

© В.А.Добронравов, А.А.Жлоба, И.И.Трофименко, 2006
УДК 616.153.478.6:616.61

В.А. Добронравов, А.А. Жлоба, И.И. Трофименко

ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЯ КАК СИСТЕМНАЯ ПРОБЛЕМА С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ НЕФРОЛОГА

V.A. Dobronravov, A.A. Zhloba, I.I. Trofimenko

HYPERHOMOCYSTEINEMIA AS A SYSTEMIC PROBLEM FROM A NEPHROLOGIST'S VIEWPOINT

Кафедра пропедевтики внутренних болезней, отдел биохимии научно-исследовательского центра Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова, Россия

Ключевые слова: гомоцистеин, гипергомоцистеинемия, хроническая болезнь почек.

Key words: homocysteine, hyperhomocysteinemia, chronic kidney disease.

Распространенность хронической болезни почек (ХБП) в настоящее время неуклонно увеличивается, принимая характер эпидемии [1], что приводит к драматическому росту числа больных с терминальной почечной недостаточностью, требующей диализа или трансплантации. В результате в настоящее время более 1 млн человек во всем мире получают ту или иную форму заместительной почечной терапии, а к 2010 году ожидается увеличение этого числа вдвое [2]. Другим важным последствием развития и прогрессирования ХБП является резкое увеличение сердечно-сосудистой заболеваемости и смертности, которое очевидно даже при небольшом снижении скорости клубочковой фильтрации и прогрессирует по мере нарастания выраженности дисфункции почек [3-8].

Важным шагом в развитии нефрологии в последние годы явилось понимание единства факторов риска и механизмов развития и прогрессирования кардиоваскулярной патологии и ХБП, что привело к появлению концепции *кардиоренального континуума* [9]. Хорошо известные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний, такие как сахарный диабет, артериальная гипертензия, курение, дислипидемия, метаболический синдром, в свою очередь, являются существенными предикторами развития и прогрессирования почечной дисфункции. С другой стороны, становится все более очевидным, что почка в результате нарушения своих разнообразных функций может активно вмешиваться в процессы формирования и модификации как традиционных, так и иных (нетрадиционных) предикторов сосудистого повреждения – хронического воспаления, оксидативного стресса, анемии, альбуминурии, нарушений кальций-фосфатного метаболизма и про-

чее, и прочее [9-12]. В развитии кардиоренального континуума важное место занимает и гипергомоцистеинемия (ГГЦ), являющаяся результатом нарушений метаболизма гомоцистеина (ГЦ) – серосодержащей аминокислоты, являющейся промежуточным продуктом превращения метионина в цистеин.

С 90-х годов прошлого века концентрация ГЦ плазмы признана независимым фактором риска развития атеросклероза [13-15]. Также известно, что ГГЦ является предиктором сердечно-сосудистой смертности в общей популяции [16-18]. Обнаружено, что риск сердечно-сосудистых осложнений пропорционален степени повышения ГЦ плазмы в общей популяции [13, 16, 18, 19].

ГГЦ полностью сохраняет свое значение как важный кардиоваскулярный фактор риска и в популяции почечных больных [20-21]. Вместе с тем распространенность ГГЦ у пациентов с ХБП в разы превышает общепопуляционную, даже при начальной дисфункции почек, а концентрация ГЦ может достигать очень высокого уровня у лиц с выраженными нарушениями функционального состояния органа, в особенности – у больных, получающих заместительную почечную терапию [22-24].

Так, по данным исследований, проведенных в СПбГМУ им И.П. Павлова с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии, концентрация общего ГЦ (оГЦ) у здоровых доноров, жителей Санкт-Петербурга в возрасте от 21 до 26 лет, варьировала от 3,5 до 9,4 мкмоль/л ($6,2 \pm 1,7$ мкмоль/л). При ИБС содержание оГЦ составило в среднем $15,4 \pm 10,9$ мкмоль/л, а при цереброваскулярных нарушениях кровообращения – $12,3 \pm 7,0$ мкмоль/л [25]. В то же время при обследовании

резидентов того же региона средняя концентрация оГЦ плазмы у лиц с признаками начальной дисфункции почек была 12,6 мкмоль/л (95% доверительный интервал (ДИ) – 6,9-18,2 мкмоль/л); при ХБП III стадии – 15,8 мкмоль/л (95% ДИ – 11,3-20,3 мкмоль/л), а при IV-V стадиях ХБП – 23,0 мкмоль/л (95% ДИ – 17,0-27,0 мкмоль/л). Значения ГЦ, превышающие нормальные (12 мкмоль/л), выявляли в 37,5% при СКФ > 60 мл/мин, в 65,4% – при значениях СКФ от 30 до 59 мл/мин и в 90,2% – при СКФ < 30 мл/мин. Распространенность и выраженность ГЦ достигали максимальных значений у пациентов на заместительной почечной терапии. В этой группе только 5,3% имели нормальное содержание ГЦ в плазме крови, средние значения которого составили 31,3 мкмоль/л [26]. Подобные взаимосвязи между уровнем ГЦ и СКФ наблюдали и другие авторы [27, 28].

Повышение уровня ГЦ плазмы при дисфункции почек отражает нарушение метаболизма, вероятно, в большей степени, чем нарушения почечной экскреции этой молекулы, которая очень хорошо реабсорбируется в проксимальных канальцах. По-видимому, могут иметь место как нарушения почечного обмена ГЦ [29], так и системные нарушения метаболизма ГЦ, в частности, его реметилирования [30] и трансульфурирования при почечной недостаточности [31].

Таким образом, развитие ГЦ отчетливо связано с кардиоваскулярными рисками и жестко зависит от функционального состояния почек, достигая при ХБП высоких значений, что, безусловно, заставляет рассматривать повышение содержания ГЦ в плазме крови как один из важных «реногенных» механизмов ускоренного развития и прогрессирования сердечно-сосудистой патологии. С другой стороны, открытым и крайне важным, с точки зрения нефролога, остается вопрос о характере причинно-следственной связи между уровнем ГЦ плазмы и развитием дисфункции почек. Может ли ГЦ помимо неблагоприятных системных сосудистых эффектов вызывать повреждение почки *per se* или влиять на прогрессирование уже имеющейся ХБП? Ответы на эти вопросы могли бы привести к еще одному шагу в направлении совершенствования стратегии и тактики ренопротекции.

