

H. Kessler¹
S. Bleich²
P. Falkai¹
T. Supprian¹

Homozystein und Demenzerkrankungen

Homocysteine and Dementia

Zusammenfassung

Homozystein stellt einen Risikofaktor für atherosklerotische Gefäßerkrankungen einschließlich zerebraler Makro- und Mikroangiopathie dar. Darüber hinaus wird auch ein Zusammenhang mit kognitiven Störungen einschließlich Alzheimer- und vaskulärer Demenz diskutiert. Eine Hyperhomozysteinämie könnte indirekter Marker eines einer kognitiven Störung zugrunde liegenden intrazellulären Vitaminmangels (Vitamin B₁₂, Vitamin B₆, Folsäure) sein, welcher aus einer verminderten Aufnahme oder aus einem gestörten Transport der Vitamine zum ZNS resultieren könnte. Eine weitere Möglichkeit ist ein direkter schädigender Einfluss von Homozystein auf die Kognition über vaskuläre und neurotoxische Pathomechanismen. Da es sich bei der Hyperhomozysteinämie möglicherweise um einen bereits vor der klinischen Manifestation kognitiver Störungen identifizierbaren und potenziell reversiblen Risikofaktor handelt, könnte durch prospektive Interventionsstudien geprüft werden, ob durch Senkung des Homozysteinspiegels mittels einer Vitaminergänzungsbildung die Inzidenz und die Progression kognitiver Störungen reduziert werden kann.

Abstract

Homocysteine is a vascular risk factor including cerebral macroangiopathy and microangiopathy. Furthermore, there might also be an association with cognitive disorders including vascular dementia and Alzheimer's disease. Hyperhomocysteinemia linked with cognitive impairment might be an indirect marker for low concentrations of vitamins B₁₂, vitamin B₆ or folate, resulting from low intake or from an impaired transport of the vitamins to the brain. Another possibility is a direct harmful effect of homocysteine to cognition via vascular and neurotoxic pathophysiologic mechanisms. Because hyperhomocysteinemia is a potentially reversible risk factor and can be identified early, it should be investigated by prospective intervention studies whether lowering homocysteine levels by vitamin supplementation could reduce incidence and progression of cognitive disorders.

Biochemische Grundlagen

Homozystein ist eine schwefelhaltige Aminosäure des Intermediärstoffwechsels, welche als potenziell toxisches Zwischenprodukt bei der Metabolisierung der essenziellen Aminosäure Methionin durch Demethylierung anfällt. Der Methioninstoff-

wechsel ist eng mit der Anwesenheit der Vitamine B₆, B₁₂ und Folsäure verbunden: Die Remethylierung von Homozystein zu Methionin wird durch das Vitamin-B₁₂-abhängige Enzym Methionin-Synthase katalysiert, wobei N₅-Methyltetrahydrofolat als Methylgruppendonator fungiert und zu Tetrahydrofolat metabolisiert wird.

Institutsangaben

¹Universitäts-Nervenlinik und Poliklinik, Psychiatrie und Psychotherapie, Homburg/Saar (Direktor: Univ.-Prof. Dr. P. Falkai)

²Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen-Nürnberg, Klinik mit Poliklinik für Psychiatrie und Psychotherapie (Direktor: Univ.-Prof. Dr. J. Kornhuber)

Korrespondenzadresse

Dr. med. H. Kessler · Universitäts-Nervenlinik und Poliklinik · Psychiatrie und Psychotherapie · Kirrberger Straße · 66421 Homburg/Saar · E-mail: nehkes@uniklinik-saarland.de

Bibliografie

Fortschr Neurol Psychiatr 2003; 71: 150–156 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0720-4299

