

Homocysteínový konsenzus

Homocysteine consensus

Ján Lietava¹, Pavel Blažíček², Martin Čaprnda¹, Katarína Rašlová³, Jana Tisoňová⁴, Branislav Vohnout^{3,5,6} (za výbor Slovenskej asociácie aterosklerózy)

¹I. interná klinika LF UK a UNB, Nemocnica Staré Mesto, Bratislava

²Ústav chémie, klinickej biochémie a laboratórnej medicíny LF SZU v Bratislave

³Koordináčne centrum pre familiárne hyperlipoproteinémie, SZU v Bratislave

⁴Ústav farmakológie a klinickej farmakológie LF UK, Bratislava

⁵Ústav výživy, FOaZOŠ SZU v Bratislave

⁶Ústav epidemiológie LF UK v Bratislave

✉ doc. MUDr. Ján Lietava, CSc. | jan.lietava@yahoo.com | www.unb.sk

Doručeno do redakce | Doručené do redakcie | Received 7. 12. 2019

Přijato po recenzii | Prijaté po recenzii | Accepted 6. 1. 2020

Abstrakt

Homocysteínový konsenzus odráža súčasné poznanie, že homocysteín (HCY) je pravdepodobnejšie rizikový marker ako faktor a paušálna liečba hyperhomocysteinémie neprináša očakávané zníženie morbidity a mortality kardiovaskulárnych ochorení. Panel odborníkov zastáva nasledujúce stanovisko do praxe pre liečbu a prevenciu kardiovaskulárnych ochorení:

A. Paušálna terapeutická intervencia podľa súčasných poznatkov EBM nie je paušálne indikovaná.

B. Paušálny skrining homocysteínu neprináša klinický prínos pre všeobecnú populáciu ani pre pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami.

- Preventívne podávanie multivitamínov skupiny B pre zníženie hladiny homocysteínu podľa doterajších vedomostí založených na EBM vo všeobecnej populácii nemá podporu. Populačný skrining nie je indikovaný – trieda odporučení III, úroveň dôkazov IA.
- Terapeutické podávanie multivitamínov skupiny B pre zníženie hladiny homocysteínu podľa doterajších vedomostí založených na EBM v populácii pacientov v sekundárnej i terciárnej prevencii nemá význam. Populačný skrining nie je indikovaný – trieda odporučení III, úroveň dôkazov A.
- Nebol dostatočne preskúmaný prínos stanovenia HCY pri rozhodovaní o začatí antihypertenzívnej alebo hypolipidemickej liečby. Populačný skrining nie je indikovaný, iba vyšetrenie u individuálneho pacienta – trieda odporučení IIb, úroveň dôkazov A.

Kľúčové slová: homocysteín – kardiovaskulárna prevencia – skrining – vitamíny skupiny B

Abstract

Homocysteine consensus reflects current knowledge that homocysteine is rather a risk marker than a factor and treatment of hyperhomocysteinemia does not reduce cardiovascular morbidity and mortality. Panel of experts state this position to approach cardiovascular prevention and treatment in praxis.

A. General therapeutic intervention is not generally indicated based on current EBM data.

B. General screening of homocysteine is not clinically beneficial in both general population and in patients with cardiovascular disease.

- Preventive administration of B group vitamins to reduce plasma homocysteine level in general population is not supported based on current EBM data. Population screening is not indicated – class III, level A.
- Therapeutic administration of B group vitamins to reduce plasma homocysteine level in patients in secondary or tertiary prevention is not supported based on current EBM data. Population screening is not indicated – class III, level A.
- There are no sufficient data on effect of measuring homocysteine on decision to start treating hypertension or dyslipidemias. Population screening is not indicated, only individual patients' examination – class IIb, level A.

Key words: cardiovascular prevention – homocysteine – screening – vitamins group B

Preambula

Homocysteínový konsenzus (HK) z roku 2003 [1] odrážal konsenzuálny názor, že hyperhomocysteínémia (hyperHCY) by mohla byť rizikovým faktorom aterosklerózy, ktorý vyplnía priestor v stanovení celkového rizika život ohrozujúcich kardiovaskulárnych (KV) príhod nevysvetlený klasickými rizikovými faktormi ako je fajčenie, hypertenzia, dyslipidémia, diabetes mellitus. Pri absencii intervenčných klinických štúdií ovplyvňujúcich hladiny homocysteínu (HCY) sa HK z roku 2003 zakladal na úrovni IIb – a nešpecifikoval, či je homocysteín rizikový faktor alebo rizikový marker. Slovenský HK 2003 bol analogický odporúčeniam iných európskych krajín, ako bol Konsenzus DACH (Nemecko, Rakúsko, Švajčiarsko), alebo odporúčaniam viacerých odborných spoločností v USA a Japonsku [2–8].

Ukončenie veľkých klinických intervenčných štúdií výrazne zlepšilo jednak chápanie významu hyperHCY pre etiopatogézu aterosklerózy, jednak sponchybnilo potrebu liečby.

Nový Homocysteínový konsenzus 2020 (HK 2020) odráža súčasné poznanie, že hyperHCY je skôr rizikový marker ako faktor a paušálna liečba hyperHCY neprináša predpokladané zníženie morbidity a mortality kardiovaskulárnych ochorení. Preto ani paušálny skrining homocysteínu neprináša klinický prínos pre všeobecnú populáciu ani pre pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami.

Zároveň na základe medicíny založenej na dôkazoch (Evidence Based Medicine – EBM) predložený HK 2020 upresňuje diagnózy alebo stavy v kardiológii, pri ktorých stanovenie HCY môže priniesť klinický efekt.

