

# Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica

## *Hyperhomocysteinemia in peripheral arterial disease*

Luciene de Souza Venâncio<sup>1</sup>, Roberto Carlos Burini<sup>2</sup>, Winston Bonetti Yoshida<sup>3</sup>

### Resumo

Estudos recentes indicam que um nível plasmático elevado de homocisteína é um fator de risco importante e prevalente para doença vascular aterosclerótica coronariana, cerebral e periférica. A homocisteína é um aminoácido sulfurado utilizado em diversas vias metabólicas. A hiper-homocisteinemia pode ser atribuída à ocorrência de defeitos genéticos de algumas enzimas do metabolismo da homocisteína ou a deficiências nutricionais das vitaminas B6, B12 e folato, ou pode, ainda, estar relacionada a outros fatores de risco para aterosclerose. Foram sugeridos alguns mecanismos biologicamente plausíveis de dano vascular causado pela hiper-homocisteinemia, em especial a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Em contrapartida, diversos estudos demonstram que a suplementação de ácido fólico resulta em redução eficiente da concentração de homocisteína no plasma. Nesta revisão, serão abordados o metabolismo da homocisteína e sua relação com a doença arterial periférica, e serão discutidas as causas, os mecanismos patogênicos e as perspectivas de tratamento da hiper-homocisteinemia.

**Palavras-chave:** homocisteína, aterosclerose, doenças vasculares.

### Abstract

Recent studies indicate that a high plasma homocysteine level is an important and prevalent risk factor for cardiovascular, cerebral and peripheral atherosclerotic diseases. Homocysteine is a sulphur-containing amino acid used in several metabolic pathways. Hyperhomocysteinemia can be attributed to the occurrence of genetic defects of some enzymes which are part of the metabolism of homocysteine, to nutritional deficiencies of vitamins B6, B12 and folate, or to others risk factors for atherosclerosis. Some likely biological mechanisms of vascular injury caused by the hyperhomocysteinemia have been suggested, particularly the oxidation of low density lipoprotein (LDL). On the other hand, some studies evidenced that nutritional supplementation with folate results in an efficient reduction in plasma homocysteine concentration. This review will approach the metabolism of homocysteine and its relationship with peripheral arterial disease, and will discuss the causes, pathogenic mechanisms and the possibilities for treatment of the hyperhomocysteinemia.

**Key words:** homocysteine, atherosclerosis, vascular diseases.

A aterosclerose é hoje a principal causa de morte em nosso país<sup>1</sup> e no mundo<sup>2</sup>. As lesões ateroscleróticas são responsáveis por 95% das coronariopatias, 85% das claudicações intermitentes dos membros inferiores e 75% dos acidentes vasculares cerebrais<sup>3</sup>. A doença

arterial periférica (DAP), que atinge a aorta, seus ramos e artérias dos membros, apresenta uma prevalência alta, afetando aproximadamente 29% de norte-americanos, e está associada a aumento da morbimortalidade por doenças cardiovasculares e cerebrovasculares<sup>4</sup>. Em nosso meio, não se conhecem dados epidemiológicos referentes à sua incidência, mas estima-se que não devam ser diferentes de outros países<sup>5</sup>. Acredita-se que sua prevalência na população em geral seja subestimada pelo fato do processo aterosclerótico permanecer subclínico e assintomático por longo tempo<sup>4</sup>.

Alguns fatores de risco para a doença aterosclerótica são atualmente bastante conhecidos, como idade, sexo, dislipidemia, hábito tabágico, hipertensão arterial, diabetes melito, obesidade e fatores genéticos ou história familiar de doença aterosclerótica<sup>6</sup>. Entretanto, esses

1. Nutricionista. Doutoranda, Curso de Bases Gerais da Cirurgia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Univ. Estadual Paulista, Botucatu, SP.

2. Professor titular, Departamento de Saúde Pública, Coordenador do Centro de Metabolismo em Exercício e Nutrição, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

3. Professor adjunto e livre-docente, Departamento de Cirurgia e Ortopedia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

Artigo submetido em 20.11.03, aceito em 19.02.04.

J Vasc Br 2004;3(1):31-7.

