

HYPERHOMOCYSTEINÉMIE A RIZIKO ISCHEMICKÝCH CÉVNÍCH MOZKOVÝCH PŘÍHOD

Ivanka Vlachová

Neurologická klinika FN a LF UP v Olomouci

Epidemiologické studie posledních let prokazují, že zvýšené koncentrace plazmatického homocysteinu představují nezávislý rizikový faktor ischemických mozkových příhod a kardiovaskulárních onemocnění. Homocystein nepříznivě ovlivňuje cévní endotel a koagulační faktory. Asociace zvýšené hladiny homocysteinu s konvenčními rizikovými faktory aterosklerózy významně zvyšuje kardiovaskulární morbiditu i mortalitu. Vitaminovou substitucí foláty, vitaminy B6 a B12 lze hladiny homocysteinu snížit. Problematika možné primární a sekundární prevence, přes jisté pozitivní poznatky, zůstává v této oblasti otevřená. Přesto lze konstatovat, že cílená depistáž zvýšené hladiny homocysteinu a její ovlivnění má své místo zejména u rizikové populace.

Klíčová slova: hyperhomocysteinémie, cévní mozkové příhody, rizikové faktory, primární a sekundární prevence.

HYPERHOMOCYSTEINAEMIA AND THE RISK OF ISCHEMIC CEREBRAL ATTACKS

During the past year epidemiological studies have linked elevated plasma homocysteine concentrations as independent risk factor stroke and cardiovascular disease. Homocysteine negatively influences vascular endothelium and coagulation factors. The association of increased homocysteine levels with conventional risk factors atherosclerosis increased cardiovascular morbidity and mortality. Vitamin substitution of folates, vitamin B6 and B12 decreased homocysteine blood levels. The issue of their possible lowering within primary and secondary prevention remains open. Still it can be concluded that specific homocysteine screening and influencing its levels is important, especially in high-risk population.

Key words: hyperhomocysteinemia, stroke, risk factors, primary and secondary prevention.

Úvod

Je známým faktem, že cévní mozkové příhody (CMP) figurují již řadu let u nás i ve světě na 3. místě v příčinách úmrtí. Ročně je iktem v naší republice postiženo kolem 40 000 osob, téměř třetina z nich umírá do jednoho roku, polovina z přeživších je těžce hendikepována. Přes různá preventivní opatření se v posledních letech incidence CMP mírně zvyšuje, což je dáno nárůstem počtu seniorů. Významně se však také posunuje výskyt CMP do mladších věkových skupin (1). V roce 1999 se CMP u nás staly druhou nejčastější příčinou úmrtí po nádorových onemocněních (2). Z uvedeného je zřejmé, že CMP představují onemocnění se závažnými socioekonomickými důsledky.

Ischemické CMP (iCMP), které tvoří 80 % všech iktů, představují patofyziologicky velmi heterogenní skupinu. Přesto převažující část ischemických iktů souvisí s aterosklerotickým postižením ať již magistralních či intrakraniálních mozkových tepen. Proto není divu, že je v souvislosti s iCMP předmětem zájmu již několik desetiletí studium rizikových faktorů aetogeneze. Jejich poznání a možnosti ovlivnění hrají významnou roli v primární i sekundární prevenci kardiovaskulárních i cerebrovaskulárních onemocnění. Od počátku 90. let minulého století je věnována významná pozornost vlivu zvýšené plazmatické či sérové koncentrace homocysteinu (Hcy) v souvislosti s rizikem vaskulárních onemocnění. Studie přispívající k ob-

jasnění vztahu hyperhomocysteinémie (hHcy) a kardiovaskulárních onemocnění byly v r. 1993 označeny za jednu z priorit výzkumu v oblasti epidemiologie těchto nemocí (3). Pozici nezávislého rizikového faktoru kardiovaskulárních onemocnění hHcy jednoznačně obsadila (4). Goldstein a spol. ve své práci zabývající se primární prevencí CMP stanovují relativní riziko nebo odds ratio (OR) na 1,2–3 (5). hHcy je také silným prediktorem kardiovaskulární morbidity a mortality u nemocných s ICHS, ICHDKK, žilní trombózou, diabetes mellitus, systémovým lupus erythematosus i chronickou renální insuficiencí. V krátkodobém horizontu predikuje manifestaci akutních klinických příhod jako akutní tepenný či žilní uzávěr (6).

