

Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi

İsmail Temel*, Elif Özerol*

*İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Malatya

Homosistein, metiyoninin metaboliti olan sülfürlü bir aminoasittir. İnsan plazmasında, hem sülfürlü indirgenmiş (homosistein) hem de disülfidli oksidlenmiş (homosistin) formlarda bulunur. Homosisteinin okside formları plazma total homosisteininin %98-99'unu oluşturmaktadır. Homosistein metabolizmasında, iki major yol vardır; kofaktör olarak vitamin B₁₂ kullanılarak metiyonine yeniden metillenebilir veya kofaktör olarak vitamin B₆ kullanılarak sisteine dönüşebilir (transsülfürasyon). Bu reaksiyonlar, hücreler ve kandaki total homosistein (tHcy) konsantrasyonunu düşürür. Erişkin erkek ve pediatrik popülasyonda, ortalama açlık total homosisteini sırasıyla 5-15 ve 3.7-10.3 mikromol/L arasındadır. Metiyoninden zengin, vitamin B'den fakir diyetle beslenen erkeklerde, yaşlılarda, böbrek fonksiyonu bozuk olanlarda ve homosistein metabolizmasına katılan enzimlerde genetik defekt olanlarda plazma tHcy konsantrasyonu artmaktadır. Plazma tHcy'i ile dolaşımdaki folat ve vitamin B₆ konsantrasyonları arasında zıt bir ilişki vardır. Günlük diyetle 0.5 mg folik asit eklenerek tHcy seviyeleri %25 azaltılabilmektedir. Son yıllarda yapılan vaka-kontrol çalışmalarında hiperhomosisteineminin koroner, serebral ve periferik vasküler hastalıklar için kozal bir faktör olduğu tespit edilmiştir. Bu derlemede, homosistein, homosistinüri ve kardiyovasküler hastalıklar arasındaki ilişkiler incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Homosistein, Vasküler Hastalık, Homosisteinemi, Homosistinüri

Homocysteine metabolism disorders and their relationship with vascular diseases

Homocysteine is an aminoacid with that a sulfur-containing metabolite of methionine. Human plasma contains both reduced with sulfhydryl (homocysteine) and oxidized with disulphide (homocystine) forms of homocysteine. Oxidized forms of homocystine account for 98-99% of total homocysteine (tHcy). In the homocysteine metabolism, there are two major pathways. The first is remethylation back to methionine using vitamin B₁₂ as cofactor. The second pathway is transsulfuration to cysteine using vitamin B₆ as cofactor. These reactions reduce total homocysteine (tHcy) concentrations in cells and blood. Median fasting total homocysteine levels in adult males and pediatric populations are between 5-15 and 3.7-10.3 micromol/L, respectively. Increased plasma tHcy concentrations are found with methionine-rich diets, low vitamin B intake, male gender, increasing age, impaired renal function, and genetically determined defects of the enzymes involving in homocysteine metabolism. An inverse relation exists between plasma tHcy and circulating folate or vitamin B₆ concentrations. Folic acid supplements of 0.5 mg/d can reduce tHcy levels by approximately 25%. In recent years, a number of case-control studies have established that hyperhomocysteinemia are a causal factor for coronary, cerebral, and peripheral vascular diseases. In this review, we analysed the inter relation between homocysteine and cardiovascular disease.

Key words: Homocysteine, Vascular Disease, Homocysteinemia, Homocystinuria

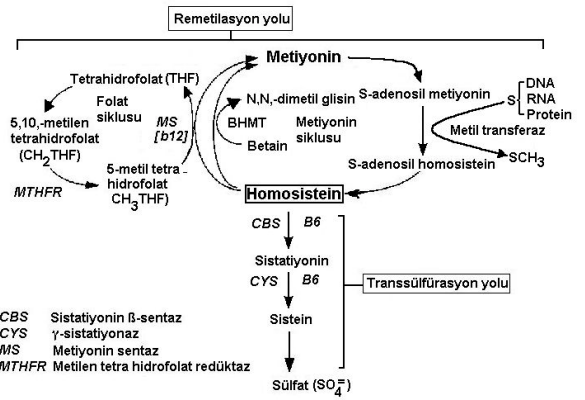
Kardiyovasküler hastalık (KVH)'lar, A.B.D. ve pekçok batı ülkelerinde mortalitenin önde gelen nedenidir. Homosistinürielerde prematüre tromboembolizm ve aterosklerozun sık görüldüğü gözlemlendikten sonra ilk kez, 1975 yılında, McCully tarafından "*aterosklerozda homosistein teorisi*" ileri sürülmüş ve homosisteinin vasküler hastalıklara yol açabileceği hipotezi geliştirilmiştir.¹ Son 10 yılda kardiyovasküler hastalıklara dair çok sayıda retrospektif ve prospektif klinik çalışma yayınlanmıştır. Bu çalışmaların büyük kısmında artan plazma total homosisteininin koroner, serebral ve periferik vasküler hastalıklar için bir risk faktörü oluşturduğu bildirilmesine rağmen ancak son 5 yıl içinde kolesterol, sigara ve şişmanlık gibi diğer majör risk faktörleri arasında yerini almıştır. Homosistein, günümüzde kardiyovasküler, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklar için doza bağımlı bir tarzda etkili olan diğer risk faktörlerinden bağımsız majör bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir.² 1995 yılında, Boushey ve arkadaşları 27 prospektif ve

retrospektif çalışmanın metaanalizini yayınlamışlar ve koroner arter hastalığı (KAH) ile hiperhomosisteinemi arasında güçlü bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.³ Bu çalışmada, tHcy'deki 5 µmol/L artışa karşılık KAH riskinin kadınlarda %80 ve erkeklerde %60 arttığı tespit edilmiştir. Kolesterolde 0.5 mmol/L artma sonunda da aynı risk oranları tespit edilmektedir. Bu çalışmalarda kontrol grubu daha sağlıklı kişilerden seçilirse homosistein etkisinin daha da belirginleşeceği iddia edilmektedir.⁴⁻⁷ Son 10 yılda total plazma homosistein tayininde metodolojik ilerlemeler olmuş ve mikronütrientlerin sağlık ve dengeli beslenmedeki rolleri daha fazla ilgi çekmiştir. Bazı prospektif çalışmalarda ise homosisteinin KVVH'larda etkisinin olmadığı bildirilmiştir.⁸⁻¹⁰

