

A HOMOCISTEINEMIA COMO FACTOR DE RISCO DE DOENÇA CEREBROVASCULAR PRECOCE*

R. PALMA REIS, JORGE AZINHEIRA, HELENA P. REIS, MANUEL PEREIRA, ARLINDO BAPTISTA, MANUELA CRESPO, JULIETA ESPERANÇA PINA, N. CORDEIRO FERREIRA, A. SALES LUIS

Serviço de Medicina. Serviço de Patologia Clínica do Hospital S. Francisco Xavier. Serviços de Neurologia dos Hospitais Distrital do Barreiro e de Santa Maria. Serviço de Medicina do Hospital de S. José. Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. Lisboa

RESUMO

Objectivo: Saber se a hiperhomocisteinemia representa um factor de risco (F.R.) de doença cerebrovascular precoce, numa população portuguesa. **Metodologia:** num grupo de doentes com idade inferior a 55 anos (n=33, 19 do sexo masculino), com acidente vascular cerebral por critérios clínicos e com enfarte cerebral confirmado por tomografia, sem causa provável de doença embólica, fez-se o doseamento da homocisteinemia (HC) basal e após sobrecarga de metionina (0,1g/Kg peso) entre 3 meses e 1 ano após a doença aguda. Emparelharam-se os casos com controlos são de um programa de rastreio, por sexo e idade. Excluíram-se doentes ou controlos que apresentassem história de alcoolismo e clínica ou valores laboratoriais sugestivos de doença renal ou hepática, ou tivessem tomado vitaminas do grupo B, por poderem interferir com os níveis de homocisteína. **Resultados:** Acidentes vasculares cerebrais; Controlos; Significância; Idade $46,0 \pm 7,7$; $45,9 \pm 7,8$; NS; HC. Basal $10,1 \pm 3,4$; $8,5 \pm 1,7$; $p < 0,05$; Após Sobr $28,0 \pm 7,6$; $22,7 \pm 5,5$; $p < 0,01$. **Conclusão:** - A hiperhomocisteinemia surge neste estudo claramente ligada à doença cerebrovascular trombótica antes dos 55 anos de idade; - O doseamento da HC após sobrecarga com metionina foi mais discriminativo que o doseamento da HC basal; - Será preciso uma amostra mais alargada para conhecer o peso relativo da HC no contexto dos restantes factores de risco vascular.

SUMMARY

Homocysteinemia as a risk factor of early cerebrovascular disease.

Purpose: To determine whether hyperhomocysteinemia represents a risk factor of early thrombotic cerebrovascular disease. **Method:** In a group of patients under 55 years of age (n=33, 19 males) which had suffered a stroke from 3 months to 1 year before the study, defined by clinical criteria and presence of cerebral infarction confirmed by tomography, without history or predisposition to embolic disease. The patients were matched with a group of normal controls of a check-up program, in terms of age, and sex. Patients and controls with a history of alcoholism, clinical or laboratory signs of renal or hepatic insufficiency or with a history of recent ingestion of Group B vitamins were excluded since these conditions would influence homocysteinemia levels. We measured the plasmatic basal homocysteinemia of patients and controls (HC) and 6 hours later a methionine overload of 0.1 g/Kg body weight (LOAD HC). **Results:** Patients; Controls; Signific.; Age $46,0 \pm 7,7$; $45,9 \pm 7,8$; NS; Basal HC. $10,1 \pm 3,4$; $8,5 \pm 1,7$; $p < 0,05$; Load HC $28,0 \pm 7,6$; $22,7 \pm 5,5$; $p < 0,01$ **Conclusion:** In this study hyperhomocysteinemia appears as a risk factor for thrombotic cerebrovascular disease before the age of 55; - The measurement of homocysteinemia after the methionine loading test was more discriminative than the basal measurement; - A larger number of patients and controls will be necessary to establish the relative importance of homocysteinemia among other vascular risk factors in cerebrovascular disease.

* Trabalho subsidiado pelo INIC e JNICT e no âmbito do COMAC Project on Homocysteinemia and vascular disease. Agradece-se à Park Davis a cedência gratuita da pentostatina.

INTRODUÇÃO

As doenças cerebrovasculares têm representado a principal causa de morte em Portugal. A mortalidade por acidente vascular cerebral é em Portugal a mais elevada dos países da Europa Ocidental. Nos países de Leste, em 1989, apenas a antiga União Soviética e Bulgária apresentavam taxas de mortalidade (padronizada pela idade) mais elevadas por doença cerebrovascular que a portuguesa¹. Admite-se que a mortalidade por doença cerebrovascular tenha vindo a diminuir ligeiramente nos últimos dez anos, mas a eventual existência de um erro de sobrevalorização na estimativa da população residente implicará que a aparente diminuição na mortalidade seja artificial².

