-2.
13. CLARKE, R., & ARMITAGE, J. (2000). Vitamin supplements and cardiovascular risk: review of the randomized trials of homocysteine-lowering vitamin supplements. In *Seminars in thrombosis and hemostasis*, **26** (341-348). ISSN 0094-6176.
14. CLARKE, R., & STANSBIE, D. (2001). Assessment of homocysteine as a cardiovascular risk factor in clinical practice. *Annals of clinical biochemistry*, **38**(6), 624-632. ISSN 0004-5632.
15. ČEŠKA, R. (2005): Cholesterol a ateroskleróza, léčba dyslipidemií. ISBN 80-7254-738-0.
16. D'ANGELO, A., & SELHUB, J. (1997). Homocysteine and thrombotic disease. *Blood*, **90**(1), 1-11. ISSN 1528-0020.
17. DEANFIELD, J. E., HALCOX, J. P., & RABELINK, T. J. (2007): Endothelial function and dysfunction. *Circulation*, **115**(10), 1285-1295. ISSN 1524-4539.
18. DEANFIELD, J., DONALD, A., FERRI, C., GIANNATTASIO, C., HALCOX, J., HALLIGAN, S., ... & RIZZONI, D. (2005): Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *Journal of hypertension*, **23**(1), 7-17. ISSN 1473-5598.
19. EL BAZ, R. M., RAMADAN, M. M., FAYAD, E., SHALTOT, A. A., & EL SHERSHABY, E. M. (2014): Comparative study on the effect of factor V leiden and prothrombin gene polymorphism in preeclampsic cases. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, **56**, 345-354. ISSN 2090-7125.

20. ERBEN, K. (2015): Homocystein, civilizační choroby a biochemické zdraví ISBN 978-80-247-3052-3.
21. EZZATI, M., & LOPEZ, A. D. (2004): Regional, disease specific patterns of smoking-attributable mortality in 2000. *Tobacco control*, **13**(4), 388-395. ISSN 1468-3318.
22. FLAMMER, A. J., ANDERSON, T., CELERMAJER, D. S., CREAGER, M. A., DEANFIELD, J., GANZ, P., ... & VITA, J. A. (2012). The assessment of endothelial function. *Circulation*, **126**(6), 753-767. ISSN 1524-4539.
23. FOX, C. S., POLAK, J. F., CHAZARO, I., CUPPLES, A., WOLF, P. A., D'AGOSTINO, R. A., & O'DONNELL, C. J. (2003). Genetic and environmental contributions to atherosclerosis phenotypes in men and women. *Stroke*, **34**(2), 397-401. ISSN 1747-4949.
24. FRANCO, R. F., ARAUJO, A. G., GUERREIRO, J. F., ELION, J., & ZAGO, M. A. (1998): Analysis of the 677 C--> T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups. *Thrombosis and haemostasis*, **79**(1), 119-121. ISSN 1538-7836
25. FRICK, B., SCHRÖCKSNADDEL, K., NEURAUTER, G., WIRLEITNER, B., ARTNER-DWORZAK, E., & FUCHS, D. (2003). Rapid measurement of total plasma homocysteine by HPLC. *Clinica chimica acta*, **331**(1), 19-23. ISSN 0009-8981.
26. FROESE, D. S., HUEMER, M., SUORMALA, T., BURDA, P., COELHO, D., GUÉANT, J. L., LANDOLT, M.A., KOŽICH, V., FOWLER, B., BAUMGARTNER, M. R. (2016): Mutation update and review of severe MTHFR deficiency. *Human mutation*. ISSN 1098-1004.
27. FROSST, P., BLOM, H. J., MILOS, R., GOYETTE, P., SHEPPARD, C. A., MATTHEWS, R. G., ... & ROZEN, R. (1995): A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase.
28. GAVIN III, J. R., ALBERTI, K. G. M. M., DAVIDSON, M. B., & DEFONZO, R. A. (1997): Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, **20**(7), 1183. ISSN 1935-5548.
29. GOKCE, N. (2011): Clinical assessment of endothelial function: ready for prime time?. *Circulation: Cardiovascular Imaging*. **4** (4): 348–50. ISSN 1942-0080.
30. GOYETTE, P., FROSST, P., ROSENBLATT, D. S., & ROZEN, R. (1995). Seven novel

- mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype/phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *American journal of human genetics*, **56**(5), 1052 ISSN 0002-9297.
31. GOYETTE, P., CHRISTENSEN, B., ROSENBLATT, D. S., & ROZEN, R. (1996). Severe and mild mutations in cis for the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, and description of five novel mutations in MTHFR. *American journal of human genetics*, **59**(6), 1268 ISSN 0002-9297.
 32. GOYETTE, P., PAI, A., MILOS, R., FROSST, P., TRAN, P., CHEN, Z., ROZEN, R. (1998): Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome*, **9**(8), 652-656. ISSN 1432-1777.
 33. GREISSEL, A., CULMES, M., NAPIERALSKI, R., WAGNER, E., GEBHARD, H., SCHMITT, M., ... & PELISEK, J. (2015): Alternation of histone and DNA methylation in human atherosclerotic carotid plaques. *Thrombosis and haemostasis*, **114**(2), 390-402. ISSN 1538-7836.
 34. GUYTON, ARTHUR C.; HALL, JOHN E. (2006): Textbook of Medical Physiology (11th ed.). *Philadelphia: Elsevier Saunders*. p. 849. ISBN 978-0-7216-0240-0.
 35. HAAPANEN, A., KOSKENVUO, M., KAPRIO, J., KESÄNIEMI, Y. A., & HEIKKILÄ, K. (1989): Carotid arteriosclerosis in identical twins discordant for cigarette smoking. *Circulation*, **80**(1), 10-16. ISSN 1524-4539.
 36. HALL, J.E., GUYTON, A.C. (2006): Textbook of medical physiology. St. Louis, *Mo: Elsevier Saunders*. p. 228. ISBN 0-7216-0240-1.
 37. HANSON, N. Q., ARAS, Ö., YANG, F., & TSAI, M. Y. (2001): C677T and A1298C polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: incidence and effect of combined genotypes on plasma fasting and post-methionine load homocysteine in vascular disease. *Clinical Chemistry*, **47**(4), 661-666. ISSN 1530-8561.
 38. HOTAMISLIGIL, G. S. (2010): Endoplasmic reticulum stress and atherosclerosis. *Nature medicine*, **16**(4), 396-399. ISSN 1546-170X.
 39. CHAIT, A., & BRUNZELL, J. D. (1990): Acquired hyperlipidemia (secondary dyslipoproteinemias). *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, **19**(2), 259-278. ISSN 0889-8529.

40. CHRISTEN, W. G., AJANI, U. A., GLYNN, R. J., & HENNEKENS, C. H. (2000). Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual?. *Archives of Internal Medicine*, **160**(4), 422-434. ISSN 0003-9926.
41. JADAVJI, N. M., WIESKE, F., DIRNAGL, U., & WINTER, C. (2015): Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency alters levels of glutamate and γ -aminobutyric acid in brain tissue. *Molecular genetics and metabolism reports*, **3**, 1-4. ISSN 2214-4269.
42. JAKUBOWSKI, H. (2006): Pathophysiological consequences of homocysteine excess. *The Journal of nutrition*, **136**(6), 1741S-1749S. ISSN 1541-6100.
43. KANG, A., & STRUBEN, H. (2008): Pre-eclampsia screening in first and second trimester. *Therapeutische Umschau. Revue thérapeutique*, **65**(11), 663-666. ISSN 1664-2864.
44. KANG, S. S., ZHOU, J., WONG, P. W., KOWALISYN, J., & STROKOSCH, G. (1988): Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *American journal of human genetics*, **43**(4), 414. ISSN 0002-9297.
45. KLUIJTMANS, L. A., WENDEL, U., STEVENS, E. M., VAN DEN HEUVEL, L. P. W. J., TRIJBELS, F. J., & BLOM, H. J. (1998). Identification of four novel mutations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *European Journal of Human Genetics*, **6**(3), 257-265 ISSN 1435-232X.
46. LIEW, S. C., & GUPTA, E. D. (2015): Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *European journal of medical genetics*, **58**(1), 1-10. ISSN 1769-7212.
47. LIN, X., ZHANG, W., LU, Q., LEI, X., WANG, T., HAN, X., & MA, A. (2016): Effect of MTHFR gene polymorphism impact on atherosclerosis via genome-wide methylation. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, **22** (341). ISSN 1234-1010.
48. MANN, S. J. (2003): Neurogenic essential hypertension revisited: the case for increased clinical and research attention. *American journal of hypertension*, **16**(10), 881-888. ISSN 1941-7225.