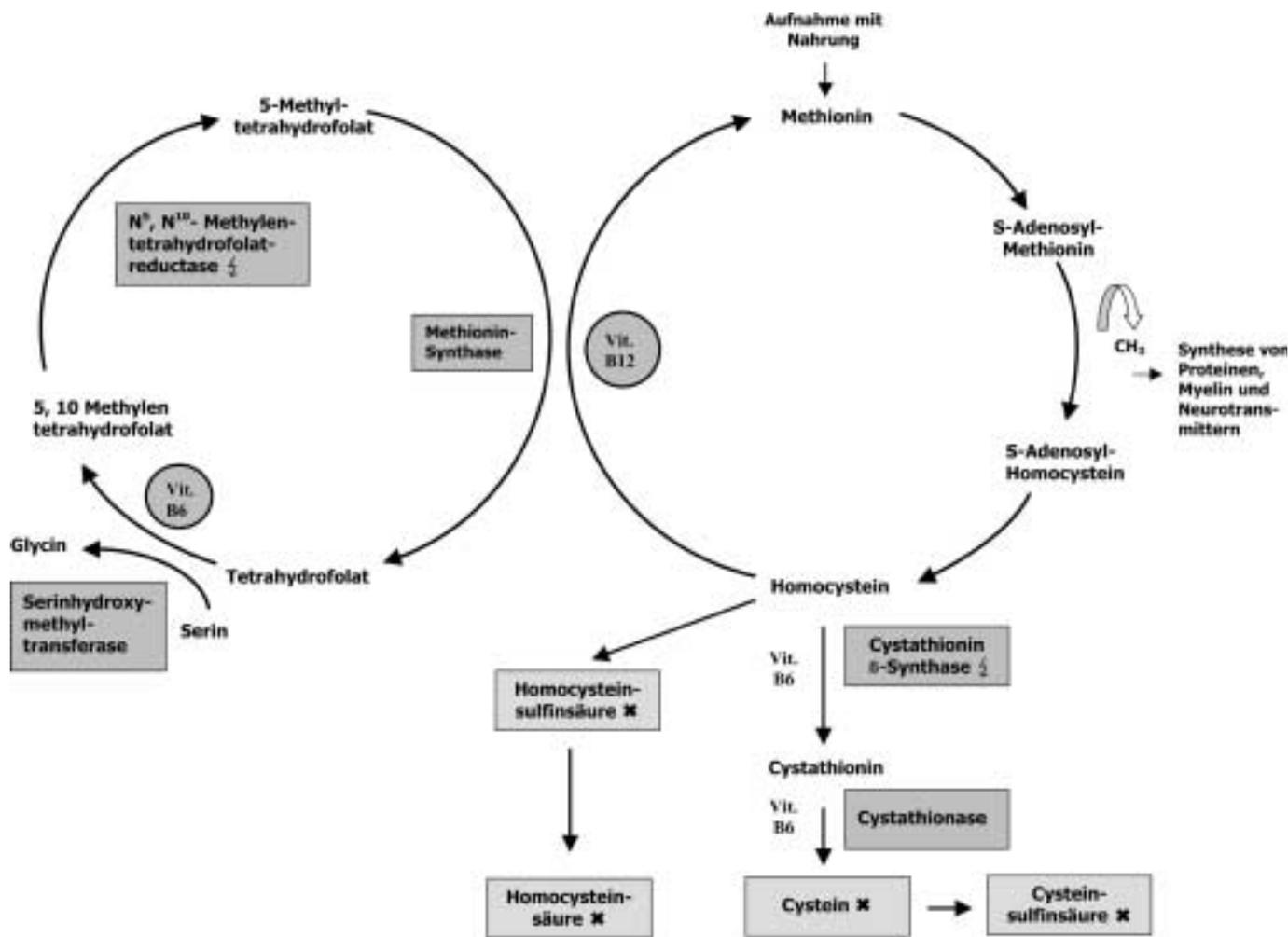


Abb. 1 Homozystein-Metabolismus. ζ = Enzyme mit häufigen genetischen Defekten. \times = Stoffwechselprodukte mit potenziell neurotoxischen Effekten.

Eine unzureichende Remethylierung von Homozystein zu Methionin führt zu einer mangelhaften Bereitstellung von Methylgruppen, welche für die Synthese von Proteinen, Myelin und Neurotransmittern benötigt werden. Nicht für die Remethylierung benötigtes Homozystein wird in einer Vitamin-B₆-abhängigen Reaktion durch das Enzym Cystathionin- β -Synthase zu Cystathionin transsulfuriert, das nach weiterem Abbau über Cystein weiter metabolisiert oder renal eliminiert wird.

Abb. 1 veranschaulicht den Homozystein-Metabolismus einschließlich der involvierten Vitamine und zeigt die häufigsten genetischen Defekte der beteiligten Enzyme sowie die bei der Metabolisierung unter Umständen anfallenden Derivate, für die neurotoxische Effekte diskutiert werden.

Ursachen der Hyperhomozysteinämie

Homozystein kommt im Blut in drei Formen vor, wobei der größte Teil (80–90%) proteingebunden ist; eine geringere Menge liegt als freie Aminosäure und Spuren liegen als Disulfid vor [1]. Normale Nüchternplasmaspiegel (Gesamthomozystein) liegen zwischen 5 und 15 $\mu\text{mol/l}$ [1, 2]. Mäßig erhöhte Homozysteinspiegel bewegen sich zwischen 16 und 30 $\mu\text{mol/l}$, intermediär erhöhte Homozysteinspiegel zwischen 31 und 100 $\mu\text{mol/l}$, eine schwere Hyperhomozysteinämie liegt bei über 100 $\mu\text{mol/l}$ vor [3]. In Populatio-

nen ohne Nachweis eines nutritiven Defizits wurde ein Referenzintervall zwischen 4,9 und 11,7 $\mu\text{mol/l}$ ermittelt [4].

Erhöhte Plasma-Homozysteinspiegel können durch eine ungenügende Aufnahme der in den Methioninstoffwechsel involvierten Vitamine (Vitamin B₆, Vitamin B₁₂, Folsäure) mit der Nahrung verursacht werden [5]. Die Messung der Plasma- bzw. Serumkonzentrationen beschreibt den Vitaminstatus im Gewebe nur unzureichend, d. h. auch bei normwertigen Plasma- bzw. Serumkonzentrationen kann ein intrazellulärer Vitaminmangel vorliegen, welcher sich über einen erhöhten Homozysteinspiegel manifestiert. Der Homozysteinspiegel im Plasma ist somit als ein sensibler Marker für ein intrazelluläres Defizit an Vitamin B₁₂ und Folsäure anzusehen [6].

