

DOENÇA VASCULAR E HIPER-HOMOCISTEINEMIA COMO FATOR DE RISCO PARA INSTABILIZAÇÃO DA PLACA ATEROSCLERÓTICA

JOSÉ ROCHA FARIA NETO, ANTONIO CARLOS PALANDRI CHAGAS, PROTÁSIO LEMOS DA LUZ

Unidade Clínica de Aterosclerose — Instituto do Coração (InCor) — HC-FMUSP

Endereço para correspondência: Av. Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 44 — bloco II — 2º andar — sala 2 —
CEP 05403-900 — São Paulo — SP

A elevação dos níveis plasmáticos de homocisteína, um aminoácido sulfidrílico, tem sido correlacionada, em diversos estudos, à doença cardiovascular. O polimorfismo de enzimas que participam de seu metabolismo e a deficiência de ácido fólico e da vitamina B₁₂ são os principais fatores determinantes de hiper-homocisteinemia. Da mesma maneira, o sexo masculino, o envelhecimento e a diminuição da função renal também estão relacionados à elevação da homocisteína. Estudos caso-controle e estudos prospectivos demonstram que a hiper-homocisteinemia é fator de risco independente não só para doença arterial coronária mas também para vasculopatia periférica e doença cerebrovascular. Mais recentemente, demonstrou-se haver relação gradual entre o nível plasmático de homocisteína e a gravidade da doença coronária avaliada por cinecoronariografia. Além disso, em pacientes com doença coronária estabelecida, a hiper-homocisteinemia é também determinante de maior mortalidade. Apesar de não completamente elucidado, a lesão endotelial parece ser o mecanismo principal pelo qual a homocisteína age como fator aterogênico e de instabilização da placa aterosclerótica. Da mesma maneira, a interação com plaquetas e fatores de coagulação predispõe à ocorrência de eventos trombóticos em pacientes com hiper-homocisteinemia. A reposição de vitamina B₁₂ e ácido fólico é uma maneira eficaz e segura para a redução dos níveis plasmáticos de homocisteína. Entretanto, ainda não dispomos de estudos que demonstrem redução do risco cardiovascular com a correção da hiper-homocisteinemia.

Palavras-chave: homocisteína, hiper-homocisteinemia, fatores de risco, coronariopatia.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2002;4:623-32)

RSCESP (72594)-1252

INTRODUÇÃO

A aterosclerose é hoje a maior causa de morte nos países ocidentais. Aproximadamente 45% dessa população morrerá vítima de suas consequências. Alguns dos fatores de risco para a doença aterosclerótica coronária são amplamente conhecidos e estudados, como hipercolesterolemia, hipertensão arterial, tabagismo e diabetes melito. Nos últimos anos, a pesquisa sobre a aterosclerose concentrou-se nas alte-

rações do perfil lipídico, pois grandes estudos demonstraram clara correlação entre dislipidemias e doença aterosclerótica coronária^(1, 2). O tratamento das dislipidemias é de suma importância tanto na prevenção primária^(3, 4) como na prevenção secundária^(5, 6) de eventos isquêmicos agudos. Entretanto, muitos pacientes com doença cardiovascular não apresentam os fatores de risco tradicionais. Da Luz e Favarato⁽⁷⁾ estimam que representem 30% a 35% dos pacientes com doença aterosclerótica coronária.

Logo, é contínua a procura por novos fatores que possam estar envolvidos na gênese da aterosclerose coronária.

Dentre esses novos fatores, a homocisteína, um aminoácido sulfidrílico formado no metabolismo da metionina, tem sido tema de várias publicações na literatura internacional. Elevação leve a moderada da homocisteína tem sido relacionada com doença cardiovascular em estudos retrospectivos (caso-controle) e também em estudos prospectivos.

As observações iniciais correlacionando a homocisteína com a aterosclerose datam de 1969, quando McCully⁽⁸⁾ demonstrou aterosclerose precoce em crianças com homocistinúria⁽⁹⁾. A homocistinúria é um distúrbio inato do metabolismo da homocisteína, causado pela homozigose para a deficiência da enzima cistationina-β-sintase, resultando no acúmulo de homocisteína nos tecidos e no plasma, e sua excreção em grande quantidade na urina. Caracteriza-se, clinicamente, por deslocamento de lentes oculares, retardo mental, desordens esqueléticas e importante agressão vascular, com trombose arterial e venosa em idade precoce.

