

Современные представления о гипергомоцистеинемии как факторе риска сердечно-сосудистых заболеваний

Р.Н. Родионов, С.Р. Ленци

Кафедра Внутренних Болезней, Медицинский Факультет Университета Айовы, Айова Сити, США

Резюме

Тяжелая гипергомоцистеинемия, вызванная редкими наследственными нарушениями метаболизма гомоцистеина, приводит к многократному увеличению риска атеротромбоза. Даже частичная коррекция уровня гомоцистеина у пациентов с тяжелой гипергомоцистеинемией позволяет существенно уменьшить частоту возникновения сердечно-сосудистых осложнений. Умеренная гипергомоцистеинемия широко распространена в популяции и коррелирует с повышенным риском развития заболеваний сердечно-сосудистой системы. В экспериментальных моделях умеренная гипергомоцистеинемия вызывает эндотелиальную дисфункцию, предрасполагает к тромбозу и ускоряет развитие атеросклероза. На основании эпидемиологических и экспериментальных данных была выдвинута гипотеза, что коррекция умеренной гипергомоцистеинемии может существенно уменьшить риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы. Вопреки ожиданиям, серия крупных клинических исследований показала, что снижение уровня гомоцистеина при умеренной гипергомоцистеинемии не влияет на риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. В данной статье обсуждаются современные представления о гипергомоцистеинемии как факторе риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы в свете отрицательных результатов клинических исследований по коррекции уровня гомоцистеина при умеренной гипергомоцистеинемии.

Ключевые слова: гипергомоцистеинемия, гомоцистеин, сердечно-сосудистые заболевания, фактор риска.

Hyperhomocysteinemia as a cardiovascular risk factor. Current concepts

R.N. Rodionov, S.R. Lentz S.R.

Department of Internal Medicine, University of Iowa Carver College of Medicine, Iowa City, IA, USA

Resume

Hyperhomocysteinemia is hypothesized to be a cardiovascular risk factor. Severe hyperhomocysteinemia due to rare genetic impairments of homocysteine metabolism predisposes to atherothrombosis. Even partial correction of homocysteine levels in patients with severe hyperhomocysteinemia leads to significant reduction in cardiovascular risk. Moderate hyperhomocysteinemia is common in the general population and is associated with the increased risk of cardiovascular disease. Moderate hyperhomocysteinemia leads to endothelial dysfunction, increased susceptibility to thrombosis and accelerated progression of atherosclerosis in animal models. Extensive epidemiological and experimental evidence lead to the hypothesis that correction of moderate hyperhomocysteinemia may significantly lower cardiovascular risk. Paradoxically, several large clinical trials failed to demonstrate any benefit from lowering of homocysteine levels in moderate hyperhomocysteinemia. This article discusses the current understanding of hyperhomocysteinemia as a cardiovascular risk factor in light of the negative results of clinical trials of homocysteine lowering therapy in moderate hyperhomocysteinemia.

Key words: hyperhomocysteinemia, homocysteine, cardiovascular disease, risk factor.

Статья поступила в редакцию: 18.06.08. и принята к печати: 22.06.08.

Введение

Гипергомоцистеинемия (ГГЦ) — это повышение уровня серосодержащей аминокислоты гомоцистеина (ГЦ) в плазме крови выше 10 мкмоль/л [1]. ГЦ синтезируется в организме из незаменимой аминокислоты метионина и служит предшественником цистатионина и цистеина [2]. Основными причинами развития ГГЦ являются мутации в генах, кодирующих ферменты, необходимые для метаболизма ГЦ, недостаток витаминов В₆, В₁₂ и фолиевой кислоты, хроническая почечная недостаточность (ХПН), алкоголизм, гипотиреоз и прием некоторых лекарственных препаратов* [3].