A doença cerebrovascular apresenta factores de risco relativamente bem conhecidos: os factores de risco cardiovascular clássicos, com destaque para a hipertensão arterial, mais ligada aos acidentes vasculares cerebrais que à doença isquémica do miocárdio. A população portuguesa, com hábitos de ingestão salina muito marcados e com uma prevalência elevada de hipertensão arterial, terá neste factor de risco razões importantes para a elevada mortalidade por doença cerebrovascular.

Apesar da sua importância, os factores de risco clássicos não podem explicar todos os acidentes vasculares. Não é infrequente que estes acidentes, particularmente em indivíduos de idade pouco avançada, sejam acompanhados de um perfil de risco pouco pesado em termos dos factores de risco clássicos.

A homocistinúria, acompanhada de níveis plasmáticos muito elevados de homocisteína e do aparecimento de homocistina leva frequentemente à doença cerebrovascular trombótica nas crianças e jovens^{3,4}. Se a hiperhomocisteinemia não for muito marcada não se formará a homocistina e esta substância não aparecerá na urina⁵.

Desde a teoria da homocisteinemia de McKulley que se aceita que a elevação, mesmo ligeira ou moderada da homocisteína poderá, por si só, comportar um risco aumentado de doença vascular aterosclerótica, com destaque para a doença cerebrovascular⁶⁻⁸.

Múltiplos estudos controlados têm relacionado a doença cerebrovascular trombótica com a hiperhomocisteinemia⁹⁻¹³.

Várias razões justificam a necessidade de mais estudos na área da homocisteinemia e doença vascular cerebral, nomeadamente:

- Por as metodologias dos estudos existentes serem sempre distintas, não havendo por isso homogeneidade de critérios;

- Por a incidência da homocistinúria ser francamente diferente de população para população com um máximo de 1/25000 referido por McKusick¹⁴ e um mínimo de 1/1106000¹⁵, com a consequente prevalência de heterozigotia para a deficiência de cistationina beta-sintetase de 0,5 a 2% da população^{11,16};

- Por a deficiência de cistationina beta-sintetase não ser a única causa de hiperhomocisteinemia¹⁷⁻¹⁹;

A estas razões gerais junta-se a ausência de estudos na população portuguesa, pelo que pensamos justificar-se o estudo da prevalência de hiperhomocisteinemia num grupo de doentes portugueses com acidente cerebrovascular isquémico.

Acresce que embora a hiperhomocisteinemia possa estar baseada num defeito enzimático, nem por isso deixa de poder ser alvo de intervenção, já que múltiplos estudos²⁰⁻²⁵ comprovaram que vitaminas do grupo B, sendo co-factores do metabolismo da metionina, levam à diminuição dos níveis de homocisteína plasmática.

OBJECTIVO - Com o presente trabalho pretendemos saber se a hiperhomocisteinemia representa um factor de risco de doença cerebrovascular isquémica num grupo de doentes portugueses de idade igual ou inferior a 55 anos.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudámos um grupo de doentes com idade até 55 anos inclusivé, entre 3 meses e 1 ano após o acidente vascular cerebral isquémico, muito provavelmente trombótico.

Para a definição de acidente vascular cerebral isquémico exigia-se a presença de critérios clínicos, nomeadamente a existência de exame neurológico compatível e a existência de sinais de enfarte cerebral por tomografia axial computadorizada, sendo excluídos os doentes com história de embolias ou factores que tornassem as embolias prováveis: insuficiência cardíaca, fibrilhação auricular ou estenose mitral.

Foram ainda excluídos os doentes e controlos com história de alcoolismo e clínica ou laboratório sugestivos de doença renal ou hepática, ou tivessem tomado vitaminas do grupo B, por poderem interferir com os níveis de homocisteína.

Cada doente foi emparelhado por sexo e idade com um controlo sem antecedentes de doença vascular, escolhido a partir de um programa de rastreio clínico e laboratorial. Os controlos seriam excluídos se apresentassem história de qualquer patologia nos últimos seis meses, quaisquer antecedentes de patologia vascular, sinais, sintomas ou alterações laboratoriais sugestivas de qualquer patologia no momento do presente estudo.