A ocorrência de síndromes clínicas semelhantes, com o mesmo grau de comprometimento vascular e causadas por deficiência de diferentes enzimas envolvidas no metabolismo da metionina, mas todas resultando no acúmulo anormal de homocisteína, levou à forte suspeita de que essa era a substância responsável pela agressão vascular. Posteriormente, a infusão de homocisteína em animais de laboratório confirmou a rápida formação de lesões vasculares típicas⁽⁹⁾. A confirmação da homocisteína como fator de risco para doença arterial veio por meio dos estudos clínicos, mostrando-se associação com doença vascular periférica⁽¹⁰⁾, acidente vascular cerebral⁽¹¹⁾ e coronariopatia⁽¹²⁾.

METABOLISMO DA HOMOCISTEÍNA

A homocisteína é formada a partir da desmetilação da metionina, um aminoácido presente na ingesta protéica diária. Duas vias metabólicas distintas são responsáveis pelos níveis plasmáticos da homocisteína: o ciclo de remetilação e a via de transulfuração. A remetilação requer a presença da enzima 5-metiltetraidrofolato-homocisteína metiltransferase. A vitamina B₁₂ e o metiltetraidrofolato servem como co-fator e co-substrato para essa enzima. A formação de

metiltetraidrofolato é dependente da enzima metilenotetraidrofolato redutase (MTHFR). Uma segunda reação para a remetilação da homocisteína, de menor importância metabólica, é catalisada pela enzima betaína-homocisteína-metiltransferase, também dependente da vitamina B₁₂. O ciclo da remetilação é favorecido quando há deficiência relativa da metionina.

Na via de transulfuração, a homocisteína é ligada à serina para formação de cistationina. Essa reação é dependente da enzima cistationina-β-sintase. A cistationina é então metabolizada em cisteína, que é transformada em água e sulfato (excretado pela urina). Quando há excesso de metionina há favorecimento da via de transulfuração por processo de "up regulation" da cistationina-β-sintase e "down regulation" do ciclo de remetilação. A concentração de homocisteína no sangue é reflexo de sua concentração intracelular e da integridade das várias vias de seu metabolismo. A Figura 1 apresenta, de maneira esquemática, o metabolismo da homocisteína.

CAUSAS DE HIPER-HOMOCISTEINEMIA

Genéticas

A hiper-homocisteinemia significativa observada em portadores de homocistinúria é usualmente resultado de deficiência homozigótica da enzima cistationina-β-sintase. Essa deficiência é estimada em 1 a cada 335 mil nascimentos. Deficiências de enzimas da via da remetilação também podem resultar em hiper-homocisteinemia. A enzima metilenotetraidrofolato redutase catalisa a conversão de 5,10-metilenotetraidrofolato a 5-metiltetraidrofolato. Deficiência homozigótica dessa enzima ocorre na população geral, numa taxa de 1/10 da deficiência de cistationina-β-sintase; os pacientes desenvolvem síndrome clínica, consistindo de disfunção neurológica, retardo psicomotor, epilepsia e neuropatia periférica. Autópsias de pacientes homozigóticos revelaram alta incidência (70%) de trombozes arteriais e venosas⁽¹³⁾. A deficiência heterozigótica resulta em cerca de 50% da atividade enzimática normal, o que aparentemente é adequado para a proteção contra deficiências neurológicas.

Kang e colaboradores⁽¹⁴⁾ descreveram uma variante termolábil da metilenotetraidrofolato redutase, que ocorre em pacientes neurologicamente normais. Essa enzima possui 50% da atividade normal da metilenotetraidrofolato redu-