Homocystein a jeho metabolismus

Podrobný popis metabolismu Hcy přesahuje rámec tohoto sdělení. Přehled základních údajů je užitečný pro pochopení problematiky hyperhomocysteinémie i praktických konsekvencí. Homocystein je neesenciální sirmá aminokyselina, která je meziproduktem metabolické přeměny metioninu (Met) na cystein (Cys). V biologických tekutinách je přítomen volný nebo vázaný na krevní bílkoviny. Metabolismus Hcy probíhá dvěma metabolickými drahami. V remetylační dráze je Hcy přeměněn na metionin. Tato reakce vyžaduje kyselinu listovou (folát) a vitamin B12. Zde se

metylová skupina přenesla na Hcy z metylen-tetrahydrofolátu účinkem metionin systázy, kterou má kobalamin jako prostetickou skupinu. Dostatek metylen-tetrahydrofolátu zajišťuje flavoproteinový enzymový systém 5, 10-metylen-tetrahydrofolát reduktáza (MTHFR). Právě deficit termolabilní frakce MTHFR 677C→T zpomaluje remetylaci Hcy. Genová mutace zodpovědná za deficitní syntézu bílkovinné molekuly MTHFR byla lokalizovaná na 1. chromozomu. K této reakci dochází především v játrech, ledvinách a mozku. V alternativní reakci remetylační dráhy jaterní betain-homocystein metyltransferáza (BHMT) metyluje Hcy na Met. K remetylaci dochází zejména při hladovění. Aktivita BHMT je omezena výlučně na jaterní tkáň.

Zbytek homocysteinu, který není remetylován se transsulfuruje. Transsulfurační dráha je závislá na přítomnosti aktivní formy vitamínu B6. V této reakci kondenzuje Hcy se serinem (Ser) na cystationin. Reakce je katalyzována cystation-β syntázou (CBS), jejíž aktivita je závislá právě na přítomnosti aktivní formy vitamínu B6 jako kofaktoru. Transsulfurační dráha je ireverzibilní. Předpokládá se, že intracelulární koncentrace S-adenosylmetioninu (SAM) udržuje a koordinuje navzájem propojenou regulaci remetylační-syntetické i degradační-transsulfurační dráhy (6, 7, 8).

Hyperhomocysteinémie je metabolický syndrom podmíněný spolupůsobením vlivů

genetických, exogenních i provázejících řadu chorobných stavů. Za fyziologické jsou považovány plazmatické koncentrace Hcy do 16,00 $\mu\text{mol/l}$ nalačno. Mírnou hHcy představují plazmatické koncentrace 16,00–30,00 $\mu\text{mol/l}$, u střední hHcy je plazmatická koncentrace mezi 31–100 $\mu\text{mol/l}$, o těžké hovoříme při hodnotách 100 $\mu\text{mol/l}$ (9). Nejvyšší hodnoty jsou typické pro klasickou homocystinurii (KHC). Mírná nebo střední hHcy je přítomna u heterozygotů KHC nebo přenašečů dědičných enzymových deficitů metabolismu vitaminů B12, B6 či kyseliny listové. Předpokládá se, že až 50 % hHcy může být podmíněno geneticky. Mezi genetickými faktory je nejčastější termolabilní mutace MTHFR (polymorfismus C677→T). Frekvence této mutace je v populaci poměrně vysoká. V poslední době je věnována značná pozornost i genetickým změnám CBS. Nutno podotknout, že v běžné populaci je prevalence heterozygotní formy hHcy odhadována na 0,01–0,02 a všech forem až na 0,20. U osob s rozvinutou aterosklerózou je její výskyt asi o 10–40 % vyšší (10).