Copyright © 2004 by Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular.

fatores de risco muitas vezes não são encontrados em pacientes portadores de DAP. Por isso, as recentes pesquisas buscam detectar novos indicadores de risco que possam estar envolvidos na gênese da aterosclerose. Dentre esses novos fatores, a homocisteína tem sido tema de várias publicações na literatura internacional.

### Metabolismo da homocisteína

A homocisteína foi descoberta por Vincent Du Vigneaud em 1932, que publicou um trabalho pioneiro sobre a importância desse aminoácido na bioquímica e na nutrição. Estudos posteriores em crianças com homocistinúria mostraram associação entre a elevação da homocisteína sanguínea e fenômenos ateroscleróticos e tromboembólicos, como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral e morte precoce<sup>7</sup>. Recentemente, foi demonstrada associação entre elevação moderada da homocisteína no sangue e doença vascular prematura em adultos<sup>8</sup>. A homocisteína é um aminoácido sulfurado, que

apresenta um grupo sulfidril (SH) em sua estrutura. Este aminoácido não é um constituinte da dieta e não é formador de proteínas, mas é produzido exclusivamente como um produto intermediário do metabolismo intracelular da metionina alimentar<sup>9</sup>.

O metabolismo da homocisteína está situado entre duas vias metabólicas: a da remetilação e a da transulfuração (Figura 1). Na remetilação, a homocisteína adquire um grupo metil da N<sup>5</sup> metiltetrahydrofolato (N<sup>5</sup>MTHF) ou de betaína para formar a metionina. A formação da N<sup>5</sup>MTHF é dependente da enzima metilenotetrahydrofolato redutase (MTHFR). A reação com a N<sup>5</sup>MTHF ocorre em todos os tecidos e é dependente da vitamina B12. Na via de transulfuração, que ocorre principalmente no fígado e nos rins, a enzima cistationina b sintase (CBS) condensa a homocisteína com serina para formar a cistationina por meio de uma reação irreversível, dependente de piridoxal fosfato (vitamina B6), formando, ao final, a cisteína. Em condições metabólicas normais, há um rigoroso balanço entre a formação e a eliminação de homocisteína<sup>10</sup>.