Исследования возможной роли ГЦ в развитии сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) начались после того, как McCully К. продемонстрировал в 1969 году

предрасположенность к атеротромбозу у пациентов с тяжелой ГГЦ (ГЦ > 100 мкмоль/л)[†] [5]. Большинство случаев тяжелой ГГЦ вызваны редкими наследственными заболеваниями, приводящими к грубым нарушениям метаболизма ГЦ. Самое частое из этих заболеваний, гомоцистинурия, встречается у 1 из 200000 новорожденных [6]. Гомоцистинурия вызывается гомозиготным дефектом цистатионин бета-синтазы — фермента, катализирующего превращение гомоцистеина в цистатионин [7]. У половины пациентов с гомоцистинурией к 30 годам развиваются тяжелые осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы, такие как инфаркт мио-

[†] Общепринятой классификации ГГЦ в зависимости от степени повышения концентрации ГЦ не существует [4]. В данной работе используются термины “тяжелая ГГЦ” и “умеренная ГГЦ”. Диапазон концентраций ГЦ указан в тексте.

* Метотрексат, изониазид, теофиллин, ниацин, фибраты, фенитоин, закись азота, триметоприм и леводопа [3].

карда, инсульт, поражения периферических артерий, венозные тромбозы и тромбоэмболии [7]. Даже частичное снижение уровня ГЦ существенно уменьшает частоту сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с гемоцистинурией, свидетельствуя о том, что тяжелая ГЦ является модифицируемым фактором риска ССЗ [7, 8].

Так как тяжелая ГЦ встречается крайне редко, коррекция уровня ГЦ у этих пациентов вряд ли может внести существенный вклад в снижение заболеваемости и смертности от ССЗ. Интерес к ГЦ многократно возрос, когда стало ясно, что умеренная ГЦ (ГЦ 10–100 мкмоль/л) широко распространена в популяции [1, 9]. По данным за 1999 год, умеренная ГЦ наблюдается более чем у 40% американцев старше 60 лет [10]. Многочисленные эпидемиологические исследования и их метаанализы показали корреляцию между умеренной ГЦ и повышенным риском ССЗ [11, 12]. В экспериментах на лабораторных животных было продемонстрировано, что умеренная ГЦ предрасполагает к тромбозу и ускоряет прогрессию атеросклероза [13]. При моделировании кратковременной умеренной ГЦ у здоровых добровольцев наблюдается острое развитие эндотелиальной дисфункции в плечевой артерии [14].

На основании эпидемиологических и экспериментальных данных было сделано предположение, что, подобно тяжелой ГЦ, умеренная ГЦ является модифицируемым фактором риска заболеваний сердечно-сосудистой системы. Для проверки этой гипотезы крупные исследовательские центры провели серию клинических испытаний по снижению уровня ГЦ при умеренной ГЦ. Вопреки ожиданиям, снижение уровня ГЦ не оказало никакого эффекта на риск ССЗ. [15–20]. В данном обзоре рассматриваются имеющиеся данные об умеренной ГЦ как факторе риска ССЗ и обсуждаются возможные причины отрицательных результатов клинических испытаний по снижению уровня ГЦ при умеренной ГЦ.

Эпидемиологические исследования

Даже небольшое увеличение концентрации ГЦ в плазме крови (до 10–15 мкмоль/л) коррелирует с повышенным риском развития ССЗ [21]. Метаанализ проспективных исследований показал, что повышение уровня ГЦ на 25% сопровождается увеличением риска развития инфаркта миокарда на 11% и увеличением риска развития инсульта на 19% [11]. В проспективном исследовании, проведенном в Haukeland University Hospital (Берген, Норвегия), увеличение уровня ГЦ на 5 мкмоль/л по сравнению с нормальным уровнем было ассоциировано с двухкратным увеличением смертности у пациентов с атеросклеротическим поражением коронарных сосудов [22]. Тенденция сохранилась и при дальнейшем увеличении концентрации ГЦ.