Homosistein metabolizması

Homosistein, metiyoninden metabolize olan tiol'ü esansiyel bir aminoasittir. Homosistein, kofaktör olarak vitamin B₁₂ kullanılırsa remetilasyonla tekrar metiyonine veya vitamin B₆ kullanılırsa transsülfürasyonla sisteine metabolize olabilir (Şekil 1). İnsan plazmasında, homosistein birkaç formda bulunur. Yaklaşık %70-80'i temel olarak albumine olmak üzere proteinlere disülfid bağları ile bağlıdır. Geri kalan homosistein oksidlenerek dimerler (*homosistin*) veya sisteinle birleşerek mikst disülfidler oluşturur (Tablo 1). Homosistein, çok küçük bir oranda (<%1) dolaşımında serbest olarak bulunur. Günümüzde, plazmadaki farklı homosistein formlarını topluca ölçebilen birçok teknik vardır. Bu metodlarla ölçüm sonuçları, *total homosistein* (tHcy) olarak verilir.¹¹ Sağlıklı populasyonda normal tHcy oranı, çeşitli çalışmalarda açıkta 5-15 µmol/L arasında bildirilmiştir. Bu oran, genetik ve sonradan kazanılan olmak üzere birçok faktörden etkilenmektedir. Metilen tetra hidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T (677C→T) mutasyonu gibi genetik faktörler termolabilite, aktivite azalması ve özellikle düşük folatlı diet sonunda açlık hiperhomosisteinemisine neden olur.^{12,13} Homozigot TT varyantı sık görülmekte ve Kafkasya'lılarda %12 oranına ulaşmaktadır. Sistatyonin β-sentaz (CBS) genindeki mutasyonlar genellikle homosistinüriye neden olur. Heterozigotlarda, CBS eksikliğinin önemine dair bilinenler daha azdır. Ancak, metiyonin yüklenmesinden sonra hiperhomosisteinemiye neden olabilir.¹⁴ Plazmadaki, vitamin B₁₂, B₆ (piridoksal fosfat) ve özellikle folat düzeyi ile plazma tHcy arasında zıt bir ilişki tespit edilmiş ve nütrisyonel faktörlerin de tHcy seviyesini etkilediği anlaşılmıştır.¹⁵

Şekil 1. Homosistein metabolizması.¹⁶⁻¹⁹ Homosistein, 5-metil tetra hidrofolat varlığında B₁₂'ye bağımlı metiyonin sentaz (MS) tarafından metiyonine remetil olur. Daha sonra, CH₂THF metilen tetra hidrofolat redüktaz (MTHFR) ile 5-metil tetra hidrofolata (CH₃THF) indirgenir. Karaciğer ve böbrekte homosistein remetilasyonu betain-homosistein metil transferaz (BHMT) aracılığıyla gerçekleşir. Metiyonin siklusunda, diete alınan metiyonin, metil transferaz için metil grubu vericisi olarak yardım eden S-adenozil metiyonin (SAM)'e dönüşür. Bu reaksiyonda oluşan diğer bir ürün, SAH hidrolaz tarafından homosistein ve adenozeine hidrolizlenen S-adenozil homosistein (SAH)'dir. Homosistein, ayrıca, katabolik transsülfürasyon yoluna da girer. Bu yoldaki ilk enzim B₆'ya bağımlı sistatyonin β-sentaz (CBS)'dir. Sistatyonin, B₆'ya bağımlı sistatyonaz aracılığıyla sisteine dönüşür. Oluşan sistein daha sonra inorganik sülfata dönüşerek idrarla atılır. Transsülfürasyon yolu, sınırlı doku dağılımı gösterir (karaciğer, böbrek, pankreas ve beyin).



Tablo 1. Total plazma homosistein komponentleri ve yüzdeleri.^{16,17}

İndirgenmiş (redükte)		
Homosistein	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\ \\ \text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-SH} \end{array}$	%1
Yükseltgenmiş (Oksidize)		
Homosistin	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\ \\ \text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\ \\ \text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	%5-10
Mikst disülfidler:		
Proteine bağlı homosistein	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\ \\ \text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\ \\ \text{Protein-S} \end{array}$	%80-90
Sistinli homosistein	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\ \\ \text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\ \\ \text{OOCCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	%5-10

Kimyasal tanımlamalar Butz ve du Vigneaud tarafından yaklaşık 65 yıl önce yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. Sülfidril ya da redükte formdaki homosistein ve disülfidli ya da okside formdaki homosistein olarak adlandırılır. Disülfidli formlar, reaktif sistein kalıntıları içeren proteinlerle ve sisteinle de oluşur (proteine bağlı homosistein). Homosisteinin

Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi

okside formları mikst disülfidler olarak da ifade edilir. Plazmadaki homosisteinin multipl formlarının isimlendirilmesinde henüz fikir birliği olmamasına rağmen “total homosistein, indirgenmiş homosistein, proteine bağlı homosistein, serbest homosistein ve homosistein-sistein kompleksi” gibi kavramlar yaygın olarak kullanılmaktadır. “Total homosistein” plazma ve serumdaki tüm homosistein formlarını belirtmek için kullanılan kavramdır.

Hiperhomosisteinemi nedenleri

Total plazma homosistein düzeyi birçok faktörden etkilenmektedir (Tablo 2).

Tablo 2. Plazma total homosistein seviyesini belirleyen faktörler¹⁶⁻²⁰.

Genetik	Homozigot MTHFR defekti	↑↑↑
	Heterozigot MTHFR defekti	↑
	Termolabil MTHFR defekti	↑
	Homozigot CBS defekti	↑↑↑
	Heterozigot CBS defekti	↑
	Kobalamin mutasyonu	↑↑↑
	Metiyonin sentaz defekti	↑
	Down sendromu	↓
Fizyolojik	Yaşlılık	↑
	Erkek cinsiyet	↑
	Glomeruler filtrasyon azalması	↑
	Kas kitlesinde artma	↑
Yaşam şekli	Vitamin alma	↓
	Sigara içme	↑
	Aşırı kahve	↑
	Aşırı alkol	↑
	Sedanter yaşam	↑
	Menapoz	↑
	Fiziki aktivite	↓
	Hastalıklar	Vitamin B ₁₂ eksikliği (penisyöz anemi)
Vitamin B ₆ eksikliği		↑
Folat eksikliği		↑↑
Böbrek yetmezliği		↑↑
Hiperproliferatif bozukluklar		↑
Hipotiroidi		↑
İlaçlar	Folat antagonistleri (metotreksat, fenitoin)	↑
	Vit. B ₁₂ antagonistleri (nitrik oksit)	↑↑
	Vit. B ₆ antagonistleri (teofilin, azarabin)	↑
	Antiepileptikler	↑
	Kontraseptif ve hormon tedavisi	↓
	Aminotioller (asetilsistein, penisillamin)	↓
	Adenozil homosistein hidrolaz inhibisyonu	↓
	Diğerleri (L-dopa, kolestimamin, niasin)	↑