Úvod

Vysoko zvýšené hladiny homocysteínu $\geq 100 \mu\text{mol/l}$, spôsobujúce až homocystinúriu, sú prítomné u ťažkých malnutričných stavov alebo deficiencií vitamínov B₆, B₁₂ a kyseliny listovej, ako aj u vrodených enzymatických defektov. Tieto stavy sú spojené s ťažkými orgánovými abnormalitami, ako sú okulárne lézie (ectopia lentis), osteoporóza, poruchy CNS (mentálna retardácia, psychické abnormality), vaskulárne postihnutia (najmä tromboembolické príhody) a v HK 2020 nie sú hodnotené.

Naproti tomu mierne zvýšené hladiny HCY (mierna hyperHCY) bola definovaná ako koncentrácia 15–30 $\mu\text{mol/l}$ HCY v plazme sú spojené s kardiovaskulárnymi ochoreniami, vrátane ischemickej choroby srdca, cerebrovaskulárnych ochorení a ischemickej choroby dolných končatín.

Z populačného hľadiska je mierna hyperhomocysteínémia významnejšia ako vysoká, pretože má vyššiu prevalenciu a na rozdiel od vysokej je asymptomatická [9]. Príčiny miernej hyperhomocysteínémie možno rozdeliť na genetické a ostatné. Genetické poruchy sa môžu vyskytovať jednak v homozygotnej forme, vtedy sú však príčinou ťažkého klinického syndrómu – homocystinúrie, v heterozygotnej forme sa jedná hlavne o mutáciu génu pre 5,10-metyléntetrahydrofolát reduktázu, ktorá asociuje s inými faktormi, ako je nedostatočný

príjem kyseliny listovej, vitamínov B₆ a B₁₂, renálna insuficiencia alebo nefropatia, lieková toxicita (tab. 1).

Liečba miernej hyperhomocysteínémie neprináša klinický benefit pre pacientov.

Vymedzenie rámca homocysteínového konsenzu 2020

- Homocysteínový konsenzus 2020 sa týka pacientov s kardiovaskulárnymi ochoreniami (vznik, progresia a rekurencia ischemickej choroby srdca, fatálne i nefatálne infarkty myokardu, chronické srdcové zlyhanie, ischemická choroba dolných končatín, disekcia aorty, venózne trombózy a tromboembolické príhody, fatálna aj nefatálna náhla cievna mozgová príhoda, artériová hypertenzia, celková kardiovaskulárna mortalita).
- Homocysteínový konsenzus 2020 pojednáva o ľahkej a stredne závažnej hyperhomocysteínémii (15–99 $\mu\text{mol/l}$) bez ohľadu na pôvod (nutrične, epigeneticky, geneticky – platí pre heterozygotickú formu – podmienenú hyperHCY).
- Homocysteínový konsenzus 2020 využíva princípy EBM a odporúčania sú hodnotené ako trieda odporúčení I–III a úroveň dôkazov A–C.

Význam homocysteínu

Homocysteín je sulfhydrylová aminokyselina obsahujúca síru a je intermediárnym metabolitom metionínu. HCY objavil nositeľ Nobelovej ceny de Vigneaud v roku 1934. V roku 1962 bola opísaná vrodená hyperHCY u mentálne retardovaných detí, pričom ďalšie práce ukázali okrem iného postihnutia aj výskyt arteriálnej aj venózne trombózy [10,11]. Až roku 1989 sa zistilo, že už mierne zvýšená koncentrácia homocysteínu v krvi je úzko spätá s výskytom predčasnej aterosklerózy a recidivujúcich tromboembólií [12,13].

V 90. rokoch minulého storočia vzniká tzv. homocysteínová teória aterosklerózy založená na početných experimentálnych a observačných štúdiách, ktoré nachádzali hyperHCY v takmer všetkých metabolických cestách potencujúcich aterosklerotický proces. Experimentálne a humánne štúdie dokumentujú, že akútna hyperHCY navodená zvýšenou hladinou metionínu indukuje endotelálnu dysfunkciu, akceleruje progresiu aterosklerotického plátu a podporuje protrombogénnu stav [14].

HCY multifaktoriálne zhoršuje funkciu endotelu cestou oxidácie lipoproteínov s nízkou denzitou [15], zvýšením adhézie monocytov na cievnú stenu, zvýšeným spätným vychytávaním lipidov a ich uskladnením v stene cievy, aktiváciou zápalu, stimuláciou proliferácie hladkej svaloviny ciev, aktiváciou koagulačných faktorov a trombocytovou dysfunkciou [16].

Početné prierezové epidemiologické štúdie jednoznačne dokazujú, že zvýšená hladina HCY je priamoúmerne asociovaná so zvýšenou kardiovaskulárnou morbiditou a mortalitou rovnako u mužov a žien [17–19]. Hladiny homocysteínu sú vyššie u pacientov s dokázanou ischemickou chorobou srdca v porovnaní s klinicky zdravou populáciou. Podľa pô-