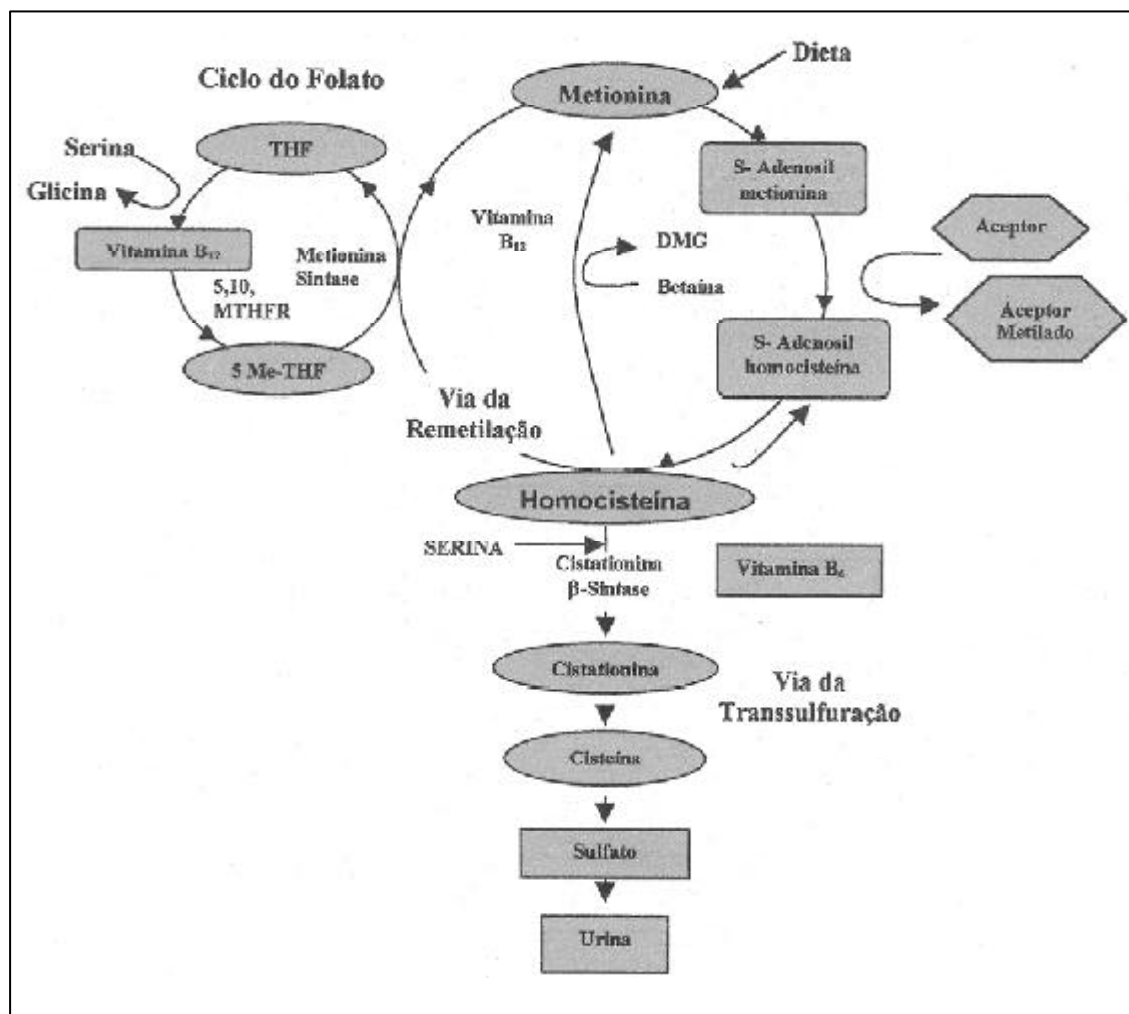


Figura 1. Vias metabólicas da homocisteína: a homocisteína é remetilada para formar novamente metionina pela via de remetilação; sua metabolização, com formação de sulfato e cisteína, é realizada pela via de transsulfuração.

THF = tetraidrofolato; Me-THF = metiltetraidrofolato; MTHFR = metilenotetraidrofolato redutase; DMG = dimetilglicina.

tase, e pode resultar em elevação moderada dos níveis sanguíneos de homocisteína⁽¹⁵⁾. Essa forma termolábil da enzima (MTHFR-T) resulta da transição 677 C → T no gene da metilenotetraidrofolato redutase (Ala 677 → Val) e compromete o local de ligação com o ácido fólico, que, uma vez não ativo, dificulta a metabolização da homocisteína. Homozigotos para MTHFR-T têm níveis de homocisteína 2,5 vezes superiores aos valores observados entre indivíduos normais ou heterozigotos.

A homozigose para MTHFR-T é comum na

população geral, sendo detectada entre 5% e 15% das populações caucasóides, japonesas e do Oriente Médio, mas menos freqüente (1% a 2%) entre populações africanas.

Em avaliação realizada no Instituto do Coração (InCor — HC-FMUSP), observamos que 10% de 236 pacientes genotipados apresentaram homozigose para essa variante termolábil⁽¹⁶⁾. Nesses homozigotos, a prevalência de hiper-homocisteinemia foi significativamente maior que nos pacientes heterozigotos e naqueles não portadores do alelo mutante.