Avaliámos os doentes e controlos em termos da história clínica com destaque para os factores de risco cardiovascular e medimos a sua altura, peso e pressão arterial (três medições a partir do 5º minuto de repouso, braço direito, sentado).

Considerámos existir:

- Hábitos tabágicos se o doente fumava quando do acidente vascular cerebral ou se o controlo fumava, qualquer que fosse a quantidade. Quantificou-se o número de cigarros consumidos diariamente.

- Considerámos existir hipertensão arterial se os doentes ou controlos tinham história de hipertensão arterial e faziam medicação anti-hipertensiva ou se a média das duas últimas medições, após exclusão da primeira, eram iguais ou ultrapassavam os 160mmHg ou os 95mmHg - Consensus da Sociedade Portuguesa de Cardiologia²⁶.

- Considerámos existir dislipidemia se o doente ou controlo tomava fármacos antidislipidémicos ou se o colesterol total era superior a 240mg/dL, o colesterol LDL superior a 160 mg/dL ou o colesterol HDL inferior a 35 mg/dL.

- Considerámos existir diabetes se o doente ou controlo tinha história de diabetes ou tinha o valor de glicemia em jejum igual ou superior a 140mg/dL.

- Considerámos existir obesidade se o índice de Quetelet era superior a 30²⁷.

- Considerámos existir inactividade física se o indivíduo não tinha uma profissão com actividade física e não executava actividade física pelo menos três horas por semana.

Todos os factores de risco em relação aos doentes foram avaliados em termos da data em que sofreram o acidente vascular agudo.

Em jejum fez-se o estudo laboratorial básico-hemograma, glicemia, ureia, creatinina, fosfatase alcalina, gama-glutamil-transpeptidase, bilirrubina total, colesterol LDL HDL e total, trigliceridos e ionograma (Na, K e Cl) - e fez-se a colheita para o doseamento da homocisteinemia basal.

Após consentimento esclarecido os doentes ingeriam uma dose de metionina de 0,1g por kilograma de peso e tomavam uma pequena refeição pobre em metionina. Entre cinco e seis horas após a ingestão da metionina, sem que tivessem ingerido qualquer outro alimento, fez-se a colheita para o doseamento da homocisteinemia após sobre carga à metionina.

Após a selecção de casos e controlos fez-se o doseamento das homocisteinemias basais e após sobrecarga com metionina por método radioenzimático com separação por cromatografia em papel, segundo o método de Kamoun e Chadeaux³⁰. Antes de efectuar o doseamento fez-se a redução do plasma com DTE para se dosear a homocisteinemia total e não apenas a homocisteína livre. Comprovou-se que com esta técnica o laboratório português envolvido no estudo apresentava resultados sobreponíveis aos do de Bergen, centro de referência europeu para a realização desta análise.

As médias dos valores observados no grupo com acidente vascular cerebral e no grupo controlo foram avaliadas estatisticamente por intermédio do *t de Student* nas variáveis contínuas. Nas variáveis não paramétricas utilizou-se o *Qui quadrado* ou o teste da probabilidade exacta de Fisher, quando indicado.

RESULTADOS

Estudámos 33 doentes e 33 controlos. Apresentam-se os resultados nos Quadros 1 a 5.

QUADRO 1 - Características básicas das populações e factores de risco clássicos

Característica(unidades)	Casos	Controlos	Signif
Número total	33	33	
Idade (médias ± D.P.)	46,0 ± 7,7	45,9 ± 7,8	NS
Sexo masculino	19	19	
Sexo feminino	14	14	
Mulheres período fértil	12	14	NS
Com hábitos tabágicos (n°)	14	10	NS
N° cigarros/dia (méd ± D.P.)	30,0 ± 16,0	29,7 ± 7,0	NS
Antecedentes HTA (n°)	22	6	P < 0,001
Dislipidemia (n°)	11	13	NS
Diabetes (n°)	4	1	NS
Obesidade (n°)	5	3	NS
Inactividade Física (n°)	11	8	NS
História Familiar (n°)	19	16	NS
Medicados regularmente (n°)	23	9	

QUADRO 2 - Características básicas das populações em termos de exame objectivo

Característica(unidades)	Casos	Controlos	Signif
Altura (cm) (média ± D.P.)	163,5 ± 8,1	164,2 ± 10,8	NS
Peso (Kg) (média ± D.P.)	71,9 ± 9,1	69,5 ± 11,1	NS
Índice Quetelet	26,9 ± 3,3	25,7 ± 3,0	NS
PA sist.(mm Hg) (média ± D.P.)	148,9 ± 22,4	131,6 ± 15,1	p < 0,001
PA diast.(mm Hg) (média ± D.P.)	91,5 ± 12,5	82,1 ± 10,6	p < 0,001