Darüber hinaus können genetische Defekte der am Methioninstoffwechsel beteiligten Enzyme, wie etwa ein Defekt der Cystathionin- β -Synthase (CBS) oder der Methylen-tetrahydrofolatreduktase (MTHFR), zu einer Hyperhomozysteinämie verschiedener Schwere führen. Ein autosomal-rezessiv vererbter CBS-Defekt führt zur klassischen Homozystinurie. Polymorphismen der thermolabilen MTHFR finden sich bei etwa 5 bis 16% (homozygot, 677TT) bzw. 32 bis 40% (heterozygot, C677T) der europäischen, kaukasischen Bevölkerung [7–9]. Bei dieser MTHFR-Mutation mit Austausch der Aminosäure Alanin gegen Valin in Position 677 kommt es zu einer thermolabilen Variante

des Enzyms, welche bei 37°C zu einem Funktionsverlust von etwa 50% und konsekutiv zu einer Erhöhung des Homozysteinpiegels führt. Patienten mit der heterozygoten Form haben moderat erhöhte, Patienten mit der homozygoten Form moderat bis intermediär erhöhte Homozysteinpiegel. Das Ausmaß der Höhe des Homozysteinpiegels ist dabei stark abhängig von der Folsäure-Konzentration im Blut.

Auch ist bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (am ehesten durch eine verminderte renale Exkretion), bei Rauchern, erhöhtem Alkoholkonsum [10,11] sowie Alkoholismus [12,13], erhöhtem Kaffeekonsum und unter der Behandlung mit verschiedenen Medikamenten wie Methotrexat, Phenytoin oder Theophyllin (durch substanzspezifische Interferenzen mit den involvierten Vitaminen) über erhöhte Homozysteinpiegel im Plasma berichtet worden (Überblick bei [14]). Schließlich ist der Homozysteinpiegel positiv mit dem Lebensalter und männlichem Geschlecht korreliert [15–17].

Klinische Bedeutung erhöhter Homozysteinwerte

Als neurologisch-psychiatrische Manifestationen von Störungen der in den Methioninstoffwechsel involvierten Vitamine wurden reversible Demenzsyndrome, organische depressive Störungen, zerebrale Krampfanfälle sowie Myelopathien und Polyneuropathien beschrieben [18–20]. Goodwin u. Mitarb. [21] beschrieben eine negative Korrelation zwischen den Konzentrationen von Vitamin B₁₂, B₆ und Folsäure im Blut und der kognitiven Leistungsfähigkeit bei klinisch gesunden älteren Individuen.

1969 stellte McCully [22] erstmalig, basierend auf den Autopsiebefunden einer ausgeprägten Atherothrombose und -sklerose bei zwei Kindern mit erhöhten Plasma-Homozysteinpiegeln und Homozystinurie, die Hypothese eines Zusammenhangs zwischen Hyperhomozysteinämie und vaskulären Erkrankungen auf (Überblick bei [23]). Mittlerweile haben zahlreiche epidemiologische und prospektive Studien gezeigt, dass erhöhte Homozysteinpiegel im Plasma einen unabhängigen Risikofaktor für atherosklerotische Gefäßerkrankungen wie die Koronare Herzkrankheit [24–26], die Periphere Arterielle Verschlusskrankheit [27], aber auch für zerebrovaskuläre Erkrankungen wie atherosklerotische Veränderungen der Arteria carotis [28] und Schlaganfälle [29,30] darstellen.

Homozystein und Kognition

Derzeit werden erhöhte Homozysteinpiegel auch als kausaler Faktor im Zusammenhang mit kognitiven Störungen diskutiert, wobei die bisher zu dieser Thematik publizierten Arbeiten im Wesentlichen aus Fall-, Korrelations- und Fall-Kontroll-Studien bestehen und somit zunächst unter dem Aspekt einer niedrigen Evidenzstärke (Evidenz-Typ III gemäß AHCP [31]) zu bewerten sind; Meta-Analysen und Cochrane-Reviews liegen bislang nicht vor.

Bell u. Mitarb. [32] berichteten über eine signifikante negative Korrelation zwischen Homozysteinpiegel und kognitiver Leistungsfähigkeit bei einer Gruppe älterer depressiver Patienten. Riggs u. Mitarb. [33] fanden bei klinisch gesunden älteren Probanden der „Normative Aging Study“, dass erhöhte Homozysteinpiegel negativ mit der Fähigkeit zum Abzeichnen räum-

licher Figuren korreliert waren. Jensen u. Mitarb. [34] bestätigten diesen Zusammenhang und fanden auch eine ebensolche Korrelation mit der Leistungsfähigkeit bei Tests zu Gedächtnis und Denkvermögen. McCaddon u. Mitarb. [35] zeigten bei gesunden älteren Probanden einen inversen Zusammenhang zwischen der Höhe des Homozysteinpiegels und der konstruktiven Praxis, Morris u. Mitarb. [36] mit der Fähigkeit zum verzögerten Abrufen von verbalem Material.

Darüber hinaus wurde ein negativ-linearer Zusammenhang zwischen Homozysteinpiegel und den Ergebnissen bei kognitiven Leistungstests wie dem Mini-Mental-Status-Test (MMST) [37,38] und dem CAMCOG [39,40] beschrieben.

In der Untersuchung von Lehmann u. Mitarb. [37] hatten nicht nur die Patienten mit einer klinisch manifesten Demenz signifikant höhere Homozysteinpiegel im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe, sondern auch die Patienten mit einer leichten kognitiven Beeinträchtigung.