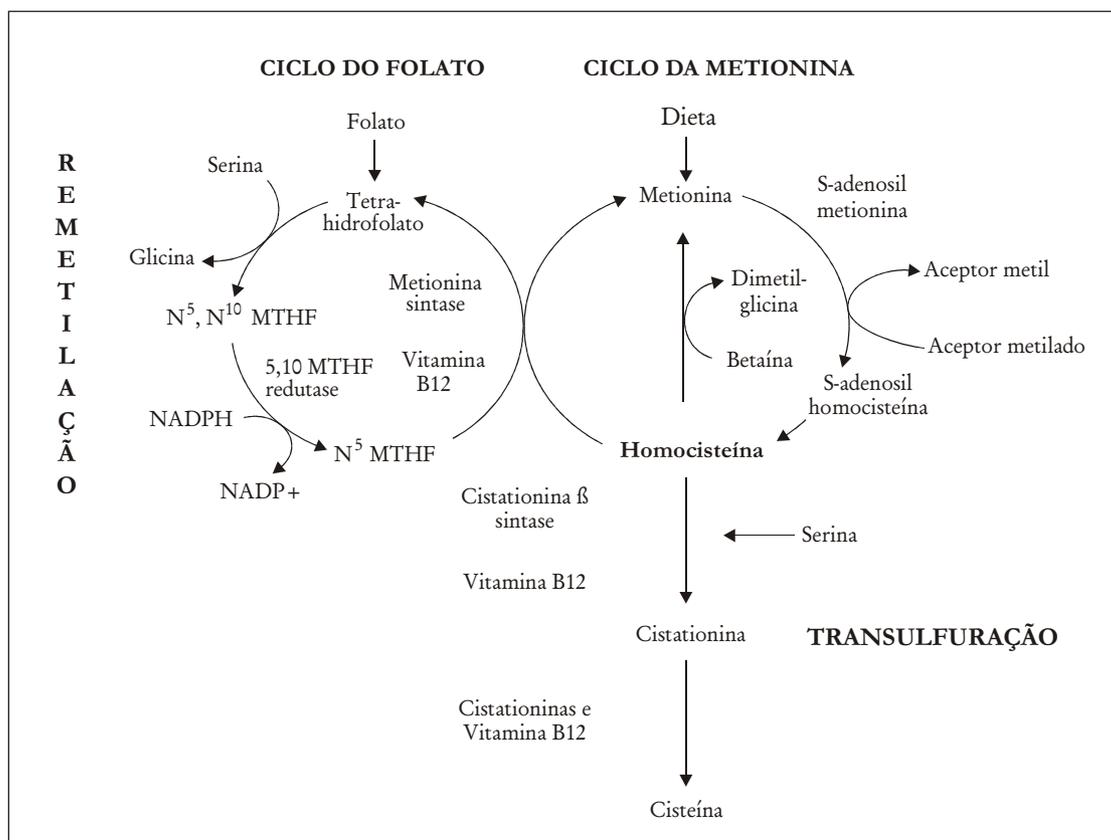


Figura 1 - Representação esquemática das vias metabólicas da homocisteína<sup>11</sup>.

Nos tecidos animais, a homocisteína pode estar presente na forma reduzida, ou seja, com um grupo sulfidril livre, embora em pequena quantidade. A maior parte ocorre no estado oxidado, sob a forma de homocistina (um dissulfeto da homocisteína), dissulfeto misto homocisteína-cisteína e homocisteína ligada a proteínas (principalmente albumina) por ligações dissulfeto. Todas essas espécies de homocisteína são chamadas conjuntamente de homocisteína total ou homocisteína plasmática<sup>9</sup>.

### Classificação da hiper-homocisteinemia

A concentração normal de homocisteína no plasma é de aproximadamente 10 µmol/l, com variação entre 5 a 15 µmol/l<sup>12</sup>; acima desses valores, caracteriza-se a hiper-homocisteinemia<sup>13</sup>. Kang et al.<sup>14</sup> classificaram arbitrariamente a hiper-homocisteinemia nas formas grave (para concentrações maiores que 100 µmol/l), intermediária (para concentrações entre 31 e 100 µmol/l) e moderada (para concentrações entre 15 e 30 µmol/l). A hiper-homocisteinemia grave é também chamada de homocisteinúria<sup>14</sup>.

### Hiper-homocisteinemia na DAP

Inúmeras pesquisas epidemiológicas têm demonstrado que a elevação das concentrações sangüíneas de homocisteína pode ser um fator de risco adicional para doença vascular coronariana<sup>15-17</sup>, cerebral<sup>18-19</sup> ou periférica<sup>13,14,20,21</sup>, bem como para a trombose venosa<sup>22</sup>. A hiper-homocisteinemia foi detectada em 28 a 30% dos pacientes com DAP<sup>23,24</sup>. Alguns autores publicaram trabalhos caso-controle em que os níveis médios de homocisteína em pacientes com diversas manifestações de DAP se mostraram significativamente superiores aos encontrados nos controles, como na claudicação intermitente<sup>25</sup>, nas lesões íleo-femorais<sup>13</sup>, na síndrome de Leriche<sup>26</sup>, na estenose de carótida<sup>27-30</sup> e no aneurisma de aorta abdominal<sup>21,31</sup>. Em nosso meio, a hiper-homocisteinemia foi encontrada em 60% dos pacientes com DAP confirmada, com predominância da forma moderada, com níveis significativamente aumentados nos indivíduos com idade superior a 60 anos e com tendência a ser maior nos homens<sup>32</sup>. Outros estudos nacionais também revelaram prevalência alta de hiper-homocisteinemia (20%) em indivíduos nipo-brasileiros portadores de arteriopatia periférica aterosclerótica, com valores médios de homocisteína

progressivamente mais elevados no sexo masculino e conforme a gravidade do estado glicêmico<sup>33,34</sup>. A importância da hiper-homocisteinemia como fator de risco adicional para a DAP é bastante conhecida, com um risco de 6,8<sup>35</sup> até 11<sup>36</sup> para o seu desenvolvimento. Além disso, a hiper-homocisteinemia está associada ao aumento do risco de morte precoce por doença cardiovascular<sup>37</sup> e progressão da DAP<sup>38,39</sup> e da doença arterial coronariana em pacientes com DAP sintomática<sup>38,40</sup>. A análise clínica da homocisteína sangüínea, como um marcador preditor de DAP, é considerada de grande importância, principalmente em indivíduos com aterosclerose prematura ou história familiar grave de aterosclerose com ausência de outros fatores de risco<sup>32,41</sup>.