Yaş ve cinsiyet: Kadınlar erkeklerden daha düşük tHcy’ye sahiptir ve tHcy yaşla artar. Bu kısmen vitamin

durumuna bağlıdır, fakat cinsiyet hormonlarının etkisinden de ileri gelebilir. Plazma tHcy seviyeleri menapozdan sonra artar. Bu da erkeklerle karşılaştırılan kadınlarda yaşla ilgili artışı açıklayabilir.

Renal fonksiyon: tHcy seviyesinin güçlü bir göstergesidir. Bu minör olan üriner ekstraksiyondan ziyade renal metabolizmayla ilgili olabilir. Renal fonksiyonlardaki fizyolojik azalma kısmen yaşın etkisini de açıklayabilir.

Yaşam tarzı: Dietle alınan vitamin B₆, B₁₂ ve folat düzeyi ile plazma tHcy ters orantılıdır. Aşırı sigara, alkol ve kafeinli kahve içen kişilerde tHcy yükselirken fizyolojik aktivite ile tHcy seviyesi düşer. Bu tür hayat tarzı faktörlerinin etkisi kadınlarda erkeklerden daha belirgindir. Kronik alkoliklerde, etanolün vitamin durumunu etkilemesi sonucu tHcy seviyesi artarken orta derecede etanol tüketenlerde tHcy düşmektedir.

Genetik faktörler: Yenidoğanlarda, tHcy metabolizması hataları homosisteinüri ile seyreden ağır hiperhomosisteinemiye neden olur. En sık CBS eksikliği olmak üzere MTHFR defektleri, Hcy remetilasyonunun bozulması ve kobalamin metabolizmasındaki yeni doğan hatalarına bağlıdır.

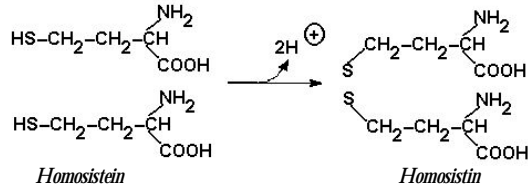
Klinik hastalıklar ve kullanılan ilaçlar: Folat ve kobalamin eksikliği hiperhomosisteineminin ana nedenidir. Yüksek tHcy seviyeleri böbrek yetmezliğinde ve çeşitli diğer durumlarda da gözlenmiştir. Hiperhomosisteinemi bazı ilaçlarla özellikle Hcy metabolizmasını etkileyen vitaminlerle azalır.

Plazma total homosisteini ve tayin edilmesi

İnsan plazmasında, homosistein hem indirgenmiş (redükte) hem de oksidize formda serbest veya proteine bağlı formda bulunur (Tablo 1). Homosisteinin oksidize formları insan plazmasındaki total homosisteinin genellikle %98-99’unu oluşturur.

Homosistein normalde plazmada birikmez. Sıvı fazda çok dayanıksız olup miktarı artınca oksidasyonla homosistine döner (Şekil 2). Normal kişilerin idrarındaki homosistein tespit edilemeyecek kadar az olmasına rağmen sistasyon β-sentaz eksikliğinde homosisteinin sistatiyona dönüşümü azaldığı için artmaktadır. Metil tetrahidro folat transferaz eksikliğinde de metiyonine geri dönüşümü azalır ve homosistinüri meydana gelir.

Şekil 2. Homosistein oksidlenerek homosistin oluşur



Plazma (ya da serum) total homosisteinini tayin eden metodlar ilk kez 1980'lerin ortalarında geliştirilmiştir. İlk önce disülfid bağlarının kimyasal redüksiyonu ile plazma numunelerinde serbest homosistein oluşturulur. Yaygın olarak kullanılan redüktanlar 2-merkaptöetanol, dithioerythritol, dithiothreitol, sodyum borohydride, n-tributylphosphine ve phosphine tris (2-carboxyethyl) phosphine'dir. Homosistein daha sonra diğer düşük moleküler ağırlıklı tiollerden (sistein, sisteinglisin ve glutasyon) reverz faz HPLC ile ayrılır ve elektrokimyasal metodlarla direkt ya da bir florokromofor ile elde edildikten sonra HPLC ile ayrılarak fluorometrik olarak tayin edilir. Alternatif olarak, homosisteinin redükte formları oluşturulduktan sonra kapiller gaz kromatografisi ile ve kitle (mass) spektrometresi ile tayin edilir. Farklı laboratuvarlar arasında nispeten iyi uyum olmasına rağmen, standart referans değerleri belirlenmemiş ve standart bir kalibratör konusunda fikir birliğine varılamamıştır. Laboratuvarlar arasında görülen farklılıkların nedeni, disülfid bağ redüksiyonu ile farklı internal standart ve kalibratörlerin kullanılmasıdır. Total homosistein için immün deneyler son zamanlarda Shipchandler, Moore ve Frantzen tarafından bildirilmiştir. Bu deneylerin her ikisi de S-adenozil-homosisteine karşı direkt olarak oluşturulan bir fare monoklonal antikorunu kullanır ve homosistein plazma disülfidlerinin indirgenmiş parçalarıyla tekrar oluşur, S-adenozilhomosistein hidrolaz enziminin varlığında adenozinle reaksiyona girmesine izin verilir. Total homosistein deneylerinin gelişimindeki ilerlemeler muhtemelen gelecek yıllarda da devam edecektir.

