

ХОМОЦИСТЕИН И СЪРДЕЧНО-СЪДОВИ ЗАБОЛЯВАНИЯ – ЕТИОПАТОГЕНЕЗА И ПРОФИЛАКТИКА

Д-р Александър Пенков, д-р Димитър Христов, проф. Божидар Попов
Катедра хигиена, медицинска екология и хранене, МУ, София

Известна е ролята на нездравословното хранене в етиопатогенезата на сърдечно-съдовите заболявания (ССЗ) и в частност на коронарната болест.

Коронарната болест на сърцето (КБС) в световен мащаб причинява приблизително 50% от смъртността в развитите страни. В същото време обаче, въпреки многобройните проучвания в тази насока, все още около половината от ССЗ са с недостатъчно изяснена етиопатогенеза.

Проблемът е особено актуален за нашата страна не само поради това, че смъртността от ССЗ е на първо място сред останалите заболявания, но и поради тревожния факт, че в България смъртността на мъжете от тези заболявания е най-висока сред 15 от наблюдаваните страни в света (757,5 на 100 000 души население). Епидемиологични проучвания в нашата страна показват много висок риск за ИБС (32,8 % в Добрички окръг, 50,7 % в Бургаски), свързан с регистрираната хиперхолестеролемия при изследваните лица. Анкетните данни доказват пряка зависимост между консумацията на мазнини и нивото на общия холестерол в серума (2).

В исторически аспект първоначално в етиопатогенезата на съдовите дегенеративни заболявания се “обвиняват” животинските белтъци. По-късно се поставя началото на “липидната теория”, приемаща липидите за водещи в атерогенезата. Счита се, че ролята на липидите като рисков фактор за ИБС е клинично и експериментално доказана. Понастоящем е доказана пряката връзка между съдържанието на мазнини и повишения относителен дял на наситените мастни киселини в храната и коронарната смъртност (55). **Приема се, че ниските нива на HDL-хол са доказан рисков фактор за коронарни болести (46).**

През 1962 г. Carson NA и Neill DW описват рядко срещаното заболяване хомоцистеинурия, което се дължи на дефект на ензима цистатионин-синтаза. Болните с хомоцистеинурия имат и ранна изява на атеросклеротични промени.

При някои проучвания е установено наличието на термолабилни форми на ензима метилентетрахидрофолат-редуктаза (МТХР) при пациенти с ИБС (35). Тази мутация е предизвикана от заместването на 667 нуклеотид от генетичния код и се изразява в замаяната на аланин с валин в ензима.

Преди повече от 30 години за първи път се появиха данни за атерогенно действие на хомоцистеина (Хц). McCully K. (1969) създаде “хомоцистеиновата хипотеза”, според която хомоцистеинът има пряк токсичен ефект върху съдовия ендотел и предизвиква увеличение на тромбоцитния растежен фактор.

Хомоцистеинът е сярна-съдържаща аминокиселина, която е продукт от интрацелуларния метаболизъм на метионина и е прекурсор на цистеина. Той се окислява до дисулфид, хомоцистеин и смесени хомоцистеин-цистеинови дисулфиди. Всяка една от тези молекулни форми може да съществува в свободна форма или да е свързана с протеини. Свързаният хомоцистеин представлява 70-80% от общото

количество (52), докато свободният е около 1% (19). Тези форми на хомоцистеина в плазмата се наричат тотален плазмен хомоцистеин (ТХц) (59).

Най-често използваните методи за определяне на хомоцистеина са два:

1. Имуноензимен метод за определяне на тотален хомоцистеин, който е опростен, експресен и надежден.
2. Хроматографски методи, които са трудоемки и се използват като референтен метод, главно при прецизни проучвания.

При наши проучвания за определяне на хомоцистеиновата концентрация в плазмата сме използвали газхроматографски метод с маселективен детектор.

Повишеното серумно ниво на Хц е рисков фактор за атеросклероза, сърдечно-съдови заболявания (ССЗ), мозъчно-съдова болест (МСБ) и венозен тромбемболизъм. В същото време механизмите на проатерогенния ефект на тази аминокиселина са недостатъчно добре проучени. Все още остава неизяснен въпросът дали хиперхомоцистеинемията (ХХц) е по-скоро маркер, отколкото фактор, причиняващ атеросклеротична болест (18).