Метаболизм гомоцистеина

Поступающий с пищей метионин вначале превращается в S-аденозилметионин (S-AM), являющийся основным донором метильных групп в большом количестве биохимических реакций. В результате донации метильной группы S-AM превращается в S-аденозилгомоцистеин (S-AГ), гидролизующийся

затем до аденозина и ГЦ. Далее ГЦ может реметилироваться до метионина двумя путями. В первом, в ходе реакции, катализируемой метионинсинтазой, требующей витамин В₁₂ (в форме метилкобаламина) в качестве кофактора и N⁵-метилтетрагидрофолат (МТГФ) в качестве субстрата, происходит образование тетрагидрофолата (ТГФ). Этот путь реметилирования является основным. ТГФ далее в два этапа вновь превращается в МТГФ. На второй стадии процесс катализируется метилтетрагидрофолат редуктазой (МТГФР), мутации которой довольно распространены и могут вызывать умеренную ГЦ. Второй путь реметилирования использует бетаин в качестве донора одноуглеродного фрагмента (-CH₃). Помимо реметилирования, ГЦ может вступать в процесс трансульфурирования. Вступая в реакцию с серином, ГЦ образует цистатионин с участием фермента цистатионин β-синтазы. Витамин В₆ служит кофактором как в этой, так и в последующей реакции превращения цистатионина в цистеин и α-кетобутират. Цистеин далее метаболизируется до таурина и сульфатов, экскретируемых почками [32, 33]. Метаболические реакции обмена ГЦ происходят внутриклеточно и являются тканеспецифичными. У человека трансметилирование и фолат-зависимое реметилирование происходит во всех клетках. Бетаин-зависимое реметилирование происходит только в печени и почках, полный путь трансульфурирования имеет место только в печени, почках, тонкой кишке и поджелудочной железе [32]. В результате, помимо генетических дефектов, приводящих к выраженной ГЦ (дефицит цистатионин-β-синтазы, метионинсинтазы, МТГФР или бетаин-гомоцистеин метилтрансферазы), другими причинами ГЦ могут быть не только печеночная и почечная дисфункция, но и дефицит витаминов группы В (фолиевая кислота, витамин В₆, витамин В₁₂) [34, 35].

Механизмы токсичности гомоцистеина

К настоящему времени установлен целый ряд неблагоприятных биологических эффектов ГЦ, которые могут иметь значение в развитии как системных сосудистых, так и почечных изменений. Среди них повреждение эндотелия [36, 37] и эндотелиальная дисфункция [38-40]; увеличение пролиферации гладкомышечных клеток сосудов [41]; стресс эндоплазматического ретикулума (ЭПР) [42], приводящий к нарушению биосинтеза холестерина и триглицеридов [43], вызывающий апоптоз эндотелиальных клеток [44], стимуляцию провоспалительного ответа [45], нарушение контроля регуляторных протеинов [37], протромботическое действие [46].

К основным биохимическим механизмам действия ГЦ на клетки можно отнести аутоокисление ГЦ с генерацией активных форм кислорода [47], гипометилирование за счет образования S-АГ, мощного ингибитора биологического трансмелирования [48], нитрозилирование при связывании с оксидом азота [49] и N- и S-гомоцистеинилирование белков при инкорпорации в них ГЦ [50]. Различные механизмы токсичности ГЦ, безусловно, не являются взаимоисключающими.

Одним из механизмов, вызывающих эндотелиальное повреждение и эндотелиальную дисфункцию, является оксидативный стресс. При окислении сульфгидрильной группы ГЦ образуются активные формы кислорода, включая анионный радикал супероксида ($O_2^{\cdot-}$) и перекись водорода (H_2O_2), которые, как полагают, и ответственны за эндотелиальную токсичность ГЦ [51], а также запускают перекисное окисление липидов (ПОЛ) и последующий воспалительный ответ [52]. В присутствии оксида азота (NO) анион супероксида может формировать мощный оксидант пероксинитрит ($OONO^{\cdot-}$) [53].

Наличие эндотелиального повреждения при ГГЦ продемонстрировано *in vitro* как отделение эндотелиоцитов от сплошного монослоя эндотелиальных клеток в культуре пупочной вены человека и бычьей аорты [54, 55], а также обнаружено в исследованиях на животных [56, 57]. Помимо оксидативного стресса, в качестве причины эндотелиального повреждения обсуждаются также повреждение ДНК и апоптоз, индуцируемый через перегрузку ЭПР [44, 58, 59].

Развитие острой и хронической эндотелиальной дисфункции при ГГЦ обнаружено как в эксперименте на животных, так и у человека [60, 61]. Большое значение среди механизмов развития эндотелиальной дисфункции придают влиянию ГЦ на метаболизм оксида азота (NO). NO является сильным вазодилататором и, учитывая, что почечные сосуды более чувствительны к изменениям эндотелиальной функции, чем сосуды других органов [62], играет ключевую роль в почечном гомеостазе, регулируя гломерулярную и канальцевую функции, поддерживая нормальную почечную перфузию, СКФ и почечное сосудистое сопротивление (ПСС) [63]. Инактивация NO за счет анионного радикала супероксида и образующегося при этом пероксинитрита может влиять на медуллярный почечный кровоток, способствуя развитию острой почечной недостаточности [64].

Существует несколько механизмов снижения биодоступности NO при ГГЦ – аккумуляция эндогенного ингибитора эндотелиальной NO синтазы (eNOS) – асимметричного диметиларгинина

(АДМА) [65-67], активация образования нитрозо-тирозина пероксинитритом в присутствии тиолов [67], образование S-нитрозогомоцистеина. S-нитрозогомоцистеин образуется при окислении ГЦ с NO и является довольно мощным вазодилататором, обладающим антиагрегантными свойствами, но при хроническом избытке ГЦ ведет к непрерывному потреблению NO и, следовательно, к снижению его биодоступности [48]. Аккумуляция АДМА может происходить за счет ингибирования активности диметиларгинин-диметиламиногидролазы (ДДАГ), причем не только ГЦ [65], но, вероятно, и S-нитрозогомоцистеином [68].

Кроме того, вазоконстрикторный эффект, приводящий к снижению гломерулярного капиллярного давления и выраженному снижению СКФ и почечного кровотока, может возникать также за счет нитрозилирования пероксинитритом окисленной арахидоновой кислоты, что приводит к высвобождению F2-изопропанов, являющихся мощными вазоконстрикторами [69].

Другой механизм воздействия ГЦ на эндотелий заключается в инактивации глутатионовой антиоксидантной системы защиты [70]. Помимо снижения активности внутриклеточной глутатион пероксидазы, ГЦ также значительно снижает окислительно-восстановительное равновесие тиолов сосудистых клеток [71]. Таким образом, развивается относительная недостаточность косубстрата для эндотелиальной защиты от продуктов свободно-радикального метаболизма ГЦ, что еще более усиливает вызываемую перекисным радикалом инактивацию NO с последующим развитием эндотелиальной дисфункции [53].

Понятие эндотелиальной дисфункции, помимо нарушения вазодилатации на специфические стимулы, такие как ацетилхолин и брадикинин, включает также нарушение провоспалительных и протромботических свойств эндотелия [72]. Так, исследования в культуре клеток показали, что ГЦ вызывает продукцию ряда провоспалительных цитокинов, что происходит через активацию ядерного фактора транскрипции κB (NF- κB), вероятно, также за счет оксидативного стресса [73]. ГГЦ приводит к усилению лейкоцитарно-эндотелиальных взаимодействий за счет увеличения экспрессии на поверхности клеток молекул адгезии (MCP-1, ICAM-1, VCAM-1) и продукции ряда цитокинов [74-76].