Plazma total homosistein tayinleri karmaşık olup demografik, genetik ve kazanılmış faktörlere bağlıdır. Kazanılmış faktörler içinde hem sağlık durumu hem de hayat tarzı sayılabilir. Pekçok araştırmada, sağlıklı yetişkinlerde total homosistein konsantrasyonu plazmada 5-15 µmol/L, serumda ise 13-18 µmol/L olarak tespit edilmiştir (Tablo 3). Pediatrik hastalardaki normal değeri 3.7-10.3 µmol/L'dir. Ancak homosistein için 'normal sınırların' bildiriminde dikkatli olunmalıdır. Bazı

çalışmalarda, total homosistein konsantrasyonunun 10-15 µmol/L arasında seyrederken koroner arter hastalık riskinin devam ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle, bazı yazarlar normalin üst sınırını 10 µmol/L ya da daha düşük olarak bildirmektedir. Çünkü folik asit, B₁₂ ve B₆ vitaminleri ile optimal beslenmeye rağmen bu 'istenilen seviyeye' ulaşmak mümkün olmayabilir. Nadir görülen "doğuştan homosistein metabolizması bozukluğu" olan homosisteinüri bireylerde, total homosistein konsantrasyonu 500 µmol/L'ye ulaşmakta ve bu bireylerdeki total homosisteinin %20'den fazlası (yaklaşık 100 µmol/L) redükte homosisteinden oluşmaktadır. Koroner, serebrovasküler ve periferik vasküler hastalıklı bireylerde genellikle hafif bir homosisteinemi gözlenmektedir (12-25 µmol/L). Buna karşılık eğer renal fonksiyon bozulursa ya da birey renal hastalığın son safhasındaysa, total homosistein orta seviyedeki konsantrasyonlara erişebilir (25-50 µmol/L).

Tablo 2. Total plazma homosistein dağılımı.¹⁷

Normal oran	5-15 µmol/L
Arzulanan	<10 µmol/L
Hiperhomosisteinemi	
Hafif	15-25 µmol/L
Orta	25-50 µmol/L
Ağır	50-500 µmol/L

Metiyonin yükleme testi

Orijinal olarak oral metiyonin yüklenmesi, yükleme öncesinde plazma homosistein değerlerini doğru olarak ölçebilmek için yeterince duyarlı olmayan testler kullanılarak heterozigot CBS eksikliğinin teşhis edilmesi amacıyla geliştirilmiştir.²¹ Buradaki mantık, yüksek miktarda verilen metiyoninin CBS yolunu zorlaması sonunda enzim ve kofaktörlerinin (piridoksal fosfat) aktivitesindeki minor eksiklikler ortaya çıkarılabilecektir. Metiyonin yüklenmesinden sonra homosistein seviyesindeki yükselme transsülfürasyon defektini gösterirken açlık homosistein değerindeki yükselme remetilasyon defektini gösterir. Bu düşünce doğrulanmamış ve metiyonin yüklenmesi testi ile normal bireylerden, heterozigot CBS eksikliğinin ayırdedilemeyeceğine karar verilmiştir. Standart metiyonin yükleme testinde, 0.1 gr/kg metiyonin verilmesinden önce ve 6 saat sonra plazma homosisteini ölçülmektedir. Elde edilen sonuçlar açken ve yüklemeden sonra homosisteindeki artış ile belirtilmektedir. Avrupa'da yapılan bir çalışmada 800 kontrol ve 750 vasküler hastalığı olan kişilerde metiyonin yükleme testi sonuçları incelenmiştir.²² Bu çalışmaya göre normalin üst limiti olarak yükleme öncesi veya açlıkta 12

$\mu\text{mol/L}$ ve yüklemmeden sonra $38 \mu\text{mol/L}$ değerleri önerilmiştir. Bu değerler kullanılarak, vasküler riskin açlık homosistein değerlerine göre 1.6, yüklemmeden sonra 1.5 ve hem aç hem de yükleme sonunda yüksek tHcy değerine sahip kişilerde 2.5 kat daha fazla olduğu belirtilmiştir. Metiyonin yükleme testi ayırdettirici bir test olarak önerilmesine rağmen hasta ve hekim 6 saat beklemek istemeyebilir ve metiyoninin kükürt tadında olması alınmasını zorlaştırır. Bu tür dezavantajlarına ilave olarak yükleme sonunda elde edilen değerler geniş bir yelpazede seyretmektedir. Bu nedenlerle klinik uygulamada açlık homosistein değerleri ölçülmektedir. Homosistein metabolizma hataları, metiyonin yüklenmesi ile tespit edilebildiğine göre vasküler hastalıklar da metiyonin yüklenmesi ile tespit edilebilir.

Açlık veya metiyonin yüklenmesinden sonra orta derecede hiperhomosisteinemiye neden olan ve yukarıda tanımlanan iki genetik faktörün vasküler hastalıklar için riski artırıp artırmayacağı gösterilmemiştir. Heterozigot CBS eksikliği genel popülasyonda 70 kişiden 1'inde tespit edilmekte ve KAH için riski artırmadığı bildirilmektedir.^{23,24} Benzer şekilde, plazma homosisteininde yaklaşık %25 artışa neden olan homozigot MTHFR C677T mutasyonu olanlarda da KAH riskinin arttığı gösterilememiştir.^{13,25} Bu nedenle, bazı araştırmacılar hafif hiperhomosisteineminin vasküler hastalıklarda kozal etkili olamayacağını düşünmektedir. Bu görüşe alternatif olarak, diğer konvansiyonel risk faktörleri ile birlikte yüksek tHcy'in kardiyovasküler hastalık riskini artıracığı öne sürülmektedir.²⁶

Homosistinüri

Homosistein metabolizmasının tek genli (monogenetik) bir eksikliği olan klasik homosisteinüri Carson, Neil, Gerritson ve arkadaşları tarafından 1962 yılında bildirilmiştir. Her 100.000 ile 200.000 doğumdan birinde meydana gelen bu nadir hastalık, sistatyonin β -sentaz (CBS), metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) ve metiyonin sentaz (MS) eksikliği ile ortaya çıkmakta ve otozomal resesif bir mekanizmayla kalıtsal olarak geçmektedir.