K manifestaci hHcy dochází interakcí exogenních a endogenních příčin. Na zvýšené koncentraci Hcy se podílí řada genetických mutací esenciálních enzymů přeměny metioninu na homocystein, nutriční vlivy zejména s karencí zmíněných vitaminů nutných k metabolismu Hcy, ale také zvýšený přísun metioninu v podobě např. nadměrné konzumace převážně živočišných proteinů, zvýšená konzumace kávy a alkoholu. Hladiny Hcy stoupá se zvyšujícím se věkem, predisponovaným pohlavím je pohlaví mužské, stoupá u žen v menopauze, u kuřáků a uplatňují se i vlivy rasové. Zvýšenou hladinou Hcy je provázena také řada onemocnění. Zde má přední místo renální insuficience, dále některá nádorová onemocnění, systémový lupus erythematosus a další. Z neurologických onemocnění je z tohoto pohledu sledována i Alzheimerova choroba. Praktickou konsekvenci má jistě i znalost toho, že hladinu homocysteinu zvyšují antikonvulziva (karbamazepin, fenytoin), cytostatika, některá perorální kontraceptiva, diuretika aj. Jsou i stavy asociované se sníženou hladinou Hcy. Z geneticky podmíněných onemocnění je to Downův syndrom. Hladinu Hcy snižuje také hormonální substituční léčba u žen v menopauze, z léků DL-penicillamin, etionin (6).

Zvýšená koncentrace homocysteinu působí **vaskulární změny prostřednictvím celé řady mechanismů.** Jak prokazují experimentální modely, jde především o funkční a morfologické poškození endotelu s následnou nedostatečnou obnovou endoteliálních buněk. HHcy indukuje zvýšenou adhezivitu a agregabilitu trombocytů, proliferaci buněk hladkého

svalstva arteriální stěny, způsobuje poruchy koagulační kaskády a fibrinolýzy, mění expresní aktivitu klíčových prvků vaskulárních zánětlivých markerů aterosogeneze, má vliv na vulnerabilitu aterosklerotických plátů. Předpokládá se, že tyto účinky jsou zprostředkovány především jeho oxidací a následnou produkcí kyslíkových radikálů. Chemickou modifikací nízkodenzitních lipoproteinů prohlubuje dále oxidační stres a poruchy fibrinolýzy. Snižuje endotelium-dependentní vazodilataci. Zjednodušeně lze říci, že hHcy multifaktoriálně ovlivňuje cévní strukturu a koagulační systém (8).

Hyperhomocysteinémie a iCMP

První studie o patofyziologických účincích homocysteinu na endoteliální stěnu byly publikovány v r. 1969 (11). V r. 1985 potvrdili Boers a spol. výskyt **zvýšené hladiny homocysteinu a aterosklerózy mozkových tepen** (12). Pozitivní asociaci mezi zvýšenou hladinou homocysteinu a iCMP přinesly i další velké prospektivní studie (13, 14, 15). V roce 1998 studie NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey) potvrdila, že hHcy je nezávislým rizikovým faktorem pro cévní onemocnění mozku a zvyšuje relativní riziko postižení o 190 % (OR 2,9). I po úpravě rozdílů vyplývajících z pohlaví, věku, koincidence s dalšími rizikovými faktory apod. se významné relativní riziko (OR 2,3) podstatně nesnížilo (16). Těsnou souvislost hHcy a iCMP byla ověřena i metaanalýzou 21 studií provedených v letech 1966–1999 (17).

Při znalosti faktu, že hHcy je významně podmíněna geneticky, je jistě zajímavé, že ve vztahu k MTHFR 677C→T byly výsledky studií rozporuplnější (18, 19, 20). Závěry nedávno zveřejněné metaanalýzy studií týkajících se vztahu homocysteinu a polymorfismu MTHFR 677C→T k iCMP konstatují těsnou asociaci lehké a střední hyperhomocysteinémie s iCMP, ale z pohledu polymorfismu MTHFR 677→T a iCMP jde spíše o predispozici než jednoznačný vztah (21).

Jistá rozporuplnost výsledků studií byla přisuzována tomu, že při hodnocení vztahu nebyl respektován fakt, že ischemický iktus je heterogenní skupinou. Ve výzkumu nebyla věnována dostatečná pozornost jednotlivým subtypům iCMP i faktu, že metabolismus homocysteinu má dvě vitamino-dependentní cesty, takže deficit příslušných vitaminů, ať už geneticky či exogenně podmíněný, hraje významnou roli.