Известно, что ГЦ оказывает протромботическое действие – вызывает активацию факторов V, X, XII, усиление агрегации тромбоцитов, ингибирование С-протеина, поверхностного тромбомодулина, фактора Виллебранда, подавление связывания тканевого активатора плазминогена с клетками, подавление

связывания антитромбина III с гепарансульфатом клеток [46]. Дисбаланс прокоагулянтной и антикоагулянтной систем крови при ГЦ может возникать вследствие реализации нескольких механизмов. Среди них активация, адгезия и агрегация тромбоцитов на фоне снижения биодоступности NO [77] и посттрансляционное гомоцистеинилирование белков свертывающей системы крови, приводящее к нарушению их функции [78].

N-гомоцистеинилирование белков является важным механизмом токсического действия ГЦ и представляет собой посттрансляционное включение ГЦ или его продукта ГЦ-тиолактона в белки, приводящее к изменению их структуры [79]. У человека обнаружено N-гомоцистеинилирование целого ряда сывороточных белков – альбумина, гемоглобина, γ -глобулина, липопротеидов низкой плотности (ЛНП), ЛВП, антитрипсина, трансферрина, фибриногена. Главным резервуаром N-связанного ГЦ является альбумин, абсорбирующий до 90% его общего количества. Не менее чем 2/3 ГЦ крови циркулирует в форме N-ГЦ-протеинов, и только оставшаяся 1/3 представляет собой ГЦ в форме низкомолекулярных смешанных дисульфидов [80]. Блокирование остатков лизина в белках за счет гомоцистеинилирования по аминокислоте приводит к изменению их физико-химических свойств и потере функции, в частности, к инактивации ферментов (трипсин, метил-тРНКсинтетаза, лизин оксидаза). Например, блокада ϵ -NH₂ групп лизиновых остатков коллагена приводит к нарушению межмолекулярных связей волокон экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) [81], гомоцистеинилированные ЛНП больше подвержены окислению и снижают активность Na⁺-K⁺-АТФазы, приводя к внутриклеточной задержке натрия и кальция, что сопровождается сниженной продукцией NO и повышенным образованием пероксинитрита [82]. Гомоцистеинилирование параоксаназы, входящей в состав ЛВП, приводит к инактивации белка, нарушая, таким образом, его плейотропную антиатеросклеротическую активность [83]. Помимо наличия посттрансляционного гомоцистеинилирования белков, в эксперименте продемонстрирована возможность также трансляционного гомоцистеинилирования с участием S-нитрозогомоцистеина, что также, вероятно, приводит к повреждению. S-нитрозотиолы обнаружены в крови человека, а S-нитрозо-ГЦ обнаружен в культуре эндотелиальных клеток [84].

Приведенные выше и многие другие исследования показывают, что наиболее важные последствия ГЦ связаны с действием повышенных концентраций ГЦ в клетках. По-видимому, токсические эффекты этого аминотиола связаны с его из-

бирательным накоплением в клетке. Повышение содержания ГЦ в клетке может резко усиливаться за счет его эндоцитоза вместе, например, с альбумином – переносчиком ГЦ.

Помимо гомоцистеинилирования по лизиновым остаткам, более распространено гомоцистеинилирование белков по тиоловой группе. Связывание ГЦ белками – это преимущественно окисление тиоловых групп белков с образованием внутренних дисульфидов ГЦ. Уже упоминалось, что основная масса ГЦ плазмы в норме транспортируется в составе альбумина посредством образования смешанного дисульфида. Это происходит посредством связывания ГЦ тиоловой группой альбумина. По данным А. А. Жлобы, при патологических состояниях при ГЦ связывание ГЦ в плазме крови может также обеспечиваться крупномолекулярными фракциями белка [85]. Показано, что в плазме крови больных с ГЦ значительная часть ГЦ, в отличие от ГЦ здоровых доноров, связана с глобулиновыми фракциями крови. Дополнение транспорта ГЦ в составе активированного макроглобулина (МГ) приводит к альтернативному (не связанному с альбумином) потоку ГЦ в клетки, экспрессирующие рецепторы к МГ. К ним относят макрофаги, гладкомышечные и некоторые другие клетки [86]. Согласно полученным авторами данным, при патологических состояниях, сопровождающихся активацией протеолитических систем, происходит увеличение доли ГЦ, транспортируемого в составе активированного МГ. Активированный МГ быстро извлекается из кровотока макрофагами, экспрессирующими LRP-рецептор (Lipoprotein-Related-Protein-receptor) [85, 86]. Макрофаги являются носителями этого регулятора и в большом количестве обнаруживаются при развитии атеросклероза в субэндотелиальном пространстве. МГ-зависимый транспорт ГЦ в макрофаги и другие клетки вносит существенный вклад в повышение концентрации ГЦ в клетке и, тем самым, в инициацию тканевого ремоделирования сосудистой стенки.

Следует также отметить возможную роль ГЦ в инициации аутоиммунных реакций. Выявлено, что гомоцистеинилированные белки способны, подобно другим модифицированным белкам, например окисленным или гликированным ЛНП [87, 88], генерировать иммунный ответ с формированием антител, обнаруживаемым как в эксперименте [89], так и в сыворотке крови человека. Показано, что титр таких аутоантител к модифицированному альбумину коррелирует с частотой инсульта и с ранним развитием ИБС [90], поэтому не исключена роль этих антител как модулятора иммунного ответа в развитии атеросклероза [91].

Следствием образования дисульфидных связей между внутриклеточными протеинами и ГЦ может быть еще один механизм клеточного повреждения при ГЦ, связанный с перегрузкой ЭПР, клеточной органеллы, играющей важнейшую роль в синтезе и «упаковке» белков и липидов. Гомоцистеинилирование белков способно приводить к нарушениям их укладки в ЭПР. Аккумуляция таких неправильно упакованных белков приводит к снижению перемещения новых белков в просвет ЭПР, нарушению координации его функционирования. Показано, что длительная активация этого процесса с развитием тяжелого стресса ЭПР приводит к дизрегуляции биосинтеза липидов [92, 93], апоптозу [58, 94, 95] и воспалению [96].

Важным компонентом ремоделирования сосудов является процесс пролиферации гладкомышечных клеток с увеличением образования коллагена в стенке сосуда, что приводит к развитию атеросклероза [41, 97]. ГЦ может стимулировать пролиферацию гладкомышечных клеток непосредственно или через митогенные эффекты факторов роста, освобождаемых при эндотелиальном повреждении ГЦ [98]. Сигнальные пути синтеза ДНК гладкомышечными клетками при воздействии ГЦ включают циклины и циклин-зависимые киназы [99, 100].

Существенное значение при ГЦ имеют процессы гипометилирования. В процессе метаболизма метионина при АТФ-зависимом переносе аденозина к метионину с участием фермента аденозилтрансферазы образуется S-АМ, являющийся донором метильных групп для большинства клеточных реакций трансметилирования, включая метилирование ДНК, РНК, белков, фосфолипидов, гистонов, синтез креатина, синтез мембранного фосфатидилхолина, нейротрансмиттеров центральной нервной системы, реакций метилирования/дезинтоксикации [101]. В результате переноса метиловой группы к соответствующему акцептору с помощью метилтрансферазы S-АМ превращается в S-АГ. Избыточное накопление ГЦ приводит увеличению концентрации его метаболического предшественника S-АГ, являющегося ингибитором трансметилирования, и, следовательно, к угнетению реакции метилирования [102]. Метилирование ДНК является важным эпигенетическим фактором контроля экспрессии генов. Отклонения от нормального метилирования ДНК выявляют при злокачественных новообразованиях и атеросклерозе [103, 104]. К другим функциональным последствиям гипометилирования относятся демиелинизация ЦНС [105], снижение синтеза нейротрансмиттеров [106], снижение хемотаксиса и фагоцитоза макрофагами [107], нарушение фосфолипидного состава мембран [108].