Homosistinürinin en sık sebebi homosisteinin ve sistatyonine dönüşümünü sağlayan CBS enzimidir. CBS eksikliği genetik olarak heterojen olup homozigot CBS eksikliği daha sık görülür. Bu bireylerde, fibroblast ve lenfositlerdeki CBS aktivitesi normale göre %0-10 oranında azalmıştır. Homozigot CBS eksikliği olan bireylerde transsülfürasyon yoluyla

homosistein katabolizması bozulmuştur. Vücut sıvılarında metiyonin, homosistein ve prekürsörleri birikirken sistein ve sistin miktarı azalır. Metiyonin miktarı normalde 0.45 mg/dL iken hiperhomosistinüride 30 mg/dL 'ye artmaktadır. İdrarda homosistin ve homosistein yanında metiyonin, metiyonin sulfoksid ve mikst disulfidli sistein gibi diğer sülfürlü aminoasitler artar. Hastalığın dağılımında belirgin coğrafik farklılıklar görülmektedir. Heterozigot CBS eksikliği genel popülasyonun %1'inden daha azında rastlanır. Bu kişiler genellikle açken normal tHcy'e sahiptir. Fakat metiyonin yüklemesinden sonra tHcy seviyesi yükselebilir. Son genetik çalışmalarda CBS eksikliği için heterozigotluk vasküler hastalığı olan kişilerde seyrek olarak ortaya çıkar ve bu hafif genetik defekt hastalarda hiperhomosisteinemiye genellikle neden olmaz.

Homosisteinürinin nadir formları; şiddetli MTHFR defekti, Hcy remetilasyonunda bozulma ve kobalamin metabolizmasındaki yeni doğan hataları sonucunda ortaya çıkar. Homosisteinin metillenerek metiyonin oluşturması, folata bağımlı bir sistem tarafından gerçekleşir (Şekil 1). Bu siklusta substrat olarak folat ve N^5 -metil tetrahidrofolat transferaz (MTHFT)'i aktive etmek için kofaktör olarak vitamin B_{12} kullanılır. Genetik olarak, folat siklusunda kullanılan redüktaz ve transferaz enzimleri defektli olan, folat veya vitamin B_{12} 'yi biyokimyasal olarak aktif formlarına dönüştüremeyen veya diyetle alınan folat ve vitamin B_{12} düzeyi yetersiz olan kişilerde homosistein birikerek homosistinüriye neden olur. Hem MTHFR hem de MS eksikliği yönünden homozigot olanlarda, homosisteinin methionin siklusuna geri dönüşüm engellenir (Şekil 1). MTHFR eksikliği nadir olmasına rağmen meydana gelirse yenidoğan veya çocukluk çağında ölüme neden olabilir. Erişkin yaşa kadar yaşayanlarda mental gerilik ve serebral atrofi gelişir. MTHFR genindeki sık görülen C677T mutasyonu etnik fark göstermektedir. Kafkasyalılarda yaklaşık %40 (%12 TT genotip) sıklıkta görülürken Afrika orjinli Amerikalılarda hiç görülmez. Bu polimorfizm enzim aktivitesinde azalmaya, termolabiliteye ve folat metabolizma bozukluklarına neden olarak orta ($15\text{-}30 \mu\text{mol/L}$) veya daha yüksek ($30\text{-}100 \mu\text{mol/L}$) hiperhomosisteinemiye neden olabilir. Bu vakalarda, idrarda homosistein ve plazmada metiyonin konsantrasyonlarının artması tanı koydurucudur. Tedavi amacıyla, günlük $0,2 \text{ mg}$ düşük dozda folik asid verilmesi bu bireylerin çoğunda tHcy seviyesini normale getirebilir. MTHFT eksikliği olan kişilerde gelişme geriliği ve mental retardasyon tespit edilir. Bu tip homosistinürinin özelliği metilkobalamin

sentezinde genetik bir defektir. Koenzim olarak vitamin B₁₂ kullanılır. Karakteristik olarak vücut dokularında metilmalonik asit birikir ve idrarla ekskrete olur. Diğer homosistinüri tiplerinden farklı olarak plazma folat düzeyi de artar. Tedavi etmek için vitamin B₁₂ verilir.

Homosisteinürinin klinik belirtileri mental retardasyon, iskelet anomalileri, ektoptik lensler ve premature aterotrombotik hastalıklardır. Yenidoğanlarda, homosisteinüri semptomları gözlenmez ancak artan yaşla birlikte giderek belirginleşen göz, iskelet ve vasküler semptomlar ortaya çıkar. İlk birkaç yılda oküler lenslerde dislokasyon ve bunu takiben myopi, glokom ve retina dekolmanı tespit edilir. Osteoporoz, uzun kemiklerde incelleme ve uzama, genu valgum ve sıklıkla göğüs, vertebra ve ayak deformiteleri gibi iskelet anomalileri ortaya çıkar. Arteriyel ve venöz tromboza bağlı ciddi semptomlar nedeniyle erken yaşlarda ölüm görülebilir. Vakaların yarısından azında gözlenen mental retardasyonun da trombotik komplikasyonlardan kaynaklandığı sanılmaktadır. Bu bireyler, idrarları ile büyük miktarda homosistein atarlar ve plazmadaki total homosistein konsantrasyonları sağlıklı popülasyona göre 10-50 kat daha yüksek olup 50 ile 500 µMol/L arasındadır²⁷. Bu bireylerde görülen arterioskleroz ve aterosklerozun oldukça hızlı başlaması, total plazma homosisteini ile KVH'nın başlangıcı ve ilerlemesi arasında bir doz-zaman ilişkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, genel popülasyonda plazma homosisteininde hafif veya orta derecede yükselmenin ateroskleroza zemin hazırlayacağı hipotezi geliştirilmiştir. Bu hipotez, çok basit bir tedavi sonunda, özellikle oral B grubu vitamin verilenlerde plazma homosisteininin anlamlı oranda düşmesiyle ilgi odağı haline gelmiştir.²

Yenidoğanlarda, sadece sistatyon β-sentaz eksikliğinin taranmasının pratik değeri vardır. Plazmada metiyonin artışını saptamak için **Guthrie testi** yapılır. Pozitif test sonuçlarının dikkatli yorumlanması gerekir. Guthrie testinin pozitif olduğu kişilerde, metiyonin artması geçici olabilir veya karaciğer hasarı, tirozinoz ya da hepatik S-adenozil metiyonin sentaz eksikliğinden ileri gelebilir. Geçici hipermetiyoninemi insidensi, yenidoğan süt preparasyonlarına daha az protein eklenmesi sonucunda azalmıştır. Yenidoğanlarda tarama yapılmazsa, semptomların ortaya çıkmasına veya idrar testi yapılmıyaya kadar homosistinürinin tanınma ihtimali yoktur.

