

JOURNAL FÜR ERNÄHRUNGSMEDIZIN

HERRMANN W

*Die Bedeutung der Hyperhomocysteinämie als Risikofaktor für
degenerative Erkrankungen: ein Überblick*

*Journal für Ernährungsmedizin 2002; 4 (1) (Ausgabe für Schweiz)
5-11*

*Journal für Ernährungsmedizin 2002; 4 (1) (Ausgabe für
Österreich), 7-14*

Homepage:

**[www.kup.at/
ernaehrungsmedizin](http://www.kup.at/ernaehrungsmedizin)**

**Online-Datenbank mit
Autoren- und Stichwortsuche**

Mit Nachrichten der



**INTERDISZIPLINÄRES ORGAN FÜR PRÄVENTION UND
THERAPIE VON KRANKHEITEN DURCH ERNÄHRUNG**

Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis

Mehr als nur eine Dekoration:

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

Dann sind Sie hier richtig



Die Bedeutung der Hyperhomocysteinämie als Risikofaktor für degenerative Erkrankungen: ein Überblick

W. Herrmann

Hyperhomocysteinämie ist das Resultat eines gestörten intrazellulären Methioninstoffwechsels, dem ein Enzym- und/oder Vitaminmangel zugrunde liegt. Aus epidemiologischen Studien ist bekannt, daß Hyperhomocysteinämie einen Risikofaktor für koronare Herzerkrankung, Schlaganfall, periphere arterielle Verschlusskrankheit und venöse Thrombosen darstellt. Unterschiedliche Resultate fand man dagegen bislang in prospektiven Studien. Derzeit noch laufende multizentrische Studien sollen Klarheit über die Kausalität von Hyperhomocysteinämien wie auch über den Wert homocystein-senkender Therapien bringen.

Die Einleitung des atherogenen Prozesses durch Hyperhomocysteinämie scheint mit der Veränderung der Funktion der Endothelzellen wie auch der glatten Muskelzellen der Gefäßwand und einer dadurch vermehrten Bildung reaktiver Sauerstoffspezies verknüpft zu sein. Dabei werden eine gesteigerte endotheliale Expression von Adhäsionsmolekülen, eine verstärkte Ablagerung von oxidiertem LDL in der Gefäßwand und eine dadurch induzierte Bildung von Schaumzellen in der Gefäßwand beobachtet. Hyperhomocysteinämie interferiert zusätzlich mit dem Gerinnungssystem und wirkt über diesen Weg prothrombotisch.

Eine hohe Prävalenz von Hyperhomocysteinämien, die mit zunehmendem Alter deutlich ansteigt, wird bei Senioren als Folge eines Vitaminmangels beobachtet. Bei älteren Personen wird mit großer Häufigkeit ein Vitamin-B12-Mangel gefunden, der zuverlässiger durch Messung des Serumspiegels an Methylmalonsäure als durch die Konzentration des „Gesamt-Vitamin-B12“ im Serum erfaßt werden kann. Personen, die eine strikte vegetarische Diät einhalten, zeigen eine hohe Prävalenz an Hyperhomocysteinämie, die vor allem durch einen funktionellen Vitamin-B12-Mangel (erhöhter MMA-Spiegel) bedingt ist. Nicht zuletzt wird Hyperhomocysteinämie auch als pathogener Faktor bei der Entstehung von Neuralrohrdefekten und Präeklampsie diskutiert. Eine frühzeitige Diagnose eines intrazellulären Vitamin-B12-Mangels ist für die Prävention von neurologischen Schäden von hoher Relevanz.

Homocystein sollte gemessen werden: bei Patienten mit familiärer Häufung von atherothrombotischen Gefäßerkrankungen, bei Patienten mit Diabetes mellitus oder Hyperlipidämie, bei Nierenpatienten, bei Adipösen, bei älteren Personen, bei postmenopausalen Frauen und in der frühen Schwangerschaft. Die spezifische Diagnose eines eventuell zugrundeliegenden Vitaminmangels ist für eine adäquate Therapie wichtig. Personen mit einer Homocysteinkonzentration im Plasma oder Serum $> 12 \mu\text{mol/l}$ sollten ihre diätetische Zufuhr von Vitaminen steigern und/oder die Vitaminaufnahme durch Supplements ergänzen.

Schlüsselwörter: Hyperhomocysteinämie, Atherosklerose, kardiovaskuläre Erkrankungen, Nierenerkrankungen, Vitaminmangel, Methylmalonsäure, ältere Probanden, Vegetarier

Hyperhomocysteinaemia is the result of a disturbed methionine metabolism. It results from enzyme and/or vitamin deficiency. Epidemiological studies have proven that hyperhomocysteinaemia is a risk factor for atherosclerotic cardiovascular diseases, stroke, peripheral arterial occlusive disease and venous thrombosis. Conflicting results come from prospective studies. Trials, which are now in progress may clarify the "causality" of high homocysteine concentrations and will assess the value of homocysteine-lowering therapy.

The induction of the atherogenic process by hyperhomocysteinaemia seems to be associated with an alteration of endothelial and smooth muscle cell function leading to an accelerated formation of reactive oxygen species, an increased endothelial expression of adhesion molecules, which then leads to an enhanced deposition of oxidised LDL in the vessel wall with the formation of foam cells. Additionally, hyperhomocysteinaemia interferes with the coagulation system and thus also has prothrombotic effects. There is a high prevalence of hyperhomocysteinaemia as a syndrome of a vitamin deficiency in elderly subjects, which strongly increases with age. Elderly people have a high frequency of vitamin B12 deficiency which can be diagnosed more reliably by the measurement of serum methylmalonic acid (MMA) level than by serum vitamin B12. Subjects following a strict vegetarian diet also have a high prevalence of hyperhomocysteinaemia caused by functional vitamin B12 deficiency (increased MMA level). Last but not least, hyperhomocysteinaemia is a factor in the pathogenesis of neural tube defects and preeclampsia. An early diagnosis of vitamin B12 deficiency is important for the prevention of neurological damages. Homocysteine should be measured in patients with a history of atherothrombotic vessel diseases, in patients with diabetes or hyperlipidaemia, in renal patients, in adipose subjects, in elderly people, in post-menopausal women, and in early pregnancy. A specific diagnosis of an underlying vitamin deficiency is important for adequate treatment. Individuals with homocysteine level $> 12 \mu\text{mol/l}$ should increase and/or supplement their dietary intake of vitamins. **J Ernährungsmed 2002; 4 (1): 7–14**

Key words: hyperhomocysteinaemia, atherosclerosis, cardiovascular disease, renal disease, vitamin deficiency, methylmalonic acid, elderly subjects, vegetarians

Neben den vielen bekannten humoralen und zellulären Risikofaktoren für Atherosklerose ist eine moderate Hyperhomocysteinämie als weiterer bedeutender atherothrombotischer Risikofaktor erkannt und eingeordnet worden. Homocystein (HCY) ist eine nichtproteinbildende, schwefelhaltige Aminosäure des Methioninstoffwechsels. Nur 1 bis 2 % des HCY zirkulieren frei im Plasma in der reduzierten Form. 70–90 % des Plasma-HCY sind proteingebunden, die restlichen Anteile bilden Disulfide, wie Homocystin und HCY-Cystein.