Чувствительность к гипометилированию является, по-видимому, тканеспецифичной. Так, эндотелий не имеет ферментов как транссульфурирования, так и одного из путей реметилирования (бетаин-гомоцистеин метилтрансферазы) [109] и, значит, имеет ограниченную возможность элиминации избытка ГЦ, а следовательно, и более чувствителен к увеличению S-АГ и гипометилированию.

Экспериментальные данные

К настоящему времени представлен целый ряд экспериментальных данных о том, что ГЦ *in vivo* вызывает как острые, так и хронические нарушения почечной гемодинамики и функции. Chen Y.E. и соавт. [110] продемонстрировали значительное дозозависимое снижение почечного кровотока и СКФ, а также снижение экскреции натрия и воды при внутривенной инфузии L-гомоцистеина. Эти эффекты блокировались назначением ингибитора аденозиновых рецепторов 8-SPT. Кроме того, в эксперименте при хронической ГЦ у крыс выявлено снижение аденозина в плазме и в почечном интерстиции. Аденозин, продукт распада АТФ, вызывает дилатацию большинства сосудов и обеспечивает метаболический контроль перфузии органов, увеличивает кровоток на уровне микроциркуляции, ингибирует агрегацию тромбоцитов и уменьшает пролиферацию и/или рост гладкомышечных и мезангиальных клеток [111]. Предполагают, что снижение уровня аденозина при ГЦ связано с его потреблением через обращенную S-АГ гидролазную реакцию [112]. Таким образом, снижение эндогенного аденозина, вероятно, является одним из важных механизмов индуцируемых ГЦ нарушений почечной гемодинамики.

Снижение СКФ и почечного плазмотока, повышение системного АД и ПСС при ГЦ были выявлены и в ряде других работ [113, 63, 114]. В частности, по данным P.A. Fischer и соавт. [113], при экспериментальной ГЦ у трехмесячных крыс линии Вистар указанные изменения сопровождались избыточным образованием супероксид аниона и маркеров ПОЛ, уменьшающих биодоступность NO, что позволило авторам связать выявленные гемодинамические изменения с нарушением метаболического пути L-аргинин – NO. Это согласуется с данными C.Baylis и соавт. [115], согласно которым снижение синтеза или повышение инактивации NO сопровождается снижением СКФ и повышением ПСС. Кроме того, на повышенный сосудистый тонус, повышенную чувствительность к вазоконстрикторам и нарушенную вазодилатацию почечного эндотелия может влиять избыточное образование кислородных радикалов при оксидатив-

ном стрессе. Наличие маркеров оксидативного стресса, опосредованного ПОЛ, продемонстрировано в почках крыс с ГЦ, индуцированной фолат-дефицитной диетой [116].

Выявляемые при ГЦ изменения в почках не ограничиваются лишь функциональными нарушениями. Уже в первой работе о роли ГЦ в развитии атеросклероза в 1969 году, K.S. McCully [118], помимо выявленных при аутопсии у детей с гомоцистеинурией выраженных явлений атеросклероза, описал умеренное увеличение мезангиального матрикса и увеличение числа мезангиальных и эндотелиальных клеток почки. Проплиферация мезангиальных клеток и увеличение продукции мезангиального матрикса являются факторами развития гломерулосклероза и прогрессирования ХБП [119, 120]. В исследовании Li N. и соавт. у крыс линии Sprague-Dawley с ГЦ вследствие гиперметиониновой диеты в течение 6 недель наряду с признаками склеротических изменений аорты отмечено значимое нарастание суточной экскреции белка и обнаружены выраженные изменения клубочка: увеличение мезангия, гиперклеточность клубочка, коллапс капилляров и формирование гломерулосклероза [121]. Наличие системного эндотелиального/эпителиального повреждения, в том числе почек, обнаружено при ГЦ у крыс линии SHR, что сопровождалось нарастанием мочевой экскреции протеина и повышением артериального давления [122].

Механизмы повреждающего действия ГЦ на клубочек изучаются. Имеются данные о том, что ГЦ дозо- и времязависимым образом стимулирует экспрессию MCP-1 и iNOS мРНК в мезангиальных клетках [123], активирует NF- κ B в почке [117], что свидетельствует о явном провоспалительном и митогенном эффектах ГЦ в отношении мезангиальных клеток и, следовательно, может участвовать в развитии и прогрессировании мезангиального повреждения.

Одним из факторов, регулирующих количество коллагена, являются матриксные металлопротеиназы (MMPs), обладающие деградирующей способностью в отношении почти всех компонентов ЭЦМ. Этот эффект контролируется семейством эндогенно продуцируемых тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMPs), обнаруживаемых во многих тканях и жидкостях организма. TIMP-1 — один из членов этого семейства, мощный ингибитор большинства MMPs, играющий ключевую роль в регуляции агрегации ЭЦМ. Избыточная экспрессия TIMP-1 снижает активность MMPs, приводя к аккумуляции коллагена, депозиции других элементов ЭЦМ и последующему фиброзу и склерозу во многих тканях, в том числе в клубочках почки. В

работе Z.Z. Yang и соавт. [124] обработка ГЦ в течение 48 часов мезангиальных клеток крыс вызвала пролиферацию мезангиальных клеток и увеличение коллагена типа 1 в культуре. Авторы продемонстрировали, что одним из возможных механизмов влияния ГЦ на метаболизм ЭЦМ является стимуляция активности тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMP-1) вследствие увеличения NADH-оксидазной активности. Позже эти же авторы [125] предложили в качестве одного из возможных механизмов активацию NADH/NADPH-оксидазы мезангиальных клеток крыс ГЦ.

A.J. Ingram и соавт. выявили при патофизиологически значимых концентрациях ГЦ (50 мкмоль/л) дозозависимую активацию митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) в мезангиальных клетках через кальций-зависимый механизм, вызывающую пролиферацию мезангиальных клеток [126].

Однако морфологические изменения в почках при ГЦ не ограничиваются лишь изменениями клубочка. У новорожденных крыс линии Fisher в течение 12 недель с диетически индуцированной различными воздействиями ГЦ (дефицит фолата, холина или нагрузка метионином) наряду со снижением СКФ описаны очаговые тубулоинтерстициальные изменения в субкапсулярном корковом веществе в виде признаков атрофии канальцев, мононуклеарной инфильтрации и начальных фиброзных изменений, что авторы расценили как результат ишемии вследствие нарушения регионарного кровотока [114].