Nutricionais

Os dados mais consistentes a respeito de causas nutricionais que levam à hiper-homocisteinemia são provenientes do estudo de Framingham⁽¹⁷⁾, em que foram avaliados níveis de homocisteína, vitamina B₁₂ e ácido fólico de 1.160 pacientes com idade superior a 67 anos. Houve forte relação inversa entre homocisteína e ácido fólico, e relação menos significativa com vitamina B₁₂. Os pacientes no decil mais baixo de ácido fólico apresentaram homocisteína de 15,6 µmol/l, enquanto aqueles no decil superior apresentaram 11 µmol/l. A causa dessa relação inversa entre homocisteína e ácido fólico torna-se clara ao analisarmos o metabolismo da homocisteína. Uma de suas vias metabólicas, como visto previamente, consiste na sua remetilação, que leva à formação de metionina. Essa via é dependente do chamado ciclo do folato, em que a 5-metilenetetraidrofolato age como doador do grupo metil para a homocisteína. Logo, a deficiência de folato causa diminuição da capacidade de remetilação da homocisteína, levando a sua elevação no plasma. Já a suplementação de ácido fólico é a medida mais efetiva para sua redução, pelo aumento da atividade dessa via metabólica.

Outros fatores

Alguns outros fatores têm sido relacionados com o aumento da concentração plasmática da homocisteína. Sabe-se que há elevação dos níveis de homocisteína com o progredir da idade, mas os fatores que determinam essa elevação não são conhecidos. Os níveis encontrados em homens são, em geral, mais elevados que nas mulheres. Talvez essa diferença esteja relacionada aos hormônios sexuais, já que esses níveis podem elevar-se após a menopausa. A homocisteinemia está também inversamente relacionada com a função renal, com níveis consistentemente elevados em pacientes em hemodiálise⁽¹⁸⁾. Algumas doenças crônicas podem cursar com hiper-homocisteinemia, como a psoríase (possivelmente por uma queda nos níveis de folato) e alguns tipos de câncer.

HIPER-HOMOCISTEINEMIA E DOENÇA VASCULAR: ESTUDOS CLÍNICOS

A prevalência de hiper-homocisteinemia em pacientes com doença vascular periférica foi demonstrada, entre outros, por Malinow e colabo-

radores⁽¹⁹⁾, em 1989, em estudo comparativo que envolveu 47 indivíduos com comprometimento vascular e 103 indivíduos sãos. Após correção para idade, colesterolemia, tabagismo e diabetes, demonstrou-se que a alta concentração plasmática de homocisteína foi fator de risco independente para a doença arterial periférica. Resultado semelhante foi apresentado Van Den Berg e colaboradores⁽²⁰⁾, em população com menos de 55 anos de idade. O comprometimento vascular pela hiper-homocisteinemia pôde também ser demonstrado em outros vasos. Em investigação realizada com 1.041 pacientes idosos, Selhub e colaboradores⁽²¹⁾ avaliaram, por meio de ultra-sonografia, a presença e o grau de estenose em porção extracranial de artéria carótida e, também, a concentração plasmática de homocisteína. O risco de estenose > 25% foi maior em indivíduos que apresentaram homocisteína acima de 11,4 µmol/l.

Em meta-análise recentemente publicada, Christen e colaboradores⁽²²⁾ revisaram 43 estudos que haviam avaliado a relação da homocisteína com doença aterosclerótica coronária. Em sua maioria, os estudos caso-controle demonstraram níveis mais elevados de homocisteína em pacientes com doença coronária que em pessoas sem doença. Anteriormente, em meta-análise publicada em 1995, Boushley e colaboradores⁽²³⁾ haviam avaliado 27 estudos. Os resultados demonstraram ser a homocisteína um fator de risco independente e gradativo para doença coronária. A razão de chances para doença coronária foi de 1,6 para homens e de 1,8 para mulheres, para cada elevação de 5 µmol/l de homocisteína. Essa elevação acarretaria aumento do risco para doença cardiovascular, semelhante ao aumento de 20 mg/dl nos níveis de colesterol total. Estimou-se, nessa meta-análise, que 10% do risco da população geral para desenvolvimento de doença aterosclerótica coronária pode ser atribuído à homocisteína.

Recentemente, demonstramos que, também em nosso meio, a elevação da homocisteína age como fator de risco independente para doença coronária⁽¹⁶⁾. O histograma com a distribuição dos níveis de homocisteína dos 236 pacientes envolvidos nesse estudo caso-controle (148 pacientes com doença aterosclerótica coronária e 88 no grupo controle) demonstra que níveis mais elevados ocorreram com maior frequência nos pacientes com coronariopatia (Fig. 2).