Spojitosť lehké až střední hHcy s aterosklerotickým poškozením velkých mozkových tepen (large-artery disease) byla doložena již v r. 1993 studií ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities), která zkoumala vztah plazmatického Hcy a intimo-mediální tloušťky

karotických arterií u asymptomatických dospělých jedinců (22). Obdobné výsledky přinesly i studie uvedené v následujících letech (23, 24). Pozitivní asociaci mezi poškozením malých mozkových tepen (small-artery disease) a hyperhomocysteinémií podporují výsledky studií nemocných vaskulární demencí (25, 26). Zde však patofyziologickým podkladem již nemusí být jen aterosklerotická mikroangiopatie, ale příčiny další, např. jako lipohyalinóza, vaskulitidy. Proto je pochopitelné, že vztah hHcy a cerebrální mikroangiopatie již není tak těsný.

První studie, která zkoumala vztah mezi homocysteinémií, MTHFR genotypy a hladinami vitaminů u etiologicky rozdílných subtypů iCMP byla studie Eikelbooma a spol., zveřejněná v r. 2000. Znovu byla potvrzena silná a se zvyšujícími se hodnotami Hcy stoupající asociace s poškozením velkých mozkových tepen. Podstatně méně vyjádřen byl tento vztah u poškození malých mozkových tepen. U kardioembolických a ostatních subtypů iktu nebyl vliv zvýšené hladiny Hcy prokázán. Přes jinak jasnou souvislost mezi TT genotypem MTHFR a hHcy ani tato studie neprokázala těsný vztah uvedené mutace s jakýmkoliv subtypem ischemického iktu. Nepotvrdila také signifikantní spojitost mezi sérovou hladinou vitaminů a predikcí iCMP. Závěry studie svědčí pro to, že nepříznivý vliv hyperhomocysteinémie je zprostředkovan především cestou proaterogenní (27).

Recentně zveřejněná studie tureckých autorů, která sledovala hodnoty plazmatického Hcy, sérových hladin folátu a vit. B12 v prvních 24 hodinách u nemocných s nonvalvulární fibrilací síní a kardioembolickým iktem, prokázala u části nemocných s echokardiograficky verifikovaným trombem v levé síni (LS) signifikantně vyšší hladiny Hcy proti nemocným bez průkazu trombu v oblasti LS. Tato studie hodnotí zvýšenou hladinu Hcy jako nezávislý RF zprostředkovaný protrombogenním účinkem Hcy ve spojitosti s krevní stázou. Vznik trombotické formace byl i v této studii nezávislý na hladině folátu či vit. B12 (28). Mírná a střední hHcy je také významným prediktorem ischemického iktu u nemocných s preexistujícím vaskulárním onemocněním (29). Jakkoliv je mírná a střední hHcy nezávislým RF pro iCMP, ve spojitosti s dalšími RF jako např. s diabetes mellitus, arteriální hypertenzí, ICHS se vliv významně potencuje (30). Přímý vztah mezi homocysteinémií a zánětlivými markery v procesu aterosogeneze dosud v klinickém sledování potvrzen nebyl (31, 32).

Zajímavou kapitolou jsou **změny plazmatického Hcy v závislosti na čase od akutní fáze iCMP.** Lindren a spol. v r. 1995 zjistili v akutní fázi iktu 20–30% pokles koncentrace Hcy a vzestup až v následujícím období. Plauzibilní vysvětlení stále ještě chybí. Není jasné,

proč v akutní fázi a časném poiktovém období hladina Hcy klesá a zvyšuje se v průběhu několika dnů až měsíců po akutní příhodě. Je možné, že pokles v akutní fázi je způsoben arteficiálně v důsledku stresem navozeného poklesu plazmatického albuminu nebo v rámci zvýšené poiktové eliminace tiolů včetně Hcy, zapříčiněné zvýšenou produkcí kyslíkových radikálů (33). Lindgrenovy výsledky byly potvrzeny dalšími studiemi (34, 35). Meiklejohn et al. dokonce vyvozují závěr, že tyto výsledky nepodporují hypotézu, že hHcy je prediktorem atherotrombotického iktu, ale že hHcy je zapříčiněna samotným procesem atherogeneze (34). Práce amerických autorů dokládá postupný vzestup hladiny Hcy od třetího do čtrnáctého dne od vzniku iktu (35). Další otevřenou otázkou zůstává, zda tento vzestup je rizikovým faktorem pro další vývoj nebo jen markerem poškození tkání a jejich obnovy (36). Existují ale také studie vykazující úzkou asociaci akutní fáze iktu a hHcy (37).