Vaskuläre Demenz

In Anbetracht des beobachteten Zusammenhangs zwischen Hyperhomozysteinämie und Atherosklerose ist es nicht verwunderlich, dass Faßbender u. Mitarb. [41] bei Patienten mit vaskulärer Demenz bei subkortikaler vaskulärer Enzephalopathie erhöhte Homozysteinpiegel im Vergleich zu Gesunden fanden, interessanterweise lagen jedoch die Homozysteinwerte bei diesen Patienten sogar über denen von Kontrollprobanden mit zerebraler Makroangiopathie. Die Hyperhomozysteinämie stellte in dieser Untersuchung noch vor den bekannten Risikofaktoren wie Rauchen, Hypertonie oder Hyperlipidämie den stärksten unabhängigen Risikofaktor für die subkortikale vaskuläre Enzephalopathie dar.

Demenz vom Alzheimer-Typ

Überraschender als der Zusammenhang zwischen Hyperhomozysteinämie und vaskulärer Demenz erscheinen mehrere Berichte, die auch eine Verbindung zwischen Homozystein und der Demenz vom Alzheimer-Typ (DAT) postulieren. So fanden McCaddon u. Mitarb. [39] in einer Fall-Kontroll-Studie signifikant erhöhte Homozysteinwerte bei Patienten mit klinisch diagnostizierter DAT. Ähnliche Ergebnisse zeigten die Untersuchungen von Joosten u. Mitarb. [42] und Leblhuber u. Mitarb. [43].

Clarke u. Mitarb. [44] wiesen nach, dass die Homozystein-Serumspiegel auch bei Patienten mit histopathologisch bestätigter DAT signifikant höher als die von Kontrollprobanden lagen. Hierdurch konnte ausgeschlossen werden, dass der beobachtete Zusammenhang lediglich darauf beruhte, dass klinisch statt einer vaskulären Demenz fälschlicherweise eine DAT diagnostiziert worden wäre. Patienten, deren Homozysteinpiegel im oberen Drittel der Verteilungskurve lagen (> 14 µmol/l), hatten ein zumindest zweifach erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer DAT. Ein 3-Jahres-Follow-up ergab, dass die Patienten mit den höchsten Homozysteinwerten zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung im Follow-up radiologisch die am stärksten progrediente Atrophie des medialen Temporallappens aufwiesen.

Insgesamt haben sich jedoch bislang nur wenige prospektive Studien mit einem möglichen Zusammenhang zwischen dem

Homozysteinspiegel und der Abnahme der kognitiven Leistungsfähigkeit einschließlich der Entwicklung einer Demenz beschäftigt, und die Ergebnisse sind teilweise widersprüchlich:

In der Rotterdam-Studie [45] mit 702 Probanden im Alter ab 55 Jahre wurde über einen mittleren Beobachtungszeitraum von 2,7 Jahren kein Zusammenhang zwischen dem Ausgangs-Homozysteinspiegel und einer kognitiven Verschlechterung im Verlauf gefunden, wobei als Kriterium für eine bedeutsame kognitive Verschlechterung eine Verringerung des MMST-Scores um mindestens 1 Punkt pro Jahr definiert wurde.

McCaddon u. Mitarb. [35] hingegen fanden in ihrer Untersuchung bei 32 gesunden Probanden im Alter zwischen 69 und 80 Jahren über einen Beobachtungszeitraum von 5 Jahren, dass Homozystein einen unabhängigen Prädiktor für die kognitive Leistungsfähigkeit darstellt und negativ mit Orientierung, Abruf von verbalem Material und insbesondere konstruktiver Praxis korreliert.

In der großen prospektiven Studie von Seshadri u. Mitarb. [46] bei 1092 nicht dementen Probanden mit einem Durchschnittsalter von 76 Jahren kam es während eines mittleren Beobachtungszeitraums von 8 Jahren in 111 Fällen zur Entwicklung einer Demenz, davon in 83 Fällen zu einer DAT. Die Autoren konnten zeigen, dass erhöhte Homozysteinspiegel einen starken, unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung einer Non-Alzheimer-Demenz und der DAT darstellen. Mit jeder Zunahme des Homozysteinspiegels um 5 $\mu\text{mol/l}$ stieg das Risiko für die DAT um 40%. Ein Plasma-Homozysteinspiegel im oberen Viertel der altersspezifischen Verteilungskurve ging mit einem verdoppelten Risiko für eine Demenz oder die DAT im Vergleich mit Homozysteinwerten in der unteren Quartile einher. Ebenso ergab sich ein doppelt so hohes Risiko bei Plasma-Homozysteinspiegeln $> 14 \mu\text{mol/l}$, ein Ergebnis, das in guter Übereinstimmung mit der Untersuchung von Clarke u. Mitarb. [44] steht.

Mögliche Erklärungen für die hierzu im Widerspruch stehenden Ergebnisse der Rotterdam-Studie könnten darin liegen, dass der Beobachtungszeitraum in der Rotterdam-Studie zu kurz gewählt wurde und dass die als Kriterium für eine bedeutsame kognitive Verschlechterung gewählte Abnahme des MMST-Scores das für den normalen Alterungsprozess übliche Ausmaß deutlich übersteigt.