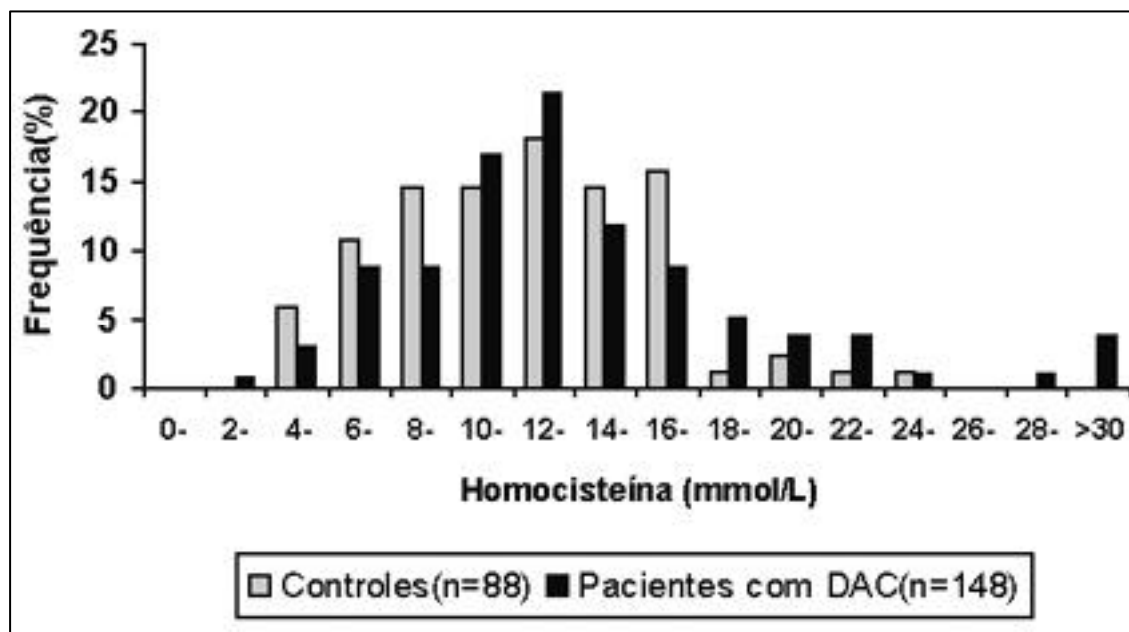


Figura 2. Histograma com a distribuição dos níveis de homocisteína de 236 pacientes submetidos a cinecoronariografia.

DAC = doença aterosclerótica coronária; controles = pacientes sem qualquer lesão $\geq 40\%$. (Dados apresentados no LVI Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia, Goiânia. ⁽²⁴⁾)

O primeiro grande estudo prospectivo publicado que demonstrou correlação entre homocisteína e doença coronária foi o "Physicians' Health Study". Nesse estudo, Stampfer e colaboradores⁽²⁵⁾ seguiram 14.916 médicos, previamente hígidos, por um período aproximado de cinco anos. Os 271 homens que desenvolveram infarto agudo do miocárdio foram comparados com 271 controles que não desenvolveram doença vascular. O risco relativo para infarto agudo do miocárdio dos pacientes com nível de homocisteína no 5º percentil mais elevado foi de 3,1 em relação aos pacientes com nível de homocisteína abaixo do 90º percentil. Outro grande estudo que demonstrou a relação entre hiper-homocisteinemia e doença coronária foi publicado em 1995, por Arnesen e colaboradores⁽²⁶⁾. Nesse estudo, foram seguidos 21.826 indivíduos com idade entre 12 e 61 anos, moradores na localidade de Tromsø, Noruega. Destes, 123 desenvolveram doença coronária. Para comparação dos níveis de homocisteína, foram selecionados quatro controles para cada caso. O nível médio de homocisteína nos casos foi significativamente mais elevado que nos controles ($12,7 \pm 4,7$ vs. $11,3 \pm 3,7$ $\mu\text{mol/L}$; $p = 0,002$). O

risco relativo para cada elevação de 4 $\mu\text{mol/L}$ de homocisteína foi de 1,41. Ajustado para outros fatores, esse risco foi de 1,32 (IC 95%: 1,05-1,65). Não houve identificação de um limite superior acima do qual houvesse grande elevação do risco.

Mais recentemente, alguns estudos demonstraram que o nível de homocisteína apresenta possível relação direta e proporcional com a gravidade da doença coronária, quando analisada por angiografia. Utilizando índice desenvolvido por Negri, Tsai e colaboradores⁽²⁷⁾ demonstraram essa relação, que foi mais clara naqueles pacientes que apresentavam perfil de baixo risco para doença aterosclerótica coronária. Avaliando apenas o número de vasos com doença, Chao e colaboradores⁽²⁸⁾ demonstraram que o nível de homocisteína foi gradativamente maior em pacientes com maior número de vasos comprometidos.