### Mecanismos patogênicos da hiper-homocisteinemia

Apesar da grande quantidade de dados epidemiológicos a favor da relação entre hiper-homocisteinemia e aumento do risco para doenças vasculares (acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio, DAP e trombose venosa), os mecanismos pelos quais a hiper-homocisteinemia contribui para a aterogênese e trombogênese são apenas parcialmente compreendidos. Estudos mostram que a agressão ao endotélio é um dos mecanismos pelo qual a homocisteína leva à lesão vascular. Trabalhos pioneiros *in vivo* realizados por Harker et al. em 1974<sup>42</sup> e 1976<sup>43</sup>, com primatas não-humanos (babuínos), sugeriram que a lesão endotelial foi provocada por descamação endotelial, proliferação de células musculares lisas e espessamento da camada íntima vascular, mediada pela reduzida meia-vida plaquetária, com a rápida formação das lesões vasculares típicas pela infusão endovenosa de homocisteína, similares a lesões ateroscleróticas precoces em humanos. Estudos recentes realizados em humanos e em animais de laboratório sugeriram que a hiper-homocisteinemia moderada alteraria a produção do óxido nítrico no endotélio, um potente inibidor plaquetário e vasodilatador. A homocisteína teria o efeito de diminuir a biodisponibilidade do óxido nítrico de maneira dose-dependente, ao alterar sua síntese por inibição da óxido nítrico sintetase endotelial, o que provocaria eventos vasculares agudos, particularmente em indivíduos com outros fatores de risco<sup>44</sup>. Especula-se, também, que a hiper-homocisteinemia moderada exerceria um papel importante na disfunção endotelial através de mecanismos oxidativos. Estudos *in vitro* com culturas de células endoteliais mostraram que a auto-oxidação da homocisteína no

plasma produziria espécies derivadas de oxigênio, incluindo o superóxido e o peróxido de hidrogênio, os quais estariam associados a toxicidade vascular, proliferação de células musculares lisas e oxidação da fração LDL-colesterol, e, portanto, poderiam estar ligados à formação de células espumosas e estrias gordurosas, características de lesões ateroscleróticas<sup>45,46</sup>. Outros efeitos da homocisteína seriam alterações nas propriedades antitrombóticas do endotélio vascular. Estudos *in vitro* em células expostas à homocisteína demonstraram um aumento da atividade dos fatores de coagulação XII e V, redução da ativação da proteína C, inibição do ativador de plasminogênio tecidual, redução da biodisponibilidade do óxido nítrico e prostaciclina, inibição da agregação plaquetária, aumento da atividade do fator de von Willebrand, inibição da expressão da trombo-modulina, indução da expressão do fator tecidual e supressão da expressão do heparan sulfato na parede vascular<sup>47</sup>. Todas essas alterações gerariam um ambiente trombogênico vascular, com a ativação da cascata de coagulação e modificação do tônus vascular. A variabilidade de ações da homocisteína apontada por esses estudos demonstra que ainda não há uma hipótese explicativa para os efeitos aterotrombogênicos da homocisteína.

### Causas da hiper-homocisteinemia

As causas mais comuns de hiper-homocisteinemia na população em geral estão relacionadas a defeitos genéticos na codificação de enzimas ou à deficiência de vitaminas que estão envolvidas no metabolismo da homocisteína. A hiper-homocisteinemia genética é frequentemente resultado das deficiências heterozigóticas da CBS e MTHFR, as quais apresentam prevalências de 1 a 0,5% na população em geral, respectivamente<sup>48</sup>, e estaria associada à ocorrência de hiper-homocisteinemia moderada e intermediária<sup>49</sup>. A heterozigose para a enzima CBS foi verificada em 30% dos pacientes com DAP sintomática prematura estudados por Boers *et al.*<sup>23</sup>, sendo que 28% desses pacientes apresentavam aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína. A hiper-homocisteinemia grave é causada pela presença da homozigose para a deficiência da CBS, com incidência estimada em 1:335.000 nascimentos na população em geral. A deficiência homozigótica da enzima MTHFR (variante termolábil) está presente em mais de 5% da população em geral e em 14 a 17% dos pacientes com doenças vasculares<sup>49</sup>. A homozigose para a enzima MTHFR foi verificada em 16,7% dos pacientes com

DAP, os quais tinham níveis de homocisteína moderadamente aumentados<sup>50</sup>. No Brasil, foi verificado que apenas 4% de 296 indivíduos saudáveis eram homozigotos para a variante termolábil da enzima MTHFR, mas a correlação com os níveis plasmáticos de homocisteína não foi estudada<sup>51</sup>.