Корреляция между умеренным повышением уровня ГЦ и повышенным риском развития заболеваний сердечно-сосудистой системы, обнаруженная в многочисленных эпидемиологических исследованиях, еще не означает, что между умеренной ГЦ и ССЗ существует причинно-следственная связь. В качестве иллюстрации того, что на основании эпидемиологических данных

нельзя делать вывод о причинности, можно привести пример с корреляцией между высоким уровнем креатинина в плазме крови и встречаемостью анемии при выраженной ХПН [23]. Из того, что при увеличении уровня креатинина при выраженной ХПН повышается частота и тяжесть анемии, не следует, что повышение уровня креатинина является причиной анемии. Точно также, на основании результатов эпидемиологических исследований нельзя сделать вывод о том, что умеренная ГЦ является причиной ССЗ или играет какую-либо роль в их патогенезе. Для того, чтобы продемонстрировать причинно-следственную связь между умеренной ГЦ и заболеваниями сердечно-сосудистой системы, необходимо повысить уровень ГЦ в эксперименте или понизить уровень ГЦ в клиническом исследовании и показать, что это влияет на риск ССЗ.

Экспериментальные модели гипергомоцистеинемии

Умеренная ГЦ у лабораторных животных моделируется с помощью применения специальных диет, генетических методов или комбинации этих подходов. Повышение уровня ГЦ приводит к эндотелиальной дисфункции и окислительному стрессу, увеличивает предрасположенность к тромбозам и ускоряет развитие атеросклероза [13]. Сходное поражение сердечно-сосудистой системы наблюдается независимо от того, каким именно образом вызвана ГЦ. Исходя из этого можно предположить, что повреждающее действие оказывает именно ГЦ, а не какой-либо другой метаболит, концентрация которого была изменена в какой-то отдельной модели.

Последствия острого повышения уровня ГЦ в крови у людей были исследованы у добровольцев. После перорального приема предшественника ГЦ метионина (100 мг/кг), концентрация ГЦ в плазме возрастала до 20–30 мкмоль/л [14, 24, 25]. Повышение уровня ГЦ коррелировало со снижением выраженности поток-зависимой вазодилатации в плечевой артерии [14, 24, 25]. Из данных исследований можно сделать вывод о том, что либо ГЦ, либо метионин, либо какой-то другой близкий метаболит способны вызывать эндотелиальную дисфункцию у человека в остром эксперименте.

Экспериментальные данные являются на сегодняшний день одним из самых убедительных аргументов в пользу наличия причинно-следственной связи между умеренной ГЦ и поражением сердечно-сосудистой системы. Необходимо, однако, отметить и ограничения этих работ: данные, полученные на экспериментальных животных, не всегда верно отражают патогенез процессов, имеющих место у человека, а на основании исследований на добровольцах нельзя судить о хронических эффектах умеренной ГЦ.

Эксперимент по хроническому повышению ГЦ у человека невозможен по этическим причинам. Однако, природа, в каком-то смысле, провела этот эксперимент за нас. Полиморфизм С677Т в гене *MTHFR*, кодирующем метилентетрагидрофолатредуктазу, ведет к умеренному повышению уровня ГЦ. Изучение риска ССЗ у индивидуумов с этим полиморфизмом является одним из методов оценки причинно-следственной связи между хронической умеренной ГЦ и заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Полиморфизм *MTHFR C677T*

В отличие от гомоцистинурии и других тяжелых наследственных нарушений метаболизма ГЦ, полиморфизм *C677T* в гене *MTHFR* приводит лишь к умеренному повышению уровня ГЦ. Разница в концентрации ГЦ в плазме крови между индивидуумами с генотипами ТТ (гомозиготы по мутантной аллели) и СС (гомозиготы по аллели дикого типа) составляет 20–25% [26, 27]. Первоначальные исследования показали, что генотип ТТ приводит к увеличению риска инфаркта миокарда на 16% и увеличению риска инсульта на 26%. [28, 29]. В последующих работах эффект был уже не столь очевиден. Метаанализ 80 исследований обнаружил повышение риска инфаркта миокарда у индивидуумов с генотипом ТТ в Азии и Ближнем Востоке и отсутствие эффекта в Европе, Австралии и Северной Америке [30]. Cronin S. и коллеги обнаружили корреляцию между генотипом *MTHFR* и риском инсульта в Европе и Азии и отсутствие корреляции в Северной Америке [31]. Зависимость результатов от региона может быть обусловлена разницей в потреблении фолиевой кислоты [30], т.к. влияние генотипа *MTHFR* на концентрацию ГЦ увеличивается при недостатке фолиевой кислоты и уменьшается при ее избытке [32].