Pathomechanismen der Hyperhomozysteinämie

Es ist die Frage, ob die Hyperhomozysteinämie kausal für die kognitive Beeinträchtigung verantwortlich ist, oder ob die kognitive Beeinträchtigung Folge eines Vitamindefizits ist, für welches die Hyperhomozysteinämie indirekt als Marker fungiert. In der Tat fanden Wang u. Mitarb. [47], dass Probanden mit niedrigen Serumspiegeln von Vitamin B₁₂ oder Folsäure ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer DAT hatten, und Snowdon u. Mitarb. [48] beschrieben eine starke negative Korrelation zwischen dem Serumfolat Spiegel und der autoptisch nachgewiesenen Atrophie des Neokortex bei Patienten mit DAT. Es könnte argumentiert werden, dass das Bestehen einer Demenz zu einer verminderten Aufnahme von Vitamin B₁₂ oder Folsäure mit der Nahrung im

Sinne einer Mangel- bzw. Fehlernährung führt. McCaddon u. Mitarb. [39] zeigten jedoch über die Bestimmung von retinolbindendem Protein, welches als Indikator für den Ernährungszustand eingesetzt wurde, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen DAT-Patienten und gesunden Kontrollprobanden bestanden, so dass eine Malnutrition als Ursache der Hyperhomozysteinämie bei Demenzpatienten unwahrscheinlich ist.

Neben einer verringerten Aufnahme ist ein gestörter Transport der Vitamine zum ZNS vorstellbar, was zu einem selektiven Vitaminmangel im ZNS führen würde und eine mögliche Erklärung für erniedrigte Vitamin-B₁₂-Spiegel im Liquor bei normwertigen Serumspiegeln bei DAT-Patienten [49] sein könnte.

Die Tatsache, dass erhöhte Homozysteinwerte bereits mehrere Jahre vor der klinischen Manifestation einer Demenz festgestellt wurden [46], macht es wahrscheinlich, dass die Hyperhomozysteinämie dem Beginn einer Demenz vorausgeht und nicht deren Folge ist. Ein kausaler Zusammenhang zwischen Hyperhomozysteinämie und kognitiven Störungen erscheint über folgende Pathomechanismen möglich:

Vaskuläre Toxizität und vaskuläre Dysregulation

Zum einen sind erhöhte Homozysteinspiegel mit der Entstehung von zerebraler Mikro- und Makroangiopathie [41,28] verbunden. Die atherogene Wirkung resultiert aus einer homozysteinassoziierten Endotheldysfunktion bzw. Endothelschädigung [50].

Die Integrität des vaskulären Endothels wird durch die Entstehung prooxidativer, zyto- und neurotoxischer Produkte beeinträchtigt, welche durch die Interaktion der Sulfhydrylgruppe des Homozysteinmoleküls mit Übergangsmetallen wie Eisen und Kupfer gebildet werden [51,52]. In experimentellen Studien konnte der prooxidative Effekt von Homozystein nachgewiesen werden, wobei die Interaktion von Homozystein mit Metallionen zur Bildung von Wasserstoffperoxid (H₂O₂) und anderen reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) führte [51]. Ebenso kommt es zu einer Induktion der Lipidperoxidation [53–55]. In diesen Fällen führte Homozystein zu der Entstehung von ROS, die möglicherweise die Endothelzelle schädigen. Eine Schädigung des Endothels führt zu einer Akkumulation von Thrombozyten und zur Bildung plättchenreicher Thromben [56] und hierdurch zu Initiation und Progression der Atherosklerose.

Die Endotheldysfunktion manifestiert sich in einer Störung der vasomotorischen Regulation [57] und der endotheleigenen Antikoagulationspotenz [58]. Neben der Generation von ROS führen erhöhte Homozysteinkonzentrationen im Plasma über eine Inhibition der NO-Synthase zu einer Verringerung der endothelialen NO-Produktion und somit zu vaskulärer Dysfunktion [59] und einer erhöhten Anfälligkeit des Endothels gegenüber homozysteinvermitteltem oxidativen Stress [60]. Ferner fördert Homozystein die Proliferation glatter Gefäßmuskulatur [61] und übt somit entgegengesetzte Effekte auf Endothel und Gefäßwand aus.

Durch die oxidative Veränderung wichtiger membranständiger Oberflächenmoleküle (Rezeptoren, Integrine usw.) kann sowohl die Signaltransduktion als auch die Genexpression der Endothelzelle beeinflusst werden. So induzieren erhöhte Homozysteinspiegel in Abhängigkeit von der endothelialen Cyclooxygenase-

Aktivität eine vermehrte Expression vaskulärer Adhäsionsmoleküle (VCAM-1) und haben damit einen proinflammatorischen atherogenen Effekt [62]. Weiterhin wurde gezeigt, dass Lp(a) bei erhöhten Homozysteinkonzentrationen vermehrt an Fibrin bindet, welches die Autooxidation von Homozystein und unter Bildung von freien Radikalen die LDL-Oxidation fördert [53]. Darüber hinaus enthalten LDL-Partikel Homozystein, das in Peptidbindung mit Aminogruppen von ApoB-Proteinen vorliegt. Diese homozysteinylierten LDL-Aggregate sind das Ergebnis der Reaktion der aggressivsten Form des Homozysteins, des Homozysteinthiolactons, mit LDL [23,63].