Enzim defekti tam olmayan hastalarda enzimi aktive etmek için yüksek doz piridoksin verilmesiyle

biyokimyasal ve klinik cevap alınır. Enzim defekti tam olanlarda dietteki metiyonin miktarı kısıtlanmalı ve sistin eklenmelidir.

Hiperhomosisteinemi ve KVH ile bağlantısı

Hafif hiperhomosisteinemi ve KVH arasındaki ilişki sayısız retrospektif vaka-kontrol çalışmalarında belgelerle bildirilmiştir. 1976'da plazma total homosistein testlerinin gelişiminden önce Wilchen ve Wilchen methionin yüklemesinden 4 saat sonra kontrollerle karşılaştırılan, KAH'lı şahısların plazmalarında homosistein-sistein mikst disülfidlerinin daha yüksek konsantrasyonlarda olduğunu bildirmişlerdir. Kang ve arkadaşları da koroner arter hastalıklı bireylerde protein-bağlı homosisteinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. İlk çalışmalarında bazal plazma total homosistein ölçümü yapan Israelsson ve arkadaşları 55 yaşından önce miyokardial infarktüs geçiren erkeklerde hiperhomosisteinemi insidensini %24 olarak bulmuşlardır. Boushey ve arkadaşları KVH ile homosisteinin ilişkisini gösteren 27 ve plazma homosisteininin bir determinantı olarak folatla ilgili 11 çalışmanın bir metaanalizini yapmıştır. Artan total homosistein KVH için bağımsız bir artırıcı risk faktörü olarak belirlenmiş ve odds oranı erkeklerde ve kadınlarda sırasıyla 1,6 ve 1,8 olarak bulunmuştur. Total homosistein ve serum folatı arasında kuvvetli bir zıt korelasyon bulunmuştur. Yazarlar yiyeceklerle folat ya da folik asid alımıyla KAH'larının yıllık mortalitesinin belirgin bir şekilde azalacağını iddia etmektedirler. Son zamanlarda Graham ve arkadaşları 750 vaka ve 800 kontrolün katıldığı multimerkezli Avrupa çalışmasına dayanarak, total homosistein artışının KVH için sigara içimi ve hiperlipidemi kadar kuvvetli bir bağımsız risk faktörü olduğunu göstermiştir.

Hiperhomosisteinemi ve KVH ilişkisini kurmaya yönelik prospektif çalışma sonuçları karmaşıktır. Amerikada, Stampfer ve arkadaşları kontrollerle karşılaştırılan KVH'lı hastalarda daha yüksek plazma total homosisteini bulmuşlardır (11.1-40'a karşı 10.5-2.8 µmol/L); ayrıca miyokard infarktüsü için nisbi risk 95. persentilde erkekler için 3.1 ve bir uyarı eşiği etkisi tespit edilmiştir. Arnesen ve arkadaşları bir diğer çalışmada plazma total homosisteininin, koroner arter hastalıkları için uyarı eşiği olmayan bir konsantrasyonla bağımsız bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir. Son zamanlarda plazma tHcy'inin KAH'lı Norveçli hastalarda mortalitenin kuvvetli bir habercisi olduğu bildirilmiştir. Ancak Alftan ve Evans

tarafından gerçekleştirilen prospektif çalışmalarda bu görüşün aksi savunulmuştur.

Homosisteinin kardiyovasküler hastalığındaki etkisi tartışmalı olduğu için homosisteinin vasküler hastalıklara neden olduğuna dair daha fazla veriye ve etki mekanizmasının açıklanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Kozal bir faktör olarak tHcy'in etkisini açıklayan bir mekanizma gösterilmelidir. İleri sürülen mekanizmalarda, tHcy'in endotelial disfonksiyona, düz kas proliferasyonuna, ekstrasellüler matriks proliferasyonuna, lipid oksidasyonuna, sitotoksikiteye veya koagülasyon ve trombositlere etkisi sonucu vasküler hasara neden olabileceği ileri sürülmüştür.²⁸

Homosisteinin aterogenez, ateroskleroz ve trombozda oynadığı roller bilinmemesine rağmen, son yıllarda yapılan çalışmalar hiperhomosisteineminin direkt olarak vasküler endotel hücrelerinde hasara neden olabileceği, endotelin antikoagülan özelliğini prokoagülana dönüştürebildiği ve in vitro düz kas hücrelerinde proliferasyona neden olabileceği gösterilmiştir.^{29,30} Homosistein, vasküler düz kas hücrelerinde mitogeneze ve sitotoksik etkiye de neden olabilir.³¹ Bazı araştırmacılar, güçlü bir vazodilatatör ve trombosit agregasyon inhibitörü olan nitrik oksitinin sığır endotelial hücrelerinden salınımının bozulduğunu göstermişlerdir.³² Nitrik oksit salınımının ve/veya etkilerinin azalması, hiperhomosisteinemde gözlenen trombotik olaylara neden olabilir.³³

Aterosklerozda, endotel hasarı kritik öneme sahip olup hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur.³⁴ Bu nedenle, homosisteinin bazı etkileri endotelial disfonksiyon ve daha spesifik olarak nitrik oksidin salınımı ve/veya etkilerinin azalması sonucu ortaya çıkmaktadır. Endotelial disfonksiyonda, damar içi kan dolaşımının oluşturduğu dilatasyon (KAD) azalmaktadır. Orta yaşlı Çinlilerden oluşan ve belirli bir vasküler risk faktörü saptanamayan 14 kişilik bir grupta yapılan çalışmada, damar içi KAD ölçümleri yapılmış ve hiperhomosisteineminin (tHcy=34.8 µmol/L) endotelial disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir.³⁵ Başka bir çalışmada, ailesinde ateroskleroz anamnezi ve klinik bulguları olmayan hiperhomosisteinemili (19.2 µmol/L) 26 yaşlı hastada da damar içi KAD ölçümlerinin azaldığı gösterilmiştir.³⁶ Endotelial disfonksiyon, klasik homosistinürili çocuklarda gösterilmiş iken serbest homosistein ve metiyonin seviyeleri normal heterozigot CBS eksikliği olan çocuklarda gösterilememiştir.³⁷ Son çalışmalarda, normal sağlıklı

kişilere standart metiyonin yükleme (0.1 g/kg) ile zamana bağlı tarzda damar içi kan dolaşımına bağlı dilatasyonun bozulabileceği gösterilmiştir.^{36,38,39} Akut metiyonin yüklemesinin birkaç metabolik etkisi vardır. Plazma homosisteini yükseltebilmesine rağmen insanlarda homosisteinin endotel fonksiyonları üzerine toksik etkilerinin delili sayılmamaktadır. Hanratty ve ark., bir hafta süre ile günde 0.1 g/kg metiyoninle beslenen kişilerde endotel fonksiyonlarının bozulmadığı ancak tHcy seviyelerinin anlamlı oranda yükseldiğini tespit etmişlerdir.^{36,38,40} Bu çalışmada, brakial arter endotelial disfonksiyonun tespit edilmesinde farklı bir teknik (yüksek rezolüsyonlu ultrason ve flow yerine venöz pletismografi ve agonistler) kullanıldığı için bu bulguları direkt olarak akut metiyonin yükleme çalışmaları ile karşılaştırmak zordur.