Метаанализ на 14 проучвания показва, че рискът за коронарна болест нараства с 1,6 пъти за мъжете и 1,8 пъти за жените при всяко повишение на нивото на Хц с 5 $\mu\text{mol/L}$ (9). **Трябва да се отбележи, че резултатите от проспективните проучвания, за разлика от трансверзалните и контролираните, разкриват по-малка или липсваща връзка между нивата на Хц и ССЗ (15).**

Референтните стойности на плазменият тХц са в границите на 5-15 $\mu\text{mol/L}$ (1), но желаните, т.е. нерискови нива, трябва да са по-ниски - 9-10 $\mu\text{mol/L}$. Хиперхомоцистеинемията според някои автори се класифицира като слабо изразена при 11.7-16 $\mu\text{mol/L}$, умерена (16.1-30 $\mu\text{mol/L}$), междинна (30.1-100 $\mu\text{mol/L}$) и тежка при над 100 $\mu\text{mol/L}$ Хц (51).

Мъжете имат по-високи концентрации на Хц в сравнение с жените, като нивата му показват тенденция за нарастване с напредване на възрастта и при двата пола (28). **Това увеличение е средно с около 5 % за всяка възрастова декада (25).** При друго проучване, проведено в САЩ (23), се установяват по-високи стойности на ТХц при момчетата в сравнение с момичетата в групата от 3 до 18 години, като тази разлика се увеличава във възрастта от 16 до 18 години.

Голям брой проучвания установяват, че пониженият внос на витамините B_6 , B_9 (фолиева к-на) и B_{12} се свързва с повишеното ниво на Хц в плазмата. Ниските плазмени нива на фолиева киселина и на витамин B_{12} могат да нарушат конверсията на Хц до метионин, при което се повишава плазмената концентрация на Хц. **Pancharunti** и съавт. (1994) намират връзка между пониженото плазмено ниво на витамин B_6 и ангиографично установените лезии на коронарните артерии при мъже под 50 г. Витамин B_6 е кофактор на две стъпала от превръщането на Хц в цистеин чрез отговора на Хц при натоварването с метионин. В редица проучвания се наблюдава обратна връзка между Хц и пиридоксал-5-фосфата, който е основна циркулираща форма на вит. B_6 , докато в други тази връзка е слаба или липсваща.

При други проучвания е установена повишена честота на смъртността от инфаркт на миокарда при мъже над 50-годишна възраст, при които е намерено понижено ниво на фолиевата киселина (37). **Peterson JC (1998) намира спиране на прогресирането на атеросклеротичните плаки на коронариите при мъже, приемали допълнително фолиева киселина.**

При проучване случай-контрола, включващо 750 болни от ССЗ, е установена обратна връзка между плазмената концентрация на Хц и плазменото ниво на витамините B_6 , B_9 и B_{12} (44). **При 12 контролирани проучвания, включващи 1114 болни от ССЗ, се установява, че допълнителното внасяне на 0,5-5 mg фолиева киселина и на**

0,5 mg **вит. В₁₂** намалява концентрацията на Хц с 25-30 % (4).

Някои автори установяват, че повишаването на вноса на фолиева киселина с 20 мг дневно води до намаление на концентрацията на общия хомоцистеин с около 4 $\mu\text{mol/L}$. **Повишението на плазмения хомоцистеин с 5 $\mu\text{mol/L}$ повишава много по-силно риска от сърдечно-съдови заболявания, отколкото повишението на холестерола с 0,5 mmol/L (3).**

Артериалната хипертония е независим рисков фактор за ССЗ, като в последно време вниманието бе насочено към директната ѝ връзка с плазменото ниво на хомоцистеина.