QUADRO 3 - Resultados dos exames laboratoriais

Característica (unidades)	Casos	Controlos	Signif
Hemoglobina (g/L) (média ± D.P.)	144,0 ± 16,1	144,8 ± 15,2	NS
Hematócrito (média ± D.P.)	43,0 ± 4,3	43,5 ± 4,5	NS
Vol Glob.Médio (FL) (média ± D.P.)	91,2 ± 3,8	89,4 ± 6,4	NS
Glucose* (média ± D.P.)	111,3 ± 65,3	95,7 ± 24,0	NS
Ureia* (média ± D.P.)	37,2 ± 9,3	34,0 ± 8,6	NS
Creatinina* (média ± D.P.)	1,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1	NS
Colesterol Total* (média ± D.P.)	231,7 ± 46,6	211,0 ± 33,3	p < 0,05
LDL* (média ± D.P.)	146 ± 54,7	139,5 ± 31,9	NS
HDL* (média ± D.P.)	48,9 ± 12,1	50,4 ± 11,2	NS
Trigliceridos* (média ± D.P.)	187,9 ± 193,8	105,5 ± 83,0	p < 0,05

* mg/DL

QUADRO 4 - Homocisteinemias (HC) em µmol/L

Característica(unidades)	Casos	Controlos	Signif
HC BASAIS (média ± D.P.)	10,1 ± 3,4	8,5 ± 1,7	p < 0,05
HC APÓS SOBRECARGA COM METIONINA (média ± D.P.)	28,0 ± 7,6	22,7 ± 5,5	p < 0,01

QUADRO 5 - Homocisteinemias por grupos etários (µmol/L)

Idades	Homocisteinemia	Casos	Controlos
< 41 anos (8+8) após	BASAL Sobrec	9,14 ± 3,21 25,80 ± 5,45	7,74 ± 1,45 20,99 ± 5,74
41 a 45 anos (6+6) após	BASAL Sobrec	10,67 ± 1,81 28,48 ± 7,41	8,11 ± 1,93 21,45 ± 5,63
46 a 50 anos (7+8) após	BASAL Sobrec	10,22 ± 2,75 25,67 ± 4,48	8,81 ± 1,69 24,77 ± 5,69
51 a 55 anos (12+11) após	BASAL Sobrec	10,35 ± 4,14 30,47 ± 9,42	9,18 ± 1,58 23,25 ± 4,52

DISCUSSÃO

O presente trabalho, apresenta as limitações e virtualidades de um estudo caso-controlo: Se por um lado permite tirar conclusões com números relativamente pequenos, por outro pode estar sujeito a uma auto-selecção negativa dos casos, por óbito de alguns dos doentes que, sofrendo hiperhomocisteinemia, poderão ter falecido no primeiro acidente vascular cerebral.

Os resultados mantêm, no entanto, toda a sua validade: a existir enviesamento, por auto-selecção relacionada com o óbito dos doentes com hiperhomocisteinemia, a realidade implicará um ainda maior peso deste factor de risco. Assim, esta questão não deve, na nossa opinião, desvalorizar o estudo ou a importância da hiperhomocisteinemia como factor de risco vascular.

Em termos metodológicos esforçá-mo-nos por evitar as principais fontes que poderiam, eventualmente, desvirtuar os resultados: exigiu-se que os doentes estivessem entre os três meses e o ano após o acidente vascular cerebral porque se considerou que antes dos três meses há alterações orgânicas complexas que poderiam afectar o metabolismo da metionina. Limitámos o estudo até um ano após o acidente agudo porque a alargar muito o período de estudo correríamos o risco de uma diferente mortalidade nos sobreviventes com hiperhomocisteinemia e de existência de uma alteração mais significativa dos factores de risco clássicos, por alteração dos hábitos e comportamentos dos doentes.

Sabendo-se que a homocisteína surge do metabolismo da metionina é lógico que o valor de homocisteinemia dependa significativamente da quantidade de metionina ingerida. O doseamento da homocisteinemia sem um teste de sobrecarga prévio implicaria que estaríamos em grande parte a avaliar o teor de metionina da dieta. Para evitar esta fonte de erro fez-se o estudo da homocisteinemia entre 5 e 6 horas após sobrecarga com metionina oral. Este período corresponde ao tempo após ingestão da metionina em que se obtêm os valores mais estáveis e mais elevados de homocisteína plasmática⁵.