Lambert ve ark. prematür koroner, serebral veya periferik vasküler hastalıklı ve metiyonin yüklenmesinden sonra hiperhomosisteinemi tanısı konan 60'ı birbiri ile birinci dereceden akraba 123 sağlıklı kişide endotelial disfonksiyon ve arteriyel distansibilite arasındaki ilişkileri incelemiştir.^{36,38,41} Bu çalışmada; endotelial fonksiyon, brakial arterin KAD'u ile ve damar duvarının fiziki özellikleri karotis arterinin arteriyel distansibilitesi ölçülerek tespit edilmiştir. Çalışmaya alınan kişilerde açlık tHcy ve metiyonin yükleme testi yapılmıştır. Hafif hiperhomosisteinemili kişilerden oluşan bu grupta, önceki raporların aksine brakial arterdeki KAD ile açlık tHcy arasında ilişki bulunamamış ancak metiyonin yüklemesinden elde edilen veriler incelenince KAD ve homosistein arasında zayıf fakat istatistiksel olarak anlamlı zıt bir ilişki tespit edilmiştir.^{35,36} Karotis arterinin arteriyel distansibilite ölçümleri ile hem açlık hem de metiyonin yüklemesinden sonra ölçülen plazma homosisteini arasında ilişki bulunamamıştır.

Erkek cinsiyet, total kolesterol, sigara içme, hipertansiyon gibi klasik risk faktörleri ile KAD arasında ilişki bulunamamış iken postmenopozdaki kadınlarda KAD ile ilişki bulunmuştur. KAD ve asemptomatik erkek ve kadınlardaki klasik risk faktörleri arasındaki ilişkiyi "multiple stepwise regression" analizi ile inceleyen diğer bir çalışmada, KAD'daki azalmanın sigara içen yaşlı erkeklerde daha büyük damarlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Toplam risk faktör skorunun KAD ile kuvvetli ilişki göstermesi, risk faktörlerinin birbirini karşılıklı etkileyebileceğini düşündürmektedir.⁴²

Çalışma grubunda, vasküler hasar ile post metiyonin hiperhomosisteineminin ilişkili olduğu farzedilirse, homosistein metabolizmasındaki ne tür anomaliler buna neden olmaktadır? Vitamin B₆ eksikliği normalde açlık hiperhomosisteinemisine neden olmazken metiyonin yüklemesinden sonra tHcy seviyesi artabilmektedir.⁴³ Lambert, hastaların %28'inde vitamin B₆'nın referans değerini altında (<17 nmol/L) olduğunu bildirmişken plazma vitamin durumu ve KAD bilgilerini vermemiştir. Vitamin B₆ seviyesi ile metiyonin yüklemesinden sonra ölçülen tHcy arasında zıt bir ilişki (p=0.03) tespit edilirken açlık tHcy'inde ilişki (p=0.53) bulunamamıştır. KAH insidensi için yapılan bir çalışmada, plazma pridoksal 5' fosfat (vit B₆)'ın açlık tHcy'inden bağımsız olarak KAH için bir risk faktörü oluşturduğu bildirilmiştir.¹⁰ Heterozigot CBS eksikliği durumunda metiyonin yüklemesi açken normal seviyelere intoleransa neden olabilmesine rağmen heterozigot CBS eksikliği olanlarda KAD'unun bozulmadığı gösterilmiştir.³⁷

Birçok deneysel çalışmalar tHcy'in vasküler komponentlere, özellikle endotelyuma direkt etkilerini araştırmaya yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalara göre açlık hiperhomosisteinemisi ateroskleroza meyli artırabilmektedir. Açlık tHcy'i normal ancak metiyonin yüklemesinden sonra yüksek olan bireylerde görülen vasküler hasarın mekanizması transsülfürasyon yolundaki anomalilere bağlı olabilir. Bu bireylerde, sadece nonfizyolojik oral metiyonin dozlarının (genellikle 6-7 gr) alınmasından sonra tHcy'de yükselme gözlenir. Bu nedenle, erişkinlerin günlük metiyonin alınması 0.9 gram civarında tutulmalıdır. Post prandial tHcy seviyesi değişebilmesine rağmen %20'den fazla artışa rastlanmamıştır.⁴⁴ Bir ay süre ile günde 4 defa 250 mg metiyonin alanlarda ne tHcy'de anlamlı artışa ne de endotelial fonksiyonda bozulmaya rastlanmadığı bildirilmiştir.⁴⁰ Bu nedenle, yüksek metiyoninle beslenenlerin metiyonin yüklenmesine intolerans göstermeleri beklenmemelidir.

Klasik homosisteinüriye göre koroner arter hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar ve periferik vasküler hastalıkların eşlik ettiği hafif hiperhomosisteinemide homosisteinin oynadığı rol daha azdır. Ancak, önceden miyokard infarktüsü geçiren serebrovasküler trombozlu yaşlı erkeklerde tHcy'in 10 µmol/L'den yüksek olduğu tespit edilmiş, akut koroner sendromlu hastalarda pıhtılaşma faktörleri ile homosistein arasında ilişki bulunmuş ve koroner yetmezlikli hastalara folik asit ve antioksidan vitaminler verilerek tHcy konsantrasyonu azaltılabilmektedir.⁴⁵⁻⁴⁷ Bu nedenlerle, tHcy

konsantrasyonunun düşürülmesiyle KVH'nin mortalite ve morbiditesinin azaltılabileceği sanılmaktadır.