При проучване, проведено от Fakhraheh H. и съавт. (2005), се установява, че количеството на хомоцистеина е повишено при хипертониците, достоверно изразено при мъжете. Суплементацията с витамините В₉ и В₁₂ има протективен ефект. Тези автори установяват, че повишеният хомоцистеин при хипертониците е често съпътстващ фактор, отколкото прекурсор на хипертонията.

Последни изследвания показват, че ХХц може да играе определена роля в патогенезата на хипертонията. Въздействието на антихипертензивните лекарства върху плазменото ниво на Хц са недостатъчно проучени. При изследване на 120 пациенти с доказана хипертония, получаващи 100 мг дневно метопролол сукцинат, след 4-месечно приемане на медикамента нивото на плазмения Хц е достоверно намалено спрямо първоначалните базални нива. Това достоверно понижение е установено при жените, но не и при мъжете (5).

При дъуго едно проучване е изследвана ролята на суплементацията с фолиева киселина при хипертоници. Установено е, че 3-седмичното приемане на 5 мг фолиева киселина понижава систолното налягане средно с $4,7 \pm 1,6 \text{ mmHg}$ ($p < 0,05$) (60).

Редица автори отбелязват, че повишеният Хц може да увреди съдовия ендотел, което да доведе до нарушение в показателите на хемостазата (фактор на von Willebrand, фактор VIIa, тъканен плазминоген активатор, С-реактивен протеин). Повишеното плазмено ниво на Хц е **рисков фактор за венозна тромбоза. Тази връзка е добре установена при болни с хомоцистеинурия. (Quere I.et al., 2005). Пациенти с хомоцистеинурия имат изявено увреждане на механизмите, регулиращи кръвния поток в съдовете, но при умерено изразена ХХц данните са противоречиви. Няма достатъчно ясен консенсус по въпроса за механизмите, чрез които Хц предизвиква ендотелна дисфункция. Приемът на фолиева киселина понижава плазменото ниво на Хц и подобрява предизвиканата от кръвния поток дилатация на съдовете. Обаче ефектът на фолиевата киселина се проявява единствено във високи дози. Вероятно фолиевата киселина във фармакологични дози увеличава активността на NO, въздействайки върху интерактивността на азотния оксид (36).**

Klerk M. и съавт. (2005) **обаче не установяват ефект при суплементирането с фолиева киселина върху факторите на хемостазата и С-реактивния протеин.**

Diaz DE Tuesta и съавт. (2005) **установяват при пациенти с тромбоемболична болест понижени серумни нива на Вит В₁₂, но не и на фолиевата киселина в серума.**

Липопротеин (а) и плазменият Хц са установени като независими рискови атеротромботични фактори при редица проучвания (38).

Някои проучвания показват, че повишението на плазмения Хц може да наруши в значителна степен функцията на съдовия ендотел, което впоследствие да намали коронарния кръвоток. При проведено проучване при 53 пациенти с намален коронарен кръвоток е намерено достоверно повишение на хомоцистеиновото ниво в сравнение с контролна група лица ($15,5 \pm 5,7$ срещу $8,7 \pm 4,2 \mu\text{mol/L}$, $p < 0,01$) (43).

Съдовият ендотел играе важна роля в патофизиологията на съдовите заболявания. Разстройството на предизвиканата от кръвния поток вазодилатация е мярка за

ендотелна дисфункция вследствие на редуциращата способност на азотния окис.

Доказателствената връзка, че Хц има отношение към атеротромбозата, е установена и при експериментални животински модели. Увреждането на ендотелната функция е опосредствано чрез увеличената инактивация на азотния окис или инхибицията на продуктите на азотния окис вследствие на ендогенно продуцирания азотноокисен синтезен инхибитор (асиметричен диметиларгинин) (32). **Ebbesen L. и Ingerslev J. (2005) изследват въздействието на Хц върху факторите на коагулация при плъхове.** Те установяват, че при групата животни с фолиев дефицит и Хц се понижава активността на коагулационните фактори (F XII, F X и F II), докато F VII остава непроменен, а F VIII се повишава. Тези резултати могат да обяснят частично угължената фаза на инициация на коагулационния профил на кръвта при фолио-дефицитните хиперхомоцистеинемични плъхове. Приемът на фолиева киселина може да подобри коагулационния профил при тези животни.