Tab. 1 | Determinanty zvýšenej hladiny homocysteínu

genetické faktory (doteraz je známych cca 70 rôznych defektov metabolizmu HCY s heterozygónnym výskytom 1/150 osôb)	hlavné regulačné enzýmy	defekty cystation beta syntázy defekty metionínsyntázy 5 metyléntetrahydrofolát reduktáza MTHFR 677CT [34] metyléntetrahydrofolát reduktáza MTHFR 1298A>C (AA, CC) metyléntetrahydrofoláthomocysteínmetyltransferáza MTR 2756A>G [25] metionín syntáza reduktáza MTRR 66A>G [28]	
	vedľajšie regulačné enzýmy	cystation beta-syntázy CBS 884ins68 (WW, WI) betaín-homocysteínin metyltransferáza (BHMT) metionín adenosyltransferáza IA (MATIA) S-adenosyl-L-homocysteín hydroláza (AHCY) cystationín-β-lyáza (CBL)	
	faktory životného štýlu (hladiny homocysteínu rýchle/v dňoch reagujú na faktory životného štýlu)	nevhodné nutričné faktory	deficit folátu, vitamínov skupiny B, diéta s nízkym obsahom ovocia, zeleniny a cereálií prísne veganská diéta diéta s vysokým obsahom metionínu (napr. červené mäso, diéta s vysokým príjmom tukov, nadmerný príjem mliečnych produktov, nízka hladina betaínu, nedostatočný príjem magnézia)
			abúzy
		poruchy vstrebávania alebo metabolizmu HCY	
		ochorenia	malignity
	neurodegeneratívne ochorenia		demencia a Alzheimerova choroba, psychózy (schizofrénia, ataxie, epilepsia, senzorické i motorické periférne neuropatie, senzineurálna strata sluchu, makulárna degenerácia, zhoršovanie kognitívnych funkcií, fibromyalgia a únavový syndróm)
	teratogenita, vývojové vady a pôrodné komplikácie		defekty neurálnej trubice – najmä typu spina bifida, orofaciálne rozštepky, vývojové vady končatín, vitium cordis, spontánne aborty, placentárne vaskulopatie, preeklampsia
iné	diabetes mellitus a jeho komplikácie: kardiovaskulárne komplikácie, retinopatia, neuropatia reumatoidná artritída, chronické zápalové ochorenia vo všeobecnosti, ťažká psoriáza; osteoporóza, eklampsia		
lieky	inhibítory dihydrofolát dehydrogenázy	látky principiálne fungujúce ako antimetabolity kyseliny listovej – cytostatiká – metotrexát* a príbuzné látky (pralatreaxát, trimetrexát), piritrexin, talotrexin, chemoterapeutiká, kotrimoxazol, z antiepileptík lamotrigín	
	inhibítory dostupnosti folátu (znížením vstrebávania alebo zvýšením eliminácie)	diuretiká, viaceré antiepileptiká, estrogény (antikoncepcia), cholestyramín	
	interferencia s vitamínom B ₁₂	lieky znižujúce tvorbu HCl v žalúdku, antihistaminiká, inhibítory protónovej pumpy, metformín, kolchicín	
	inhibícia iných enzýmov a transportérov osi folát-homocysteín-metionín	nesteroidné antireumatiká, sulfasalazín, metotrexát a jeho deriváty	
	antagonisty vitamínu B ₆	syntofylín, azarabín, nikotín	
neovplyvniteľné faktory	vek a pohlavie	donory NO, biguanidy (metformín), psychofarmaká (fentyoín, karbamazepín, levodopa), hypolipidemiká (niacín, fenofibrát, kolestipol), imunosupresíva (cyklosporín), viaceré ATB a antimalariká (trimetoprim, kliočinol)	
		doteraz nie je jednoznačne jasná ich vzťah k HCY – u žien nekonzistentne nachádzame o 1–2 μmol/l nižšiu hladinu; hladina HCY paralelne s vekom mierne stúpa [17]; nie je zrejme, či obidve závislosti nie sú len odrazom nesprávneho, resp. odlišného stravovania u mužov [8,35–37]	

vodných odhadov sa HCY mal podieľať asi 10 % na celkovej úmrtnosti na kardiovaskulárne ochorenia ako sú infarkt myokardu alebo mozgová porážka. Vzostup homocysteínu o 5 $\mu\text{mol/l}$ bol asociovaný so zvýšením rizika KV-príhod o 20 % [9].

Prevalencia hyperHCY je vo všeobecnej populácii cca 5 % a u pacientov s klinicky manifestnými prejavmi aterosklerózy sa pohybuje medzi 14–47 %. Na Slovensku prvé výsledky u pacientov s preknaným IM publikovali Rašlová et al, ktorí zistili asi 30% výskyt, výsledky Lietavu et al potvrdzujú tieto vysoké hodnoty u pacientov s dokumentovanou ICHS, ako aj u bežnej populácie. Ďalšie štúdie potvrdili aj relatívne vysoké hladiny u rómskej populácie a u osôb s defektom génu pre C677T metyléntetrahydrofolát reduktázu HFR) [20–23]

HCY a aterosklerotické postihnutie cievneho systému je však stále kauzálne nejasné a vynára sa čoraz viac publikácií, ktoré kauzalitu spochybňujú [16,24] a jedným z určujúcich faktorov sa javí nízka hladina folátov. Prospektívna štúdia Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor demonštrovala, že nízke hladiny folátov predikovali výskyt KV-príhod nezávisle od hladín HCY [18,25].

Tzv. homocysteínová hypotéza bola zásadne spochybená absenciou priameho dôkazu priaznivého efektu poklesu KV-mortality a morbidity po diétnom alebo medikamentóznom znížení HCY [26].

Veľké prospektívne klinické štúdie (tab. 2) jednoznačne preukázali, že zníženie hladiny HCY nie je adekvátne spojené zo znížením mortality a morbidity a KV-ochorenia.

Komisia Spojených štátov pre prevenciu [27] publikovala v roku 2009 metaanalýzu vplyvu nových rizikových faktorov na koronárnu chorobu srdca a konštatovala, že ani jedna populačná prospektívna štúdia nedokázala prínos zníženia HCY na KV-príhody [27].

Odporúčenia Japonskej aterosklerotickej spoločnosti pre diagnostiku a prevenciu aterosklerotických KV-ochorení zaraďujú homocysteín do skupiny rizikových markerov alebo faktorov hodných zváženia bez bližšej špecifikácie. Konštatujú, že existuje priamoúmerná asociácia hyperHCY s ICHS a NCMP ako aj so zvýšeným relatívnym rizikom pre IM, ale chýba efekt zníženia HCY na KV-mortalitu a morbiditu [28].