Подытоживая анализ данных, полученных при изучении индивидуумов с полиморфизмом *MTHFR C677T*, следует отметить, что результаты приведенных выше работ не позволяют с уверенностью говорить о наличии причинно-следственной связи между умеренной ГЦ и повышенным риском ССЗ. Для окончательного ответа на вопрос, оказывает ли хроническая умеренная ГЦ повреждающее действие на сердечно-сосудистую систему, исследовательские центры по всему миру провели серию масштабных клинических исследований терапии, направленной на восстановление нормального уровня ГЦ.

Фармакологическая коррекция гипергомоцистеинемии

Уровень ГЦ может быть снижен с помощью витаминов B_6 , B_{12} , фолиевой кислоты или их комбинации. При тяжелой ГЦ, вызванной редкими наследственными заболеваниями, терапия, направленная на снижение уровня ГЦ, уже давно и успешно применяется [7, 8]. Уар S. и коллеги показали, что даже частичное снижение уровня ГЦ до 30–88 мкмоль/л уменьшает частоту осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы у таких пациентов с 4.0 до 0.6% в год [8].

Умеренная ГЦ, в отличие от тяжелой формы, широко распространена в популяции. На основании эпидемиологических данных было сделано предположение, что коррекция умеренной ГЦ может существенно снизить смертность от ССЗ [33]. Крупные исследовательские центры по всему миру организовали серию проспективных, двойных слепых, рандомизированных, плацебо-контролируемых исследований, оценивающих последствия снижения уровня ГЦ при умеренной ГЦ. Дизайн и результаты наиболее крупных из опубликованных на настоящий момент исследований приведены в Таблице 1. Снижение ГЦ в большинстве работ проводилось у больных с уже имеющимися поражениями сердечно-сосудистой системы и высоким риском повтор-

ных осложнений. В качестве конечных точек оценивались развитие осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы и смертность от ССЗ. Вопреки ожиданиям, результаты подавляющего большинства исследований оказались отрицательными.

Гомоцистеиновый парадокс

В том, что тяжелая ГЦ является модифицируемым фактором риска ССЗ, сомнений на данный момент нет. Ситуация с умеренной ГЦ гораздо сложнее. С одной стороны, эпидемиологические и экспериментальные исследования указывают на то, что умеренная ГЦ является фактором риска ССЗ. С другой стороны, снижение уровня ГЦ при умеренной ГЦ не дает никакого эффекта. Чем же объясняется этот парадокс?

Возможных причин отсутствия эффекта от коррекции умеренной ГЦ много. Clarke R. и коллеги предполагают, например, что количество участников в каждом отдельном исследовании могло быть недостаточным, чтобы обнаружить положительный эффект от коррекции умеренной ГЦ, и предлагают провести метаанализ [34]. Другой возможной причиной отрицательных результатов, по их мнению, может быть недостаточно продолжительное или недостаточно выраженное снижение уровня ГЦ [34]. Существует также вероятность, что снижение ГЦ при умеренной ГЦ приносит пользу только на ранних стадиях заболевания, или и вовсе только до его развития. В таком случае, коррекция умеренной ГЦ будет наиболее эффективна при первичной, а не вторичной профилактике ССЗ [35, 36]. Терапия, направленная на снижение уровня ГЦ, может иметь побочные эффекты, маскирующие положительный результат от коррекции ГЦ, что также может служить объяснением отрицательных исходов клинических исследований. Возможно также, что коррекция умеренной ГЦ эффективна только в определенных подгруппах пациентов с ССЗ. Например, Schnyder G. и соавторы продемонстрировали, что снижение уровня ГЦ, уменьшает частоту рестенозов после ангиопластики коронарных артерий [37].