Virtanen JK и съавт. (2005) оценяват риска от мозъчен инсулт в проспективно кохортно изследване при 1015 мъже на възраст между 46 и 60 години. Авторите установяват, че повишеният серумен Хц е свързан с повишен общ риск от мозъчни инсулти. Хц води до ендотелна дисфункция, по-специално в церебралните артериоли. При тези експериментални проучвания се установяват доказателства, че Хц предизвиква стрес в ендоплазматичния ретикулум, което може да допринесе за развитието на атеросклероза и дисфункция посредством активиране на сигналите по пътищата водещи до възпаление, оксидативен стрес и апоптоза (61). **От друга страна повишеното серумно ниво на фолиева киселина може да намали риска от мозъчно-съдови инциденти.**

Проведени са проучвания за ролята на консумацията на алкохол, сърдечно-съдов риск, липидните показатели и нивото на Хц.

При едно проучване, проведено във Франция върху 2126 мъже, се установява, че консумиращите качествени вина имат понижени стойности на липопротеини (а), повишен Хц и повишен индекс на телесната маса (ИТМ). Употребяващите бира, ябълково вино и десертни вина имат също така повишен Хц. Същото е наблюдавано и при консумиращите вино в малки количества. Пиещите трапезни вина имат повишени стойности на АпоВ, триглицериди и ИТМ (45). **В заключение авторите посочват, че алкохолната консумация води до повишен риск от атеросклеротични заболявания.**

Gillett MJ и Burnet JR (2005) съобщават за 3 случая при мъже алкохолици с тежко изразена Хц, при които концентрацията на Хц се понижава достоверно след намаляване на алкохолната консумация.

При друго проучване, проведено при 988 жени, е оценена връзката между алкохолната консумация, приема на фолиева киселина и концентрацията на плазмения Хц (12). **При намален внос на фолиева киселина пациентите, приемащи умерени количества алкохол (≥ 15 гр. алкохол дневно) имат достоверно повишен ТХц ($15,2 \pm 2,9 \mu\text{mol/L}$) спрямо слабо пиещите ($11,3 \pm 0,7 \mu\text{mol/L}$) и непиещите ($11,0 \pm 0,8 \mu\text{mol/L}$). Обаче намалението на нивото на ТХц при повишен внос на фолиева киселина е значително по-добре изразено при умерено пиещите ($-6,6 \mu\text{mol/L}$), отколкото при слабо пиещите ($-2,3 \mu\text{mol/L}$) и непиещите ($-2,1 \mu\text{mol/L}$). В този случай авторите заключават, че умерената алкохолна консумация и ниската активност на МТХФР имат неблагоприятно въздействие върху нивата на плазмения хомоцистеин, но този ефект може да бъде преодолян при достатъчен внос на фолиева киселина.**

Според други автори серумният ХЦ се увеличава след умерена консумация на червено вино и концентриран алкохол, но не и след умерена консумация на бира (54). В последният случай това вероятно се дължи на вит. В₆ в бирата, който

предотвратява въздействието на алкохола.

Интерес представляват проучванията, свързани с вегетарианството, ССЗ и аминокиселината хомоцистеин. При проучвания, проведени при 57 жени-вегетарианки след менопаузата, се установяват повишени нива на Хц и понижени концентрации на вит. В₁₂ в кръвта (48).

При едно групо проучване, свързано с определяне на Хц-концентрация при вегетарианци, авторите намират достоверно повишение на Хц концентрация при вегетарианците в сравнение с контролната група (23,9 ± 21,3 срещу 11,6 ± 4,9 μmol/L, p < 0,001) (8) **Също така се установява, че серумното ниво на вит. В₁₂ е достоверно понижено при групата на вегетарианците в сравнение с контролната група (171,2 ± 73,6 срещу 265 ± 52,2 pmol/L, p < 0,01; референтни стойности – от 220 до 740 pmol/L).**

Хранителното суплементиране с витамини от група В, които намаляват серумното ниво на ТХц, предполага намаляване на риска от ССЗ. Фолиевата киселина и вит. В₁₂ намаляват сумарното ниво на Хц с 25-30% при изследваната популация, която не е получила повишени дози на фолиева киселина, като това намаление е само с 10-15% при групата, получила само вит. В₉. При тези проучвания 25% понижение на Хц е свързано с 10% намаление на ССЗ и около 20% намаление на мозъчно-съдовите инциденти (13).