Впервые детальное описание изменений проксимальных канальцев при экспериментальной ГЦ, развивавшихся наряду с признаками повреждения клубочков, на световом и субмикроскопическом уровнях дано в работах A.B. Смирнова и соавт. [127, 128]. Трехнедельная экспозиция ГЦ у крыс линии Wistar приводила к развитию альбуминурии на фоне умеренной мезангиальной пролиферации и пролиферации эндотелия, очаговой гиперплазии гломерулярной базальной мембраны, а также ярко выраженного тубулярного повреждения — гипертрофии эпителия проксимальных канальцев, очаговой утрате щеточной каймы и дезорганизации цитоплазмы клеток проксимальных канальцев [127].

Эти же авторы продемонстрировали неблагоприятное влияние ГЦ на течение экспериментальной почечной недостаточности у крыс в отношении как функциональных, так и структурных изменений почек, по-видимому, отражавших разнообразные механизмы токсического действия ГЦ на клетки нефрона. В сосудах клубочков обнаружены отложения фибрина, роллинг-нейтрофилов и очаговая гиперплазия базальных мембран. Оча-

говая пролиферация мезангиоцитов сопровождалась сегментарным увеличением матрикса, а заинтересованность подоцитов была представлена пересокращением актиновых филаментов, а также внутрицистернальных включений в просвете ЭПР, отражающих накопление неправильно упакованных полипептидных молекул, вероятно, вследствие их гомоцистеинилирования. Выявлены яркие светооптические и ультраструктурные изменения проксимальных канальцев в виде обширных участков утраты щеточной каймы, увеличения количества аутофагических вакуолей, а набухание митохондрий и участки дезорганизации цитоплазмы были обнаружены в базолатеральных отделах клеток. Последнее может быть как результатом локальной гипоксии, так и проявлением избирательного повреждения митохондрий при увеличении содержания внутриклеточного ГЦ [128].

Особая чувствительность проксимальных канальцев к действию ГГЦ обусловлена наличием систем активной реабсорбции и метаболизма ГЦ, в результате чего внутриклеточная концентрация этого аминотиола может быстро увеличиваться, приводя к реализации его токсических эффектов и повреждению клетки [129]. Можно также предположить, что накопление ГЦ в клетках проксимальных канальцев связано не только с реабсорбцией свободного, но и связанного с альбумином ГЦ, что происходит при одновременном повреждении гломерулярного фильтра [127, 128].

Клинические данные

В настоящее время существует лишь небольшое количество клинических исследований, анализирующих взаимосвязь ГГЦ с развитием и прогрессированием ХБП.

В когортном проспективном исследовании, проведенном на почти 2500 жителях голландского города Ноогн, была определенно продемонстрирована связь между ГГЦ и развитием микроальбуминурии (МАУ), независимая от наличия сахарного диабета и артериальной гипертензии. При этом риск МАУ возрастал на 30% на каждые 5 мкмоль/л увеличения ГЦ плазмы [130, 131]. Положительная связь между ГГЦ и МАУ обнаружена также у пациентов с инсулинзависимым и инсулиннезависимым сахарным диабетом [132, 133]. Вместе с тем известно, что мочевая экскреция альбумина является надежным маркером развития и прогрессирования дисфункции почек, а также предиктором развития *de novo* почечной недостаточности в общей популяции, действующим независимо от пола, возраста и сердечно-сосудистых факторов риска [135, 136]. У сиблингов пациентов с ранним

развитием атеросклероза ГЦ-снижающая терапия витаминами группы В, включая фолаты, сопровождалась уменьшением мочевой экскреции альбумина [132].

Важным подтверждением связи между ГГЦ и развитием ХБП послужило проведенное в Японии крупное проспективное популяционное исследование с наблюдением 1477 человек без предшествующей патологии почек в течение 5 лет. Авторы выявили отчетливое влияние исходного уровня оГЦ на риск развития ХБП, вне зависимости от уровня систолического АД, уровня гликированного гемоглобина, общего холестерина, липопротеинов высокой плотности, курения, употребления алкоголя, протеинурии, антигипертензивной терапии и исходной функции почек [137].

В работе N. Ikegaya и соавт. у 273 здоровых добровольцев выявлена корреляция между уровнем ГЦ плазмы и экскрецией α 1-микроглобулина, отражающим в первую очередь наличие нарушений функции канальцев [138], что является важным клиническим подтверждением экспериментальных данных о «тубулярной токсичности» ГЦ.

Клинические данные о влиянии ГГЦ на течение предсуществующей ХБП представлены весьма ограниченным количеством ретроспективных исследований недиабетической [139, 140] и диабетической [141] патологии почек. Так, в работе O. Samuelsson и соавт. не обнаружено достоверного влияния ГЦ плазмы на снижение функции почек в течение 3 лет у 63 пациентов с недиабетическими нефропатиями при достаточно низком исходном уровне СКФ – $42 \pm 15,5$ мл/мин [139]. В когортном исследовании MDRD, основанном на 2-летнем наблюдении 804 больных ХБП разной этиологии с низкими значениями СКФ (13-55 мл/мин), также не выявлено влияния уровня ГЦ на прогрессирование почечной дисфункции [140]. При этом ретроспективный анализ 157 пациентов с диабетической нефропатией со значительно более широким диапазоном вариаций функционального состояния почек (СКФ 23-143 мл/мин) на протяжении 7 лет показал существенное влияние уровня ГЦ на темпы снижения СКФ. Эта зависимость, однако, теряла свою значимость при мультивариантном анализе после корректировки модели по другим факторам риска прогрессирования ХБП [141]. Приведенные данные позволяют предположить, что ГГЦ оказывает более заметное влияние на развитие и прогрессирование ранних стадий ХБП, а по мере прогрессирования ренальной дисфункции более важное значение для прогноза приобретают такие факторы, как выраженность склеротических изменений почек, протеинурия и артериальная ги-

пертензия. По крайней мере, по данным 5-летнего проспективного исследования японских авторов, исходный уровень ГЦ был достоверно и независимо связан с темпами снижения СКФ у лиц без предшествующей ХБП [137].