Em termos laboratoriais foi importante que o doseamento tenha sido da homocisteinemia total e não apenas da homocisteinemia livre, que, representando apenas uma pequena parcela da total, está sujeita a alterações importantes, nomeadamente por ligação da homocisteína às proteínas.

Sabendo que entre as causas de hiperhomocisteinemia se encontram as carencias de vitaminas do grupo B, as doenças hepáticas e renais²⁸, tivemos particular cuidado no controlo destes factores. Deste modo excluímos à partida os doentes e controlos que apresentavam doenças hepáticas ou renais ou que tivessem tomado, no último mês, vitaminas do grupo B. Não é por isso de estranhar que casos e controlos apresentem valores normais e semelhantes em ambos os grupos em termos laboratoriais no que refere a hematócrito, volume globular médio e parâmetros de função renal e hepática.

Permitindo que casos e controlos tenham um perfil de risco vascular diferente em termos dos factores de risco clássicos, com destaque para a hipertensão arterial, principal factor de risco de doença cerebrovascular, não permite garantir que a hiperhomocisteinemia seja um factor de risco independente. Embora esta hipótese não seja ex-

cluída por este estudo, há que lembrar que múltiplos estudos internacionais não conseguiram estabelecer uma ligação consistente entre a hiperhomocisteinemia e os diferentes factores de risco²⁹.

Sendo os casos e controlos seleccionados de um modo independente em relação aos factores de risco, se bem que a dimensão reduzida da amostra não permita fazer um estudo multivariável, permite sugerir que em relação à doença cerebrovascular apenas a hipertensão arterial comporta um risco mais elevado que a hiperhomocisteinemia. É de realçar que, embora cerca de dois terços dos doentes tenha antecedentes de hipertensão e esteja medicado, o grupo com acidente apresentava na altura do exame valores tensionais sistólicos e diastólicos significativamente mais elevados que os da população de controlo, ($p < 0,001$).

A hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia comportaram neste estudo um risco claramente inferior ao da hipertensão. Tabagismo, diabetes e obesidade não atingiram, com a amostra presente, significância como factores de risco de doença cerebrovascular.

Avaliando as homocisteinemias basais por grupos etários verifica-se que os valores são, nos doentes cerebrovasculares, semelhantes dos 41 aos 55 anos, e ligeiramente inferiores abaixo dos 41 anos. Nos controlos a homocisteinemia aumenta ligeiramente com a idade, mas a exiguidade dos números em presença e a inexistência de diferenças significativas não nos permitem estabelecer qualquer tendência consistente em relação a esta questão.

CONCLUSÃO

Dos resultados do presente trabalho podemos concluir que:

- A hiperhomocisteinemia se associa a um risco aumentado de doença cerebrovascular isquémica abaixo dos 55 anos de idade;
- O doseamento da homocisteinemia após sobrecarga com metionina foi mais discriminativo que o doseamento da homocisteinemia basal;
- Sendo necessária uma amostra mais alargada para conhecer o peso relativo da homocisteinemia no contexto dos restantes factores de risco vascular, os resultados encontrados sugerem que a hiperhomocisteinemia possa representar o segundo factor de risco mais importante de doença cerebrovascular, imediatamente a seguir à hipertensão arterial.

BIBLIOGRAFIA

1. DIAS J A A, FALCAO J C F M: Mortalidade por doença cerebrovascular e isquémica. Tendências e importância relativa a nível distrital. *Jornal do Coração* 1991; 4: 2-3.
2. FALCAO I M: Doenças cerebro vasculares: Quantas mortes foram evitadas desde 1982? *Saúde em números* 1992; 7 (5): 33-35.
3. MUDD S H, SKOVBY F, LEVY H L et al: The natural history of homocystinuria due to cystathionase B-synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 1-31
4. VIZY J M, COZ L P, CHADEFAUX B et al. Homocystinuria due to 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency revealed by stroke in adult siblings. *Neurology* 1991; 41: 1313-5.