Je zrejme, že vzťah medzi KV-ochoreniami a HCY je voľný a skreslený početnými interferujúcimi faktormi, ako je nízka hladina folátu, vitamínov B₆ a B₁₂, ako aj faktormi ovplyvňujúcimi vstrebávanie vitamínov v tráviacom trakte (napr. chronická antrumgastritída) a ich vylučovanie obličkami (napr. pri chronickej renálnej insuficiencii).

Hodnotenie postavenia homocysteínu pre prognózu pacienta však dosiaľ nie je definitívne.

Komisia Spojených štátov pre prevenciu poukázala aj na skutočnosť, že ak sa hyperHCY zakalkuluje do Framinghamského skórovacieho systému, potom každý vzostup Hcy o 5 $\mu\text{mol/l}$ zvyšuje riziko KV-príhod o 9 % nezávisle od ostatných rizikových faktorov [27]. Analogickú retrospektívnu analýzu realizovali Veeranna et al na populáciách zaradených do štúdií The Third National Health and Nutrition

Examination Survey, (NHANES III – 6 797 osôb) a Multiethnic Study on Atherosclerosis (MESA – 6 814 osôb) [29] a opäť potvrdili prínos zvýšenej hladiny HCY pre identifikáciu osôb s vysokým rizikom – hladiny > 15 $\mu\text{mol/l}$ viedli k reklasifikácii cca 15 % osôb vo všeobecnej populácii a cca 20 % osôb so stredne zvýšeným KV-rizikom. Paynterová a Cooková poukázali na modeli odvodenom z reprezentatívnej štúdie Women's Health, že zakomponovanie homocysteínu do predikcie KV-rizika zvýši schopnosť identifikovať ohrozené osoby v skupine s intermediálnym rizikom, ale nie vo všeobecnej populácii [30].

Doteraz však platí, že neexistuje cieľená štúdia, ktorá by sledovala efekt liečby HCY na reklasifikovanú populáciu so stredne zvýšeným rizikom [27].

Swiss Heart Study [31] sledovala potrebu reintervencie po úspešnej angioplastike u pacientov so signifikantnou stenózou koronárnych artérií. V randomizovanej dvojito slepej placebom kontrolovanej štúdií dokázali v intervenovanej skupine pokles potreby opakovanej intervencie. Masívna liečba znížila priemernú hladinu HCY na 7,5 $\mu\text{mol/l}$, čo sa nepodarilo iným štúdiám.

Holmesová et al vydali v roku 2011 odporúčania pre príjem folátu s ohľadom na prevenciu NCMP aj so zohľadnením MTHFR genotypu, kde konštatovali, že štúdie v krajinách s vysokým príjmom folátu nepreukázali prínos liečby zameranej na zníženie homocysteínu. Metaanalýza štúdií zohľadňujúcich varianty MTHFR-677C→T ukázala, že zníženie HCY je asociované s výraznejším poklesom NCMP iba v krajinách s nízkymi hladinami folátu (RR 0,78; 95% CI 0,68–0,90), v krajinách s vysokými hladinami je prínos neistý (RR = 0,94; 95% CI 0,85–1,04). Suplementácia resp. liečba pacientov s genetickými variantmi nemala výraznejší vplyv na NCMP, ale panel upozorňoval na riziko biasu dané nízkym počtom sledovaných osôb [32,33].

Metabolizmus a determinanty hladín homocysteínu

Homocysteín je aminokyselina vznikajúca demetyláciou metionínu, ktorý sa prijíma v potrave vo forme živočišných bielkovín. K metabolizmu HCY sú potrebné kofaktory (folát, vitamíny B₆ a B₁₂), ktorých prítomnosť alebo nedostatok, či dokonca absencia, určujú cestu jeho odbúrania

- remetyláciou na metionín za prítomnosti kofaktorov folátu a kyanokobalamínu alebo
- trans-sulfuráciou na cysteín a jeho následné vylúčenie močom za účasti pyridoxínu

Zvýšená homocysteínémia môže byť podmienená rôznorodými faktormi, ktoré vytvárajú často protikladnú štruktúru mechanizmov, vedúcich k hyperHCY. Tab. 1 sumarizuje najčastejšie faktory.

Odber a meranie hladín homocysteínu

Hladiny HCY merané za štandardných podmienok nalačno majú vysokú reprodukcibilitu (rozdíly menej ako 7 %) a jednorazový odber má dostatočnú výpovednú hodnotu. Nutné

je rýchle spracovanie odberu – za každú hodinu skladovania pri izbovej teplote stúpa hladina HCY o 10 %. Optimálny je odber do ľadu a rýchla analýza vzorky.

Stanovenie homocysteínu v moči pre hladiny definované v týchto odporúčaní nemá význam, pretože iba < 1 % HCY sa nachádza v moči po filtrácii v obličkách – klinicky relevantná homocysteínúria je prítomná u homozygotných foriem, ktorých sa HK 2020 netýka.

Výpovedná hodnota metionínového záťažového testu oproti štandardnému odberu nalačno nebola definitívne určená. Vhodná je súčasná analýza jednotlivých kofaktorov metabo-

lizmu (kyselina folová, vitamíny B₆ a B₁₂), ktorá poskytuje informácie o ceste odbúravania metionínu, resp. homocysteínu [11–14].