No estudo previamente citado, realizado no Instituto do Coração, correlacionamos o nível plasmático de homocisteína com os achados da cinecoronariografia, analisada pelo Escore Angiográfico de Friesinger. Esse escore, que varia de 0 a 15, avalia a extensão e a gravidade da doença coronária. Observamos que os pacien-

tes com doença mais avançada tendiam a apresentar níveis mais altos de homocisteína⁽²⁹⁾.

Além de agir como fator aterogênico e de progressão da doença aterosclerótica, a homocisteína parece, também, estar relacionada com a evolução dos pacientes com doença cardiovascular estabelecida. Em publicação de 1997, Nygard e colaboradores⁽³⁰⁾ investigaram, prospectivamente, a relação entre hiper-homocisteinemia e mortalidade em 587 pacientes com doença aterosclerótica coronária angiograficamente comprovada. Após seguimento médio de quatro anos, 64 pacientes (10,9%) haviam morrido; houve forte correlação entre os níveis de homocisteína encontrados e a mortalidade cardiovascular. Apenas 3,8% dos pacientes com homocisteinemia < 9 $\mu\text{mol/l}$ haviam morrido, comparando-se a 24,7% dos pacientes com níveis > 15 $\mu\text{mol/l}$. Concluiu-se que a hiper-homocisteinemia é forte preditor de mortalidade em pacientes com doença aterosclerótica coronária comprovada.

MECANISMOS DE ATEROGÊNESE E INSTABILIZAÇÃO DA PLACA

Agressão endotelial

O endotélio apresenta funções centrais no controle da coagulação, na interação de plaquetas e leucócitos com a parede arterial, e na regulação do tônus vascular. Vários estudos demonstram que a agressão ao endotélio é um dos mecanismos pelos quais a homocisteína leva à lesão vascular. A disfunção endotelial está presente em pacientes jovens com doença arterial periférica oclusiva e hiper-homocisteinemia⁽³¹⁾. A hiper-homocisteinemia parece atuar como fator de risco independente para disfunção endotelial arterial⁽³²⁾. Em modelos experimentais e em culturas de células, a homocisteína produziu efeito lesivo direto ao endotélio. Hiper-homocisteinemia experimental em primatas não-humanos induz desendotelização e espessamento da íntima⁽³³⁾. Células endoteliais de aorta bovina e umbilicais humanas expostas à homocisteína exibem liberação de creatinina de modo dose-dependente, captação de azul de tripano, descolamento celular e lise celular, todas manifestações de citotoxicidade^(34,35). Estudos mais detalhados dos mecanismos de citotoxicidade demonstraram que o processo é mediado por sulfidril, é criticamente dependente da disponibilidade de oxigênio, e é acelerado por metais. A

citoproteção pela catalase confirmou o mecanismo via radicais livres e implicou o peróxido de hidrogênio como a espécie injuriosa nesses modelos experimentais⁽³⁶⁾. Além disso, a homocisteína parece ser capaz de induzir o crescimento da placa ao estimular a proliferação celular. Em cultura de célula muscular lisa arterial, na presença de meio rico em homocisteína, Majors e colaboradores⁽³⁷⁾ demonstraram crescimento celular em maior densidade, bem como produção aumentada e acúmulo de colágeno em relação aos controles. As células tratadas com homocisteína apresentaram síntese de colágeno aumentada em até 214% dos valores dos controles. A adição de cobalamina às culturas tratadas promoveu o controle da proliferação celular e da produção de colágeno.

Em humanos, são os estudos de reatividade vascular, realizados com ultra-sonografia de artéria braquial, que evidenciam a relação entre homocisteína e lesão endotelial, demonstrada na alteração da vasodilatação endotélio-dependente. Entre outros, Woo e colaboradores⁽³⁸⁾ estudaram com ultra-som de alta resolução a dilatação dependente de endotélio em artéria braquial de 17 indivíduos com níveis elevados de homocisteína, sem outros fatores de risco para doença coronária. O uso de ácido fólico na dose de 10 mg/dia diminuiu significativamente os níveis de homocisteína e melhorou a vasodilatação fluxo-mediada, dependente do endotélio. Esses achados demonstram que a hiper-homocisteinemia leva à disfunção endotelial, sinal precoce do processo aterosclerótico, e que a correção da hiper-homocisteinemia com ácido fólico é capaz de reverter esse efeito.