Je jisté, že celá problematika vlivu mírné a střední hHcy, jednak jako prediktora ischemického iktu či objasnění změn hladin Hcy v souvislosti s jednotlivými fázemi ischemického iktu, je stále otevřeným širokým polem výzkumu. Přes dosud ne zcela jednoznačné výsledky je **hyperhomocysteinémie považována za rizikový faktor sekundárních vaskulárních příhod** (jako recidivy iktu, ischemické choroby srdeční, venózní trombózy nebo periferních arteriálních onemocnění) u nemocných po iCMP (38). Rovněž recentně zveřejněné výsledky longitudinální studie dánských autorů, kteří sledovali 1 039 nemocných s CMP ukazují na to, že zvýšená hladina Hcy zjištěná v prvních 24 hodinách od vzniku iktu je nezávislým rizikovým faktorem recidivy iktu (39).

Hyperhomocysteinémie a možnosti prevence iCMP

Jak již bylo zmíněno, je metabolismus homocysteinu veden dvěma vitamin-dependentními cestami. Z uvedeného je zřejmé, že pravděpodobnost snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění, při suplementaci kyseliny listové, vitaminů B6 a B12 či dietním ovlivněním, je velmi vysoká a tento fakt bude platit i pro prevenci sekundární. Zmíněný předpoklad podporovaly i závěry řady epidemiologických studií (40–42). V minulém roce zveřejnila Bozano se spolupracovníky výsledky první velké prospektivní, primárně preventivní studie NHANES I Epidemiologic Follow-Up Study (NHEFS), která na populačním vzorku 9 764 mužů a žen prokázala signifikantně inverzní vztah diety s vysokým obsahem folátů a rizika iktů a kardiovaskulárních onemocnění. Podle výsledků této studie byla vyšší hladina folátů v dietním přísunu z pohledu primární prevence efektivnější (43).

V současné době se považuje za optimální denní příjem 400 µg kyseliny listové, 1,7 mg vitaminu B6 a 2,4 µg vitaminu B12. U pacientů s hHcy a vysokým rizikem aterosklerózy nebo v sekundární prevenci komplikací aterosklerózy se doporučují denní dávky kombinace 1 mg kyseliny listové, 0,5 mg vitaminu B12 a 25 mg Pyridoxinu. Tato kombinací léčba nebo její spojení s intramuskulární aplikací vitaminu B12 jedenkrát měsíčně byla spojována s poklesem koncentrace Hcy o 15–72 % (6).

Otázka doporučených dietních opatření, míry suplementace jednotlivých vitaminů a jejich vzájemné kombinace zůstává stále otevřená (44). Z tohoto pohledu jsou očekávány výsledky dosud probíhajících studií. Jde zejména o studie Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP), Women's Antioxidant Cardiovascular Disease Study (WACS) a Heart Outcomes Prevention Evaluation-The Ongoing Outcomes (HOPE-TOO). V těchto studiích je zkoumán účinek odlišných dávek folátů v kombinaci s vitaminy B6 a B12 (45).

Závěr

Aterosklerotický proces je důsledkem genetické výbavy jedince a dlouhodobého působení celé řady rizikových faktorů. Mezi metabolickými rizikovými faktory obsazuje hyperhomocysteinémie své místo. Jakkoliv představuje izolovaná hHcy pro svého nositele riziko menší, v kombinaci s dalšími klasickými faktory atherogeneze jako arteriální hypertenzí, dyslipidemií, diabetes melitus, renální insuficiencí, zvyšujícím se věkem apod. její význam výrazně stoupá a stává se silným prediktorem kardiovaskulární morbidity a mortality. Nezávisle na tom, že ještě nejsou přesně zodpovězeny zejména otázky „jak“ a „kolik“, jsou možnosti terapeutického či režimového ovlivnění poměrně jednoduché. Cílená depistáž hHcy by měla mít své místo zejména v rizikové populaci.