Analogicky ako u cholesterolu aj normálna hladina homocysteínu bola určená arbitrárne a tiež môžeme očakávať posun smerom nadol. Hladiny homocysteínu sú klasifikované nasledovne:

- normálna hladina < 15 µmol/l
- mierne zvýšená 15–30 µmol/l
- stredne zvýšená 30–100 µmol/l
- ťažká > 100 µmol/l

Tab. 2 | Prehľad klinických štúdií v sekundárnej prevencii zameraných na zníženie hladín homocysteínu

autor/ AKRONYM	populácia	počet	dĺžka	liečba	výsledok	podskupinová analýza
VISP [45]	ischemická NCMP	2 124	24 m	vitamíny skupiny B	NA	predikcia NCMP a koronárnej choroby srdca
VISP [46]	ischemická NCMP	1 827 1 853	24 m	VD: 25 mg B ₆ + 0,4 mg B ₁₂ + 25 mg folátu ND: 0,2 mg B ₆ + 6 µg B ₁₂ + 20 µg kys. listovej	RR pre reNCMP 1,0 hraničný efekt v ND skupine pre ICHS	
NORVIT [47]	st.p. IM	3 749	40 m	0,8 mg folátu + 0,4 mg B ₁₂ + 40 mg B ₆ 0,8 mg folátu + 0,4 mg B ₁₂ 40 mg B ₆ placebo	RR pre reIM, NCMP, náhlu smrť = 1,22 (1,00–1,50) RR pre reIM, NCMP, náhlu smrť = 1,08 (0,93–1,25) RR pre reIM, NCMP, náhlu smrť = 1,14 (0,98–1,32)	hranične významný vzostup všetkých príhod pri multivitaminovej liečbe
HOPE 2 [48]	cievne príhody alebo DM	5 522		2,5 mg folátu + 50 mg B ₆ + 1 mg B ₁₂ placebo	multivitaminová liečba neprináša prospech RR pre KV-smrť: 0,96 (0,81–1,13) RR pre IM: 0,98 (0,85–1,14) RR pre NCMP: 0,75 (0,59–0,97) RR pre IAP: 1,24 (1,04–1,49)	
SEARCH [15]	st.p. IM	12 064	80 m	2 mg/deň folátu + 1 mg/deň B ₁₂ placebo	RR pre závažné cievne príhody: 1,04 (0,97–1,12) RR pre závažné koronárne príhody: 1,04 (0,97–1,12) RR pre NCMP: 1,05 (0,97–1,13) RR pre nekoronárnu revaskularizáciu: RR 1,02 (0,86–1,21) RR 1,18 (0,95–1,46)	smrť z vaskulárnych príčin: vitamíny 578 (9,6%) vs placebo 559 (9,3%) alebo smrť z nevasculárnych príčin: vitamíny 405 (6,7%) vs placebo 392 (6,5%) alebo incidencia rakoviny: vitamíny 678 (11,2%), vs placebo 639 (10,6%)
WAFACS [49]	KV alebo 3 RF	5 442 žien	87 m	folát 2,5 mg/deň + B ₆ 50 mg/deň + B ₁₂ 1 mg placebo	IM+NCMP+koronárna revaskularizácia	kompozitný cieľ 1,03 (0,9–1,19)
VITATIPS [50]	NCMP, TIA	8 164	40 m	folát 2 mg/deň + B ₆ 25 mg + B ₁₂ 0,5 mg placebo	IM + NCMP + KV-smrť: 0,91 (0,82–1,00)	kompozitný cieľ 0,91 (0,8–1,0)
Wang et al [51]	NCMP	meta-analýza		folát, fortifikovaná múka		redukcia NCMP: 0,82 (0,68–1,00) u pacientov s poklesom HCY: ≤ 20 %

B₆ – vitamín B₆ B₁₂ – vitamín B₁₂ DM – diabetes mellitus ICHS – ischemická choroba srdca folát – kyselina listová IM – infarkt myokardu KV – kardiovaskulárna m – mesiac ND – nízke dávkovanie NCMP – náhla cievna mozgová príhoda RF – rizikové faktory RR – relatívne riziko TIA – tranzitórny ischemický atak VD – vysoké dávkovanie

Vo viacerých intervenčných štúdiách a ich metaanalýzach boli arbitrárne použité hodnoty menej ako 6,3, resp. 8 $\mu\text{mol/l}$, ktoré boli asociované so signifikantnou redukciovou KV-príhod [8,14,38].

Základnou metódou pre stanovenie plazmatických hladín homocysteínu je plynová chromatografia (HPLC), v posledných rokoch za však začínajú používať aj ďalšie metódy, ako je enzýmová imunoesej (EIA) – stanovenie, ktoré je podstatne lacnejšie a menej prácne. Pri porovnávaní jednotlivých metód HPLC aj špičkové pracoviská udávajú vysokú variabilitu jednak medzi použitými metódami a jednak pri opakovaných odberoch. Rozdiely medzi metódami i medzi dňami zvyčajne nepresahovali 10 %, ale vo výnimočných prípadoch boli konštatované až 5 mikromolové rozdiely [39]. Všeobecne platí, že HPLC vykazuje najvyššie namerané hodnoty HCY a EIA metóda poskytuje nižšie hodnoty aj pri dodržaní všetkých laboratórnych metodologických postupov [40].

Ďalšie používané metódy zahŕňajú kapilárnu elektroforézu, plynovú chromatografiu – hmotovú spektrografiou, imunoeseje. Vzhľadom na značné rozdiely medzi jednotlivými metódami je používať u individuálneho pacienta tú istú metódu pre posudzovanie dynamiky zmien hladiny HCY.

Liečba hyperhomocysteinémie

Závislosť hladiny HCY na nadmernom príjme živočíšnych bielkovín a nedostatočnom príjme ovocia a zeleniny, resp. kyseliny folovej, vitamínov B₆ a B₁₂ priamo predurčovala homocysteín ako ľahko ovplyvniteľný rizikový marker pre redukciovú KV-príhod.