В заключение следует отметить, что ГГЦ является распространенным состоянием при ХБП и в значительной степени может быть ответственна за увеличение кардиоваскулярных рисков в этой категории больных. Однако разнообразные механизмы патологического действия повышенной плазменной и внутриклеточной концентрации ГЦ, по-видимому, касаются не только системных сосудистых изменений, но и повреждения различных клеточных популяций нефрона. Проведенные к настоящему времени исследования позволяют рассматривать ГГЦ как самостоятельный потенциальный фактор риска развития и прогрессирования дисфункции почек. Таким образом, нарушение метаболизма ГЦ является одним из механизмов, позволяющих объяснять взаимообусловленность и параллелизм развития и прогрессирования кардиоваскулярной патологии и хронической болезни почек, а накопление экспериментальных и проспективных клинических наблюдений в недалеком будущем позволит более точно определить место и значение ГГЦ в кардиоренальном континууме.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Xue JL, Ma JZ, Louis TA, Collins AJ. Forecast of the number of patients with end-stage renal disease in the United States to the year 2010. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2753-2758
2. Lysaght MJ. Maintenance dialysis population dynamics: current trends and long-term implications. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: S37-S40
3. Mackenzie HS, Taal MW, Luyckx VA et al. Adaptation to nephron loss. In: Brenner BM ed. *Brenner and Rector's The Kidney*. 6th ed. Saunders, Philadelphia, 2000; 1901-1942
4. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(suppl 3): S112-S119
5. Collins AJ, Li S, Gilbertson DT et al. Chronic kidney disease and cardiovascular disease in the Medicare population. *Kidney Int* 2003; 64(Suppl 87): S24-S31
6. Levin A, Djurdev O, Barrett B et al. Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease: Getting to the heart of the matter. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 1398-1407
7. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. The seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure: The JNC VII report. *JAMA* 2003; 289: 2560-2573
8. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC et al. Kidney disease as a risk factor for the development of cardiovascular disease: A statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003; 42: 1050-1065
9. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Каюков ИГ. Кардиоренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии. *Нефрология* 2005; 9(3): 7-15
10. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med* 1982; 307: 652-659
11. Schieppati A, Remuzzi G. The future of renoprotection: Frustration and promises. *Kidney Int* 2003; 64 (6): 1947-1955
12. Landray MJ, Wheeler DC, Lip GY et al. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(2): 244-53
13. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337(4): 230-236
14. Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 324-332
15. Bostom AG, Rosenberg IH, Silbershatz H et al. Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: The Framingham Study. *Ann Intern Med* 1999; 131(5): 352-355
16. Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, et al. Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2001; 74 (1): 130-136
17. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, et al. Nonfasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. *Arch Intern Med* 1999; 159(10): 1077-1080
18. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1997; 277: 1775-1781
19. Черкас ЮВ, Денисенко АД. Определение содержания гомоцистеина в плазме крови человека методом ионообменной обращенно-фазовой жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). *Клин лаб диагн* 2001; 5: 35-37
20. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, Dekker J M et al. Hyperhomocysteinemia Increases Risk of Death, Especially in Type 2 Diabetes : 5-Year Follow-Up of the Hoorn Study. *Circulation* 2000; 101(13): 1506-1511
21. Jungers P, Chauveau P, Bandin O, Chadeaux B et al. Hyperhomocysteinemia is associated with atherosclerotic occlusive arterial accidents in predialysis chronic renal failure patients. *Miner Electrolyte Metab* 1997; 23: 170-173
22. Bostom AG, Shemin D, Verhoef P et al. Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients: A prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2554-2558
23. Moustapha A, Naso A, Nahlawi M et al. Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998; 97: 138-141
24. Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G et al. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61: 609-614
25. Zhloba AA, Blashko EL. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection. *J Chromatography B* 2004; 800: 275-280
26. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Голубев РВ и др. Распространенность гипергомоцистеинемии в зависимости от стадии хронической болезни почек. *Нефрология* 2005; 9 (2): 48-52
27. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997; 52 (1): 10-20
28. Arnadottir M, Hultberg T, Nilsson-Ehle P, Thysell H. The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentration. *Scand J Clin Lab Invest* 1996; 56: 41-46
29. Bostom A, Brosnan JT, Hall B. Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney in vivo. *Atherosclerosis* 1995; 116: 59-62
30. van Guldener C, Donker AJM, Jakobs C et al. No net renal extraction of homocysteine in fasting humans. *Kidney Int* 1998; 54: 166-169

31. Suliman ME, Divino Filho JC, Barany P et al. Effects of high-dose folic acid and pyridoxine on plasma and erythrocyte sulfur amino acids in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1287–1296
32. Finkelstein JD. Pathways and regulation of homocysteine metabolism in mammals. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 219–226
33. Fowler B. Homocysteine: Overview of biochemistry, molecular biology, and role in disease process. *Semin Vasc Med* 2005; 5(2): 77–86
34. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation; measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B12 and folate. *Clin Chem* 2000; 46: 1277–1283
35. Seshadri N, Robinson K. Homocysteine, B vitamins, and coronary artery disease. *Medical Clinics of North America* 2000; 84(1): 215–237
36. Harker LA, Harlan JM, Ross. Effect of sulfapyrazone on homocysteine-induced endothelial injury and arteriosclerosis in baboons. *R Circ Res* 1983; 53(6): 731–739
37. Wang H, Yoshizumi M, Lai K et al. Inhibition of growth and p21ras methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. *J Biol Chem* 1997; 272(40): 25380–25385
38. Chambers JC., McGregor A, Jean-Marie J et al. Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia and effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation* 1999; 99: 1156–1160
39. Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation* 1998; 98: 1848–1852
40. Austin RC, Lentz SR, Werstuck GH. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ* 2004; 11: S56–S64
41. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6369–6373
42. Outinen PA, Sood SK, Pfeifer SI et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress and growth arrest leads to specific changes in gene expression in human vascular endothelial cells. *Blood* 1999; 94: 959–967
43. Werstuck GH, Lentz SR, Dayal S et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *J Clin Invest* 2001; 107(10): 1263–1273
44. Zhang C, Cai Y, Adachi MT et al. Homocysteine induces programmed cell death in human vascular endothelial cells through activation of the unfolded protein response. *J Biol Chem* 2001; 276: 35867–35874
45. Ungvari Z, Csiszar A, Edwards JG et al. Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia: role of tumor necrosis factor- α , NAD(P)H oxidase, and inducible nitric oxide synthase. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 418–424
46. Lee R, Frenkel EP. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Hematol Oncol Clin North Am* 2003; 17(1): 85–102
47. Welch GN, Upchurch GRJ, Loscalzo J. Homocysteine, oxidative stress, and vascular disease. *Hosp Pract* 1997; 32: 81–82
48. Lee ME, Wang H. Homocysteine and hypomethylation. A novel link to vascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 1999; 9: 49–54
49. Perna AF, Ingrosso D, Lombardi C et al. Possible mechanisms of homocysteine toxicity. *Kidney Int* 2003; 63: S137–140
50. Jakubowski H. Protein N-homocysteinylation: implications for atherosclerosis. *Biomed Pharmacother* 2001; 55: 443–447
51. Misra HP. Generation of superoxide free radical during the autoxidation of thiols. *J Biol Chem* 1974; 249: 2151–2155
52. Heinecke JS. Superoxide mediated oxidation of low-density lipoproteins by thiols. In: Cerutti PA, Cerutti JM, McCord I, Fridovich, eds. *Oxy-radicals in Molecular Biology and Pathology*, Alan R. Liss, New York, 1988: 433–457
53. Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996; 98: 5–7
54. Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE. Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. *Thromb Res* 1980; 18: 113–121
55. Berman RS, Martin W. Arterial endothelial barrier dysfunction: actions of homocysteine and the hypoxanthine-xanthine oxidase free radical generating system. *Br J Pharmacol* 1993; 108: 920–926
56. Matthias D, Becker CH, Riezler R, Kindling PH. Homocysteine induced arteriosclerosis-like alterations of the aorta in normotensive and hypertensive rats following the application of high doses of methionine. *Atherosclerosis* 1996; 122: 201–216
57. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocysteine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58: 731–741
58. Hossain GS, van Thienen JV, Werstuck GH et al. TDAG51 is induced by homocysteine, promotes detachment-mediated programmed cell death, and contributes to the development of atherosclerosis in hyperhomocysteinemia. *J Biol Chem* 2003; 278: 30317–30327
59. Buemi M, Marino D, Di Pasquale G et al. Effects of homocysteine on proliferation, necrosis and apoptosis of vascular smooth muscle cells in culture and influence of folic acid. *Thromb Res* 2001; 104: 207–213
60. Woo KS, Chook P, Lolin YI et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 1997; 96: 2542–2544
61. Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996; 98: 24–29
62. Salazar FJ, Pinilla JM, Lopes F et al. Renal effects of prolonged synthesis inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 1992; 20: 113–117
63. Kone BC, Baylis C. Biosynthesis and homeostatic roles of NO in the normal kidney. *Am J Physiol* 1997; 272: F561–F578
64. Nath KA, Norby SM. Reactive oxygen species and acute renal failure. *Am J Med* 2000; 109: 665–678
65. Stuhlinger MC, Oka RK, Graf EE et al. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2003; 108(8): 933–938
66. Boger RH, Bode-Boger S M, Sydow K et al. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e)inemia or hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1557–1564
67. Sood HS, Cox MJ, Tyagi SC. Generation of nitrotyrosine precedes activation of metalloproteinase in myocardium of hyperhomocysteinemic rats. *Antioxid Redox Signal* 2002; 4(5): 799–804
68. Knipp M, Braun O, Vasak M. Searching for DDAH inhibitors: S-nitroso-L-homocysteine is a chemical lead. *J Am Chem Soc* 2005; 127: 2372–2373
69. Ossani GP, Fischer PA, Caram SG et al. Mild hyperhomocysteinemia promotes renal hemodynamic dysfunction without histopathologic changes in adult rats. *Kidney Int* 2004; 66(5): 1866–1872
70. Upchurch GRJr, Welch GN, Fabian AJ et al. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272: 17012–17107
71. Tyagi N, Sedoris KC, Steed M et al. Mechanisms of homocysteine-induced oxidative stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289(6): H2649–H2656
72. Endemann DH, Schiffrin EL. Endothelial dysfunction. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 1983–1992
73. Au-Yeung KK, Woo CW, Sung FL et al. Hyperhomocysteinemia activates nuclear factor- κ B in endothelial cells via oxidative stress. *Circ Res* 2004; 94: 28–36
74. Poddar R, Sivasubramanian N, Dibello PM et al. Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation* 2001; 103: 2717–2723