Различие между результатами терапии по снижению уровня ГЦ при тяжелой и умеренной ГЦ заставляет рассматривать возможность того, что ГЦ является фактором риска ССЗ только при подъеме до очень высоких концентраций. При этом умеренная ГЦ, столь распространенная в популяции, может не оказывать повреждающего действия на сердечно-сосудистую систему. Умеренное повышение уровня ГЦ может быть не причиной, а следствием либо самого ССЗ, либо сопутствующего патологического процесса, что объяснило бы как корреляцию между умеренной ГЦ и повышенным риском ССЗ, так и отсутствие положительного эффекта от коррекции уровня ГЦ.

По крайней мере в части случаев, патологическим процессом, вызывающим вторичное повышение уровня ГЦ у пациентов с высоким риском ССЗ, может быть ХПН. Нарушение функции почек приводит как к увеличению уровня ГЦ [38], так и к поражению сердечно-сосудистой системы [39]. Уровень клубочковой фильтрации коррелирует с концентрацией ГЦ в плазме даже на начальной стадии почечной недостаточности [40]. Еще в 2000 году Bostom A. предположил, что ГЦ может

ДИЗАЙН И РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ VISP, HOPE2, NORVIT, VITRO, HOST И WAFACS.

	Название исследования					
	VISP	HOPE2	NORVIT	VITRO	HOST	WAFACS
Описание	Многоцентровое, проспективное, двойное слепое, рандомизированное	Многоцентровое, проспективное, двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое	Многоцентровое, проспективное, двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое	Многоцентровое, проспективное, двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое	Многоцентровое, проспективное, двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое	Проспективное, двойное слепое, рандомизированное, плацебо-контролируемое
Участники	Мужчины и женщины старше 35 лет после ОНМК	Мужчины и женщины старше 55 лет с высоким риском ССЗ	Мужчины и женщины старше 30 лет после ИМ	Мужчины и женщины старше 20 лет после ТЭЛА или тромбоза глубоких вен нижней конечности	Мужчины и женщины старше 21 года с ХПН	Женщины старше 42 лет
Число участников	3680	5522	3749	360*	2056	5442
Продолжительность	6.7 лет	5 лет	3.3 года	2.5 года	3.2 года	7.3 года
Терапия	Фолиевая кислота 2.5 мг, витамин В ₆ 25 мг и витамин В ₁₂ 0.4 мг в день**	Фолиевая кислота 2.5 мг, витамин В ₆ 50 мг и витамин В ₁₂ 1 мг в день	Фолиевая кислота 0.8 мг, витамин В ₆ 40 мг и витамин В ₁₂ 0.4 мг в день	Фолиевая кислота 5 мг, витамин В ₆ 50 мг и витамин В ₁₂ 0.4 мг в день	Фолиевая кислота 40 мг, витамин В ₆ 100 мг и витамин В ₁₂ 2 мг в день	Фолиевая кислота 2.5 мг, витамин В ₆ 50 мг и витамин В ₁₂ 1 мг в день
Снижение ГЦ	С 13.4 до 11.0 мкмоль/л	С 12.2 до 9.7 мкмоль/л	С 13.1 до 9.5 мкмоль/л	С 15.1 до 8.5 мкмоль/л	С 24.0 до 17.7 мкмоль/л	С 12.1 до 9.8 мкмоль/л
Оценивали	Повторное ОНМК, ИМ и смертность	Смертность от ССЗ	Повторный ИМ, ОНМК и смертность	Повторные ТЭЛА или тромбоз глубоких вен нижней конечности	Смертность, смертность от ССЗ, время до диализа	ИМ, ОНМК, реваскуляризация коронарных артерий и смертность
Эффект коррекции ГЦ	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта***	Нет эффекта	Нет эффекта	Нет эффекта
Ссылка	[15]	[16]	[17]	[18]	[19]	[20]

* Число участников в гипергомоцистеиновой группе

** В контрольной группе — фолиевая кислота 20 мкг, витамин В₆ 200 мкг и витамин В₁₂ 6 мкг в день.

*** Возможно даже ухудшение.

ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, **ССЗ** - сердечно-сосудистые заболевания, **ИМ** — инфаркт миокарда, **ТЭЛА** — тромбоз легочной артерии, **ХПН** — хроническая почечная недостаточность, **ГЦ** — гомоцистеин, **ГЦЦ** — гипергомоцистеинемия.