5. BRATTSTROM L: Homocysteine in vascular disease. A clinical study of homocysteine metabolism in health and in vascular disease. Thesis University Lund Sweden 1989.
6. MCCULLY K: Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-128
7. MCCULLY K S: Homocysteine theory of arteriosclerosis: development and current status. *Atherosclerosis Rev* 1983; 11: 157-246.
8. BRATTSTROM L E, HARDEBO J E, HULTERBERG B L. Moderate homocysteinemia. A possible risk factor for arteriosclerotic cerebrovascular disease. *Stroke* 1984; 15: 1012-1016.
9. ARAKI A, SAKO Y, FUKUSHIMA Y et al: Plasma sulfhydryl-containing amino acids in patients with cerebral infarction and in hypertensive patients. *Atherosclerosis* 1989; 79: 139-46.
10. BOERS G, SMALS A, TRIJBELS F J et al: Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Engl J Med* 1985; 313: 709-715.
11. CLARKE R, DALY L, ROBINSON K et al: Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med*, 1991, 324: 1149-55.
12. BRATTSTROM L, LINDGREN A, ISRAELSSON B, et al: Hiperhomocysteinemia in stroke: prevalence, cause, and relationships to type of stroke and stroke risk factors. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 214-21.
13. RICHARD C M, MULLER J P, FAIVRE E et al: Total plasma homocysteine determination in subjects with premature cerebral vascular disease. *Cin Chem* 1991; 37: 126.
14. MCKUSICK V.A: Heritable disorders of connective tissues. St Louis, Mosby Co 1972, 4th Ed, p224.
15. TADA K, TATEDA H, ARASHIMA S et al: Follow-up study of a nation wide neonatal screening program in Japan. *Eur J Pediatrics* 1984; 142: 204-207.
16. MCGILL J J, METTLER G, ROSENBLATT D S, SCRIVER C R: Detection of heterozygotes for recessive alleles. Homocyst(e)inemia: paradigm of pitfalls in phenotypes. *Am J Med Genet* 1990; 36: 45-52.
17. BERG K, MALINOW M R, KIERULF P, UPSON B: Population variation and genetics of plasma homocyst(e)ine level. *Clin Genet* 1992; 41: 315-21.
18. BITTLES A H, CARSON N A: Homocystinuria: Studies on cystathionine beta-synthase, S-adenosylmethionine synthetase and cystathionase activities in skin fibroblasts. *J Inher Metab Dis* 1981; 4: 3-6.
19. BRATTSTROM L, ISRAELSSON B, LINDGARDE F, HULTBERG B: Higher total plasma homocysteine level in vitamin B12 deficiency than in heterozygosity for homocystinuria due to cystathionine B-Synthase deficiency. *Metabolism* 1988; 37: 175-78.
20. Bartholomew D W, Batshaw M L, Allen R H et al: Therapeutic approaches to cobalamin-C methylmalonic acidemia and homocystinuria. *J Pediatr* 1988; 112: 32-9.
21. BARBER G W, SPAETH G L: The successful treatment of homocystinuria with pyridoxine. *J Pediatr* 1969; 75: 463-78.
22. BITTLES A H, CARSON N A: Homocystinuria: The effect of pyridoxine supplementation on cultured skin fibroblasts. *J Inher Metab Dis* 1981; 4: 7-9.
23. BRATTSTROM L, HULTERBERG B, HARDEBO J E: Folic acid responsive postmenopausal homocysteinemia. *Metabolism* 1985; 34: 1073-77.
24. BRATTSTROM L, ISRAELSON B, NORRVING B et al: Impaired homocysteine metabolism in early-onset cerebral and peripheral occlusive arterial disease. Effects of pyridoxine and folic acid treatment. *Atherosclerosis* 1990; 81: 51-60.
25. BRATTSTROM L, ISRAELSSON B, JEPSSON J O, HULTERBERG B: Folic acid - an innocuous means to reduce plasma homocysteine. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 215-21.
26. OLIVEIRA SOARES, ALVES SILVA: Abordagem diagnóstica do hipertenso. *Rev Port Card* 1989; 8: supl 2: 399-401.
27. GORJAO-CLARA A, NOGUEIRA-COSTA: Terapêutica não farmacológica da hipertensão arterial. *Rev Port Card* 1989; 8: supl 2: 403-404.
28. 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.
29. MALINOW M R: Hyperhomocyst(e)inemia. A common and easily reversible risk factor for occlusive atherosclerosis. *Circulation* 1990; 81: 2004-6.
30. CHADEFaux B, COUDE M, HAMET M et al: Dosage radioisotopique de la L-homocysteine totale dans le plasma et l'urine: application à des dosages en serie. *Ann Biol Clin* 1990; 48: 33-36.