При 2 широкомащабни проучвания в Германия е установено, че пълнозърнести ят хляб, пресните плодове, маслиновото масло, гъбите, кръстоцветните зеленчуци, виното и яките повлияват положително нивото на фолиевата киселина и вит. В₁₂ в кръвта, което е свързано с понижение на плазмения Хц. Този хранителен режим повлиява благоприятно Хц-метаболизъм и съответно може да намали риска от ССЗ (58). **Противоположно е въздействието на консумацията на пържени картофи.**

Умерено изразената ХХц преди всичко се проявява при недостатъчно добре балансирано хранене, свързано с Хц-метаболизъм. Недостатъчният внос на фолиева киселина е най-важният хранителен фактор, който предизвиква повишение на Хц в кръвта. Препоръчителната дневна доза на фолиева киселина е 400 мкг. с подчертан понижаващ ефект (около 20-25%) на Хц. Допълнителен фактор, оказващ влияние върху количеството на Хц в кръвта, се явява вит В₁₂. Витамините В₂ и В₆ имат слабо изразено влияние върху Хц-ниво, въпреки че вит В₂ е свързан индивидуално с ензима МТХФР (677 ТТ-генотип), който може да подобри Хц-катаболизъм при възрастните.

Ubbink JB и съавт. (1993) при 100 мъже с ХХц, разпределени в 5 групи по 20, внасят ежедневно в продължение на 6 седмици 0,65 мг фолиева киселина, 0,4 мг вит. В₁₂ и 10 мг вит. В₆. Тези витамини са давани поотделно на всяка група мъже, като 4 група е приемала и трите витамина, а 5 е взимала плацебо. Авторите установяват, че хомоцистеиновата концентрация в серума на изследваните лица е най-силно намалена (49,8 %) при мъжете, приемали и трите витамина едновременно. Тези, приемали само фолиева киселина, са имали 41,7 % намаление на Хц-ниво, докато при групата, приемала вит. В₁₂, се установило намаление в Хц-концентрация с 14,8 %. Не е била намерена промяна в Хц-концентрация при групата, приемала вит. В₆.

В заключение, използването на фолиева киселина като добавка в храната може да намали Хц-концентрация. Обаче не е известно дали намаленото Хц-ниво може да намали риска от ССЗ (56).

Повишеният внос на белтъчни храни също повишава Хц-ниво, но тези промени са преходни и нивата му се нормализират след 12-часово гладуване. Серинът и цистинът също повлияват метионин-предизвиканото увеличение на Хц-концентрация. Консумацията на чай и кафе повишава нивото на Хц с 20 %.

При експериментални изследвания на маймуни Lentz SR и съавт. (1996) намират,

че диета, богата на метионин и бедна на фолиева киселина и холин, иницира хиперхомоцистеинемия у експериментални животни.

Тъй като хомоцистеинът е продукт от метаболизма на една от есенциалните аминокиселини, имащи важно значение в храненето на човека, от това възникват редица въпроси, свързани с приема на храни, богати на метионин. Такива са яйцата, месото, рибата, колбасите, млякото, изварата, т.е. главно животински продукти. Това поставя въпроса за ролята на повишения белтъчен внос в етиопатогенезата на сърдечно-съдовите заболявания, а оттам и за преразглеждане на белтъчната теория в атерогенезата.