быть просто маркером ХПН, как он его назвал, “дорогостоящим креатинином” [41]. В подтверждение этой гипотезы, Potter К. и коллеги показали, что корреляция между уровнем ГЦ и выраженностью эндотелиальной дисфункции у пациентов, перенесших инсульт, исчезает после поправки на уровень цистатина С, чувствительного и специфичного маркера почечной функции [42]. Не исключено, что во вторичном повышении уровня ГЦ у пациентов с высоким риском ССЗ, помимо ХПН, могут играть роль и какие-то другие патологические процессы.

Несоответствие между результатами эпидемиологических и экспериментальных исследований с одной стороны, и клинических испытаний — с другой, не является чем-то уникальным. Похожая ситуация имела место при исследовании возможности снижения риска ССЗ с помощью антиоксидантов или заместительной гормональной терапии (ЗГТ). Несмотря на многочисленные

эпидемиологические и экспериментальные данные, подтверждающие роль окислительного стресса в патогенезе заболеваний сердечно-сосудистой системы, клинические испытания так и не смогли доказать положительный эффект от применения антиоксидантов для профилактики или лечения ССЗ [43]. Вопреки ожиданиям, применение ЗГТ тоже не смогло уменьшить риск заболеваний сердечно-сосудистой системы [44], хотя частота ССЗ и повышается в менопаузе [45]. Приведенные примеры показывают, что одних эпидемиологических и экспериментальных данных еще недостаточно для обоснования целесообразности применения той или иной терапии в клинической практике.

Ключевую роль в принятии решения о необходимости коррекции исследуемого фактора риска у пациентов играет наличие причинно-следственной связи между данным фактором риска и ассоциированным с ним заболеванием. Например, нет смысла избирательно снижать

уровень креатинина при ХПН для лечения анемии, если нет оснований считать, что повышение уровня креатинина играет в патогенезе анемии при ХПН какую-либо роль. Позволяют ли имеющиеся на сегодняшний день данные утверждать о наличии причинно-следственной связи между умеренной ГЦ и повышенным риском развития ССЗ? На основании эпидемиологических данных можно сделать вывод только о наличии корреляции, но никак не о причинности. Экспериментальные модели, хоть и свидетельствуют о роли умеренной ГЦ в патогенезе ССЗ у животных, могут не отражать патогенетические процессы, имеющие место у человека. Эксперименты на добровольцах позволяют сделать вывод только об эффекте кратковременного повышения уровня ГЦ на поток-зависимую вазодилатацию, что еще не означает, что хроническая умеренная ГЦ приведет к развитию ССЗ. О причинно-следственной связи между умеренной ГЦ и риском развития ССЗ у человека можно судить либо на основании результатов исследований индивидуумов с полиморфизмом *MTHFR* C677T, которые на данный момент противоречивы, либо на основании результатов клинических испытаний по коррекции уровня ГЦ при умеренной ГЦ, которые в подавляющем большинстве отрицательны. Получается, что убедительных оснований считать, что умеренная ГЦ предрасполагает к ССЗ или играет роль в их патогенезе у человека, на данный момент нет. Как только появятся новые результаты клинических испытаний или их метаанализ, данный вывод необходимо будет пересмотреть. Пока же это не произошло, мы предлагаем сконцентрироваться на измерении и коррекции тех факторов риска, роль которых в развитии ССЗ у человека доказана.

Заключение

Из успешности терапии, снижающей уровень ГЦ при тяжелой ГЦ, можно сделать вывод, что при подъеме до очень высоких уровней ГЦ является модифицируемым фактором риска ССЗ. Несмотря на то, что заболевания, приводящие к тяжелой ГЦ, редки и вносят очень небольшой вклад в смертность от ССЗ, клиницистам важно о них помнить, вовремя распознать этих пациентов и назначить им терапию, корригирующую уровень ГЦ.