Günümüzde, A.B.D. ve Avrupa'da başlatılan ikinci faz deneylerinde KVH'larda plazma total homosisteinin etkili bir şekilde düşürülüp takip edilen kişilerde mortalite ve morbidite sonuçlarının daha düşük olacağı tahmin edilmektedir. Bu ülkelerdeki deneyleri etkileyen en önemli faktör, total homosisteinin majör destekleyicisi olan folik asidin besin kaynaklarına eklenmesidir. Bu deneylerin sonuçları önümüzdeki birkaç yılda alınacaktır. Bu arada homosistein ve folik asit, B₁₂ ve B₆ arasındaki ilişkiyi anlamak daha uygun olabilir. Çünkü bu vitaminlerle optimal beslenen kişilerde daha düşük total plazma homosistein konsantrasyonu elde edilmektedir.

Hiperhomosisteineminin tedavisinde folik asitle desteklenmiş besinlerle beslenmenin tavsiye edilmesi gerektiği günümüzde klinik deneyler sonucunda ortaya çıkmaktadır. Günlük diete 0.5 mg folik asit eklenerek tHcy seviyeleri %25 azaltılabilmektedir.^{48,49}

KAYNAKLAR

1. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-28.
2. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Jr., et al. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 1999;131:363-75.
3. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.
4. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992;268:877-81.
5. Wald NJ, Watt HC, Law MR, et al. Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med* 1998;158:862-7.
6. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, et al. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995;24:704-9.
7. Ubbink JB, Fehily AM, Pickering J, et al. Homocysteine and ischaemic heart disease in the Caerphilly cohort. *Atherosclerosis* 1998;140:349-56.
8. Alfthan G, Pekkanen J, Jauhainen M, et al. Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994;106:9-19.
9. Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, et al. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1947-53.
10. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, et al. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 1998;98:204-10.
11. Still RA, McDowell IF. ACP Broadsheet No 152: March 1998. Clinical implications of plasma homocysteine measurement in cardiovascular disease. *J Clin Pathol* 1998;51:183-8.
12. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995;10:111-3.
13. Brattstrom L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* 1998;98:2520-6.
14. Sardharwalla IB, Fowler B, Robins AJ, Komrower GM. Detection of heterozygotes for homocystinuria. Study of sulphur-containing amino acids in plasma and urine after L-methionine loading. *Arch Dis Child* 1974;49:553-9.
15. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, et al. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693-8.
16. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998;49:31-62.
17. Jacobsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem* 1998;44:1833-43.
18. Doshi SN, Goodfellow J, Lewis MJ, McDowell IF. Homocysteine and endothelial function. *Cardiovasc Res* 1999;42:578-82.
19. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999;354:407-13.

Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi

20. Apeland T, Mansoor MA, Strandjord RE, Kristensen O. Homocysteine concentrations and methionine loading in patients on antiepileptic drugs [In Process Citation]. *Acta Neurol Scand* 2000;101:217-23.
21. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-55.
22. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997;277:1775-81.
23. Wilcken DE, Reddy SG, Gupta VJ. Homocysteinemia, ischemic heart disease, and the carrier state for homocystinuria. *Metabolism* 1983;32:363-70.
24. Mudd SH, Havlik R, Levy HL, et al. A study of cardiovascular risk in heterozygotes for homocystinuria. *Am J Hum Genet* 1981;33:883-93.
25. Dunn J, Title LM, Bata I, et al. Relation of a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase to plasma homocysteine and early onset coronary artery disease. *Clin Biochem* 1998;31:95-100.
26. Refsum H, Ueland PM. Recent data are not in conflict with homocysteine as a cardiovascular risk factor. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:533-9.
27. Mudd SH, Skovby F, Levy HL, et al. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985;37:1-31.
28. Bellamy MF, McDowell IF. Putative mechanisms for vascular damage by homocysteine. *J Inher Metab Dis* 1997;20:307-15.
29. 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 U S A* 1994;91:6369-73.
30. Tang L, Mamotte CD, Van Bockxmeer FM, Taylor RR. The effect of homocysteine on DNA synthesis in cultured human vascular smooth muscle. *Atherosclerosis* 1998;136:169-73.
31. Chen C, Halkos ME, Surowiec SM, et al. Effects of homocysteine on smooth muscle cell proliferation in both cell culture and artery perfusion culture models. *J Surg Res* 2000;88:26-33.
32. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993;91:308-18.
33. Chao CL, Kuo TL, Lee YT. Effects of methionine-induced hyperhomocysteinemia on endothelium-dependent vasodilation and oxidative status in healthy adults. *Circulation* 2000;101:485-90.
34. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-9.
35. Woo KS, Sanderson JE, Sun YY, et al. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 2000;101:E116.
36. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, et al. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation* 1997;95:1119-21.
37. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, et al. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:854-8.
38. Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, et al. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation* 1998;98:1848-52.
39. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Kooner JS. Acute hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Lancet* 1998;351:36-7.
40. Hanratty CG, McAuley DF, McGurk C, et al. Homocysteine and endothelial vascular function. *Lancet* 1998;351:1288-9.
41. Lambert J, van den BM, Steyn M, et al. Familial hyperhomocysteinemia and endothelium-dependent vasodilatation and arterial distensibility of large arteries. *Cardiovasc Res* 1999;42:743-51.
42. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, et al. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468-74.
43. Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1992;55:131-8.
44. Guttormsen AB, Schneede J, Fiskerstrand T, et al. Plasma concentrations of homocysteine and other aminothiols are related to food intake in healthy human subjects. *J Nutr* 1994;124:1934-41.
45. Adunsky A, Weitzman A, Fleissig Y, et al. The relation of plasma total homocysteine levels to prevalent cardiovascular disease in older patients with ischemic stroke. *Aging (Milano)* 2000;12:48-52.
46. Al Obaidi MK, Philippou H, Stubbs PJ, et al. Relationships between homocysteine, factor VIIa, and thrombin generation in acute coronary syndromes. *Circulation* 2000;101:372-7.
47. Bunout D, Garrido A, Suazo M, et al. Effects of supplementation with folic acid and antioxidant vitamins on homocysteine levels and LDL oxidation in coronary patients. *Nutrition* 2000;16:107-10.
48. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. *BMJ* 1998;316:894-8.
49. Andreotti F, Burzotta F, Manzoli A, Robinson K. Homocysteine and risk of cardiovascular disease. *J Thromb Thrombolysis* 2000;9:13-21.