Dentre as causas não-genéticas de hiper-homocisteinemia, o estado nutricional parece ser o parâmetro mais importante na regulação da concentração da homocisteína. Merecem destaque as alterações nutricionais relacionadas a deficiências das vitaminas B12, B6 e folato, que são co-fatores no metabolismo da homocisteína<sup>52</sup>. Essas deficiências são altamente prevalentes e podem acometer muitos casos de hiper-homocisteinemia moderada. A concentração plasmática de homocisteína está inversamente relacionada aos níveis sanguíneos de folato, vitamina B6 e B12<sup>53</sup> e à ingestão dessas vitaminas<sup>35,37,54</sup>. Por ocasião do 2º exame do estudo epidemiológico de Framingham, cerca de 30% dos 1.160 idosos avaliados (67-96 anos) apresentavam aumento moderado de homocisteína (> 14 µmol/l), e dois terços ou 67% desses casos de hiper-homocisteinemia foram atribuídos a concentrações plasmáticas e hábitos dietéticos inadequados em relação a uma ou mais vitaminas do complexo B<sup>54</sup>. Portanto, a identificação de deficiências vitamínicas apresenta um importante papel na detecção de indivíduos suscetíveis a desenvolver hiper-homocisteinemia.

Algumas situações patológicas podem cursar com alto nível de homocisteína circulante, como redução da função renal, algumas doenças crônicas (como a psoríase grave), doenças hepáticas, alguns tipos de câncer e doença de Alzheimer<sup>55</sup>, uso de medicamentos que interagem com o metabolismo do folato, como os corticóides, ciclosporinas, anticonvulsivantes e diuréticos, ou com o da vitamina B12, como o óxido nítrico<sup>8</sup>. Alguns outros fatores têm sido relacionados com o aumento na concentração plasmática da homocisteína. Sabe-se que os níveis de homocisteína encontrados em homens e mulheres menopausadas são, em geral, mais elevados que nas mulheres não-menopausadas<sup>56,57</sup>, e ocorre aumento progressivo da homocisteína com a idade em ambos os sexos<sup>35,53,58,59</sup>. Outro aspecto a ser considerado quanto à elevação da concentração de homocisteína é a influência de fatores relacionados ao estilo de vida. O hábito tabágico, a inatividade física, o consumo excessivo e crônico de bebida alcoólica e café e a presença de fatores de risco conhecidos para doença vascular arterial, incluindo hipertensão arterial, nível

elevado de colesterol total e LDL-c, nível reduzido de HDL-c e obesidade, podem estar associados ao aumento da homocisteína em adultos<sup>58,60,61</sup>. No diabetes melito tipos 1 e 2, a associação com hiper-homocisteinemia ainda é controversa<sup>8</sup>.

### Perspectivas de tratamento

Embora a elevação do aminoácido homocisteína no sangue esteja associada a disfunção endotelial, trombose e maior gravidade da aterosclerose, ainda não há consenso sobre as possibilidades terapêuticas. Uma meta-análise realizada por Clarke et al.<sup>62</sup> indicou que, dentre as vitaminas estudadas (B6, B12 e ácido fólico), o ácido fólico promoveu uma redução de até 25% na homocisteína sanguínea quando suplementado de 50 a 500 mg diariamente. Outra meta-análise realizada por Boushey et al.<sup>35</sup> indicou que um aumento diário de 200 mg na ingestão de folato dietético levaria a uma redução de 4 µmol/l nas concentrações de homocisteína plasmática de jejum em pacientes portadores de doença cardiovascular, cerebrovascular e arterial periférica.

Recentemente, alguns estudos (em animais e humanos) têm sido realizados, especialmente na área de cardiologia, para analisar diferentes e importantes mecanismos e marcadores biológicos no processo da aterosclerose (quantificação da LDL oxidada, dilatação da artéria braquial, hiperplasia intimal e taxa de reestenose), utilizando a suplementação de vitaminas, especialmente de ácido fólico, no controle da homocisteína sanguínea e desses marcadores biológicos da aterosclerose<sup>47,63-71</sup>. Os resultados obtidos nesses estudos apontam para a redução da concentração de homocisteína circulante e para o controle de alguns marcadores biológicos da aterosclerose associada à hiper-homocisteinemia. Os autores também consideraram a suplementação vitamínica com ácido fólico benéfica, não-onerosa e passível de ser adotada como uma terapia adjuvante em pacientes com doença aterosclerótica sintomática ou não. Mediante os estudos supracitados, relacionados principalmente à doença arterial coronariana, torna-se relevante a realização de estudos clínicos controlados e prospectivos na DAP para examinar os efeitos precisos da terapia com suplementos vitamínicos sobre a redução da homocisteína sanguínea, bem como o risco, a incidência e a história natural da doença aterosclerótica na prevenção da progressão ou possibilitando a regressão das lesões ateroscleróticas periféricas<sup>3,72-75</sup>, especialmente em nosso meio, onde há con-

dições tão distintas de saúde, socioeconômicas, de hábitos alimentares e de estilo de vida.

Devido à facilidade e ao baixo custo do tratamento da hiper-homocisteinemia, torna-se importante a identificação da hiper-homocisteinemia como fator de risco adicional para DAP. Com base nas informações disponíveis atualmente, a conduta terapêutica tradicionalmente utilizada pode ser indicada em indivíduos hiper-homocisteinêmicos portadores ou não de doença vascular coronariana, cerebral ou periférica. Sugere-se ingestão suficiente das vitaminas B6, B12 e, especialmente, de folato, de acordo com as Recomendações de Cotas Alimentares (RDA)<sup>76</sup>, por meio de alimentos como cereais integrais, carne, feijão, vegetais de folhas verdes, frutas e legumes, ou então por meio de suplementos via oral<sup>77</sup>.

### Referências

1. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria Executiva. DATASUS. Mortalidade-Brasil. Brasília, 2000 [site na Internet]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/sim/obtmmap.htm> [acessado em 19 de fevereiro de 2004].
2. WHO. World Health Organization. The World Health Report 2000. Geneva, 1999. Disponível em: <http://www.who.int/whr2001/2001/archives/2000/en/index.htm> [acessado em 19 de fevereiro de 2002].
3. TASC-TransAtlantic Intersociety Consensus. Management of peripheral arterial disease (PAD). *Int Angiol* 2000;(19):5-34.
4. Hirsch AT, Criqui MH, Treat-Jacobson D, et al. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA* 2001;286:1317-24.
5. Lastória S, Maffei, FHA. Aterosclerose obliterante periférica: epidemiologia, fisiopatologia, quadro clínico e diagnóstico. In: Maffei FHA, Lastória S, Yoshida WB, Rollo HA, editores. *Doenças Vasculares Periféricas*. Rio de Janeiro: Medsi; 2002. p.1007-24.
6. SBC - Sociedade Brasileira de Cardiologia - Diretrizes de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose. *Arq Bras Cardiol* 2001;77 Supl 3:25-35.
7. McCully KS. Vascular pathology of homocisteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-28.
8. Malinow MR. Homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases. *J Intern Med* 1994;236:603-17.
9. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Brattström L, Ueland PM. Total homocysteine and cardiovascular disease. *J Intern Med* 1999;246:425-54.
10. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999;19:217-46.
11. Rassoul F, Richter V, Janke C, Purschwitz K, Klötzer B, Geisel J, Herrman W. Plasma homocysteine and lipoprotein profile in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Angiology* 2000;51:189-96.

12. 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.
13. Malinow MR, Kang SS, Taylor LM, et al. Prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1989;79:1180-8.
14. Kang SS, Wong PWK, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992;12:279-98.
15. Stampfer MJ, Malinow MR, Willet WC, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992;268:877-81.
16. Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, et al. Plasma homocyst(e)ine, folate, and vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1994;59:940-8.
17. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995;24:704-9.
18. Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, et al. Hyperhomocysteinaemia in stroke: prevalence, cause, and relationships to type of stroke risk factors. *Eur J Clin Invest* 1992;22:214-21.
19. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, Kok FJ, Willet WC, Stampfer MJ. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke* 1994;25:1924-30.
20. Fermo I, D'Angelo SV, Paroni R, Mazzola G, Calori G, D'Angelo A. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med* 1995;123:747-53.
21. Caldwell S, Martin SC, Hilton AC, Barlett WA, Jones AF, Mosquera DA. Hyperhomocysteinaemia is associated with abdominal aortic aneurysm. *Br J Surg* 1998;85:685-715.
22. Morelli VM, Lourenço DM, D'Almeida V, et al. Hyperhomocysteinemia increases the risk of venous thrombosis independent of the C677T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in select Brazilian patients. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002;13:271-5.
23. Boers GHJ, Smals AGH, Trijbels FJM, et al. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Engl J Med* 1985;313:709-15.
24. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-55.
25. Mølgaard J, Malinow MR, Lassvik C, Holm AC, Upson B, Olsson AG. Hyperhomocyst(e)inaemia: an independent risk factor for intermittent claudication. *J Intern Med* 1992;231:273-9.
26. Brattström L, Israelson B, Norrving B, et al. Impaired homocysteine metabolism in early-onset cerebral and peripheral occlusive arterial disease. *Atherosclerosis* 1990;81:51-60.
27. Malinow MR, Nieto FJ, 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;87:1107-13.
28. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995;332:286-91.
29. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, et al. Relationship between plasma homocysteine, vitamin status and extracranial carotid-artery stenosis in the Framingham study population. *J Nutr* 1996;126(4 Suppl):1258-65.
30. Tsai MY, Arnett DK, Eckfeldt JH, Willians RR, Ellison RC. Plasma homocysteine and its association with carotid intimal-medial wall thickness and prevalent coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000;151:519-24.
31. Brunelli T, Prisco D, Fedi S, et al. High prevalence of mild hyperhomocysteinemia in patients with abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 2000;32:531-6.
32. Venâncio LS. Indicadores nutricionais e níveis de homocisteína em pacientes com doença arterial periférica, 2002 [dissertação]. Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, 2002.
33. Garófolo L, Barros Jr N, Ferreira SRG, Sanudo A, Miranda Jr F. Hiperhomocisteinemia moderada na arteriopatia periférica aterosclerótica em diabéticos nipo-brasileiros de Bauru. *J Vasc Br* 2003;2 Supl 1:S82.
34. Miranda Jr F, Garófolo L, Barros Jr N, Ferreira SRG, Sanudo A. Influência do gênero na associação entre a hiperhomocisteinemia moderada e arteriopatia periférica em diabéticos nipo-brasileiros de Bauru. *J Vasc Br* 2003;2 Supl 1:82.
35. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995;274:1049-57.
36. Kuan YM, Dear AE, Grigg MJ. Homocysteine: an aetiological contributor to peripheral vascular arterial disease. *Anz J Surg* 2002;72:668-71.
37. Graham IM, Daly LE, Refsum H, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277: 1775-81.
38. Nicoloff AD, Taylor LM, Sexton GJ, et al. Relationship between site of initial symptoms and subsequent progression of disease in a prospective study of atherosclerosis progression in patients receiving long-term treatment for symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 2002;35:38-47.
39. Taylor LM, De Frang RD, Harris Jr EJ, Porter JM. The association of elevated plasma homocyst(e)ine with progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1991;13:128-36.
40. Taylor LM, Moneta GL, Sexton GJ, Schuff RA, Porter JM. Prospective blinded study of the relationship between plasma homocysteine and progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1999;29:8-21.
41. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis. A comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein (a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001;285:2481-5.
42. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocysteinemia, vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974;291:537-43.
43. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976;58: 731-41.
44. Ikeda U, Ikeda M, Minota S, Shimada K. Homocysteine increases nitric oxide synthesis in cytokine-stimulated vascular smooth muscle cells. *Circulation* 1999;99:1230-5.

45. Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996;98:5-7.
46. Piolot A, Blache D, Boulet L, et al. Effect of fish oil on LDL oxidation and plasma homocysteine concentrations in health. *J Lab Clin Med* 2003;141:41-9.
47. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042-9.
48. Kang SS. Treatment of hyperhomocyst(e)inemia: Physiological basis. *J Nutr* 1996;126(4 Suppl):1273-5.
49. Malinow MR. Homocyst(e)ine and arterial occlusive diseases. *J Intern Med* 1994;236:603-17.
50. Verhoeff BJ, Trip MD, Prins MH, Kastelein JJP, Reitsma PH. The effect of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation on levels of homocysteine, folate, vitamin B12 and on the risk of premature atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1998;141:161-6.
51. Arruda VR, Von Zuben PM, Chiaparini LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. The mutation ala 677@val in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997;77:818-21.
52. Kang SS, Zhou J, Wong PWK, Kowalysyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988;43:414-21.
53. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999;19:217-46.
54. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693-8.
55. Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989;114:473-501.
56. Boers GH, Smals AG, Trijbels FJ, Leemakers AI, Kloppenborg PW. Unique efficacy of methionine metabolism in premenopausal women may protect against vascular disease in reproductive years. *J Clin Invest* 1983;72:1971-6.
57. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, et al. Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women. *JAMA* 1999;281:1818-21.
58. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland homocysteine study. *JAMA* 1995;274:1526-33.
59. Fukagawa NK, Martin JM, Wurthmann A, Prue AH, Ebenstein D, O'rourke B. Sex-related differences in methionine metabolism and plasma homocysteine concentrations. *Am J Clin Nutr* 2000;72:22-9.
60. Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland homocysteine study. *Am J Clin Nutr* 1998;67:263-70.
61. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWF, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 2001;73:613-21.
62. Clarke R, Frost C, Leroy V, Collins R. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials. *BMJ* 1998;316:894-8.
63. Bellamy MF, McDowell IFW, Ramsey NM, Brownlee M, Newcombe RG, Lewis MJ. Oral folate enhances endothelial function in hyperhomocystaemic subjects. *Eur J Clin Invest* 1999;29:659-62.
64. Usui M, Matsuoka H, Miyzaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Endothelial dysfunction by acute hyperhomocyst(e)inaemia: restoration by folic acid. *Clinical Science* 1999;96:235-9.
65. Woo KS, Chook P, Lolin YI, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocysteinemia. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:2002-6.
66. 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;16:107-110.
67. Chambers JC, Ueland PM, Obeid OA, Wrigley J, Refsum H, Kooner JS. Improved vascular endothelial function after oral B vitamins-An effect mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine. *Circulation* 2000;120:2479-83.
68. Title LM, Cummings PM, Giddens K, Genest JJ, Nassar BA. Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:758-65.
69. Smith TP, Cruz CP, Brown AT, Eidt JF, Moursi MM. Folate supplementation inhibits intimal hyperplasia induced by a high-homocysteine diet in a rat carotid endarterectomy model. *J Vasc Surg* 2001;34:474-81.
70. Schnyder G, Roffi M, Pin R, et al. Decreased rate of coronary reestenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *N Engl J Med* 2001;345:1593-600.
71. Thambyrajah J, Landray MJ, Jones HJ, Mcglynn FJ, Wheeler DD, Townend JN. A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1858-63.
72. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
73. van der Griend R, Biesma DH, Banga JD. Hyperhomocysteinemia as a cardiovascular risk factor: an update. *Neth J Med* 2000;56:119-30.
74. Hiatt WR. Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N Engl J Med* 2001;344:1608-21.
75. Schmieder FA, Comerota AJ. Intermittent claudication: magnitude of the problem, patient evaluation, and therapeutic strategies. *Am J Cardiol*. 2001;87(12A):3D-13D.
76. RDA. National Research Council. Commission on life sciences, Food and Nutrition Board. Recommended Dietary Allowances. 11th ed. Washington, DC: National Academy Press; 2000.
77. Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases. A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart association. *Circulation* 1999;99:178-82.

**Correspondência:**

Luciene de Souza Venâncio  
Rua Chico Padre, 44/31  
CEP 18611-310 - Botucatu - SP  
Tel.: (14) 3882.6570  
E-mail: lucienenutri@hotmail.com