Die Tatsache, dass Homozystein insbesondere mit der zerebralen Mikroangiopathie assoziiert zu sein scheint [41], weist darauf hin, dass es vorzugsweise zu einer Schädigung der kleinen penetrierenden Zerebralarterien und -arteriolen kommt. Vor dem Hintergrund mikro- und makrovaskulärer Schädigungen ist die Entstehung von kognitiven Störungen durch Mikroinfarkte bzw. Ischämien in besonders hypoxieanfälligen Hirnregionen vorstellbar, beispielsweise auch im Bereich der CA₁-Pyramidenzellen des Hippocampus, jener Hirnregion, die bei der DAT typischerweise die höchste Zahl neurofibrillärer Tangles zeigt und bereits in frühen Krankheitsstadien betroffen ist. Dieser Zusammenhang könnte die Hypothese einer Beteiligung vaskulärer Pathomechanismen bei der DAT [64] unterstützen und das Vorliegen erhöhter Homozysteinspiegel auch bei der DAT erklären. Hogervorst u. Mitarb. [65] fanden, dass DAT-Patienten dreimal häufiger Marklagerveränderungen (Leukoaraiosis) aufwiesen als gesunde Kontrollen und dass der Homozysteinspiegel bei DAT-Patienten einen unabhängigen Risikofaktor für leukoaraiotische Veränderungen, insbesondere des tiefen Marklagers, darstellte.

Exzitotoxizität und Apoptose

Ein weiterer bedeutender Pathomechanismus neben der vaskulären Ebene ist in der direkten Neurotoxizität von Homozystein zu sehen. Patienten mit vererbter Homozystinurie und konsekutiver exzessiver Hyperhomozysteinämie weisen auffällig häufig eine zerebrale Atrophie sowie ein epileptisches Anfallsleiden auf [66]. Auch die Progression der temporoparietalen Atrophie bei Alzheimer-Demenz [44], das Ausmaß der Alkoholismus-assoziierten Hirnatrophie [67] sowie das Ausmaß der Hirnatrophie bei gesunden älteren Menschen („Altersatrophie“) [68] korreliert signifikant mit erhöhten Homozysteinkonzentrationen.

Schwarz und Zhou [69] postulierten bereits eine pathologisch erhöhte glutamaterge Neurotransmission, die durch eine chronische homozysteininduzierte Wirkung an Glutamatrezeptoren verursacht wird. Diese exzitotoxische Wirkung von Homozystein wird auf die Eigenschaft zurückgeführt, als Agonist an der Glutamatbindungsseite des NMDA-Rezeptors zu fungieren [70,71]. Darüber hinaus aktiviert Homozystein im Sinne eines partiellen Antagonismus auch die Glyzinbindungsstelle des NMDA-Rezeptors [71], woraus eine Inhibition der NMDA-Rezeptoraktivität resultiert. Unter physiologischen Bedingungen mit normalen Glyzin- und Homozysteinkonzentrationen kommt es daher nicht zu einer Überstimulierung des NMDA-Rezeptors. Funktionelle Störungen der Blut-Hirn-Schranke (z.B. bei akuten Ischämien, Alkoholkonsum) [72] führen hingegen zu einer „ungeschützten“ Exposition des Gehirns mit erhöhten Plasmahomozystein- und Glyzinkonzentrationen und damit zu einer pathologischen Über-

stimulierung von NMDA-Rezeptoren und konsekutiver Exzitotoxizität [71].

Darüber hinaus ist Homozysteinsäure, ein metabolisches Abbau-Produkt des Homozysteins, ein potenter Agonist am NMDA-Rezeptor, der zum NMDA-vermittelten apoptotischen Zelluntergang retinaler Ganglienzellen führt [73].

Neben der NMDA-vermittelten Neurotoxizität induzieren erhöhte Homozysteinkonzentrationen sowie Homozysteinthiolacton auch weitere neurotoxische Kaskaden, die zu einer Änderung des intrazellulären Redox-Status führen und im apoptotischen Zelluntergang eine gemeinsame Endstrecke bilden: In diesem Zusammenhang wurde über Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), DNA-Strangbrüche, vermehrte Expression von p53 sowie Aktivierung von Caspasen berichtet [74–78]. Die Caspasen nehmen eine zentrale Effektorfunktion bei vermutlich allen Apoptose-Signalwegen ein. Es handelt sich hierbei um Zysteinproteasen, die ihre Substrate nach einem P₁-Aspartat spalten. Alle Caspasen werden als inaktive Proenzyme gebildet und durch proteolytische Spaltung aktiviert. Eine Reihe von zytoplasmatischen und zellulären Substraten wird selektiv durch Caspasen während der Apoptose gespalten. Hierzu zählen Strukturproteine des Zellkernes und des Zytoskelettes (Lamine, β -Catenin, Gelsolin), DNA-Reparaturenzyme und eine Reihe von Proteinen, die an der Steuerung des Zellzyklus und der DNA-Replikation beteiligt sind (z. B. MDM-2, Proteinkinase C- δ). Erhöhte Homozysteinkonzentrationen führen zum apoptotischen Zelluntergang retinaler Ganglienzellen *in vivo*, wobei eine homozystein- und homozysteinthiolactoninduzierte erhöhte Caspase-3-Aktivität an der initialen Apoptose-Induktion beteiligt ist [74,79]. Das Absterben retinaler Ganglienzellen durch Homozystein wird dabei durch Glutamat additiv verstärkt [79]. Auch über eine DNA-Schädigung und Apoptose in hippocampalen Neuronen unter Homozystein wurde im Tiermodell berichtet [75].