Výsledky intervenčných aj observačných štúdií ale potvrdzujú, že zvýšené hodnoty HCY asociujú s KV-ochoreniami, ale nepodporujú suplementáciu folátom vitamínom B₁₂ alebo B₆ za účelom redukciovú KV-príhod a neprinášajú dôkazy o prospechu pre pacienta.

Určitý benefit možno očakávať u nízko folátovej populácie zo zvýšeným KV-rizikom, ale dôkazy sú iba na úrovni IIIC – jednotlivé prípadové štúdie.

Hodnotenie redukciovú HCY nie je definitívne jasné – objavili sa analýzy naznačujúce, že viaceré intervenčné štúdie nedosiahli efektívne zníženie hladiny HCY < 6,3, resp. 8 $\mu\text{mol/l}$,

resp. o 20 %, nezohľadňovali pacientov s normálnymi vstupnými hladinami HCY, pacientov so zníženými renálnymi funkciami alebo zhoršeným vstrebávaním HCY, čím sa skreslil celkový účinok intervencie.

Napr. Flicker et al zistili, že v skupine 299 seniorov starších 75 rokov suplementácia vitamínmi B₆, B₁₂ a kyselinou folovou počas 2 rokov znižovania HCY u tých seniorov, ktorí mali pri vstupe do štúdie najväčší deficit daných vitamínov a najvyššie hladiny HCY [41].

Situáciu by mohli objasniť nové populačné štúdie s novým dizajnom, ktoré však neboli dosiaľ iniciované.

Odporúčania pre prax

Intervencia podľa súčasných poznatkov EBM nie je indikovaná a panel odborníkov zastáva nasledujúce stanovisko do praxe pre liečbu a prevenciu KV-ochorení.

- Preventívne podávanie multivitamínov pre zníženie hladiny HCY podľa doterajších vedomostí založených na EBM vo všeobecnej populácii nemá podporu. Populačný skrining nie je indikovaný.

trieda odporúčaní III, úroveň dôkazov A (tab. 3)

- Terapeutické podávanie multivitamínov pre zníženie hladiny homocysteínu podľa doterajších vedomostí založených na EBM v populácii pacientov v sekundárnej i a terciárnej prevencii nemá význam. Populačný skrining nie je indikovaný.

trieda odporúčaní III, úroveň dôkazov A (tab. 3)

- Nebol dostatočne preskúmaný prínos stanovenia HCY pri rozhodovaní o začatí antihypertenzívnej alebo hypolipidemickej liečby. Populačný skrining nie je indikovaný, iba vyšetrenie u individuálneho pacienta.

trieda odporúčaní IIb, úroveň dôkazov A (tab. 3)

U individuálnych pacientov podľa bodu 7 v HK 2020 je postup založený iba na individuálnom rozhodnutí lekára, ktorý uváži potrebu znížiť hladinu HCY a liečbu by mal riadiť nasledujúcimi zásadami:

- Úprava behaviorálnych faktorov (prestať fajčiť, v prípade potreby znížiť príjem alkoholu a kofeínu, obmedziť jedlá bohaté na metionín (najmä červené mäso) [42].

Tab. 3 | Trieda odporúčaní a úroveň dôkazov použité pre hodnotenie postavenia homocysteínu

trieda	definícia	použitie
I	dôkaz alebo všeobecný súhlas, že uvedená liečba alebo postup sú prospešné, užitočné a efektívne	je odporúčané alebo indikované
II	protichodné dôkazy alebo rozporné názory o užitočnosti/efektivite uvedenej liečby alebo postupu	
IIa	váha dôkazov/názorov je na strane pre užitočnosť/efektívnosť	má byť zvážené
IIb	užitočnosť/efektivita je nedostatočne podporená dôkazmi/názormi	môže byť zvážené
III	dôkazy alebo všeobecný súhlas poukazuje, že uvedená liečba alebo postup nie je užitočný/efektívny a v niektorých prípadoch môže byť škodlivý	nie je odporúčané
úroveň dôkazov		
úroveň dôkazov A	dáta získané z viacerých randomizovaných klinických štúdií alebo z metaanalýz	
úroveň dôkazov B	dáta získané z jednej randomizovanej klinickej štúdie alebo viacerých nerandomizovaných štúdií	
úroveň dôkazov C	konsenzus expertov alebo dáta z malých štúdií, retrospektívnych štúdií, registrov	

U pacienta so sedanterizmom alebo nadváhou zredukoval hmotnosť a zvýšil fyzickú aktivitu podľa doterajších odporúčaní pre prevenciu KV-ochorení – dlhodobý vytrvalostný tréning znižuje hladiny HCY [43].

CAVE! Pri metaanalýze vplyvu záťaže na homocysteín, jednorazové aeróbne cvičenie zvyšuje hladiny HCY o 1,18 $\mu\text{mol/l}$ (95% CI 0,71–1,65) a vytrvalostný tréning s nízkou až strednou intenzitou paradoxne až o 1,39 $\mu\text{mol/l}$ (95% CI 0,9–1,89). Na druhej strane rezistentný tréning znižuje plazmatické koncentrácie homocysteínu o 1,53 $\mu\text{mol/l}$ (95% CI 2,77–0,28) [34,44].