Подавляющее большинство опубликованных на данный момент исследований показало, что снижение уровня ГЦ при умеренной ГЦ не оказывает влияния на риск ССЗ. Таким образом, результаты проведенных к настоящему времени исследований не позволяют пока рекомендовать коррекцию уровня ГЦ при умеренной ГЦ для профилактики ССЗ.

Авторы благодарят М.М. Галагудза, А.А. Сошнева и Д.Б. Фридмана за комментарии к статье.

Литература

1. Jacques P.F., Rosenberg I.H., Rogers G., et al., Serum total homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr*, 1999. 69: 482–489.
2. Selhub J., Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr*, 1999. 19: p. 217–46.
3. Lentz S.R. and Haynes W.G., Homocysteine: is it a clinically important cardiovascular risk factor? *Cleve Clin J Med*, 2004. 71(9): 729–734.

4. Mudd S.H., Finkelstein J.D., Refsum H., et al., Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. 20(7): 1704–1706.
5. McCully K.S., Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*, 1969. 56: 111–128.
6. Kang S.S., Wong P.W., and Malinow M.R., Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr*, 1992. 12:279–298.
7. Mudd S.H., Skovby F., Levy H.L., et al., The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet*, 1985. 37(1): p. 1–31.
8. Yap S., Boers G.H., Wilcken B., et al., Vascular outcome in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency treated chronically: a multicenter observational study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001. 21(12):2080–2085.
9. Selhub J., Jacques P.F., Wilson P.W., et al., Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *Jama*, 1993. 270(22): 2693–2698.
10. Selhub J., Jacques P.F., Rosenberg I.H., et al., 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. *Ann Intern Med*, 1999. 131:331–339.
11. Homocysteine Studies Collaboration, Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *Jama*, 2002. 288: 2015–2022.
12. Den Heijer M., Lewington S., and Clarke R., Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemost*, 2005. 3(2): 292–299.
13. Dayal S. and Lentz S.R., Role of Redox Reactions in the Vascular Phenotype of Hyperhomocysteinemic Animals. *Antioxid Redox Signal*, 2007. 18:189–195.
14. Kanani P.M., Sinkey C.A., Browning R.L., et al., Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation*, 1999. 100: 1161–1168.
15. Toole J.F., Malinow M.R., Chambless L.E., et al., Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *Jama*, 2004. 291: 565–575.
16. Lonn E., Yusuf S., Arnold M.J., et al., Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med*, 2006. 354(15):1567–1577.
17. Bona K.H., Njolstad I., Ueland P.M., et al., Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 2006. 354(15):1578–1588.
18. den Heijer M., Willems H.P., Blom H.J., et al., Homocysteine lowering by B vitamins and the secondary prevention of deep vein thrombosis and pulmonary embolism: A randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Blood*, 2007. 109(1): 139–144.
19. Jamison R.L., Hartigan P., Kaufman J.S., et al., Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *Jama*, 2007. 298(10): 1163–1170.
20. Albert C.M., Cook N.R., Gaziano J.M., et al., Effect of Folic Acid and B Vitamins on Risk of Cardiovascular Events and Total Mortality Among Women at High Risk for Cardiovascular Disease: A Randomized Trial. 2008:2027–2036.
21. Malinow M.R., Bostom A.G., and Krauss R.M., Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation*, 1999. 99(1):178–182.
22. Nygard O., Nordrehaug J.E., Refsum H., et al., Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*, 1997. 337(4): p. 230–6.
23. Astor B.C., Muntner P., Levin A., et al., Association of kidney function with anemia: the Third National Health and