Ferner ist Homozystein in der Lage, die Neurotoxizität von β -Amyloid [80] und von Kupfer [81] in Nervenzellkulturen zu potenzieren.

Ausblick

Einer der Hauptgründe, warum Homozystein in den letzten Jahren so viel Beachtung gefunden hat, ist darin zu sehen, dass es sich bei der Hyperhomozysteinämie um einen potenziell reversiblen Risikofaktor für kognitive Störungen handeln könnte. Eine Vitaminbehandlung mit Folsäure, Vitamin B₁₂ und Vitamin B₆ kann zu einer Absenkung des Homozysteinspiegels beitragen [82,83]. Wenn also die vermutete kausale Beziehung zwischen Hyperhomozysteinämie und Demenzerkrankungen Bestätigung finden würde, wäre eine solche Vitaminergänzungsbehandlung zur Senkung des Homozysteinspiegels die logische Konsequenz. Bisher gibt es jedoch keine prospektiven Studien über die Effekte einer solchen Behandlung auf die Inzidenz von Demenzerkrankungen, so dass die gegenwärtigen Erkenntnisse noch nicht ausreichen, um eine Empfehlung zur routinemäßigen Homozysteinbestimmung im Rahmen der Demenzdiagnostik oder für eine entsprechende Therapie zu geben.

Es werden daher prospektive, doppelblinde und plazebokontrollierte Interventionsstudien zur Klärung folgender Fragen benötigt: Kann durch eine Senkung des Homozysteinspiegels mittels einer Vitaminergänzungsbehandlung die Inzidenz von Demenzen gesenkt, das Fortschreiten leichter kognitiver Beeinträchtigungen zum Vollbild einer Demenz verhindert und die Progression klinisch manifester Demenzen verlangsamt werden? Wie hoch sind gegebenenfalls die benötigten Vitamindosen, und gibt es Risiken für eine solche Behandlung?

Sofern diese Untersuchungen positive Resultate liefern sollten, hätte man in der Hyperhomozysteinämie einen früh im Krankheitsverlauf identifizierbaren und kostengünstig beeinflussbaren Risikofaktor für kognitive Störungen gefunden.

Literatur

- 1 Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764 – 1779
- 2 Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R, Robinson K, Savon SR, Secic M, Ji J, Otto JM, Taylor Jr LM. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma: sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. *Clin Chem* 1995; 41: 340 – 342
- 3 Graeme JH, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354: 407 – 413
- 4 Ubbink JB, Becker PJ, Vermaak WJ, Delpont R. Results of B-vitamin supplementation study used in a prediction model to define a reference range for plasma homocysteine. *Clin Chem* 1995; 41: 1033 – 1037
- 5 Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 1988; 81: 466 – 474
- 6 Nilsson K, Gustafson L, Hultberg B. Plasma homocysteine is a sensitive marker for tissue deficiency of both cobalamines and folates in a psychogeriatric population. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999; 10: 476 – 482
- 7 Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJH, den Heijer M, Kluijtmans LAJ, van den Heuvel LP, Rozen RA. Candidate genetic risk factor for vascular disease: A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111 – 113
- 8 Rozen R. Genetic modulation of homocysteinemia. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 255 – 261
- 9 Rady PL, Szucs S, Grady J, Hudnall SD, Kellner LH, Nitowsky H, Tyring SK, Matalon RK. Genetic polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) in ethnic populations in Texas; a report of a novel MTHFR polymorphic site, G1793A. *Am J Med Genet* 2002; 107: 162 – 168
- 10 Bleich S, Degner D, Kropp S, Rütther E, Kornhuber J. Red wine, spirits, beer and serum homocysteine. *Lancet* 2000; 356 (9228): 512
- 11 Bleich S, Bleich K, Kropp S, Degner D, Bittermann HJ, Sperling W, Rütther E, Kornhuber J. Moderate alcohol consumption in social drinkers raises plasma homocysteine levels: a contradiction to the “French paradox”? *Alcohol Alcohol* 2001; 36: 189 – 192
- 12 Bleich S, Spilker K, Kurth C, Degner D, Quintela-Schneider M, Javaheripour K, Rütther E, Kornhuber J, Wiltfang J. Oxidative stress and an altered methionine metabolism in alcoholism. *Neurosci Lett* 2000; 293: 171 – 174
- 13 Bleich S, Degner D, Javaheripour K, Kurth C, Kornhuber J. Homocysteine and alcoholism. *J Neural Transm* 2000; 60: 187 – 196
- 14 Varela-Moreiras G. Nutritional regulation of homocysteine: effects of drugs. *Biomed Pharmacother* 2001; 55: 448 – 453
- 15 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 – 2698
- 16 Nilsson K, Gustafson L, Fäldt R, Andersson A, Brattstrom L, Lindgren A, Israelsson B, Hultberg B. Hyperhomocysteinaemia – a common finding in a psychogeriatric population. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 853 – 859
- 17 Ueland PM, Nygård O, Vollset SE, Refsum H. The Hordaland Homocysteine Studies. *Lipids* 2001; 36: 33 – 39
- 18 Abou-Saleh MT, Coppen A. The biology of folate in depression: implications for nutritional hypotheses of the psychoses. *J Psychiatr Res* 1986; 20: 91 – 101
- 19 Martin DC. B₁₂ and folate deficiency dementia. *Clin Geriatr Med* 1988; 4: 814 – 852
- 20 Sauberlich HE. Relationship of vitamin B₆, vitamin B₁₂, and folate to neurological and neuropsychiatric disorders. In: Bendich A, Butterworth CE Jr, eds.: *Micronutrients in Health and in Disease Prevention*. New York: Marcel Dekker, Inc, 1991: 187 – 218
- 21 Goodwin JS, Goodwin JM, Garry PJ. Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population. *JAMA* 1983; 249 (21): 2917 – 2921
- 22 McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111 – 128
- 23 McCully KS. Atherogenesis and the chemical pathology of homocysteine. *Review Eur J Lab Med* 1996; 4: 121 – 128
- 24 Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, Tishler PV, Hennekens CH. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268: 877 – 881
- 25 Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995; 24: 704 – 709
- 26 Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhub J, D’Agostino RB, Wolf PA, Jacques PF, Wilson PW. Nonfasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1077 – 1080
- 27 Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as risk factor for occlusive vascular disease. *Ann Rev Nutr* 1992; 12: 279 – 298
- 28 Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D’Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, O’Leary DH, Wolf PA, Schaefer EJ, Rosenberg IH. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995; 332: 286 – 291
- 29 Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995; 346: 1395 – 1398
- 30 Bostom AG, Rosenberg IH, Silbershatz H, Jacques PF, Selhub J, D’Agostino RB, Wilson PW, Wolf PA. Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. *Ann Intern Med* 1999; 131: 352 – 355
- 31 Agency for Health Care Policy and Research (AHCPR). Recognition and initial assessment of Alzheimer’s disease and related dementias. *Clinical Practice Guideline No. 19; AHCPR Public. No. 97-0702* Nov. 1996
- 32 Bell IR, Edman JS, Selhub J, Morrow FD, Marby DW, Kayne HL, Cole JO. Plasma homocysteine in vascular disease and in nonvascular dementia of depressed elderly people. *Acta Psychiatr Scand* 1992; 86: 386 – 390
- 33 Riggs KM, Spiro A, Tucker K, Rush D. Relations of vitamin B₁₂, vitamin B₆, folate and homocysteine to cognitive performance in the Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 306 – 314
- 34 Jensen E, Dehlin O, Erfurth EM, Hagberg B, Samuelsson G, Svensson T, Hultberg B. Plasma homocysteine in 80-year-olds: relationships to medical, psychological and social variables. *Arch Gerontol Geriatr* 1998; 26: 215 – 226
- 35 McCaddon A, Hudson P, Davies G, Hughes A, Williams JHH, Wilkinson C. Homocysteine and cognitive decline in healthy elderly. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2001; 12: 309 – 313
- 36 Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Hyperhomocysteinemia associated with poor recall in the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 927 – 933
- 37 Lehmann M, Gottfries CG, Regland B. Identification of cognitive impairment in the elderly: Homocysteine is an early marker. *Dement Geriatr Cogn Disord* 1999; 10: 12 – 20
- 38 Duthie SJ, Whalley LJ, Collins AR, Leaper S, Berger K, Deary IJ. Homocysteine, B vitamin status and cognitive function in the elderly. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 908 – 913
- 39 McCaddon A, Davies G, Hudson P, Tandy S, Cattell H. Total serum homocysteine in senile dementia of Alzheimer type. *Int J Geriatr Psychiatry* 1998; 13: 235 – 239