HCY befindet sich am Schnittpunkt zweier Stoffwechselwege, der katabolen Transsulfurierung und der Remethylierung (Abb. 1) [1, 2]. Es wird entweder zu Cystathionin transsulfuriert oder zu Methionin remethyliert, wobei die Remethylierungsrate von der diätetischen Methioninzufuhr abhängig ist. Bei der Remethylierung von HCY zu

Methionin wird die Methylgruppe von 5-Methyltetrahydrofolat auf HCY übertragen. Diese in allen Geweben vorkommende Reaktion wird durch die Methioninsynthase [EC 2.1.1.13] katalysiert und ist Vitamin B12-abhängig. Alternativ kann die Methylgruppe auch von Betain geliefert werden. Diese Reaktion ist jedoch vornehmlich auf die Leber beschränkt und deshalb von untergeordneter Bedeutung. Methionin wird zu S-Adenosylmethionin (SAM) transformiert, das hauptsächlich als universeller Methylgruppendonor fungiert [3]. Bei der Demethylierung von SAM entsteht S-Adenosylhomocystein (SAH), woraus durch hydrolytische Spaltung Homocystein freigesetzt wird. SAH konkurriert mit SAM um Bindungsstellen und kann dadurch eine Inhibierung der Transmethylierung bewirken [4]. Im Transsulfurierungsweg kondensiert HCY mit Serin zu Cystathionin (CYS). Die Reaktion wird katalysiert durch die Cystathionin- β -Synthase [EC 4.4.1.1], einem Vitamin B6-

Eingelangt am 29. November 2001; angenommen am 3. Jänner 2002.

Aus dem Zentrallabor der Universitätskliniken des Saarlandes, Homburg

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. med. Wolfgang Herrmann, Zentrallabor der Universitätskliniken des Saarlandes, D-66421 Homburg, Kirrberger Straße, Gebäude 40; E-Mail: kchwhr@uniklinik-saarland.de

abhängigen Enzym. In einem zweiten Reaktionsschritt, katalysiert durch die Cystathionase [EC 4.4.1.1], wird CYS zu Cystein und α -Ketobutyrat hydrolysiert. Eine Hyperhomocysteinämie bei einer normalen Nierenfunktion kann einerseits an einem Defekt in der Transsulfurierung, basierend auf einem Mangel an Cystathionin- β -Synthase [4, 5], liegen; andererseits ist auch ein Defekt in der Remethylierung, basierend auf einem Mangel an Methioninsynthase oder einem Mangel an Methylentetrahydrofolatreduktase (MTHFR) [EC 1.5.1.20], möglich [6, 7]. Weiterhin kann eine moderate Hyperhomocysteinämie durch einen Mangel der am Metabolismus beteiligten Kofaktoren, Folsäure, Vitamin B12 und Vitamin B6, bedingt sein [8].

SAM spielt eine wichtige Rolle in der koordinierten Regulation von Remethylierung und Transsulfurierung [1, 9]. SAM aktiviert die Cystathionin- β -Synthase und inhibiert die durch MTHFR katalysierte Bildung von 5-Methyltetrahydrofolat (5-MTHF). Der Verbrauch von SAM wird über die von Glycin-N-Methyltransferase (GNMT) [EC 2.1.1.20] katalysierte Remethylierungsaktivität reguliert. Dabei wird die Methylgruppe von SAM auf Glycin (Sacrosin) transferiert [10]. Die Reaktion wird von 5-MTHF-Polyglutamat stark inhibiert.

Was beeinflusst den Homocysteinspiegel im Plasma?

Da HCY stark zytotoxisch ist, wird seine intrazelluläre Konzentration niedriggehalten. Dies geschieht zum einen über einen zellulären Katabolismus und zum anderen über einen zellulären HCY-Exportmechanismus ins Plasma [2, 11, 12]. Plasma-HCY (etwa 70 %) wird hauptsächlich renal metabolisiert (remethyliert), und nur ein kleiner Teil wird mit dem Urin ausgeschieden [13, 14]. Eine moderate Hyperhomocysteinämie im Plasma im Konzentrationsbereich von > 12 bis $30 \mu\text{mol/l}$ kann verschiedene Ursachen haben: einen heterozygoten Enzymmangel (Cystathionin- β -Synthase [15] oder thermostabile MTHFR [6, 7]), einen Mangel an Folat, Vitamin B12 oder Vitamin B6 [16, 17] oder eine Niereninsuffizienz [18].

Niedriges 5-MTHF führt zu einer gestörten HCY-Remethylierung

Niedriges Folat, niedriges Vitamin B6 oder ein Mangel an MTHFR können zu einer gestörten Synthese von 5-MTHF führen, mit der Konsequenz einer ebenfalls gestörten Remethylierung von HCY zu Methionin [19–22].

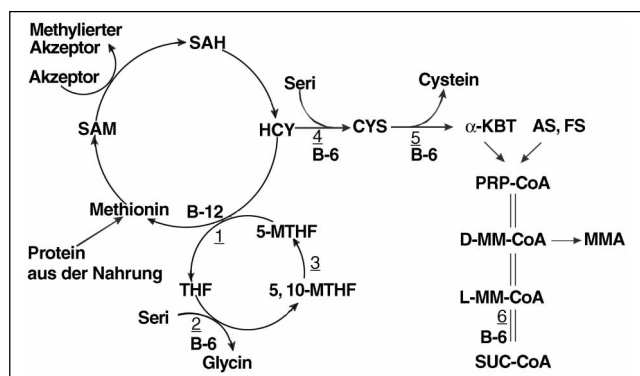


Abbildung 1: Homocysteinemetabolismus. SAM, S-Adenosylmethionin; SAH, S-Adenosylhomocystein; HCY, Homocystein; CYS, Cystathionin; α -KBT, α -Ketobutyrat; PRP-CoA, Propionyl-CoA; MMA, Methylmalonsäure; D-MM-CoA, D-Methylmalonyl-CoA; L-MM-CoA, L-Methylmalonyl-CoA; SUC-CoA, Succinyl-CoA; THF, Tetrahydrofolat; 5-MTHF, 5-Methyltetrahydrofolat; 5,10-MTHF, 5,10-Methylentetrahydrofolat; 1, Methioninsynthase; 2, Serin-Hydroxymethyltransferase; 3, N^5,N^{10} -Methylentetrahydrofolatreduktase; 4, Cystathionin- β -Synthase; 5, Cystathionase; 6, L-Methylmalonyl-CoA-Mutase; AS, Aminosäuren; FS, Fettsäuren.

Als Kompensation wird versucht, HCY verstärkt durch Transsulfurierung zu katabolisieren. Der verstärkte Anfall an HCY kann jedoch nicht durch Transsulfurierung abgebaut werden, da der niedrige Spiegel von SAM nicht ausreicht, den katabolen Stoffwechselweg zu aktivieren. Diesbezüglich unterstützend wirkt die niedrige Konzentration von 5-MTHF, die die Demethylierung von SAM nicht inhibiert und so zur weiteren Absenkung des SAM-Spiegels beiträgt.