Práce byla zhotovena na podpory grantové agentury IGA MZ ČR projekt č. NF7492-3/2003

Literatura

1. Bauer J. Terapie a prevence cévních mozkových příhod. Neurol pro praxi 2001; 4: 166–167.
2. Zdravotnická ročenka České republiky 1999. ÚZIS ČR 2000; 212.
3. WHO. WHO Technical Report 1994; 841: 15–16.
4. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. N Engl J Med 1991; 324: 1449–1455.
5. Goldstein LB, Adams R, Becker K, et al. Primary prevention of stroke: A statement for healthcare professionals from the Stroke Council of the American Heart Association. Stroke 2001; 32: 280–299.
6. Žák A. Homocystein a kardiovaskulární onemocnění. Ateroskleróza 2000; 4: 239–305.
7. Hyánek J, Hoffmann R. Hyperhomocysteinémie a její diagnostický význam u cévních onemocnění. Prakt Flebol 1997; 2: 61–71.
8. Guillard LC, Favier A, Potier de Courcy G, Galan P, Hercberg S. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor or a simple marker of vascular disease? 1. Basic data. Patol Biol 2003; 51: 101–110.
9. Malinow MR. Homocysteine and arterial occlusive disease. J Intern Med 1994; 236: 603–609.
10. Selhub J. Homocysteine metabolism. Annu Rev Nutr 1999; 19: 217–246.
11. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: Application for the pathology of arteriosclerosis. Am J Pathol 1969; 53: 111–128.
12. Boers GHJ, Smals AGH, Trijbels FM, et al. Heterozygosity for homocysteinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. N Engl J Med 1985; 313: 709–715.
13. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, Kok FJ, Willet WC, Stamfer MJ. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and of ischemic stroke. Stroke 1994; 25: 1924–1930.
14. Alfthan G, Pekkanen J, Jauhainen J, et al. Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in prospective Finnish population based study. Atherosclerosis 1994; 106: 9–19.
15. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine and risk of stroke in middle-aged British men. Lancet 1995; 346: 1395–1398.
16. Giles WH, Groft JB, Greenlund KJ, et al. Total homocyst(e)ine concentration and the likelihood of non-fatal stroke: Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. Stroke 1998; 29: 2473–2477.
17. Moller J, Nielsen GM, Tvedegaard KC, Andersen NT, Jorgensen PE. A meta-analysis of cerebrovascular disease and hyperhomocysteinemia. Scand J Clin Lab Invest 2000; 60: 491–499.
18. Markus HS, Nadira A, Swaminathan R, Sankaralingam A, Molloy J, Powell J. A common polymorphism in the Methylene tetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. Stroke 1997; 28: 1739–1743.
19. Morita H, Kurihara H, Tsubaki S, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphism and ischemic stroke in Japanese. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998; 18: 1465–1469.
20. Spence JD, Malinow MR, Barnett PH, Marian AJ, Freeman D, Hegele RA. Plasma homocyst(e)ine concentration, but not MTHFR genotype, is associated with variation in carotid plaque area. Stroke 1999; 30: 969–973.
21. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, et al. Homocysteine, MTHFR 677C→T polymorphism, and risk of ischemic stroke. Results of a meta-analysis. Neurology 2002; 59: 529–536.
22. Malinow MR, Nieto J, Szklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocyst(e)ine in asymptomatic adults: the Atherosclerosis Risk in Communities study. Circulation 1993; 87: 1107–1113.
23. Selhub J, Jacques PF, Boston AG, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid stenosis. N Engl J Med 1995; 332: 286–291.
24. Aronow WS, Ahm C, Schoenfeld MR. Association between plasma homocysteine and extracranial carotid arterial disease in older persons. Am J Cardiol 1997; 149: 1432–1433.