- Nutrition Examination Survey (1988–1994). *Arch Intern Med*, 2002. 162(12): 1401–1408.
24. Bellamy M.F., McDowell I.F., Ramsey M.W., et al., Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation*, 1998. 98(18): 1848–1852.
25. Chambers J.C., McGregor A., Jean-Marie J., et al., Acute hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Lancet*, 1998. 351(9095): 36–37.
26. Wald D.S., Law M., and Morris J.K., Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *Bmj*, 2002. 325(7374): 1202.
27. Wald D.S., Wald N.J., Morris J.K., et al., Folic acid, homocysteine, and cardiovascular disease: judging causality in the face of inconclusive trial evidence. *Bmj*, 2006. 333(7578): 1114–1117.
28. Klerk M., Verhoef P., Clarke R., et al., MTHFR 677C->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *Jama*, 2002. 288(16): 2023–20231.
29. Casas J.P., Bautista L.E., Smeeth L., et al., Homocysteine and stroke: evidence on a causal link from mendelian randomisation. *Lancet*, 2005. 365(9455): 224–232.
30. Lewis S.J., Ebrahim S., and Davey Smith G., Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? *Bmj*, 2005. 331(7524): p. 1053.
31. Cronin S., Furie K.L., and Kelly P.J., Dose-related association of MTHFR 677T allele with risk of ischemic stroke: evidence from a cumulative meta-analysis. *Stroke*, 2005. 36(7): 1581–1587.
32. Ashfield-Watt P.A., Pullin C.H., Whiting J.M., et al., Methylene tetrahydrofolate reductase 677C->T genotype modulates homocysteine responses to a folate-rich diet or a low-dose folic acid supplement: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 2002. 76(1):180–186.
33. Boushey C.J., Beresford S.A., Omenn G.S., et al., A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama*, 1995. 274: 1049–1057.
34. Clarke R., Armitage J., Lewington S., et al., Homocysteine-lowering trials for prevention of vascular disease: protocol for a collaborative meta-analysis. *Clin Chem Lab Med*, 2007. 45(12): p. 1575–8151.
35. Yang Q., Botto L.D., Erickson J.D., et al., Improvement in stroke mortality in Canada and the United States, 1990 to 2002. *Circulation*, 2006. 113(10): p. 1335–1343.
36. Wang X., Qin X., Demirtas H., et al., Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet*, 2007. 369(9576): p. 1876–1882.
37. Schnyder G., Roffi M., Pin R., et al., Decreased rate of coronary restenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *N Engl J Med*, 2001. 345(22): 1593–1600.
38. Friedman A.N., Bostom A.G., Selhub J., et al., The kidney and homocysteine metabolism. *J Am Soc Nephrol*, 2001. 12(10): 2181–2819.
39. Schiffrin E.L., Lipman M.L., and Mann J.F., Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation*, 2007. 116(1): 85–97.
40. Bostom A.G., Bausserman L., Jacques P.F., et al., Cystatin C as a determinant of fasting plasma total homocysteine levels in coronary artery disease patients with normal serum creatinine. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999. 19(9): 2241–2244.
41. Bostom A.G., Homocysteine: “expensive creatinine” or important modifiable risk factor for arteriosclerotic outcomes in renal transplant recipients? *J Am Soc Nephrol*, 2000. 11(1): p. 149–151.
42. Potter K., Hankey G.J., Green D.J., et al., Homocysteine or Renal Impairment. Which Is the Real Cardiovascular Risk Factor? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008.(in press)
43. Riccioni G., Bucciarelli T., Mancini B., et al., Antioxidant vitamin supplementation in cardiovascular diseases. *Ann Clin Lab Sci*, 2007. 37(1):89–95.
44. Rossouw J.E., Anderson G.L., Prentice R.L., et al., Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women’s Health Initiative randomized controlled trial. *Jama*, 2002. 288(3): 321–333.
45. Rossi R., Grimaldi T., Origliani G., et al., Menopause and cardiovascular risk. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2002. 32(5–6): 325–328.
46. Kris-Etherton P.M., Lichtenstein A.H., Howard B.V., et al., Antioxidant vitamin supplements and cardiovascular disease. *Circulation*, 2004. 110(5):637–641.
47. Mosca L., Banka C.L., Benjamin E.J., et al., Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women: 2007 update. *J Am Coll Cardiol*, 2007. 49(11): 1230–1250.