Die 677C $\rightarrow$ T MTHFR-Mutation führt zu einer Substitution von Alanin durch Valin, wodurch ein Enzym mit moderat reduzierter Aktivität gebildet wird [6, 7, 23]. Die Folge davon ist, daß die enzymatische Konversion von 5,10-Methylentetrahydrofolat (5,10-MTHF) zu 5-MTHF, die von MTHFR katalysiert wird, im Falle der Genmutation inhibiert ist und so zu einem niedrigeren Spiegel von 5-MTHF führt. Infolgedessen kommt es zu einer gestörten Remethylierung von HCY zu Methionin. Die Mutation führt zu einer moderaten Hyperhomocysteinämie, vor allem bei Personen mit niedrigem Folat. In unserer Studie an Nierenpatienten mit moderater Hyperhomocysteinämie konnten wir bestätigen, daß die 677-MTHFR-Mutation zu einer weiteren Steigerung der HCY-Konzentration bei den Patienten mit niedrigem Folat führt (Abb. 2). Wir und andere [7] konnten bei ausreichender Folatversorgung keinen signifikanten Einfluß der 677-MTHFR-Mutation auf den HCY-Spiegel feststellen. Die homozygote 677-MTHFR-Mutation führte aber bei jenen Patienten mit ungenügender Folatversorgung zu einer weiteren signifikanten Steigerung der ohnehin bei Nierenpatienten bereits erhöhten HCY-Konzentration.

Gestörte HCY-Remethylierung bei hohem Spiegel von 5-MTHF

Vitamin B12-Mangel oder Methioninsynthesemangel blockiert die Remethylierung von HCY zu Methionin [1]. Der dadurch bedingte höhere Spiegel an 5-MTHF inhibiert den Verbrauch von SAM. SAM aktiviert die Cystathionin- β -Synthase und unterstützt so die Transsulfurierung. Die Hyperhomocysteinämie bei Vitamin B12-Mangel zeigt sich deshalb etwas weniger stark ausgeprägt als bei Folatmangel, da der HCY-Katabolismus bei Vitamin B12-Mangel aktiver ist als bei Folatmangel.

Mäßig gestörte HCY-Transsulfurierung

Bei Mangel an Vitamin B6 oder Vorliegen eines heterozygoten Mangels an Cystathionin- β -Synthase ist die Transsulfurierung nur mäßig gestört [1, 25]. Die verbleibende Transsulfurierungsaktivität verhindert zusammen mit der ungestörten Remethylierung eine Hyperhomocysteinämie, solange die HCY-Belastung niedrig ist. Jedoch findet sich

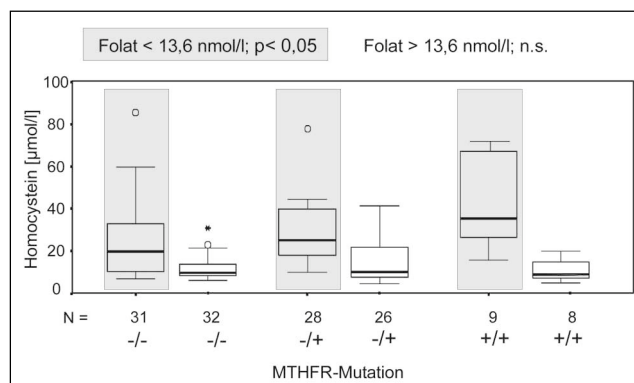


Abbildung 2: Einfluß der 677C $\rightarrow$ T MTHFR-Mutation auf die Homocystein-konzentration bei Nierenpatienten, unterteilt in Patienten mit niedrigen und hohen Folatkonzentrationen: -/- Wildtyp, +/- heterozygote Mutation, +/+ homozygote Mutation (modifiziert nach [24]).

bei Vitamin B6-Mangel postprandial oder nach Methioninbelastung eine ausgeprägte Hyperhomocysteinämie. Der Methioninbelastungstest wird deshalb primär zur Erfassung von Personen mit gestörter Transsulfurierung eingesetzt, die einen normalen oder grenzwertigen HCY-Spiegel im Nüchternzustand aufweisen.

Vitamin B12-Mangel und neuropsychiatrische Erkrankungen

Warum ist die frühzeitige Diagnose eines Vitamin B12-Mangels wichtig? Vitamin B12-Mangel gilt als wichtige Ursache für die Entwicklung neuropsychiatrischer Erkrankungen. Die Vitamin B12-Speicher im Gehirn sind klein und schnell erschöpft. Bei frühzeitiger Diagnose eines Vitamin B12-Mangels können durch entsprechende Supplementation irreversible neurologische Schäden vermieden bzw. ihr Fortschreiten gestoppt werden. Niedrige Vitamin B12- und Folatkonzentrationen führen im ZNS zu einer verminderten Bildung von Tetrahydrobiopterin, einem geschwindigkeitsbestimmenden Kofaktor für die Synthese von Dopamin und Serotonin [26]. Erhöhte Spiegel von HCY, aber erniedrigte Konzentrationen von Methionin und Tryptophan, dem Präkursor von Serotonin, wurden bei Patienten mit Morbus Alzheimer gefunden [27]. Eine intakte Wechselwirkung zwischen Folat und Cobalamin ist für die Synthese von DNA und für Methylierungsreaktionen (Methylierung von DNA, Myelin, Phospholipiden, Rezeptoren und Neurotransmittern) von hoher Relevanz. Verschiedene Studien bei Patienten mit neuropsychiatrischen Erkrankungen berichten über reduzierte Spiegel von SAM im Liquor [28–30]. Weiters können erhöhte Konzentrationen von HCY im ZNS zu Schädigungen des Gefäßendothels führen, die ihrerseits als ursächliche Faktoren bei der Auslösung eines Schlaganfalls oder der Entwicklung von Demenz mitwirken. Darüber hinaus vermag HCY im ZNS um die Rezeptoren für Glutamat und Aspartat zu konkurrieren. Hyperhomocysteinämie kann dadurch einen exzitatorischen Effekt auf verschiedene NMDA-Glutamatrezeptorsubtypen ausüben und so zu einer gesteigerten Bildung von Hydroxylradikalen beitragen [31].

Hyperhomocysteinämie als Risikofaktor für Gefäßerkrankungen

Eine hohe Prävalenz an Hyperhomocysteinämie (zwischen 20 und 40 %) wurde bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit [32, 33], bei Patienten mit Schlaganfall [34], bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit [35] sowie bei Patienten mit venöser Thrombose [36] berichtet. Die meisten prospektiven Studien bestätigen, daß ein erhöhter Homocysteinspiegel einen Risikofaktor für koronare Herzkrankheit, Schlaganfall und auch venöse Thrombose darstellt [37]. Eine vor kurzem veröffentlichte prospektive Studie von Nygard et al. an Patienten mit angiographisch gesicherter koronarer Herzkrankheit demonstrierte nach fünf Jahren Follow-up eine strenge Wechselbeziehung zwischen HCY-Konzentration und Gesamtmortalität [38]. Von den Patienten mit HCY-Spiegeln $< 9 \mu\text{mol/l}$ überlebten nach 5 Jahren Beobachtungszeit 93 %, während Patienten mit HCY-Konzentrationen $> 20 \mu\text{mol/l}$ nur eine Überlebensrate von 67 % aufwiesen. Ein mit steigendem HCY-Spiegel exponentiell wachsendes Risiko für Myokardinfarkt wurde in einer Populationsstudie gefunden [39]. Die „Odds Ratio“ für Myokardinfarkt stieg exponentiell von 1 auf 6, während der HCY-Spiegel, nach Unterteilung in Quartilen, von $< 9,8 \mu\text{mol/l}$ in der untersten Quartile auf $> 17,2 \mu\text{mol/l}$ in der obersten Quartile