- Intervencia folátom a vitamínmi skupiny B má byť realizovaná až po stanovení deficitu jednotlivých vitamínov. Uprednostniť zmenu diéty na stravovacie návyky s vysokým obsahom chýbajúcich vitamínov pred paušálnou vitamínovou suplementáciou.
- Až po zlyhaní úpravy životosprávy je možné použiť vitamínovú suplementáciu v rozsahu dávkovania, ktoré bolo použité v prospektívnych štúdiách a znižovalo HCY (tab. 2) Pomerné dávkovanie jednotlivých vitamínov nebolo sledované a dávky sa pohybovali v nasledovnom rozsahu:

kyselina folová 100–1000 $\mu\text{g}/\text{deň}$

vitamín B₁₂ 2,4–5 $\mu\text{g}/\text{deň}$

pyridoxín 10–20 mg/deň

Cave! V metaanalýze intervenčných štúdií s folátom, vitamínom B₆ a B₁₂ nevykazovalo podávanie B₆ prídavný účinok na zníženie hladín sérového homocysteínu (folát znižoval o 25 % a pridanie vitamínu B₁₂ o ďalších 7 %). Navyiac v poslednom období je intenzívne diskutovaná otázka bezpečnosti podávania liekov a výživových doplnkov obsahujúcich vitamín B₆ vo forme vitaméru pyridoxínu, ktorého chronické podávanie je spojené s rizikom senzorickej neuropatie až neurotoxicity aj pri užívaní nízkych dávok (1,5 mg).

Dĺžka terapie ani jej preventívny účinok nie sú známe, bezpečnosť je overená na úrovni sledovania vedľajších účinkov a dĺžky trvania publikovaných randomizovaných klinických štúdií.

Málo početné a nedostatočne výpovedné štúdie poukazujú, že homocysteín sú schopné znížiť aj ďalšie farmakologicky účinné látky, resp. nutraceutiká: N-acetyl-cysteín (NAC), omega-3-mastné kyseliny, taurín, trimetylglycín (v minulosti nazývaný betain), cholín, vitamín B₂ (riboflavín). Ich dlhodobé používanie vo vzťahu k HCY nebolo dosiaľ sledované a nemôže byť zatiaľ ani odporúčané.

Literatúra

- Lietava J, Dukát A, Blažiček P et al. Návrh na homocysteínový konsenzus. *Cardiol* 2003; 12(3): K/C 42–46.
- Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K et al. DACH-LIGA homocystein (german, austrian and swiss homocysteine society): consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(11): 1392–1403. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1515/CCLM.2003.214>>.

- Refsum H, Smith AD, Ueland PM et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50(1): 3–32. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2003.021634>>.
- Stehouwer CD, van Guldener C. Does homocysteine cause hypertension? *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(11): 1408–1411. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1515/CCLM.2003.216>>.
- Chamberlain K. Homocysteine and cardiovascular disease: a review of current recommendations for screening and treatment. *J Am Acad Nurse Pract* 2005; 17(3): 90–95. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1041-2972.2005.0016.x>>.
- Mosca L, Banka CL, Benjamin EJ et al. Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women: 2007 update. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49(11): 1230–1250. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2007.02.020>>.
- Teramoto T, Sasaki J, Ishibashi S et al. Cardiovascular disease risk factors other than dyslipidemia. Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan – 2012 version. *J Atheroscler Thromb* 2013; 20(10): 733–742. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.5551/jat.17368>>.
- Guilliams TG. Homocysteine – a risk factor for vascular diseases: Guidelines for the clinical practice. *JANA* 2004; 7(1): 11–21.
- Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS et al. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274(13): 1049–1057. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1001/jama.1995.03530130055028>>.
- Gerritsen T, Waisman HA. Homocystinuria, an error in the metabolism of methionine. *Pediatrics* 1964; 33: 413–20.
- Carson NA, Neill D. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arch Dis Child* 1962; 37: 505–513. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/adc.37.195.505>>.
- Ueland P, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; 114(5): 473–501.
- Ueland P, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for premature vascular disease. Plasma levels in healthy persons; during pathologic conditions and drug therapy. *Nord Med* 1989; 104(11): 293–298.
- Bolander-Gouaille C. Focus on Homocysteine and the Vitamins Involved in its metabolism: Involved in Its Metabolism: Springer Science & Business Media: 2002. ISBN 978-2-8178-0845-1.
- Armitage J, Bowman L, Wallendszus K et al. [Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine (SEARCH) Collaborative Group]. Intensive lowering of LDL cholesterol with 80 mg versus 20 mg simvastatin daily in 12,064 survivors of myocardial infarction: a double-blind randomised trial. *Lancet* 2010; 376(9753): 1658–1669. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60310-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60310-8)>.
- Kaul S, Zadeh AA, Shah PK. Homocysteine hypothesis for atherothrombotic cardiovascular disease: not validated. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48(5): 914–923. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2006.04.086>>.
- Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354(9176): 407–413. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)11058-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(98)11058-9)>.
- Voutilainen S, Lakka T, Porkkala-Sarataho E et al. Low serum folate concentrations are associated with an excess incidence of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Eur J Clin Nutr* 2000; 54(5): 424–428. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600991>>.
- Voutilainen S, Lakka T, Hämelehti P et al. Plasma total homocysteine concentration and the risk of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Int J Intern Med* 2000; 248(3): 217–222. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2796.2000.00741.x>>.
- Gašparovič J, Rašlová K, Bašistová Z et al. Effect of C677T methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism on plasma homocysteine levels in ethnic groups. *Physiol Res* 2004; 53(2): 215–218.
- Rašlová K, Smolková B, Vohnout B et al. Risk factors for atherosclerosis in survivors of myocardial infarction and their spouses: comparison to controls without personal and family history of atherosclerosis. *Meta-*