25. McIlroy, Dynan KB, Lawson JT, Patterson CC, Passmore AP. Moderately elevated plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotype, and risk of stroke, vascular dementia, and Alzheimer disease in Northern Ireland. *Stroke* 2002; 33: 2351–2356.
26. Fassbender K, Muielke O, Bertsch T, Nafe B, Froschen S, Hennerici M. Homocysteine in cerebral makroangiopathy and mikroangiopathy. *Lancet* 1999; 1586–1587.
27. Eikleboom JW, Hankey GJ, Anand SS, Lofthouse E, Stamples N, Baker RL. Association between high homocyst(e)ine and ischemic stroke due to large- and small-artery disease but not other etiologic subtypes of ischemic stroke. *Stroke* 2000; 31: 1069–1075.
28. Ay H, Arsava EM, Tokgozoglu SL, Ozer N, Saribas O. Hyperhomocysteinemia is associated with the presence of left atrial thrombus in stroke patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Stroke* 2003; 34: 909–912.
29. Tanne D, Haim M, Goldbourt U, et al. Prospective study of serum homocysteine and risk of ischemic stroke among preexisting coronary heart disease. *Stroke* 2003; 34: 632–636.
30. Máchová L, Janout V, Vlachová I, Stránský Z, Ševčík J, Adam T. Prevalence hyperhomocysteinémie u osob s ischemickou cévní mozkovou příhodou, respektive tranzitorní ischemickou atakou-pilotní studie. *Čes a slov Neurol Neurochir* 2002; 2: 92–95.
31. Anderson JL, Muhlestein JB, Horne BD, et al. Plasma homocysteine predicts mortality independently on traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102: 1227–1232.
32. Auer JW, Berent R, Eber B, et al. Lack of association of increased C-reactive protein and total plasma homocysteine. *Circulation* 2001; 104: 164 e.
33. Lindgren A, Brattstrom L, Norving B, Hultberg B, Anderson A, Johansson BB. Plasma homocysteine in the acute and coalescent phases after stroke. *Stroke* 1995; 26: 795–800.
34. Meiklejohn DJ, Vickers MA, Dijkhuysen R, Greaves M. Plasma homocysteine concentration in the acute and coalescent periods of atherothrombotic Stroke. *Stroke* 2001; 32: 57–62.
35. Howard VJ, Sides EG, Newman GC, et al. Changes in plasma homocyst(e)ine in the acute phase after stroke. *Stroke* 2002; 33: 473–478.
36. Dudman NP. An alternative view of homocysteine. *Lancet* 1999; 354: 2072–2074.
37. Yoo JH, Chung CS, Kang SS. Relation of plasma homocyst(e)ine to cerebral infarction and cerebral atherosclerosis. *Stroke* 1998; 29: 2478–2483.
38. Del Ser T, Barba R, Herranz AS, et al. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor of secondary vascular events in stroke patients. *Cerebrovasc Dis* 2001; 12: 91–98.
39. Boysen G, Brander T, Christiansen H, Gideon R, Truelsen T. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke* 2003; 34: 1258–1261.
40. Giles WH, Kittner SJ, Anda RF, Croft JB, Casper ML. Serum folate and risk for ischemic stroke. First National Health and Nutrition Examination Survey epidemiologic follow-up study. *Stroke* 1995; 26: 1166–1170.
41. Rimm EB, Willett WC, Hu FB, et al. Folate and vitamin B6 from the diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women. *JAMA* 1998; 279: 359–364.
42. Loria CM, Ingram DC, Feldman JJ, Wright JD, Madams JH. Serum folate and cardiovascular disease mortality among US men and women. *Arch Intern Med* 2000; 160: 3258–3262.
43. Bozzano LA, He J, Ogden LG, et al. Dietary intake of folate and risk of stroke in US men and women. NHANES I Epidemiologic follow-up Study. *Stroke* 2002; 33: 1183–1189.
44. van Guldener C, Stehouwer CD. Homocysteine-lowering treatment: an overview. *Expert Opin Pharmacother* 2001; 2: 1449–1460.
45. Kasner SE. Folate and risk of stroke: Fortify first and ask Questions later? *Stroke* 2002; 33: 1188–1189.