angestiegen war. In einer Therapiestudie wurde die Plaqueentwicklung in der Karotis vor und nach Vitaminsupplementation (tägliche Dosis: 5 mg bzw. 2,5 mg Folsäure, 25 mg Vitamin B6, 250 μg Vitamin B12) an Patienten mit HCY-Spiegeln $> 14 \mu\text{mol/l}$ über 4,4 Jahre verfolgt [40]. Während ohne Vitaminsupplementation die Plaqueentwicklung deutlich voranschritt, zeigte sich nach Vitaminsupplementation nicht nur ein Stop der Plaqueentwicklung, sondern die Plaquefläche nahm auch signifikant ab. Die derzeit noch laufenden großen, multizentrischen Studien sollen Klarheit sowohl über die Kausalität von hohen HCY-Konzentrationen bringen als auch die dringend notwendigen Informationen über den Nutzen einer HCY-senkenden Therapie liefern.

Hyperhomocysteinämie bei Nierenpatienten

Die vorzeitigen atherosklerotischen Gefäßerkrankungen bei Nierenpatienten werden teilweise mit der hohen Prävalenz an Hyperhomocysteinämien bei diesen Patienten erklärt [41]. In unseren Untersuchungen an Nierenpatienten konnten wir eine deutliche Hyperhomocysteinämie bei Dialysepatienten feststellen (HCY-Medianwert bei Patienten mit Hämo- und Peritonealdialyse: $31 \mu\text{mol/l}$) [42]. Bei Nierentransplantierten fand sich ein moderat erhöhter HCY-Spiegel (Median: $20 \mu\text{mol/l}$). Als Hauptursache für die hohe Prävalenz an Hyperhomocysteinämie bei Nierenpatienten wird die gestörte Remethylierung von HCY zu Methionin diskutiert, die durch Vitaminsupplementation nur teilweise reversibel ist [43, 44]. Die Bestimmung von Methylmalonsäure (MMA) wie auch von Cystathionin (CYS) liefert zusätzliche Informationen über die der Hyperhomocysteinämie zugrundeliegenden Störungen. Unsere Ergebnisse [42] zeigen auch, daß, im Vergleich zur Bestimmung von Vitamin B12 im Serum bzw. Plasma, die Bestimmung von MMA auch bei Nierenpatienten ein sensibler Indikator für einen funktionellen Vitamin B12-Mangel ist. Während mit der Bestimmung von Vitamin B12 im Serum bzw. Plasma nur eine niedrige Prävalenz eines Vitamin B12-Mangels gefunden wurde (3 % bei Nierentransplantierten bzw. 5 % bei Patienten mit Hämodialyse), ergab die Bestimmung von MMA als Marker eines intrazellulären funktionellen Vitamin B12-Mangels eine sehr hohe Prävalenz an funktionellem Vitamin B12-Mangel, vor allem bei Patienten mit Hämodialyse (10 % bei Nierentransplantierten bzw. 55 % bei Patienten mit Hämodialyse). Dies wurde auch durch andere Studien bestätigt [42]. Neben Vitamin B12-Mangel konnten wir bei den Nierenpatienten eine hohe Frequenz an Vitamin B6-Mangel finden (27 % bzw. 42 %), während Folatmangel mit deutlich niedrigerer Frequenz diagnostiziert wurde (5 % bzw. 11 %). Eine kürzliche Publikation [43] beschreibt sehr eindrucksvoll die Beziehung zwischen MMA als Marker eines Vitamin B12-Mangels und der Vitamin B12-Konzentration im Plasma bei Nierenpatienten. Nach Supplementation der Patienten mit Vitamin B12 fiel der MMA-Spiegel stark ab und erreichte bei etwa 700 pmol/l ein Plateau. Eine weitere Steigerung der Supplementation mit Vitamin B12 führte zu keinem weiteren Abfall des MMA.

Hyperhomocysteinämie und gestörte Schwangerschaft

Hyperhomocysteinämie stört die Vaskularisation der Plazenta und beeinträchtigt auf diesem Wege ihre Funktion. Hyperhomocysteinämie während der Schwangerschaft kann Ursache für niedriges Geburtsgewicht, für

häufigen Schwangerschaftsverlust wie auch für vorzeitige Plazentaablösung sein [45, 46]. Weiters spielt die Hyperhomocysteinämie eine wichtige Rolle als pathogener Faktor bei der Entwicklung einer Präeklampsie oder eines Neuralrohrdefektes [47–49].

Hyperhomocysteinämie bei älteren Personen

Moderate Hyperhomocysteinämie als Vitaminmangel-syndrom wird bei älteren Personen mit großer Häufigkeit festgestellt [17, 19, 20]. Diese Beobachtung konnten wir in eigenen Untersuchungen an zwei Altersgruppen, Senioren (65–75 Jahre) und Langlebigen (> 85 Jahre) bestätigen [50]. Hyperhomocysteinämie wurde bei den gesunden Senioren in 32 % und bei den Langlebigen in 58 % der Untersuchten gefunden. Mit steigendem Alter konnte eine starke Zunahme sowohl der Prävalenz als auch des Grades der Hyperhomocysteinämie registriert werden. Während bei den Senioren die HCY-Konzentration überwiegend moderat (bis 30 $\mu\text{mol/l}$) erhöht war, zeigte sich bei Langlebigen, daß ein nicht unbeträchtlicher Teil der Probanden Hyperhomocysteinämien > 30 $\mu\text{mol/l}$ hatte (Abb. 3). Die Prävalenz erhöhter MMA-Spiegel als sensibler Marker eines funktionellen Vitamin B12-Mangels war sehr hoch, 23 % bei den Senioren und 62 % bei den Langlebigen [51]. Demgegenüber fand sich ein Vitamin B12-Mangel, diagnostiziert mittels Vitamin B12-Test im Serum, nur in 9 % bzw. 20 % der Probanden. Demzufolge war die Frequenz an intrazellulärem Vitamin B12-Mangel bei Verwendung von MMA als sensitivem, funktionellem Marker dreimal höher als bei Nutzung einer Vitamin B12-Bestimmung im Serum. Bei Anwendung der Vitamin B12-Messung im Serum werden somit intrazelluläre Vitamin B12-Mängel in nicht unbeträchtlichem Maße übersehen. Vitamin B6-Mangel fand sich ebenfalls mit großer Häufigkeit bei älteren Personen, 23 % bei Senioren und 40 % bei Langlebigen. Trotz der niedrigen Prävalenz an diagnostiziertem Folatmangel (1 %) unterstreicht unsere Studie eine deutliche und signifikante Reduktion des Folatspiegels mit zunehmendem Alter. Anhand der Regressionsanalyse von unseren Daten ließ sich ermitteln, daß nur das Alter, MMA, Folat und Kreatinin Variablen waren, die den HCY-Spiegel signifikant und unabhängig beeinflussen. Demgegenüber hatten Vitamin B12 und B6 keinen signifikanten Einfluß auf die HCY-Konzentration im Serum.