- bolism 2001; 50(1): 24–29. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1053/meta.2001.19499>>.
22. Lietava J, Dukát A, Kotrec M et al. Relationship of absolute risk of atherosclerosis to hyperhomocysteinemia in Slovak males after myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2000; 151(1):107. Dostupné z DOI: <[https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(00\)80484-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(00)80484-0)>.
23. Lietava J, Dukát A, Fodor G. Homocysteine Slovakia study: study design and occurrence of hyperhomocysteinemia and other risk factors. *Bratisk Lek Listy* 2012; 113(2): 80–86.
24. Smulders YM, Blom HJ. The homocysteine controversy. *J Inher Metab Dis* 2011; 34(1): 93–99. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10545-010-9151-1>>.
25. Voutilainen S, Virtanen JK, Rissanen TH et al. Serum folate and homocysteine and the incidence of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(2): 317–323. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/80.2.317>>.
26. Martí Carvajal AJ, Sola I, Lathyris D et al. Homocysteine lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev* 2017; 8: CD006612. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD006612.pub5>>.
27. Helfand M, Buckley DI, Freeman M et al. Emerging risk factors for coronary heart disease: a summary of systematic reviews conducted for the US Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2009; 151(7): 496–507.
28. Teramoto T, Sasaki J, Ishibashi S et al. Executive summary of the Japan Atherosclerosis Society (JAS) guidelines for the diagnosis and prevention of atherosclerotic cardiovascular diseases in Japan—2012 version. *J Atheroscler Thromb* 2014; 21(4): 291–295. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.5551/jat.19711>>.
29. Veeranna V, Zalawadiya SK, Niraj A et al. Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk. *J Am Coll Cardiol* 2011; 58(10): 1025–1033. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2011.05.028>>.
30. Paynter NP, Cook NR. Adding tests to risk based guidelines: evaluating improvements in prediction for an intermediate risk group. *BMJ* 2016; 354: i4450. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1136/bmj.i4450>>.
31. Schnyder G, Roffi M, Flammer Y et al. 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(8): 973–979. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1001/jama.288.8.973>>.
32. Holmes MV, Newcombe P, Hubacek JA et al. Effect modification by population dietary folate on the association between MTHFR genotype, homocysteine, and stroke risk: a meta-analysis of genetic studies and randomised trials. *Lancet* 2011; 378(9791): 584–594. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60872-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60872-6)>.
33. Clarke R, Bennett DA, Parish S et al. Homocysteine and coronary heart disease: meta-analysis of MTHFR case-control studies, avoiding publication bias. *PLoS Med* 2012; 9(2): e1001177. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1001177>>.
34. Vincent KR, Braith RW, Bottiglieri T et al. Homocysteine and lipoprotein levels following resistance training in older adults. *Prev Cardiol* 2003 Fall; 6(4): 197–203. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1520-037x.2003.01723.x>>.
35. Pizzorno J. Homocysteine: Friend or Foe? *Integr Med (Encinitas)* 2014; 13(4): 8–14.
36. Kumar A, Palfrey HA, Pathak R et al. The metabolism and significance of homocysteine in nutrition and health. *Nutr Metab (Lond)* 2017; 14: 78. Dostupné z DOI: <<http://10.1186/s12986-017-0233-z>>.
37. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J* 2015; 14: 6. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1186/1475-2891-14-6>>.
38. Broxmeyer L. Heart disease: the greatest risk factor of them all. *Med Hypotheses* 2004; 62(5): 773–779. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2003.12.018>>.
39. Dias V, Bamforth F, Forward L et al. Evaluation and intermethod comparison of the Bio-Rad high-performance liquid chromatographic method for plasma total homocysteine. *Clin Chem* 1998; 44(10): 2199–201.
40. Pfeiffer CM, Huff DL, Smith SJ et al. Comparison of plasma total homocysteine measurements in 14 laboratories: an international study. *Clin Chem* 1999; 45(8 Pt 1): 1261–1268.
41. Flicker L, Vasikaran SD, Thomas J et al. Efficacy of B vitamins in lowering homocysteine in older men: maximal effects for those with B12 deficiency and hyperhomocysteinemia. *Stroke* 2006; 37(2): 547–549. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1161/01.STR.0000198815.07315.68>>.
42. Nicoll R, Howard J, Henein M. A review of the effect of diet on cardiovascular calcification. *Int J Mol Sci* 2015; 16(4):8861–8883. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3390/ijms16048861>>.
43. Herrmann M, Schorr H, Obeid R et al. Homocysteine increases during endurance exercise. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(11): 1518–1524. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1155/CCLM.2003.233>>.
44. Deminice R, Ribeiro DF, Frajaco FT. The effects of acute exercise and exercise training on plasma homocysteine: A meta-analysis. *PLoS One* 2016; 11(3): e0151653. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0151653>>.
45. Pettigrew LC, Bang H, Chambless LE et al. [Vitamin Intervention for Stroke Prevention Investigators]. Assessment of pre-and post-methionine load homocysteine for prediction of recurrent stroke and coronary artery disease in the Vitamin Intervention for Stroke Prevention Trial. *Atherosclerosis* 2008; 200(2): 345–349. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.11.014>>.
46. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE et al. 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(5): 565–575. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1001/jama.291.5.565>>.
47. Bønaa KH, Njølstad I, Ueland PM et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 354(15): 1578–1588. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa055227>>.
48. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ et al. [Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) 2 Investigators]. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354(15): 1567–1577. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa060900>>.
49. Albert CM, Cook NR, Gaziano JM et al. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. *JAMA* 2008; 299(17): 2027–2036. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1001/jama.299.17.2027>>.
50. [VITATOPS Trial Study Group]. B vitamins in patients with recent transient ischaemic attack or stroke in the VITamins TO Prevent Stroke (VITATOPS) trial: a randomised, double-blind, parallel, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2010; 9(9): 855–865. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70187-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70187-3)>.
51. Wang X, Qin X, Demirtas H et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet* 2007; 369(9576): 1876–1882. Dostupné z DOI: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60854-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60854-X)>.