Бетаинът и холинът могат да понижат нивото на Хц в същата степен, както фолиевата киселина, специално в случаите на повишен внос на метионин. Холинът е прекурсор на бетаина. **Olhof MR и съвт. (2005) проучват въздействието на суплементирането с холин под формата на фосфатидил-холин, който присъства в храната, върху концентрацията на плазмения Хц при здрави мъже с умерено повишен плазмен Хц.** При дневен внос от 2,6 гр холин за 2 седмици се установява намаление на плазмения Хц с 18 % (-3 $\mu\text{mol/L}$). **На първия ден от суплементирането еднократна доза от 1,5 гр холин намалява увеличението хомоцистеин с 15 % (-4,8 $\mu\text{mol/L}$).** Авторите заключават, че при повишени нива на Хц в плазмата, които могат да доведат до ССЗ, допълнителният внос на холин може да намали риска от ССЗ при човека.

От представените литературни данни може да се направи извода, че е необходимо да бъдат проведени допълнителни изследвания за ролята на хомоцистеина и на антиоксидантната система в етиопатогенезата на сърдечно-съдовите заболявания.

КНИГОПИС

1. Никулъчина, Н. Дисалфалипопротеидемии, методи их выявления и распространенность в популяции мужчин 40-59 лет, кн.: Клиническое и епидемиологическое изучение уровня липидов крови и типов липопротеидемии у население. Дислипидопротеидемии в патогенезе атеросклероза, ред. Климов А. М., Мед., 1981, 21-25.
2. Станкушева Т. Принципи на диетичното поведение при дислипидемии. Актуална липидология, 1997, 4, 11-18.
3. Alfthan G, Aro A, Gey K. Plasma homocysteine and cardiovascular disease mortality. The lancet 1997, 349, 397.
4. Anonymous. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. BMJ, 1998, 316 (7135), 894-898.
5. Atar I, Korkmaz ME, Demircan S, Atar IA, Bozbas H, Aydinalp A, Ozin B, Yildirim A, Muderisoglu H. Beta blocker effects on plasma homocysteine levels in patients with hypertension. Atherosclerosis. 2005 Aug;181(2):399-402. Epub 2005 Feb 25.
6. Beltowski J. Protein homocysteinylolation: a new mechanism of atherogenesis? Postepy Hig Med Dosw . 2005 Aug 12;59:392-404.
7. Blom HJ, Kleinveld HA, Boers GH, Demacker PN, Hak-Lemmers HL, Te Poele-Pothoff MTWB, et al. Lipid peroxidation and susceptibility of low density lipoprotein to in vitro oxidation by hyperhomocysteinemia. Eur J Clin Invest 1995;25:149-154.
8. Bissoli L, Di Francesco V, Ballarin A, Mandragona R, Trespidi R, Brocco G, Caruso B, Bosello O, Zamboni M. Effect of vegetarian diet on homocysteine levels. Ann Nutr Metab. 2002;46(2):73-9.
9. Boushey C. et al. A quantitative assesment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease; probable benefits of increasing folic acid intakes JAMA, 274, 1995, 1049-1057.