MMA als Marker eines Vitamin B12-Mangels bei Vegetariern

In einer Studie an Vegetariern konnten wir die Bedeutung des MMA als Marker eines Vitamin B12-Mangels bestätigen. Durch das Meiden von Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs vermindern Vegetarier die Aufnahme einiger essentieller Nahrungsbestandteile, wie z. B. Vitamin B12, wodurch eine Hyperhomocysteinämie hervorgerufen werden kann. Die Vegetarier zeigten, verglichen mit omnivoren Kontrollen, eine höhere Frequenz an erhöhten Serumspiegeln von HCY und MMA, aber einen niedrigeren Spiegel im totalen Antioxidantienstatus (TAS) [51]. Folat und Vitamin B12 im Serum differierten nicht signifikant zwischen beiden Gruppen. Die Vegetarier ließen sich in folgende Gruppen unterteilen: Lacto-Ovo-/Lactovegetarier, Teilvegetarier und Veganer, die alle tierischen Produkte meiden. Von den omnivoren Kontrollen zu den Veganern fand sich ein signifikanter Anstieg des HCY-Spiegels von 10 auf 15 $\mu\text{mol/l}$ und des MMA von 170 auf

250 nmol/l , während Vitamin B12 im Serum nur gering abfiel (Abb. 4). TAS korrelierte signifikant mit Vitamin B12 im Serum. Die Häufigkeit eines funktionellen Vitamin B12-Mangels, nachgewiesen über einen erhöhten MMA-Spiegel, war bei den Vegetariern mit 25 % dreifach häufiger als erniedrigtes Vitamin B12 im Serum (8 %). Die Ursache für diese Diskrepanz wird vor allem darin gesehen, daß ungefähr 80 % des Vitamin B12 im Serum bzw. Plasma an Haptocorrin, einen späten Indikator eines Vitamin B12-Mangels, gebunden sind, während normalerweise nur etwa 20 % an Transcobalamin II, den Frühindikator eines Vitamin B12-Mangels, gebunden sind. Es konnte demonstriert werden, daß viele Vegetarier mit normalen Vitamin B12-Serumkonzentrationen im Bereich zwischen > 156 und < 360 pmol/l bereits einen funktionellen Vitamin B12-Mangel, d. h. erhöhtes MMA aufweisen. Ähnliche Resultate wurden durch andere Untersucher [53] an Kindern mit einer strikt veganen Diät erzielt. Verglichen mit den Kontrollen wiesen die veganen Kinder eine 8fach höhere MMA- und eine 2fach höhere HCY-Konzentration auf.

Atherogene und thrombogene Mechanismen bei Hyperhomocysteinämie

Die bei einer Hyperhomocysteinämie am häufigsten diskutierten atherogenen Mechanismen sind: eine Verdickung der Gefäßintima, ein erhöhter Plättchen-Turnover,

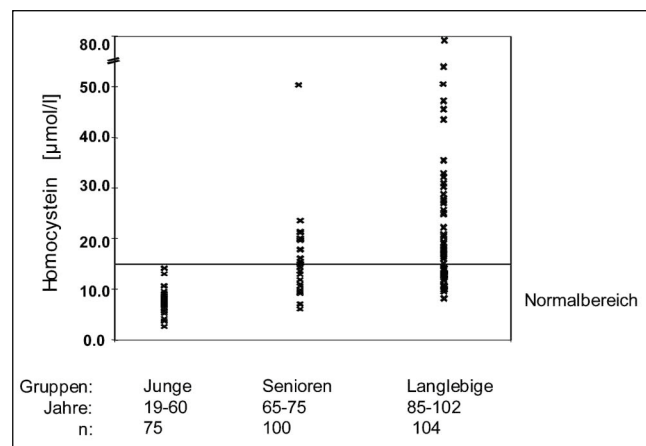


Abbildung 3: Verteilung von Homocysteinkonzentrationen in unterschiedlichen Altersgruppen (modifiziert nach [50])

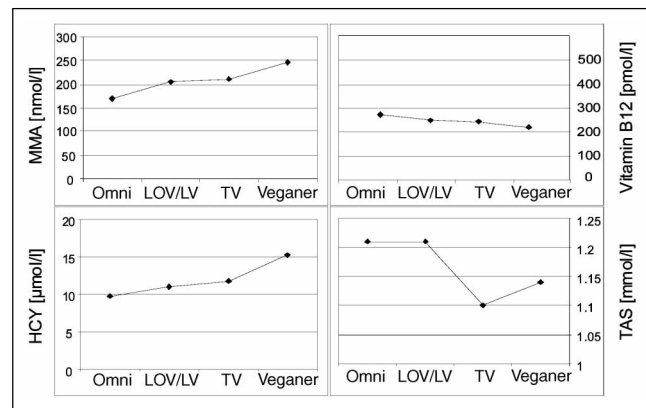


Abbildung 4: Verlauf der Median-Konzentrationen der Metabolite, Vitamin B12 und TAS bei Vegetariern verschiedener Ernährungsformen (LOV/LV, Lacto-Ovo-Vegetarier/Lacto-Vegetarier; TV, Teilvegetarier) und omnivoren Kontrollen (Omni)

eine gesteigerte Plättchenaktivierung mit vermehrter Thromboxansynthese, endotheliale Dysfunktion, aktivierte Leukozyten, verstärkte Oxidation von LDL durch erhöhten oxidativen Streß, verstärkte Schaumzellbildung durch Lipidablagerung in der Gefäßwand sowie eine vermehrte Proliferation glatter Muskelzellen [54–58].

Die Induktion des atherogenen Prozesses bei Hyperhomocysteinämie wird in der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) und in der direkten Veränderung der metabolischen Funktionen von Endothel- und glatten Muskelzellen gesehen [58–62] (Abb. 5). HCY-Thiolacton, ein sehr reaktiver interner Thioester, bildet mit LDL Aggregate [59]. Diese werden von Makrophagen aufgenommen, die sich dann bei Cholesterinüberladung zu Schaumzellen umwandeln. Die schaumzellinduzierte Bildung von ROS begünstigt die Entstehung von oxidativem Streß und wirkt somit atherothrombotisch. Weiterhin unterstützt die Generierung von ROS die Bildung von oxidiertem LDL wie auch die Deaktivierung von NO, die zum atherogenen Prozeß durch Vasokonstriktion, Plättchenaggregation und Monozytenadhäsion an der Endothelschicht beiträgt [63, 64].