49. MAO, R., FAN, Y., CHEN, F., & FU, S. (2008): Genetic polymorphism of MTHFR G1793A in Chinese populations. *European journal of epidemiology*, **23**(5), 363-368. ISSN 1573-7284.
50. MATON, A., HOPKINS, R.L.J., MCLAUGHLIN, CH.W., JOHNSON, S., WARNER, M.Q., LAHART, D., WRIGHT, J.D (1993): Human Biology and Health. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall. ISBN 0-13-981176-1.
51. MATON, ANTHEA, ROSHAN L (1993): Human Biology and Health. Englewood Cliffs, New Jersey, USA: Prentice Hall. ISBN 0-13-981176-1.
52. MCCULLY, K. S. (1969). Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *The American journal of pathology*, **56**(1), 111 ISSN 0002-9440.
53. MCGOVERN, P. G., PANKOW, J. S., SHAHAR, E., DOLISZNY, K. M., FOLSOM, A. R., BLACKBURN, H., & LUEPKER, R. V. (1996): Recent trends in acute coronary heart disease - mortality, morbidity, medical care, and risk factors. *New England Journal of Medicine*, **334**(14), 884-890. ISSN 1533-4406.
54. MICHOT, J. M., SEDEL, F., GIRAUDIER, S., SMIEJAN, J. M., & PAPO, T. (2008). Psychosis, paraplegia and coma revealing methylenetetrahydrofolate reductase deficiency in a 56-year-old woman. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, **79**(8), 963-964 ISSN 1468-330X.
55. MILLER, J. D. (2013): Cardiovascular calcification: orbicular origins. *Nature materials*, **12**(6), 476-478. ISSN 1476-4660.
56. MURALI, V., RATHIKA, CH., PADMA, M.R., SIVANADHAM, R., ...BALAKRISHNAN, K. (2016): MTHFR (C677T) CT genotype and CT-apoE3/3 genotypic combination predisposes the risk of ischemic stroke. *Gene*, **591** (465-470) ISSN 0378-1119.
57. NICHOLS, M., TOWNSEND, N., SCARBOROUGH, P., & RAYNER, M. (2014). Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *European heart journal*, ehu299.ISSN 1522-9645.
58. O'BRIEN, E., BEEVERS, D. G., GREGORY Y. H. (2007): ABC of hypertension. *London: BMJ Books*. ISBN 1-4051-3061-X.

59. OPARIL, S., ZAMAN, M.A., CALHOUN, D.A. (2003): Pathogenesis of hypertension. *Annals of Internal Medicine*. **9**(761–76). ISSN 1539-3704.
60. POKORNÝ, M.; MINÁRIK, J. (2013): Negativní vliv hyperhomocysteinémie na lidskou reprodukci a možnosti její korekce suplementací vitamíny skupiny B. *New EU Magazine of Medicine*. **1 – 2**: 23 – 29. ISSN 1802–1298.
61. PRASAD, A. N., RUPAR, C. A., & PRASAD, C. (2011). Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) deficiency and infantile epilepsy. *Brain and Development*, **33**(9), 758-76 ISSN 0387-7604.
62. PRINZ-LANGENOHL R, BRÄMSWIG S, TOBOLSKI O, SMULDERS YM, SMITH DEC, FINGLAS PM, PIETRZIK K. (2009): 5-methyltetrahydrofolate increases plasma folate more effectively than folic acid in women with the homozygous or wild-type 677C→T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase. *British Journal of Pharmacology* **158** (2014-2021) ISSN 1476-5381.
63. PŘISTOUPILOVÁ, K., PŘISTOUPIL, T.I.(2002): Homocystein a civilizační choroby Jeho význam v metabolismu a v lékařské diagnostice. *Vesmír* **81**(1) ISSN 1214-4029.
64. RADY, P. L., SZUCS, S., GRADY, J., HUDNALL, S. D., KELLNER, L. H., NITOWSKY, H., ... & MATALON, R. K. (2002): Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas; a report of a novel MTHFR polymorphic site, G1793A. *American Journal of Medical Genetics Part A*, **107**(2), 162-168. ISSN 1552-4833.
65. RIDKER, P. M., RIFAI, N., ROSE, L., BURING, J. E., & COOK, N. R. (2002). Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *New England journal of medicine*, **347**(20), 1557-1565. ISSN 1552-4406.
66. RICHARD, E., DESVIAT, L. R., UGARTE, M., & PÉREZ, B. (2013). Oxidative stress and apoptosis in homocystinuria patients with genetic remethylation defects. *Journal of cellular biochemistry*, **114**(1), 183-191 ISSN 1097-4644.
67. RISÉRUS, U., WILLETT, W. C., & HU, F. B. (2009): Dietary fats and prevention of type 2 diabetes. *Progress in lipid research*, **48**(1), 44-51. ISSN 0163-7827.

68. ROSENGREN, A., & WILHELMSSEN, L. (1997): Physical activity protects against coronary death and deaths from all causes in middle-aged men: Evidence from a 20-year follow-up of the primary prevention study in Göteborg. *Annals of epidemiology*, **7**(1), 69-75. ISSN 1047-2797.
69. ROSS, R. (1999). Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England journal of medicine*, **340**(2), 115-126. ISSN 1552-4406.
70. ROTHER, K. I. (2007): Diabetes treatment—bridging the divide. *The New England journal of medicine*, **356**(15), 1499. ISSN 1533-4406.
71. RYABIKOV, A., MALYUTINA, S., RYABIKOV, M., KUZNETSOVA, T., STAESSEN, J. A., & NIKITIN, Y. (2007). Intrafamilial correlations of carotid intima-media thickness and flow-mediated dilation in a Siberian population. *American journal of hypertension*, **20**(3), 248-254. ISSN 1941-7225.
72. RYBKA, J. (2000): Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění. ISBN 978-80-247-1671-8.
73. SAMUEL, J.M.(2003). Neurogenic essential hypertension revisited: the case for increased clinical and research attention. *American Journal of Hypertension*. **16** (10): 881–88 ISSN 1941-7225.
74. SELHUB, J., JACQUES, P. F., ROSENBERG, I. H., ROGERS, G., BOWMAN, B. A., GUNTER, E. W., ... & JOHNSON, C. L. (1999). Serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey (1991–1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Annals of internal medicine*, **131**(5), 331-339. ISSN 1539-3704.
75. SHEN, W., ZHANG, B., LIU, S., WU, H., GU, X., QIN, L., ... & WANG, Q. (2015). Association of blood lead levels with methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms among Chinese pregnant women in Wuhan city. *PloS one*, **10**(2), e0117366. ISSN 1932-6203.
76. SHOBACK, EDITED BY DAVID G. GARDNER, DOLORES (2011): "Chapter 17". Greenspan's basic & clinical endocrinology (9th ed.). *New York: McGraw-Hill Medical*. ISBN 0-07-162243-8.
77. SIBANI, S., CHRISTENSEN, B., O'FERRALL, E., SAADI, I., HIOU-TIM, F., ROSENBLATT, D. S., & ROZEN, R. (2000): Characterization of six novel mutations in

- the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene in patients with homocystinuria. *Human mutation*, **15**(3), 280. ISSN 1098-1004.
78. SIBANI, S., LECLERC, D., WEISBERG, I. S., O'FERRALL, E., WATKINS, D., ARTIGAS, C., ... & ROZEN, R. (2003). Characterization of mutations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency reveals an FAD- responsive mutation. *Human mutation*, **21**(5), 509-520 ISSN 1098-1004.
79. SINGH, R. B., MENGI, S. A., XU, Y. J., ARNEJA, A. S., & DHALLA, N. S. (2002): Pathogenesis of atherosclerosis: A multifactorial process. *Experimental & Clinical Cardiology*, **7**(1), 40. ISSN 1918-1515.
80. STAMLER, J., VACCARO, O., NEATON, J. D., WENTWORTH, D., & MULTIPLE RISK FACTOR INTERVENTION TRIAL RESEARCH GROUP. (1993): Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes care*, **16**(2), 434-444. ISSN 1935-5548.
81. STANGER, O., & WEGER, M. (2003). Interactions of homocysteine, nitric oxide, folate and radicals in the progressively damaged endothelium. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, **41**(11), 1444-1454. ISSN 1434-6621.
82. STERN, L. L., BAGLEY, P. J., ROSENBERG, I. H., & SELHUB, J. (2000): Conversion of 5-formyltetrahydrofolic acid to 5-methyltetrahydrofolic acid is unimpaired in folate-adequate persons homozygous for the C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *The Journal of nutrition*, **130**(9), 2238-2242. ISSN 1541-6100.
83. SWEETING, H. N. (2007): Measurement and definitions of obesity in childhood and adolescence: a field guide for the uninitiated. *Nutrition journal*, **6**(1), 32. ISSN 0899-9007.
84. TEO, K. K., OUNPUU, S., HAWKEN, S., PANDEY, M. R., VALENTIN, V., HUNT, RASHED, W., FREEMAN, R., JIANG, L., ZHANG, X. (2006): Tobacco use and risk of myocardial infarction in 52 countries in the INTERHEART study: a case-control study. *The lancet*, **368**(9536), 647-658. ISSN 0140-6736.
85. TONETTI, C., SAUDUBRAY, J. M., ECHENNE, B., LANDRIEU, P., GIRAUDIER, S., & ZITTOUN, J. (2003). Relations between molecular and biological abnormalities in 11 families from siblings affected with methylenetetrahydrofolate reductase

- deficiency. *European journal of pediatrics*, **162**(7-8), 466-475 ISSN 1432-1076.
86. URREIZTI, R., MOYA- GARCÍA, A. A., PINO- ÁNGELES, A., COZAR, M., LANGKILDE, A., FANHOE, U., ... & PINEDA, M. (2010). Molecular characterization of five patients with homocystinuria due to severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Clinical genetics*, **78**(5), 441-448 ISSN 1399-0004.
87. VAN DER PUT, N. M., GABREËLS, F., STEVENS, E. M., SMEITINK, J. A., TRIJBELS, F. J., ESKES, T. K., ... & BLOM, H. J. (1998): A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?. *The American Journal of Human Genetics*, **62**(5), 1044-1051. ISSN 0002-9297.
88. WANG, J. C., & BENNETT, M. (2012). Aging and atherosclerosis. *Circulation Research*, **111**(2), 245-259. ISSN 1524-4571.
89. WHAYNE JR, T. F. (2015). Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, venous thrombosis, cardiovascular risk, and other effects.
90. WILCKEN, B., BAMFORTH, F., LI, Z., ZHU, H., RITVANEN, A., REDLUND, M., ... & GELMAN-KOHAN, Z. (2003): Geographical and ethnic variation of the 677C> T allele of 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *Journal of medical genetics*, **40**(8), 619-625. ISSN 1468-6244.
91. WONG, D., TORTORELLI, S., BISHOP, L., SELLARS, E. A., SCHIMMENTI, L. A., GALLANT, N., ... & ROSENBLATT, D. S. (2015). Outcomes of four patients with homocysteine remethylation disorders detected by newborn screening. *Genetics in Medicine*, **18**(2), 162-167 ISSN 1098-3600.
92. YANG, B., FAN, S., ZHI, X., LI, Y., LIU, Y., WANG, D., ... & SUN, G. (2014). Associations of MTHFR gene polymorphisms with hypertension and hypertension in pregnancy: a meta-analysis from 114 studies with 15411 cases and 21970 controls. *PloS one*, **9**(2), e87497. ISSN 1932-6203.
93. ZIMMERMAN, M., & MCGEACHIE, J. (1987): The effect of nicotine on aortic endothelium: a quantitative ultrastructural study. *Atherosclerosis*, **63**(1), 33-41. ISSN 0021-9150.
94. ŽÁK, A. (2011): Ateroskleróza, nové pohledy. ISBN 978-80-2473-052-3.

INTERNETOVÉ ZDROJE

1. Ateroskleróza. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]; St. Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 11. 12. 2006, last modified on 1. 7. 2015 [cit. 2016-10-05].
Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Ateroskler%C3%B3za>
2. BMI classification; World Health Organization. Citováno dne 15.2.2016. Dostupné z: who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html
3. Dyslipidémie. In: *Wikiskripta* [online] © 2008 -. ISSN 18046517. last modified on 16. 11. 2016 [cit. 2016-11-24]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Dyslipid%C3%A9mie>
4. HDL. In: *WikiSkripta* [online] © 2008 -. ISSN 18046517. last modified on 30. 10. 2016 [cit. 2016-11-26]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/HDL>
5. Hypertension classification; European Society of Hypertension. Citováno dne 28.11.2016. Dostupné z: <http://www.eshonline.org/>
6. Macroangiopathy. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]; St. Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 11. 12. 2006, last modified on 25. 12. 2016 [cit. 2016-01-12].
Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Macroangiopathy>
7. MDL. Metylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR). In: Molecular Diagnostics Laboratories [online]. © 2014. [cit. 2016-09-22]. Dostupné z: <http://www.mdllabs.com/providers/tests/mthfr>

8. Microangiopathy. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]; St. Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 11. 12. 2006, last modified on 5. 1. 2017 [cit. 2016-01-12].
Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Microangiopathy>
9. Mutace. In: *WikiSkripta* [online] © 2008 -. ISSN 18046517. last modified on 4. 1. 2015 [cit. 2016-09-05]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Mutace>
10. Polymorfismus. In: *WikiSkripta* [online] © 2008 -. ISSN 18046517. last modified on 13. 11. 2014 [cit. 2016-11-19]. Dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Polymorfismus>
11. Těhotenský diabetes. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]; St. Petersburg (Florida): Wikipedia Foundation, 11. 12. 2006, last modified on 18. 4. 2016 [cit. 2016-12-12]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Diabetes_mellitus#T.C4.9Bhotensk.C3.BD_diabetes
12. Odds ratio. In: *WikiSkripta* [online] © 2008 -. ISSN 18046517. last modified on 12. 6. 2016 [cit. 2016-11-19]. Dostupné z: http://www.wikiskripta.eu/index.php/Odds_ratio

10 SEZNAM TABULEK

Tab. I: Klasifikace hypertenze podle výše krevního tlaku a stratifikace normálního krevního tlaku pro dospělé osoby starší 18 let (Aschermann *et al.*, 2004).

Tab. II: Klasifikace tělesné hmotnosti na základě vypočtených hodnot BMI World Health Organization, 2014).

Tab. III: Výběr variant polymorfismů v MTHFR u rodin s těžkým deficitem MTHFR, zmíněné doposud v odborné literatuře. (převzato a upraveno dle Froese *et al.*, 2016).

Tab. IV: Procentuální zastoupení polymorfismu C667T ve vybraných populacích (převzato a upraveno dle MDL [online]).

Tab. V: Procentuální zastoupení polymorfismu A1298C ve vybraných populacích (převzato a upraveno dle MDL [online]).

Tab. VI: Procentuální zastoupení polymorfismu G1793A ve vybraných populacích (převzato a upraveno podle Renfang *et al.*, 2008).

Tab. VII: Rozdělení hyperhomocysteinémie podle hodnot tHcy (převzato a upraveno od Selhub, 1999).

Tab. VIII: Rozdělení polymorfismu C667T u zdravých kontrol a pacientů postižených aterosklerózou (převzato a upraveno podle Lin *et al.*, 2016).

11 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Schéma vývoje aterosklerózy na průřezu artérie (převzato a upraveno dle Aschermann *et al.*, 2004).

Obr. 2: Poměrná úmrtnost na kardiovaskulární nemoci podle kuřáckých zvyků (úmrtnost nekuřáků =100); (převzato a upraveno podle Aschermann *et al.*, 2004).

Obr. 3: Kardiovaskulární mortalita diabetiků a nediabetiků podle počtu přítomných rizikových faktorů (převzato a upraveno podle Aschermann *et al.*, 2004).

Obr. 4: Proteinové schéma MTHFR (převzato a upraveno dle Froese *et al.*, 2015).

Obr. 5: Metabolismus homocysteinu (převzato a upraveno dle Pokorný & Minárik, 2013).