10. Cankurtaran M, Halil M, Yavuz BB, Dagli N, Oyan B, Ariogul S. Prevalence and correlates of metabolic syndrome (MS) in older adults. *Arch Gerontol Geriatr.* 2005 Jul 23 10. Carson, N.A.J. & Neill, D.W. (1962) Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch. Dis. Child* 37, 505-513.
11. Celermajer DS, Sorensen K, Ryallas M, Robinson J, Thomas O, Leonard JV, et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:854-858.
12. Chiuvè SE, Giovannucci EL, Hankinson SE, Hunter DJ, Stampfer MJ, Willett WC, Rimm EB. Alcohol intake and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism modify the relation of folate intake to plasma homocysteine. *Am J Clin Nutr.* 2005 Jul;82(1):155-62.
13. Clarke R. Homocysteine-lowering trials for prevention of heart disease and stroke. *Semin Vasc Med.* 2005 May;5(2):215-22.
14. Cortes A, Nieto JA. Low levels of vitamin B and venous thromboembolic disease in elderly men. *J Intern Med.* 2005 Sep;258(3):244-9.
15. Christen WG, Ajaniv A, Glynn RJ, Hennekens CH: Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Intern Med* 2000;160(4): 422-434.
16. Diaz DE Tuesta AM, Ribo MD, Belinchon O, Marchena PJ, Bruscas MJ, Val E, Cortes A, Nieto JA. Low levels of vitamin B and venous thromboembolic disease in elderly men. *J Intern Med.* 2005 Sep;258(3):244-9.
17. DiMinno G, Davi G, Margaglione M, Cirillo F, Grandone E, Ciabattoni G, et al. Abnormally high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. Evidence for platelet involvement and procoagulant-sensitive mechanism. *J Clin Invest* 1993;92:1400-1406.
18. Donner MG. et al. Plasma total homocysteine levels in patients with early onset coronary heart disease and a low cardiovascular risk profile. *Metabolism.* 47,1998, 273-279.
19. Duell PB, Malinow MR. Homocyst(e)inemia and risk of atherosclerosis: a clinical approach to evaluation and management. *The Endocrinologist*, 8, 1998, 170-177.
20. Ebbesen LS, Ingerslev J. Folate deficiency-induced hyperhomocysteinemia attenuates, and folic acid supplementation restores, the functional activities of rat coagulation factors XII, X, and II. *J Nutr.* 2005 Aug;135(8):1836-40.
21. Fakhrazadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, Heshmat R, Nouri M, Shafae A, Larijani B. Plasma homocysteine concentration and blood pressure in healthy Iranian adults: the Tehran Homocysteine Survey (2003-2004). *J Hum Hypertens.* 2005,Jul,28,(Epub ahead ofprint)
22. **Fowler B. Homocysteine: overview of biochemistry, molecular biology, and role in disease processes.** *Semin Vasc Med.* 2005 May;5(2):77-86.
23. **Ganji V, Kafai MR. Population references for plasma total homocysteine concentrations for u.s. Children and adolescents in the post-folic Acid fortification era.** *J Nutr.* 2005 Sep;135(9):2253-6.
24. **Gillett MJ, Burnett JR. Alcohol-associated severe hyperhomocysteinemia.** *Ann Clin Biochem.* 2005 Jul;42(Pt 4):304-7.
25. **Gordon D.J. et al. High density lipoprotein cholesterol and CVD: for prospective American studies.** *Circulation*, 1989, 79, 8-15.
26. **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.
27. **Hirano K, Ogihara T, Miki M, Yasuda H, Tamai H, Kawamura N, et al. Homocysteine induces iron-catalyzed lipid peroxidation of low-density lipoprotein that is prevented by alpha-tocopherol.** *Free Radic Res* 1994;21:267-276.
28. **Julius S. Sympathetic overactivity and the pathophysiology of the coronary risk in hyperten-**