Die direkte Veränderung der Endothel- und glatten Muskelzellfunktion durch Hyperhomocysteinämie wird in der verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen gesehen, die zu zufälligem endotheliale Kontakt, Rollen, Anheftung, Chemotaxis und Diapedese von Neutrophilen

und Monozyten führen [65]. Die Bildung löslicher Adhäsionsmoleküle im Plasma, die über die Inhibition der NO-Bildung induziert wird, ist bei hyperhomocysteinämischen Patienten mit atherothrombotischen Erkrankungen erhöht [66]. Die endotheliale Diapedese von Neutrophilen wird von IL-8 aktiviert und die von Monozyten durch das monozytenchemotaktische Protein 1 (MCP-1). Über die verstärkte Freisetzung von IL-8 und MCP-1 in humanen arteriellen Endothelzellkulturen nach HCY-Inkubation wurde kürzlich berichtet [67]. Dabei wurde eine zeit- und dosisabhängige Freisetzung von IL-8 wie auch von MCP-1 nach Inkubation mit verschiedenen HCY-Konzentrationen beobachtet. Unsere Arbeitsgruppe konnte ebenfalls in Zellkulturexperimenten eine erhöhte IL-8-Genexpression nach HCY-Inkubation in der quantitativen Echtzeit-Polymerasekettenreaktion bestätigen [68]. Die IL-8-Genexpression stieg signifikant mit zunehmender HCY-Konzentration im Inkubationsmedium. Dabei bewirkte die gleichzeitige Anwesenheit von Kupferionen im Inkubationsmedium einen verstärkenden Effekt auf die Genexpression. Dies kann als ein Indiz für eine bedeutende Rolle von oxidativem Streß bei der IL-8-Genexpression gewertet werden.

Zusätzlich hat HCY prokoagulatorische Wirkungen auf Endothelzellen [69–71]. Die HCY-induzierte Reduktion der Thrombomodulinexpression auf der endothelialen Oberfläche inhibiert die Aktivierung von Protein C [72]. Die erniedrigte Protein C-Aktivierung wiederum inhibiert die Inaktivierung von Faktor Va und VIIIa [73], woraus eine vermehrte Bildung von Prothrombin-Aktivator-Komplex und dadurch eine verstärkte Umwandlung von Prothrombin in Thrombin und schließlich eine gesteigerte Fibrinbildung resultiert [71] (Abb. 6).

Diagnostik von Hyperhomocysteinämie und Vitaminmangel

Was ist die klinische Relevanz der HCY-Bestimmung? Hyperhomocysteinämie ist ein Risikofaktor für atherosklerotische kardiovaskuläre Erkrankungen, für Schlaganfall, periphere arterielle Verschlusskrankheit und venöse Thrombose. Sie ist ein Indikator für einen erworbenen Mangel an Folat, Vitamin B12 oder Vitamin B6. Hyperhomocysteinämie ist außerdem in die Pathogenese von Neuralrohrdefekten und Präeklampsie involviert. Weiters dient die HCY-Bestimmung als Therapiekontrolle bei der Behandlung mit Vitaminen (Folat, Vitamin B12 und Vitamin B6).

Was ist ein „normaler“ Homocysteinspiegel? In einem gemeinsam abgestimmten europäischen Programm wurden Konzentrationen > 12 µmol/l als Hyperhomocysteinämie definiert [74]. In der Framingham Herz-Studie [75] wurde gezeigt, daß bei einem HCY-Spiegel über 11,4 µmol/l ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko besteht. HCY-Konzentrationen < 10 µmol/l gelten als wünschenswert, und erhöhte Spiegel sollten auf 9 bis 10 µmol/l gesenkt werden [76]. HCY-Werte < 12 µmol/l werden als optimal angesehen, Konzentrationen > 12 bis 30 µmol/l werden als moderate Hyperhomocysteinämie bezeichnet [60, 77]. Bei Probanden mit grenzwertigen Homocysteinspiegeln werden sehr häufig pathologische Methioninbelastungstests beobachtet.

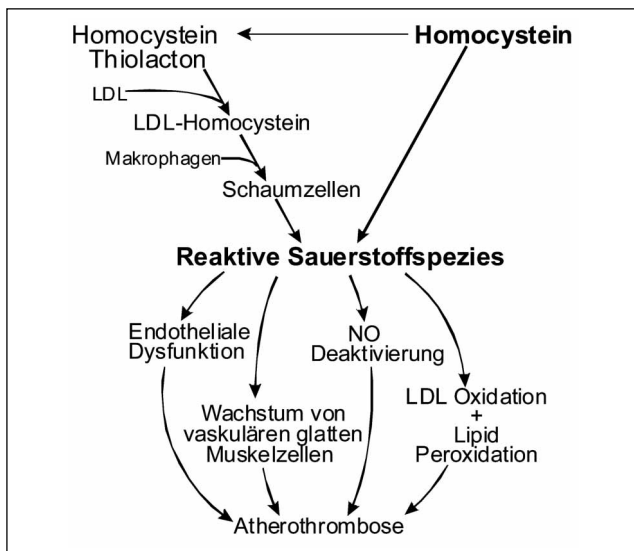


Abbildung 5: Atherothrombotischer Effekt von Hyperhomocysteinämie bezogen auf oxidative Schäden an vaskulären Endothelzellen und erhöhtes Wachstum von vaskulären glatten Muskelzellen (modifiziert nach [60])

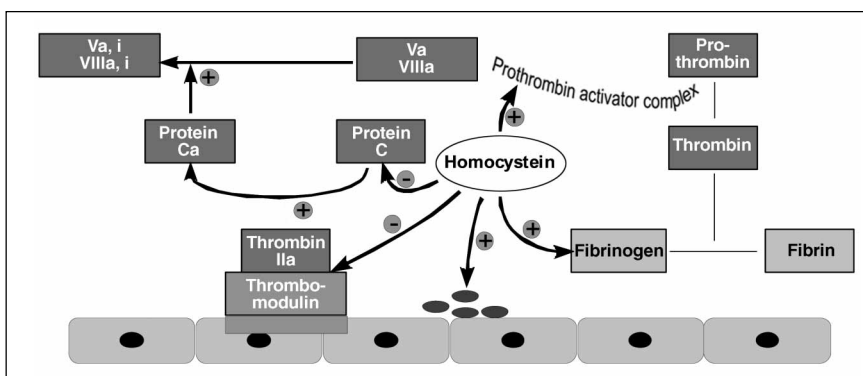


Abbildung 6: Einfluß von Homocystein auf die Gerinnungskaskade

HCY und andere Metabolite

HCY ist im allgemeinen bei Folat-, Vitamin B12- oder Vitamin B6-Mangel erhöht. Welcher dieser Mängel vorliegt, kann an der HCY-Erhöhung nicht erkannt werden. Des weiteren erlaubt die Bestimmung der Vitamin B12-Konzentrationen keine zuverlässige Aussage über den funktionellen intrazellulären Zustand [51, 52]. Die Metaboliten MMA und CYS liefern mehr Informationen darüber, welcher Mangel vorliegt. MMA ist dabei der spezifischere Parameter für einen Mangel an Vitamin B12 [17, 19, 51]. In Säugetierzellen gibt es nur zwei Vitamin B12-abhängige Enzyme, die Methioninsynthase [EC 2.1.1.13] und die L-Methylmalonyl-CoA-Mutase [EC 5.4.99.2]. Infolgedessen gilt das gemeinsame Auftreten von erhöhten HCY- und MMA-Konzentrationen als spezifischerer Nachweis für einen intrazellulären Vitamin B12-Mangel [52, 78, 79]. Darüber hinaus können HCY und MMA durch Niereninsuffizienz und Hypovolämie erhöht werden, wobei die Zunahme an MMA durch Niereninsuffizienz im Vergleich zum intrazellulären B12-Mangel meist moderat ist [19, 78, 80]. CYS ist ein Bestandteil des katabolen Reaktionswegs und ist erniedrigt beim Mangel an Vitamin B6, B12 oder Folat [81, 82]. Bei Patienten mit Vitamin B6-Mangel fand man signifikante Erhöhungen von HCY und CYS nach Anwendung eines Methionin-Load-Tests [83]. Außerdem wurden deutlich erhöhte CYS-Konzentrationen im Zusammenhang mit Nierenversagen beobachtet [84].

Literatur

- Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 217–46.
- Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998; 157 (Suppl 2): S40–S44.
- Chiang PK, Gordon RK, Tal J, Zeng GC, Doctor BP, Pardhasaradhi K, McCann PP. S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J* 1996; 10: 471–80.
- Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS (eds). *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. McGraw-Hill, New York, 1995; 1279–327.
- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111–28.
- Frost P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, Rozen R. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111–3.
- Harmon DL, Woodside JV, Yarnell JW, McMaster D, Young IS, McCrum EE, Gey KF, Whitehead AS, Evans A. The common 'thermolabile' variant of methylenetetrahydrofolate reductase is a major determinant of mild hyperhomocysteinemia. *QJM* 1996; 89: 571–7.
- Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 47–53.
- Finkelstein JD, Martin JJ. Methionine metabolism in mammals. Distribution of homocysteine between competing pathways. *J Biol Chem* 1984; 259: 9508–13.
- Cook RJ, Wagner C. Glycine N-methyltransferase is a folate binding protein of rat liver cytosol. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81: 3631–4.
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764–79.
- Christensen B, Refsum H, Vintermyr O, Ueland PM. Homocysteine export from cells cultured in the presence of physiological or superfluous levels of methionine: methionine loading of non-transformed, transformed, proliferating, and quiescent cells in culture. *J Cell Physiol* 1991; 146: 52–62.
- Yeu JY. The role of homocysteine in end stage renal disease. *Semin Dialysis* 1998; 11: 95–101.
- Guttormsen AB, Ueland PM, Svarstad E, Refsum H. Kinetic basis of hyperhomocysteinemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1997; 52: 495–502.
- Boers GH, Smals AG, Trijbels FJ, Fowler B, Bakkeren JA, Schoonderwaldt HC, Kleijer WJ, Kloppenborg PW. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Engl J Med* 1985; 313: 709–15.
- van den Berg A, Rietzler R, Naurath HJ. Vitamin-B-Mangel im Alter. *Munch Med Wochenschr* 1993; 135: 506–9.
- Joosten E, Berg van-den A, Rietzler R, Naurath HJ, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate, and vitamin B-6 occur commonly in elderly people. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 468–76.
- Soria C, Chadeaux B, Coude M, Gaillard O, Kamoun P. Concentrations of total homocysteine in plasma in chronic renal failure. *Clin Chem* 1990; 36: 2137–8.
- Stabler SP, Lindenbaum J, Allen RH. Vitamin B-12 deficiency in the elderly: current dilemmas. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 741–9.
- Allen RH, Lindenbaum J, Stabler SP. High prevalence of cobalamin deficiency in the elderly. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1995; 107: 37–45.
- Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattstrom L, Boers G, Ueland P, Rubba P, Palma-Reis R, Meleady R, Daly L, Wittenman J, Graham I. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European COMAC Group. *Circulation* 1998; 97: 437–43.
- Martinez M, Cuskelly GJ, Williamson J, Toth JP, Gregory JF III. Vitamin B-6 deficiency in rats reduces hepatic serine hydroxymethyltransferase and cystathionine beta-synthase activities and rates of in vivo protein turnover, homocysteine remethylation and transsulfuration. *J Nutr* 2000; 130: 1115–23.
- Rozen R. Molecular genetic aspects of hyperhomocysteinemia and its relation to folic acid. *Clin Invest Med* 1996; 19: 171–8.
- Herrmann W. The importance of hyperhomocysteinemia as a risk factor for diseases: an overview. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 666–74.
- Finkelstein JD, Martin JJ. Homocysteine. *Int J Biochem Cell Biol* 2000; 32: 385–9.
- Bottiglieri T, Laundry M, Crellin R, Toone BK, Carney MW, Reynolds EH. Homocysteine, folate, methylation, and monoamine metabolism in depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 69: 228–32.
- Fekkes D, van der Cammen TJ, van Loon CP, Verschuur C, van Harskamp F, de Koning I, Schudel WJ, Peppinkhuizen L. Abnormal amino acid metabolism in patients with early stage Alzheimer dementia. *J Neural Transm* 1998; 105: 287–94.
- Bottiglieri T, Hyland K. S-adenosylmethionine levels in psychiatric and neurological disorders: a review. *Acta Neurol Scand Suppl* 1994; 154: 19–26.
- Weir DG, Scott JM. Brain function in the elderly: role of vitamin B12 and folate. *Br Med Bull* 1999; 55: 669–82.
- Morrison LD, Smith DD, Kish SJ. Brain S-adenosylmethionine levels are severely decreased in Alzheimer's disease. *J Neurochem* 1996; 67: 1328–31.
- Bolander-Gouaille C. Focus on Homocysteine. Springer-Verlag France, 2000; 24–9.
- Duell PB, Malinow MR. Homocysteine as a risk factor for coronary artery disease. In: Robinson K (ed). *Homocysteine and vascular disease*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000; 230: 173–202.
- Verhoef P. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease in women. In: Robinson K (ed). *Homocysteine and vascular disease*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000; 230: 217–38.
- Perry IJ. Homocysteine as a risk factor for cerebrovascular disease and stroke. In: Robinson K (ed). *Homocysteine and vascular disease*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000; 230: 151–72.
- Abou-Zamzam AM. Homocysteine as a risk factor for peripheral vascular disease. In: Robinson K (ed). *Homocysteine and vascular disease*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000; 230: 135–49.
- den Heijer M. Homocysteine and venous thrombosis. In: Robinson K (ed). *Homocysteine and vascular disease*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000; 230: 239–52.
- Bolander-Gouaille C. Focus on Homocysteine. Springer-Verlag France, 2000; 48.
- Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230–6.
- Malinow MR, Ducimetiere P, Luc G, Evans AE, Arveiler D, Cambien F, Upson BM. Plasma homocysteine levels and graded risk for myocardial infarction: findings in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1996; 126: 27–34.
- Peterson JC, Spence DJ. Vitamins and progression of atherosclerosis in hyperhomocysteinemia. *Lancet* 1998; 351: 263.
- Robinson K, Dennis VW. Homocysteine and renal disease. In: Robinson K (ed). *Homocysteine and vascular disease*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2000; 230: 253–70.
- Herrmann W, Schorr H, Geisel J, Riegel W. The importance of homocysteine, cystathionine and methyl malonic acid diagnosing impaired methionine metabolism in renal patients. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 739–46.
- Dierkes J, Domrose U, Ambrosch A, Schneede J, Guttormsen AB, Neumann KH, Luley C. Supplementation with vitamin B12 decreases homocysteine and methylmalonic acid but also serum folate in patients with end-stage renal disease. *Metabolism* 1999; 48: 631–5.
- Moelby L, Rasmussen K, Ring T, Nielsen G. Relationship between methylmalonic acid and cobalamin in uremia. *Kidney Int* 2000; 57: 265–73.
- Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Thomas CM, Eskes TK. Homocysteine and folate levels as risk factors for recurrent early pregnancy loss. *Obstet Gynecol* 2000; 95: 519–24.
- Nelen WL, Bulten J, Steegers EA, Blom HJ, Hanselaar AG, Eskes TK. Maternal homocysteine and chorionic vascularization in recurrent early pregnancy loss. *Hum Reprod* 2000; 15: 954–60.
- Powers RW, Evans RW, Majors AK, Ojima JJ, Ness RB, Crombleholme WR, Roberts JM. Plasma homocysteine concentration is increased in preeclampsia and is associated with evidence of endothelial activation. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 1605–11.
- Eskes TK. Neural tube defects, vitamins and homocysteine. *Eur J Pediatr* 1998; 157 (Suppl 2): S139–S141.
- Steegers-Theunissen RP, Boers GH, Trijbels FJ, Finkelstein JD, Blom HJ, Thomas CM, Borm GF, Wouters MG, Eskes TK. Maternal hyperhomocysteinemia: a risk factor for neural-tube defects? *Metabolism* 1994; 43: 1475–80.
- Herrmann W, Quast S, Ullrich M, Schultze H, Bodis M, Geisel J. Hyperhomocysteinemia in high-aged subjects: relation of B-vitamins, folic acid, renal function and the methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Atherosclerosis* 1999; 144: 91–101.
- Herrmann W, Schorr H, Bodis M, Knapp JP, Muller A, Stein G, Geisel J. Role of homocysteine, cystathionine and methylmalonic acid measurement for

- diagnosis of vitamin deficiency in high-aged subjects. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 1083–9.
52. Herrmann W, Schorr H, Purschwitz K, Rassoul F, Richter V. Total homocysteine, vitamin B(12), and total antioxidant status in vegetarians *Clin Chem* 2001; 47: 1094–101.
 53. Schneede J, Dagnelie PC, van Staveren WA, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM. Methylmalonic acid and homocysteine in plasma as indicators of functional cobalamin deficiency in infants on macrobiotic diets. *Pediatr Res* 1994; 36: 194–201.
 54. Malinow MR, Nieto FJ, Szklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocyst(e)line in asymptomatic adults. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation* 1993; 87: 1107–13.
 55. Harker LA, Harlan JM, Ross R. Effect of sulfapyrazone on homocysteine-induced endothelial injury and arteriosclerosis in baboons. *Circ Res* 1983; 53: 731–9.
 56. DiMinno G, Davi G, Margaglione M, Cirillo F, Grandone E, Ciabattini G, Catalano I, Strisciuglio P, Andria G, Patrono C, Mancini M. Abnormally high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. Evidence for platelet involvement and probucol-sensitive mechanism. *J Clin Invest* 1993; 92: 1400–6.
 57. McCully KS, Veziridis MP. Histopathological effects of homocysteine thiolactone on epithelial and stromal tissues. *Exp Mol Pathol* 1989; 51: 159–70.
 58. Olszewski AJ, McCully KS. Homocysteine metabolism and the oxidative modification of proteins and lipids. *Free Radic Biol Med* 1993; 14: 683–93.
 59. Jakubowski H. Metabolism of homocysteine thiolactone in human cell cultures. Possible mechanism for pathological consequences of elevated homocysteine levels. *J Biol Chem* 1997; 272: 1935–42.
 60. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042–50.
 61. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, Loscalzo J. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 91: 308–18.
 62. Ikeda U, Hojo Y, Mizuno O, Katsuki T, Shimada K. Effectiveness of heparin in preventing thrombin generation and thrombin activity in patients undergoing coronary intervention. *Am Heart J* 1999; 138: 1199–200.
 63. Sydow K, Boger RH. [Homocysteine, endothelial dysfunction and cardiovascular risk: pathomechanisms and therapeutic options]. *Z Kardiol* 2001; 90: 1–11.
 64. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Kooner JS. Acute hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Lancet* 1998; 351: 36–7.
 65. Pruefer D, Scalia R, Lefer AM. Homocysteine provokes leukocyte-endothelium interaction by down regulation of nitric oxide. *Gen Pharmacol* 1999; 33: 487–98.
 66. Mercie P, Seigneur M, Conri C, Boisseau MR. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in peripheral arterial disease. *Thromb Res* 1999; 93: 97–9.
 67. Poddar R, Sivasubramanian N, DiBello PM, Robinson K, Jacobsen DW. Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation* 2001; 103: 2717–23.
 68. Geisel J, Jödden V, Bodis M, Herrmann W. Is the stimulatory effect on IL-8 expression in endothelial mediated by homocysteine oxidation products? *Clin Chem Lab Med* 2001; submitted.
 69. Nishinaga M, Ozawa T, Shimada K. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. *J Clin Invest* 1993; 92: 1381–6.
 70. Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA, Rodgers GM. Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1327–33.
 71. Dardik R, Varon D, Tamarin I, Zivelin A, Salomon O, Shenkman B, Savion N. Homocysteine and oxidized low density lipoprotein enhanced platelet adhesion to endothelial cells under flow conditions: distinct mechanisms of thrombogenic modulation. *Thromb Haemost* 2000; 83: 338–44.
 72. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991; 88: 1906–14.
 73. Rodgers GM, Kane WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 1986; 77: 1909–16.
 74. van der Griend R, Haas FJ, Biesma DH, Duran M, Meuwissen OJ, Banga JD. Combination of low-dose folic acid and pyridoxine for treatment of hyperhomocysteinemia in patients with premature arterial disease and their relatives. *Atherosclerosis* 1999; 143: 177–83.
 75. Montalescot G. Homocysteine: the new player in the field of coronary risk. *Heart* 1996; 76: 101–2.
 76. Omenn GS, Beresford SA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease: B vitamins and homocysteine. *Circulation* 1998; 97: 421–4.
 77. Wentz PW. Homocyst(e)line: The bad amino acid. *ADVANCED/Lab* 1999; 8: 71–4.
 78. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994; 96: 239–46.
 79. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem* 2000; 46: 1277–83.
 80. Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1289–98.
 81. Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, Nadeau MR, Sutherland P, Chan J, Rozen R, Yoburn D, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH. Folate status is the major determinant of fasting total plasma homocysteine levels in maintenance dialysis patients. *Atherosclerosis* 1996; 123: 193–202.
 82. Miller JW, Ribaya-Mercado JD, Russell RM, Shepard DC, Morrow FD, Cochary EF, Sadowski JA, Gershoff SN, Selhub J. Effect of vitamin B-6 deficiency on fasting plasma homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 1154–60.
 83. Ubbink JB, van der Merwe A, Delport R, Allen RH, Stabler SP, Riezel R, Vermaak WJ. The effect of a subnormal vitamin B-6 status on homocysteine metabolism. *J Clin Invest* 1996; 98: 177–84.
 84. Asagi K, Oka T, Arao K, Suzuki I, Thakur MK, Izumi K, Natori Y. Purification, characterization and differentiation-dependent expression of a perchloric acid soluble protein from rat kidney. *Nephron* 1998; 79: 80–90.