Interação com plaquetas e fatores de coagulação

Os efeitos da homocisteína na função e na sobrevivência plaquetárias são controversos. Dois anos após a descrição da homocistinúria como entidade clínica, McDonald e colaboradores⁽³⁹⁾ demonstraram que crianças com homocistinúria apresentavam aumento da adesão plaquetária, que podia ser reproduzido pela adição de homocisteína ao sangue total normal. Entretanto, não observaram efeito na agregação plaquetária.

A ativação de fatores de coagulação V e XII, induzida pela homocisteína⁽⁴⁰⁾, pode contribuir para a predisposição trombótica da homocistinúria. A ativação do fator V é também indiretamente mediada e atribuída à indução, pela ho-

homocisteína, de uma protease ativadora do fator V. Mais ainda, o mecanismo da proteína C para a inativação dos fatores V e VIII é impedido em células endoteliais tratadas com homocisteína. Isso é atribuído à possível ação da homocisteína como um inibidor competitivo da ligação da trombina com a trombomodulina. Dados mais recentes sugerem que a homocisteína reduz diretamente a expressão de trombomodulina em células endoteliais, com conseqüente inibição da atividade da proteína C⁽⁴¹⁾. Entretanto, as atividades dos fatores de coagulação não estão evidentemente aumentadas em pacientes com homocistinúria.

HOMOCISTEÍNA E REDUÇÃO DO RISCO CARDIOVASCULAR

Apesar das fortes evidências que relacionam a homocisteína com doença cardiovascular, não sabemos se sua redução acarreta diminuição do risco cardiovascular. Sabe-se que o uso de

vitamina B e ácido fólico é altamente efetivo em retardar as complicações vasculares de pacientes com homocistinúria, que apresentam níveis muito elevados de homocisteína.

O efeito do ácido fólico na redução dos níveis de homocisteína de pacientes com hiper-homocisteinemia leve a moderada também está bem documentado. Vários estudos prospectivos estão em andamento para avaliar o efeito da reposição de folato, ocasionalmente associado à vitamina B₁₂, sobre eventos cardiovasculares. Até seus resultados finais, não há justificativa, ainda, para a dosagem rotineira de homocisteína. Entretanto, esta deverá ser considerada em algumas situações especiais. Pacientes com insuficiência coronária sem os tradicionais fatores de risco ou em idade precoce podem se beneficiar da dosagem para elucidação diagnóstica. Nessas situações, quando níveis elevados de homocisteína são encontrados, a terapia com ácido fólico e vitamina B₁₂, por ser inócua e de baixo custo, deverá ser considerada.

VASCULAR DISEASE AND HYPERHOMOCYSTEINEMIA AS A RISK FACTOR FOR ATHEROSCLEROTIC PLAQUE BECOMING UNSTABLE

JOSÉ ROCHA FARIA NETO, ANTONIO CARLOS PALANDRI CHAGAS, PROTÁSIO LEMOS DA LUZ

Increased plasma homocysteine levels have been related to cardiovascular disease in several recent studies. The polymorphism of some enzymes that participate of the homocysteine metabolism, and decreased levels of folate and vitamin B₁₂ are the most important factors to hyperhomocysteinemia. Male sex, advanced age and decreased renal function are also related to high homocysteine levels. Case-control and prospective studies have demonstrated that homocysteine is an independent risk factor not only for coronary artery disease but also for peripheral arterial disease and cerebrovascular disease. Recently, it has also been demonstrated that there must be a gradual and progressive relation between homocysteine level and the severity of coronary artery disease. Moreover, in patients with established disease, hyperhomocysteinemia is related with higher mortality. Despite it has not been completely understood, endothelial lesion seems to be the mechanism by which homocysteine stimulates atherosclerotic plaque growth and makes it unstable. At the same way, homocysteine can interact with platelets and clotting factors, making patients with hyperhomocysteine more prone to thrombotic events. The treatment with folate and vitamin B₁₂ is safe and efficient in reducing homocysteine levels. But there is still no published data confirming the hypothesis that cardiovascular risk could be decreased by reducing homocysteine levels.

Key words: homocysteine, hyperhomocysteinemia, risk factors, coronary disease.