75. Wang G, Siow YL and O K. Homocysteine induces monocyte chemoattractant protein-1 expression by activating NF-kappa B in THP-1 macrophages. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H2840–H2847
76. Nappo F, De Rosa N, Marfella R et al. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA* 1999; 281: 2113–2118
77. Rakhit RD, Marber MS. Nitric oxide: an emerging role in cardioprotection? *Heart* 2001; 86: 368–372
78. Undas A, Williams EB, Butenas S et al. Homocysteine inhibits inactivation of factor Va by activated protein C. *J Biol Chem* 2001; 276: 4389–4397
79. Jakubowski H. Homocysteine thiolactone: metabolic origin and protein homocysteinylation in humans. *J Nutr* 2000; 130: 377S–381S
80. Sass JO, Nakanishi T, Sato T et al. S-homocysteinylation of transthyretin is detected in plasma and serum of humans with different types of hyperhomocysteinemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 242–246
81. Lubec B, Fang-Kircher S, Lubec T et al. Evidence for McKusick's hypothesis of deficient collagen cross-linking in patients with homocystinuria. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1315: 159–162
82. Vignini A, Nanetti L, Bacchetti T et al. Modification induced by homocysteine and low-density lipoprotein on human aortic endothelial cells: an in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 4558–4561
83. Beltowski J. Protein homocysteinylation: a new mechanism of atherogenesis? *Postepy Hig Med Dosw* 2005; 59: 392–404
84. Jakubowski H. Translational incorporation of S-nitrosohomocysteine into protein. *J Biol Chem* 2000; 275(29): 21813–21816
85. Жлоба АА, Иванова СЮ. Очистка и энзиматическая активность комплекса $\alpha 2\text{M}$ -LRP-рецептор- $\alpha 2$ -макроглобулин-трипсин. *Ученые записки Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова*. 2002; П9(1): 62–66
86. Жлоба АА, Иванова СЮ. Изучение свойств и выявление экспрессии рецептора активированного $\alpha 2$ -макроглобулина человека. *Клиническая лабораторная диагностика* 2002; 4: 7–11
87. Binder CJ, Chang MK, Shaw PX et al. Innate and acquired immunity in atherosclerosis. *Nat Med* 2002; 8: 1218–1226
88. Virella G, Thorpe SR, Alderson NL et al. DCCT/EDIC Research Group. Autoimmune response to advanced glycosylation end-products of human LDL. *J Lipid Res* 2003; 44: 487–493
89. Ferguson E, Parthasarathy S, Joseph J, Kalyanaraman B. Generation and initial characterization of a novel polyclonal antibody directed against homocysteine thiolactone-modified low density lipoprotein. *J Lipid Res* 1998; 39: 925–933
90. Undas A, Jankowski M, Twardowska M et al. Antibodies to N-homocysteinylated albumin as a marker for early-onset coronary artery disease in men. *Thromb Haemost* 2005; 93: 346–350
91. Undas A, Perla J, Lacinski M et al. Autoantibodies against N-homocysteinylated proteins in humans: implications for atherosclerosis. *Stroke* 2004; 35(6): 1299–1303
92. Werstuck GH, Lentz SR, Dayal S et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and fatty acid biosynthetic pathways. *J Clin Invest* 2001; 107: 1263–1273
93. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002; 109: 1125–1131
94. Kaufman RJ. Orchestrating the unfolded protein response in health and disease. *J Clin Invest* 2002; 110: 1389–1398
95. Zhang C, Cai Y, Adachi MT et al. Homocysteine induces programmed cell death in human vascular endothelial cells through activation of the unfolded protein response. *J Biol Chem* 2001; 276: 35867–35874
96. Outinen PA, Sood SK, Liaw PC et al. Characterization of the stress-inducing effects of homocysteine. *Biochem J* 1998; 332: 213–221
97. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362 (6423): 801–809
98. Tyagi SC. Homocysteine redox receptor and regulation of extracellular matrix components in vascular cells. *Am J Physiol* 1998; 274 (2 Pt 1): C396–405
99. Tsai JC, Wang H, Perrella MA et al. Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1996; 97: 146–153
100. Lubec B, Labudova O, Hoeger H et al. Homocysteine increases cyclin-dependent kinase in aortic rat tissue. *Circulation* 1996; 94: 2620–2625
101. Chiang PK, Gordon RK, Tal J et al. Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J* 1996; 10: 471–480
102. Yi P, Melnyk S, Pogribna M et al. Homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation. *J Biol Chem* 2000; 275(38): 29318–29323
103. Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol* 2002; 196: 1–7
104. Dong C, Yoon W, Goldschmidt-Clermont PJ. DNA methylation and atherosclerosis. *J Nutr* 2002; 132: 2406S–2409S
105. Scott JM, Molloy AM, Kennedy DG et al. Effects of the disruption of transmethylation in the central nervous system: an animal model. *Acta Neurol Scand* 1994; Suppl.154: 27–31
106. Schatz RA, Wilens TE, Sellinger OZ. Decreased transmethylation of biogenic amines after in vivo elevation of brain S-adenosyl-L-homocysteine. *J Neurochem* 1981; 36: 1739–1748
107. Leonard EJ, Skeel A, Chiang PK, Cantoni GL. The action of the adenosylhomocysteine hydrolase inhibitor, 3-deazaadenosine, on phagocytic function of mouse macrophages and human monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1978; 84: 102–109
108. Chiang, PK, Im YS, Cantoni GL. Phospholipids biosynthesis by methylations and choline incorporation: effect of 3-deazaadenosine. *Biochem Biophys Res Commun* 1980; 94: 174–181
109. Chen P, Poddar R, Tipa EV, Jacobsen DW. Homocysteine metabolism in cardiovascular cells and tissues: implications for hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease. *Adv Enzyme Regul* 1999; 39: 93–109
110. Chen YF, Li PL, Zou AP. Effect of hyperhomocysteinemia on plasma or tissue adenosine levels and renal function. *Circulation* 2002; 106: 1275–1281
111. Hansen PB, Schnermann J. Vasoconstrictor and vasodilator effects of adenosine in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F590–F599
112. Biaggioni I, Mosqueda-Garcia R. Adenosine in cardiovascular homeostasis and the pharmacologic control of its activity. In: Laragh JH, Brenner BM, eds. *Hypertension, Pathophysiology, Diagnosis, and Management*. 2nd ed. Raven, New York, 1995: 1125–1140
113. Fischer PA, Dominguez GN, Cuniberti LA et al. Hyperhomocysteinemia induces renal hemodynamic dysfunction: is nitric oxide involved? *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 653–660
114. Kumagai H, Katoh S, Hirose K et al. Renal tubulointerstitial injury in weanling rats with hyperhomocysteinemia. *Kidney Int* 2002; 62: 1219–1228
115. Baylis C, Slangen B, Hussain S, Weaver C. Relationship between basal NO release and cyclooxygenase products in the normal rat kidney. *Am J Physiol* 1996; 271: R1327–R1334
116. Diez N, Perez R, Hurtado V, Santidrian S. Hyperhomocysteinemia induced by dietary folate restriction causes kidney oxidative stress in rats. *Br J Nutr* 2005; 94(2): 204–210
117. Zhang F, Siow YL, O K. Hyperhomocysteinemia activates NF-B and inducible nitric oxide synthase in the kidney. *Kidney Int* 2004; 65(4): 1327–1338
118. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111–128

119. Brenner BM. Hemodynamically mediated glomerular injury and the progressive nature of kidney disease. *Kidney Int* 1983; 23: 647–655
120. Dworkin LD, Feiner HD. Glomerular injury in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats. A consequence of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 1986; 77: 797–809
121. Li N, Chen YF, Zou AP. Implications of hyperhomocysteinemia in glomerular sclerosis in hypertension. *Hypertension* 2002; 39: 443–448
122. Miller A, Mujumdar V, Shek E et al. Hyperhomocyst(e)inemia induces multiorgan damage. *Heart Vessels* 2000; 15(3):135–143
123. Tsai JrC, Chen LN, Hwang ShJ et al. Homocysteine stimulates the expression of monocyte chemoattractant protein-1 and inducible nitric oxide synthase, and DNA synthesis in rat mesangial cells. *Congress ERA-EDTA*, Berlin, June 8–12, 2003; [T62], abstract
124. Yang ZZ, Zou AP. Homocysteine enhances TIMP-1 expression and cell proliferation associated with NADH oxidase in rat mesangial cells. *Kidney Int* 2003; 63(3): 1012–1020
125. Yi F, Zhang AY, Janscha JL, Li PL, Zou AP. Homocysteine activates NADH/NADPH oxidase through ceramide-stimulated Rac GTPase activity in rat mesangial cells. *Kidney Int* 2004; 66(5):1977–1987
126. Ingram AJ, Krepinsky JC, James L et al. Activation of mesangial cell MAPK in response to homocysteine. *Kidney Int* 2004; 66(2): 733–745
127. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Неворотин АИ и др. Гомоцистеин вызывает повреждение не только клубочкового, но и канальцевого отдела нефрона (экспериментальное исследование). *Нефрология* 2005; 9(3): 81–87
128. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Неворотин АИ и др. Гипергомоцистеинемия усугубляет повреждение нефрона при экспериментальной хронической почечной недостаточности. *Нефрология* 2005; 9(4): 67–74
129. Bridges CC, Zalups RK. Homocysteine, System b0,+ and the renal epithelial transport and toxicity of inorganic mercury. *Am J Pathol* 2004; 165: 1385–1394
130. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jager A et al. Serum homocysteine level and protein intake are related to risk of microalbuminuria: The Hoorn Study. *Kidney Int* 1998; 54: 203–209
131. Jager A, Kostense PJ, Nijpels G et al. Serum homocysteine levels are associated with the development of (micro)albuminuria: the Hoorn study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(1): 74–81
132. Chico A, Perez A, Cordoba A et al. Plasma homocysteine is related to albumin excretion rate in patients with diabetes mellitus: a new link between diabetic nephropathy and cardiovascular disease? *Diabetologia* 1998; 41(6): 684–693
133. Lanfredini M, Fiorina P, Peca MG et al. Fasting and post-methionine load homocyst(e)ine values are correlated with microalbuminuria and could contribute to worsening vascular damage in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Metabolism* 1998; 47: 915–921
134. Vermeulen EG, Rauwerda JA, van den Berg M et al. Homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 lowers urinary albumin excretion but not plasma markers of endothelial function or C-reactive protein: further analysis of secondary end-points of a randomized clinical trial. *Eur J Clin Invest* 2003; 33(3): 209–215
135. Bigazzi R, Bianchi S, Baldari D et al. Microalbuminuria predicts cardiovascular events and renal insufficiency in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1998; 16(9):1325–1333
136. Verhave JC, Gansevoort RT, Hillege HL et al. PREVEND Study Group. An elevated urinary albumin excretion predicts de novo development of renal function impairment in the general population. *Kidney Int* 2004; 92 [Suppl]: S18–21
137. Ninomiya T, Kiyohara Y, Kubo M et al. Hyperhomocysteinemia and the development of chronic kidney disease in a general population: the Hisayama study. *Am J Kidney Dis* 2004; 44(3): 437–445
138. Ikegaya N, Yanagisawa C, Kumagai H. Relationship between plasma homocysteine concentration and urinary markers of tubulointerstitial injury. *Kidney Int* 2005; 67(1): 375
139. Samuelsson O, Lee DM, Attman PO et al. The plasma levels of homocysteine are elevated in moderate renal insufficiency but do not predict the rate of progression. *Nephron* 1999; 82(4): 306–311
140. Sarnak MJ, Wang SR, Beck GJ et al. Homocysteine, cysteine, and B vitamins as predictors of kidney disease progression. *Am J Kidney Dis* 2002; 40(5): 932–939
141. Hovind P, Tarnow L, Rossing P et al. Progression of diabetic nephropathy: role of plasma homocysteine and plasminogen activator inhibitor-1. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(6): 1376–1380

Поступила в редакцию 20.03.2006 г.