- sion .Cardiovascular Risk factors, 1995, 5, 3-10.
29. Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992;12:279-298.
 30. Klerk M, Durga J, Schouten EG, Klufft C, Kok FJ, Verhoef P. No effect of folic acid supplementation in the course of 1 year on haemostasis markers and C-reactive protein in older adults. *Thromb Haemost.* 2005 Jul;94(1):96-100.
 31. Kuller LH, Evans RW. Homocysteine, vitamins and cardiovascular disease. *Circulation*, 98, 1998, 196-199.
 32. Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ, Bhopatkar MY, Faraci FM, Malinow MR, et al. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996;98:24-29.
 33. Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *J Thromb Haemost.* 2005 Aug;3(8):1646-54.
 34. McCully K. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 1996;2:386-389.
 35. Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *Journal of the American College of Cardiology* 1996; 27(3) ; 517-27.
 36. Moat SJ, McDowell IF. Homocysteine and endothelial function in human studies. *Semin Vasc Med.* 2005 May; 5 (2): 172-82.
 37. Morrison HI, Schaubel D, Desmeules M, Wigle DT. Serum folate and risk of fatal coronary heart disease / see comments/. *JAMA* 1996; 275(24):1893-6.
 38. Nardulli M, Durlach V, Pepe G, Angles-Cano E. Mechanism for the homocysteine-enhanced antifibrinolytic potential of lipoprotein(a) in human plasma. *Thromb Haemost.* 2005 Jul;94(1):75-81.
 39. Olthof MR, Brink EJ, Katan MB, Verhoef P. Choline supplemented as phosphatidylcholine decreases fasting and postmethionine-loading plasma homocysteine concentrations in healthy men. *J Clin Nutr.* 2005 Jul;82(1):111-7.
 40. Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, et al. Plasma homocyst(e)ine, folate, and vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 1994; 59(4): 940-8.
 41. Peterson JC, Spence JD. Vitamins and progression of atherosclerosis in hyper homocyst(e)inaemia /letter/. *Lancet* 1998;351 (9098):263.
 42. Radomski MW, Salas E. Nitric oxide—biological mediator, modulator and factor of injury: its role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1995;118:S69-S80.
 43. Riza Erbay A, Turhan H, Yasar AS, Ayaz S, Sahin O, Senen K, Sasmaz H, Yetkin E. Elevated level of plasma homocysteine in patients with slow coronary flow. *Int J Cardiol.* 2005 Jul 20;102(3):419-23.
 44. Robinson K, Arheart K, Refsum H et al. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. *European COMAC Group. Circulation* 1998; 97(5), 437-443.
 45. Rouillier P, Bertrais S, Daudin JJ, Bacro JN, Herberg S, Boutron-Ruault MC. Drinking patterns are associated with variations in atherosclerotic risk factors in French men. *Eur J Nutr.* 2005 Jul 11
 46. Saku K et al. Plasma HDL Levels are regulated by the catabolic rate of large particles of lipoprotein containing apo A-1. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 1994, 14,1594-1599.
 47. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993;91:308-318.
 48. Su TC, Jeng JS, Wang JD, Torng PL, Chang SJ, Chen CF, Liao CS. Homocysteine, circulating vascular cell adhesion molecule and carotid atherosclerosis in postmenopausal vegetarian women and omnivores. *Atherosclerosis.* 2005 Jul 5; (Epub ahead of print).

49. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:6369-6373.
50. Tyagi SC, Lominadze D, Roberts AM. Homocysteine in microvascular endothelial cell barrier permeability. *Cell Biochem Biophys*. 2005 Aug;43(1):37-44.
51. Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ, Delport R, Potgieter HC. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *J Nutr*. 1994 Oct;124(10):1927-33.
52. Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem*, 41, 1995, 340-342.
53. Van Den Berg M, Boers GH, Franken DG, Blom HJ, Vankamp GJ, Jacobs C. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 1995;25:176-181.
54. Van der Gaag MS, Ubbink JB, Sillanaukee P, Nikkari S, Hendriks HF. Effect of consumption of red wine, spirits, and beer on serum homocysteine. *Lancet*. 2000 Apr 29;355(9214):1522.
55. Vebricht T., Southgate D. Coronary heart disease: seven dietary factors. *Lancet*, 1991, 338, 985-992
56. Verhoef P, de Groot LC. Dietary determinants of plasma homocysteine concentrations. *Semin Vasc Med*. 2005 May;5(2):110-23.
57. Virtanen JK, Voutilainen S, Happonen P, Alfthan G, Kaikkonen J, Mursu J, Rissanen TH, Kaplan GA, Korhonen MJ, Sivenius J, Salonen JT. Serum homocysteine, folate and risk of stroke: Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor (KIHD) Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2005 Aug;12(4):369-375.
58. Weikert C, Hoffmann K, Dierkes J, Zyriax BC, Klipstein-Grobusch K, Schulze MB, Jung R, Windler E, Boeing H. A homocysteine metabolism-related dietary pattern and the risk of coronary heart disease in two independent German study populations. *J Nutr*. 2005 Aug;135(8):1981-8.
59. Welch GH, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med*, 338, 1998, 1042-1050.
60. Williams C, Kingwell BA, Burke K, McPherson J, Dart AM. Folic acid supplementation for 3 wk reduces pulse pressure and large artery stiffness independent of MTHFR genotype. *Am J Clin Nutr*. 2005 Jul;82(1):26-31.
61. Wilson KM, Lentz SR. Mechanisms of the atherogenic effects of elevated homocysteine in experimental models. *Semin Vasc Med*. 2005 May;5(2):163-71.