(Rev Soc Cardiol Estado de São Paulo 2002;4:623-32)

RSCESP (72594)-1252

REFERÊNCIAS

1. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PWF, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: the Framingham study. *JAMA* 1986;256:2835-8.
2. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD, for The MRFIT Research Group. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screeners of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA* 1986;256:2823-8.
3. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, Macfarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. The West of Scotland Coronary Prevention Study. *N Engl J Med* 1995;333:1301-7.
4. Downs JR, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS (Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study). *JAMA* 1998;279:1615-22.
5. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4,444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994;344:1383-94.
6. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, et al. Cholesterol And Recurrent Events (CARE). *N Engl J Med* 1996;335:1001-9.

7. Da Luz PL, Favarato D. Chronic coronary artery disease. *Arq Bras Cardiol* 1999;72:15-21.
8. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-28.
9. Harker CA, Slichter SF, Scott CR, Ross R. Homocysteinemia: vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974;291:537-43.
10. Boers GH, Smals AGH, Trijbels FJM, Fowler B, Fowler B, Bakkeren JA, et al. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Engl J Med* 1985;313:709-15.
11. Perry IJ, Refsum H, Morris RW. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995;346:1395-8.
12. Clarke R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-55.
13. Skovby F. Inborn errors of metabolism causing homocysteinemia and related vascular involvement. *Haemostasis* 1989;19(suppl 1):4-9.
14. 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.
15. Kang SS, Wong PWK, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991;48:536-45.
16. Faria Neto JR. A hiper-homocisteinemia é fator de risco independente para doença arterial coronária em uma população brasileira: um estudo caso-controle. São Paulo, 2001 [Tese de Doutorado] Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
17. Selhub J, Jacques PF, Wilson PDF, et al. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693-8.
18. Kang SS, Wong PWK, Bidani A, et al. Plasma protein bound homocyst(e)ine in patients requiring chronic haemodialysis. *Clin Sci* 1983;65:335-6.
19. Malinow MR, Kang SS, Taylor LM, et al. Prevalence of hyperhomocysteinemia in patients with peripheral arterial disease. *Circulation* 1989;79:1180-8.
20. Van Den Berg M, Stehouwer CDA, Bierdhaager E, Rauwerda JA. Plasma homocysteine and severity of atherosclerosis in young patients with lower-limb atherosclerotic disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:165-71.
21. 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.
22. Christen WG, Ajani UA, Glynn RJ, et al. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Intern Med* 2000;160:422-34.
23. Boushley CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.
24. Faria Neto JR, Chagas ACP, Bydlowski SP, Chamone DAF, da Luz PL. O aumento dos níveis séricos de homocisteína é preditor de doença coronária avançada. *Arq Bras Cardiol* 2001;77(supl I):41.
25. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992;268:877-81.
26. Arnesen E, Refsum H, Bonaa KH. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995;24:704-9.
27. Tsai WC, Li YH, Tsai LM, et al. Correlation of homocysteine levels with the extent of coronary atherosclerosis in patients with low cardiovascular risk profiles. *Am J Cardiol* 2000;85:49-52.
28. Chao, C.L., Tsai, H.H., Lee, C.M. et al. The graded effect of hyperhomocysteinemia on the severity and extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999;147:379-86.
29. Faria Neto JR, Chagas ACP, Bydlowski SP, Chamone DAF, da Luz PL. Increased plasma homocysteine levels predicts advanced coronary artery disease in a Brazilian population. *Eur Heart J* 2001;22(supl):452 (abstract).
30. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;337:230-6.

31. Van Den Berg M, Boers GHJ, Franken DG, Blom HJ, Van Kamp GJ, Jakobs C, et al. Hyperhomocysteinaemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 1995;25:176-81.
32. Woo KS, Chook P, Lolin YI, Cheung ASP, Chan LT, Sun YY, et al. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 1997;96:2542-4.
33. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocysteinemia, vascular injury and arterial thrombosis. *N Engl J Med* 1974;291:537-43.
34. De Groot PG, Willems C, Godfried H. Endothelial cell dysfunction in homocystinuria. *Eur J Clin Invest* 1983;13:405-10.
35. Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE. Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. *Thromb Res* 1980;18:113-21.
36. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 1986;77:1370-6.
37. Majors A, Ehrhart LA, Pezacka EH. Homocysteine as a risk factor for vascular disease: enhanced collagen production and accumulation by smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2074-81.
38. Woo KS, Chook P, Lolin YI. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocysteinemia. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:2002-6.
39. McDonald L, Bray C, Field C, Love F, Davies B. Homocystinuria, thrombosis and blood-platelets. *Lancet* 1964;2:745-6.
40. Rodgers GM, Kane WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 1986;77:1909-16.
41. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic homocysteine. *J Clin Invest* 1991;88:1900-4.