- ⁴⁰ Budge M, Johnston C, Hogervorst E, de Jager C, Milwain E, Iversen SD, Barneston L, King E, Smith AD. Plasma total homocysteine and cognitive performance in a volunteer elderly population. *Ann N Y Acad Sci* 2000; 903: 407–410
- ⁴¹ Faßbender K, Mielke O, Bertsch T, Nafe B, Fröschen S, Hennerici M. Homocysteine in cerebral macroangiopathy and microangiopathy. *Lancet* 1999; 353: 1586–1587
- ⁴² Joosten E, Lesaffre E, Riezler R, Ghekiere V, Dereymaeker L, Pelemans W, Dejaeger E. Is metabolic evidence for vitamin B₁₂ and folate deficiency more frequent in elderly patients with Alzheimer's disease? *J Gerontol A Biol Sci Med* 1997; 52: M76–79
- ⁴³ Leblhuber F, Walli J, Artner-Dworzak E, Vrecko K, Widner B, Reibnegger G, Fuchs D. Hyperhomocysteinemia in dementia. *J Neural Transm* 2000; 107: 1469–1474
- ⁴⁴ Clarke R, Smith D, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B₁₂, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998; 55: 1449–1455
- ⁴⁵ Kalmijn S, Launer LJ, Lindemans J, Bots ML, Hofman A, Breteler MMB. Total homocysteine and cognitive decline in a community-based sample of elderly subjects: the Rotterdam Study. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 283–289
- ⁴⁶ Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB, Wilson PWF, Wolf PA. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 476–483
- ⁴⁷ Wang HX, Wahlin A, Basun H, Fastbom J, Winblad B, Fratiglioni L. Vitamin B₁₂ and folate in relation to the development of Alzheimer's disease. *Neurology* 2001; 56: 1188–1194
- ⁴⁸ Snowdon DA, Tully CL, Smith CD, Riley KP, Markesbery WR. Serum folate and the severity of atrophy of the neocortex in Alzheimer disease: findings from the Nun Study. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (4): 993–998
- ⁴⁹ Ikeda T, Furukawa Y, Mashimoto S, