

Homocystein – riskfaktor eller riskmarkör?

MARIT GRANÉR

Homocystein är en svavelhaltig aminosyra som bildas vid omsättningen av den essentiella aminosyran metionin. För återmetylering av homocystein till metionin krävs folsyra och vitamin B₁₂, och för nedbrytning av homocystein till bl.a. cystein krävs vitamin B₆. Förhöjda plasmanivåer av homocystein (hyperhomocysteinemi) är i mildare form relativt vanliga hos normalbefolkningen. Genom åren har många epidemiologiska undersökningar visat på ett oberoende samband mellan hyperhomocysteinemi och ökad risk för kardiovaskulär sjukdom. Vitamintillskott har visat sig kunna sänka nivån av homocystein med i genomsnitt 25 procent, och i epidemiologiska studier har man uppskattat att denna sänkning borde kunna minska risken för kardiovaskulär sjukdom med 10–25 procent. I kliniska interventionsförsök med homocysteinsänkande vitamintillskott till personer med dokumenterad kardiovaskulär sjukdom har man emellertid inte lyckats påvisa minskad morbiditet eller mortalitet.

Inledning

Ämnet homocystein upptäcktes redan 1932, men fyndet väckte inte något större intresse på den tiden. Trettio år senare fann man emellertid höga halter av homocystein i urin och blodplasma hos en grupp barn med mental utvecklingsstörning. Sjukdomen kallades för homocystinuri. Överraskande visade sig samma barn ha en kraftigt ökad risk för hjärt-kärlsjukdom. Med denna upptäckt som bakgrund framförde McCully (1) 1969 sin teori om ökat homocystein som orsak till ateroskleros. År 1976 fann Wilcken och medarbetare (2) från Australien att en hel del patienter med hjärt-kärlsjukdom hade förhöjda halter av homocystein i blodet. Senare har ett stort antal epidemiologiska studier visat att homocystein är en stark och oberoende riskfaktor för hjärt-kärlsjukdom (3–8).

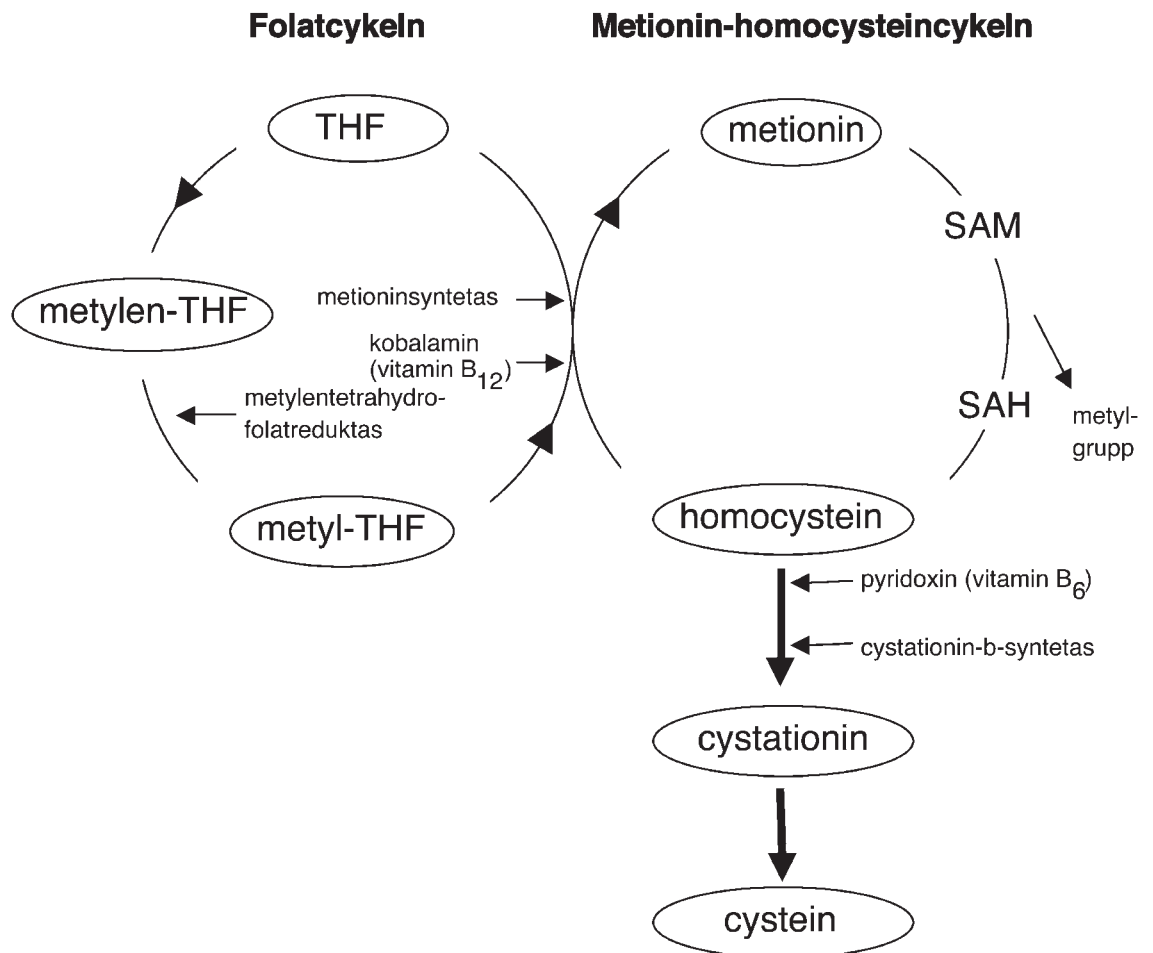
FÖRFATTAREN

MD **Marit Granér** är specialist i invärtesmedicin och kardiologi. Hon arbetar som klinisk lärare vid Helsingfors universitet och som specialistläkare samt forskare vid HUCS, Invärtes medicin, kardiologiska kliniken.

Efter upptäckten av homocystein som möjlig riskfaktor för hjärt- och kärlsjukdom har frågan ägnats stor uppmärksamhet inom medicinsk forskning. Är homocystein verkligen en riskfaktor, dvs. sannolikt kausalt kopplad till en ökad sjukdomsrisk, varvid intervention modifierar sjukdomsförloppet, eller är homocystein endast en riskmarkör, dvs. associerat med sjukdom utan att egentligt kausalsamband föreligger?

Metabolism

Homocystein är en svavelhaltig aminosyra som bildas vid den enzymatiska nedbrytningen av den essentiella aminosyran metionin som tillförs kroppen via födan. Metaboliten homocystein kan återbildas till metionin med hjälp av enzymet metylentetrahydrofolat reduktas (MTHFR) med B₁₂-vitamin samt folsyra som kofaktorer. En stor del av homocystein metaboliseras vidare till aminosyran cystein och ytterligare till glutation och taurin. För bildningen av cystein krävs enzymet cystationin-b-syntetas (CBS) och vitamin B₆. Glutationet är en ”renhållningsarbetare” (eng. scavenger) som tar hand om fria radikaler (Figur 1) (9).



Figur 1. Metabolism av metionin och homocystein. THF = tetrahydrofolat; SAM = S-adenosylmetionin; SAH = S-adenosylhomocystein.

Homocystein förekommer i mycket liten utsträckning som fri aminosyra i blodet. Den största delen av ämnet är bundet till cystein. Njurarna är ansvariga för cirka 70 procent av elimineringen av homocystein.

Hyperhomocysteinemi

I regel mäts totalmängden homocystein efter en kortare fasteperiod. Referensvärdet för homocystein i blodplasma är 5–15 $\mu\text{mol/l}$. Hyperhomocysteinemi (förhöjda plasmavåer av aminosyran) förekommer på olika nivåer. Mild hyperhomocysteinemi definieras som 15–30 $\mu\text{mol/l}$, måttlig som 30–100 $\mu\text{mol/l}$ och svår som > 100 $\mu\text{mol/l}$ (9). Mild till måttlig hyperhomocysteinemi är vanlig, och

förekommer hos 5–10 procent av normalbefolkningen (9).

Inte sällan är orsaken till förhöjt homocysteinuri genetisk (10). Homocystinuri uppstår till följd av medfödda defekter i enzymer (CBS, MTHFR, metioninsyntetas) som är inblandade i metabolismen av homocystein. Sjukdomen ger extrem hyperhomocysteinemi (100–300 $\mu\text{mol/l}$) och kraftigt ökad utsöndring av homocystein i urinen. En lindrigare och vanligare mutation i MTHFR-genen ger upphov till mild eller måttlig hyperhomocysteinemi. Ett basutbyte (cytidin ersatt av tymin i position 677) i genen reducerar enzyms aktivitet, vanligen med cirka 50 procent hos homozygoter (10), vilket resulterar i en höjning av homocystein i plasma med cirka 20

procent (7). Uppskattningsvis ca 10 procent av européerna är homozygoter och 43 procent heterozygoter, medan 47 procent helt saknar mutationen (7). Vilka homocysteinhöjande uttryck genen tar sig är emellertid beroende av populationens folatintag (7).

Med stigande ålder ökar mängden homocystein i plasma, och män har i allmänhet högre nivåer än kvinnor (9). Könsskillnaden utjämnas dock efter menopausen, vilket tyder på att östrogen har en betydelse för reglering av nivån homocystein hos kvinnor (9). Högt homocystein har sammankopplats med rökning, kaffe, malabsorption, alkoholism, diabetes, hypothyreos och njursvikt. Hyperhomocysteinemi kan även utlösas av läkemedel såsom nikotinsyra, lustgas, metformin, epilepsimediciner, metotrexat, L-dopa, theofyllamin, trimethoprim, cholestyramin, androgener, cyklosporin A, diuretika och fibrater (9). Lågt intag av folsyra, vitamin B₆ och vitamin B₁₂ samt njursvikt anses dock vara de främsta icke genetiska orsakerna till uppkomst av mild till måttlig hyperhomocysteinemi (9, 11).

Vitamin B-tillskott har visat sig kunna sänka plasmakoncentrationer av homocystein med i genomsnitt 25 procent (12–14). Effekten förmedlas i huvudsak av folsyra (maximal effekt fås av ca 0,8 mg/d (7)), medan verkningarna av vitamin B₁₂ och vitamin B₆ är mer blygsamma (13–14). En kombination av folsyra och B₁₂ kan ge sänkningar av homocystein i plasma upp till 30 procent (12). Sänkningar av homocystein i plasma med 25–30 procent gäller för populationer utan folsyraberikning av spannmålsprodukter, vilket motsvaras av 10–15 procent i populationer där folsyraberikning är obligatoriskt (12).

Patofysiologi

Många mekanismer skulle kunna förklara homocysteinets skadliga inverkan på kärlsystemet. Experimentella studier har visat att homocystein utövar skador på endotel och kärlväggar genom oxidativ stress (15–16). Homocystein ökar mängden fria syreradikaler i endotelet (17), motverkar syntesen av kärlvidgande kväveoxid (16), ökar adhesion av monocyter (4) och stimulerar proliferation av kärlväggens glattmuskelceller (4) samt oxidering av det skadliga LDL-kolesterolet (16). Vidare leder hyperhomocysteinemi till ökad frisättning av proinflammatoriska substanser (t.ex. interleukin-1, interleukin-6 och tumörnekrosfaktor- α) (4). Hyperkoagulabilitet i form av ökad trombocytadhesion och

-aggregation har framställts som ytterligare en möjlighet (18), men också en ökad aktivitet av det humoral koagulationssystemet (19). Homocystein är således intimt kopplat till mekanismer nära sammanhängande med uppkomsten av ateroskleros.

Homocystein och kardiovaskulär sjukdom

Den hittills kanske starkaste kopplingen mellan homocystein och kardiovaskulär sjukdom har observerats hos personer som har svår hyperhomocysteinemi med homocystinuri. Om sjukdomen inte behandlas, drabbas t.o.m. 50 procent av homozygota individer av någon vaskulär händelse före 30 års ålder (7, 13).

Epidemiologiska studier

I en metaanalys från 2002 undersöktes sambandet mellan homocystein och ischemisk hjärtsjukdom och slaganfall (stroke) och hur stora riskreduktioner som vore tänkbara genom sänkta koncentrationer av homocystein. I denna analys jämfördes och kombinerades 72 genetiska retrospektiva studier (fall-kontrollundersökningar) (n = 16 849) med 20 prospektiva kohortstudier (n = 3 820) (7). I de genetiska studierna undersöktes förekomsten av den homocysteinhöjande mutationen i genen för MTHFR i korrelation med ischemisk hjärtsjukdom och slaganfall. De prospektiva studierna utredde korrelationen mellan homocystein i serum och utvecklande av samma kardiovaskulära sjukdomar. Statistiskt signifikanta bevis framkom för att en höjning av homocystein i serum med 5 $\mu\text{mol/l}$ innebär ökad risk för ischemisk hjärtsjukdom och slaganfall. På basis av denna metaanalys uppskattades att en minskning av nivån av homocystein med 25 procent (motsvarande ca 3 $\mu\text{mol/l}$) skulle reducera risken att insjukna i ischemisk hjärtsjukdom med 16 procent; motsvarande siffra för slaganfall var 24 procent.

I en annan metaanalys, också från 2002, av 40 genetiska studier (n = 11 162 fall; n = 12 758 kontrollpersoner) inkluderande dock endast 5 prospektiva studier fann man att en höjning av koncentrationer av homocystein med 2,5 $\mu\text{mol/l}$ hos homozygoter för mutation i MTHFR-genen var förknippad med en 16 procent högre risk för kranskärlssjukdom än för personer utan mutationen (8).

I en tredje metaanalys omfattande 18 retrospektiva (n = 7 761) och 12 prospektiva

(n = 9 025) studier fann man att en sänkning av nivån av homocystein med 3 $\mu\text{mol/l}$ motsvarade en riskreduktion för kranskärslsjukdom på 11 procent, och för slaganfall på 19 procent (6).

I en stor prospektiv studie undersökte man sambandet mellan diet och risken för slaganfall bland 43 732 friska amerikanska män. Under en uppföljningsperiod på 14 år drabbades sammanlagt 725 personer av slaganfall. I denna studie observerades att ett lågt intag av folsyra var associerat med en ökad risk för ischemiskt slaganfall (20). Införsel av folsyraberikade spannmålsprodukter i USA och Kanada i slutet av 1990-talet sammanföll med en minskning av mortaliteten i slaganfall (21).

Resultat från en finländsk prospektiv kohortstudie som inkluderade 1 027 män utan diagnostiserad koronarsjukdom påvisade att personer med lågt intag av folsyra löpte en större risk för insjuknande i akut koronarsjukdom, oavsett koncentrationen av homocystein (22). Intressant nog har det sistnämnda medfört att en del forskare anser att hyperhomocysteinemi snarare är en konsekvens av och inte en orsak till kardiovaskulär sjukdom, eftersom man lyckats påvisa att nivån av homocystein stiger och kvarstår i månader efter en akut kardiovaskulär incident (23–24).

Interventionsstudier

Den första randomiserade interventionsstudien var VISP (Vitamin Intervention for Stroke Prevention) (25). Denna studie utfördes i en population med folsyraberikning och omfattade 3 680 deltagare som tidigare haft slaganfall. Deltagarna fick antingen högdosering med 2,5 mg folat, 0,4 mg B_{12} och 25 mg B_6 eller lågdos med 20 μg folat, 6 μg B_{12} och 20 μg B_6 ; något som resulterade i en minskning av homocystein i plasma med cirka 15 procent i högdosgruppen. Efter två års behandling kunde inte någon skillnad i mortalitet för slaganfall, hjärtinfarkt eller övriga vaskulära händelser noteras. En subgruppsanalys av de patienter där man exkluderat dem med mycket låga (250 $\mu\text{mol/l}$), mycket höga (> 637 $\mu\text{mol/l}$) B_{12} -värden samt dem med signifikant nedsatt njurfunktion uppvisade emellertid en gynnsam effekt på kardiovaskulära händelser. Studien har dock fått kritik för kontroversiell design och begränsad statistisk styrka (12).

NORVIT (Norwegian Vitamin Trial) var en randomiserad, kontrollerad, dubbelblind,

multicenter studie omfattande 3 749 norska patienter som nyligen haft en hjärtinfarkt (26). Patienterna fick antingen 0,8 mg folsyra och 0,4 mg av vitamin B_{12} samt 40 mg av vitamin B_6 ; 0,8 mg folsyra och 0,4 mg vitamin B_{12} ; 40 mg vitamin B_6 ; eller placebo. Studien pågick i 3,5 år och man tittade på hur många som drabbades av ny hjärtinfarkt, nytt slaganfall eller plötslig hjärtdöd. Trots en sänkning av homocystein i plasma med 27 procent i grupperna som fick folsyra jämfört med grupperna som endast fick B_6 -vitamin eller placebo observerades ingen sänkt risk för kardiovaskulär sjukdom. Tvärtom såg man en ökad risk att insjukna eller avlida i slaganfall eller hjärtinfarkt i gruppen som fick folsyra, vitamin B_{12} och vitamin B_6 .

Studien HOPE-2 (Heart Outcomes Prevention Evaluation-2) randomiserade 5 522 patienter, 55 år eller äldre, med kärlsjukdom eller diabetes till att få antingen 2,5 mg folsyra, 50 mg av vitamin B_6 och 1 mg av vitamin B_{12} eller placebo i fem år (14). Cirka 70 procent av patienterna härstammade från USA och Kanada där folsyraberikning av kosten är obligatorisk. Man tittade på dödlighet p.g.a. kardiovaskulära händelser, hjärtinfarkt eller slaganfall. Vid försökets början var den genomsnittliga plasmakoncentrationen av homocystein 12,2 $\mu\text{mol/l}$. Medelvärdet för homocystein sjönk med 2,4 $\mu\text{mol/l}$ i aktiva behandlingsgruppen och ökade med 0,8 $\mu\text{mol/l}$ i placebogruppen. Trots detta kunde ingen minskad risk för död i kardiovaskulära händelser eller hjärtinfarkt observeras i den aktiva behandlingsgruppen. Man noterade ett färre antal av slaganfall men å andra sidan en något ökad risk för instabil angina i den aktiva behandlingsgruppen jämfört med placebogruppen. Resultatet var detsamma mellan behandlingsgrupperna i subanalyserna både för dem med höga eller låga nivåer av homocystein likaså för patienter som kom från länder med obligatorisk eller icke-obligatorisk folsyraberikning av föda.

Ytterligare två interventionsstudier har gett motstridiga resultat. I en randomiserad, dubbelblind och placebokontrollerad studie gavs en kombination av 1 mg folsyra, 0,4 mg vitamin B_{12} och 10 mg vitamin B_6 eller placebo till 553 patienter som genomgått koronarangioplastik med eller utan inlägg av stent. Vitaminbehandlingen avslutades efter 6 månader och man följde grupperna i ytterligare 6 månader. Man fann en minskad risk för behov av ett nytt kranskärsls ingrepp i den aktiva gruppen jämfört med placebogruppen,

men ingen säker effekt på hjärtinfarkt eller död (27). I en annan placebokontrollerad studie gavs 1,2 mg folsyra, 60 µg vitamin B₁₂ och 48 mg vitamin B₆ eller placebo i 6 månader till 636 patienter som genomgått koronarangioplastik med inlägg av metallstent. Trots att homocysteinet i serum sjönk, ökade risken paradoxalt nog för behovet av ett nytt kranskärlsingrepp i den aktiva gruppen jämfört med placebogruppen (28).

Homocystein – vad vet man egentligen?

Resultaten från epidemiologiska studier har påvisat att homocystein korrelerar med risken att insjukna i kardiovaskulär sjukdom. En avgörande svaghet med 1990-talets epidemiologiska studier är emellertid att korrigeringen för traditionella riskfaktorer oftast har varit ofullständig. Därtill saknas vanligen korrigering för två väsentliga faktorer som är relaterade till både kärlsjukdom och högt homocystein, nämligen kreatinin (29) och albumin (30). I retrospektiva studier blir det således svårt att skilja mellan orsak och verkan. Författarna har dessutom i sin statistiska analys slagit samman studier på personer med känd kärlsjukdom och befolkningsbaserade studier med en övervägande andel personer utan känd kärlsjukdom.

Samstämmigheten mellan interventionsstudierna visar att det än så länge inte finns några kliniska fördelar av tillskott av folsyra, vitamin B₁₂ eller B₆ i behandlingen av patienter med kardiovaskulär sjukdom. Det har dock framförts att uppläggningsstudier av många interventionsstudier hade svagheter i rekryteringen av patienter och i uppföljningens längd. Dessvärre var kombinationen och doseringen av B-vitaminerna inte enhetlig. Det oväntade resultatet i bl.a. NORVIT studien har väckt misstankar om B-vitaminernas möjliga biverkningar vid kardiovaskulär sjukdom. Höga doser av B-vitaminer, många gånger högre än det rekommenderade dagliga intaget, kan vara proinflammatoriska (31).

Ett lågt HDL-kolesterol är en känd riskfaktor för ateroskleros (32–33). Nya forskningsrön talar för att hyperhomocysteinemi hos både djur och människor leder till minskad syntes av apolipoprotein A-I i lever och därmed sänkt halt av HDL-kolesterol (34–35). Detta fynd kanske också kan ge en förklaring till den uteblivna positiva effekten av B-vitaminer vid sekundär prevention av hjärtinfarkt

och slaganfall, som ju alltid numera inkluderar behandling med statiner eller andra HDL-höjande mediciner.

Av en riskfaktor kräver man framför allt att modifikation av riskfaktorn modifierar sjukdomsförloppet. I dagsläget platsar homocystein inte som riskfaktor men möjligen som riskmarkör. Bilden kan mycket väl ändras, när resultaten från stora metaanalyser föreligger om 3–4 år (17). De resultaten är väl värda att vänta på för både ”troende” och tvivlare.

ML Marit Granér
HUCS Invärtesmedicin
Kardiologiska kliniken
PB 340
00029 HNS
marit.graner@hus.fi

Referenser

1. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111–28.
2. Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976;57:1079–82.
3. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999;354:407–415.
4. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042–50.
5. Faraci FM. Hyperhomocysteinemia a million ways to lose control. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:371–373.
6. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2015–22.
7. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002;325:1202–6.
8. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG and MTHFR Studies Collaboration Group, MTHFR 677C>T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2023–31.
9. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin, Johnston C, Engbaek F, Schneede J, McPartlin C, Scott JM. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004;50:3–32.
10. Stipanuk MH. Homocysteine, cysteine, and taurine. I: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, editors. *Modern nutrition in health and disease*. Baltimore/Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.s. 545–62.
11. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693–8.
12. B-vitamin Treatment Trialists' Collaboration. Homocysteine-lowering trials for prevention of cardiovascular events: a review of the design and power of the large randomized trials. *Am Heart J* 2006;151:282–287.
13. Moat SJ, Lang D, McDowell IFW, Clarke ZL, Madhavan AK, Lewis MJ, Goodfellow J. Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. *J Nutr Biochem* 2004;15:64–79.
14. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, McQueen MJ, Probstfield J, Fodor G, Held C, Genest J Jr. The Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) 2 Investigators. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006;354:1567–77.

-
15. Woo KS, Chook P, Lolin YI, Cheung AS, Chan LT, Sun YY, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 1997;96:2542-44.
 16. Kalra DK. Homocysteine and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2004;6:101-106.
 17. Kaul S, Zadeh AA, Shah PK. Homocysteine hypothesis for atherothrombotic cardiovascular disease. Not validated. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:914-923.
 18. Ungvari Z, Sarkadi-Nagy E, Bagi Z, Szollar L, Koller A. Simultaneously increased TxA(2) activity in isolated arterioles and platelets of rats with hyperhomocysteinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1203-208.
 19. Lentz SR. Homocysteine and cardiovascular physiology. In: R Carmel and DW Jacobsen, Editors. *Homocysteine in Health and Disease*, Cambridge University Press, Cambridge, UK 2001:441-450.
 20. He K, Merchant A, Rimm EB, Rosner BA, Stampfer J, Willett WC, Ascherio A. Folate, vitamin B6, and B12 intakes in relation to risk of stroke among men. *Stroke* 2004;35:169-174.
 21. Yang Q, Botto LD, Erickson JD, Berry RJ, Sambell C, Johansen H, Friedman JM. Improvement in stroke mortality in Canada and the United States, 1990 to 2002. *Circulation* 2006;113:1335-43.
 22. Voutilainen S, Virtanen JK, Rissanen TH, Alfthan B, Laukkanen J, Nyyssonen K, Mursu J, Valkonen VP, Tuomainen TP, Kaplan GA, Salonen JT. Serum folate and homocysteine and the incidence of acute coronary events the Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr* 2004;80:317-23.
 23. Al-Obaidi MK, Stubbs PJ, Collinson P, Conroy R, Graham I, Noble MI. Elevated homocysteine levels are associated with increased ischemic myocardial injury in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1217-22.
 24. Dudman NP. An alternative view of homocysteine. *Lancet* 1999;354:2072-4.
 25. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, Sides EG, Wang CH, Stampfer M. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death. The Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:565-575.
 26. Bonna KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, Wang H, Nordrehaug JE, Arnesen E, Rasmussen K; NORVIT Trial Investigators. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;354:1578-88.
 27. Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM. Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B12, and vitamin B6 on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:973-979.
 28. Lange H, Suryapranata H, De Luca G, Borner C, Dille J, Kallmayer K, Pasalary MN, Scherer E, Dambrink JH. Folate therapy and in-stent restenosis after coronary stenting. *N Engl J Med* 2004;350:2673-81.
 29. Townsend RR. Cardiac mortality in chronic kidney disease: a clearer perspective. *Ann Intern Med* 2002;137:615-616.
 30. Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998;279:1477-82.
 31. Loscalzo J. Homocysteine trials-clear outcomes for complex reasons. *N Engl J Med* 2006;354:1629-32.
 32. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am J Med* 1977;62:707-714.
 33. Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels: the Framingham study. *JAMA* 1986;256:2835-38.
 34. Liao D, Tan H, Hui R, Li Z, Jiang X, Gaubatz J, Yang F, Durante W, Chan L, Schafer AI, Pownall HJ, Yang X, Wang H. Hyperhomocysteinemia decreases circulating HDL by inhibiting apoA-I protein synthesis and enhancing HDL-C clearance. *Circ Res* 2006;99:598-606.
 35. Mikael LG, Genest J Jr, Rozen R. Elevated homocysteine reduces apolipoprotein A-I expression in hyperhomocysteinemic mice and in males with coronary artery disease. *Circ Res* 2006;98:564-71.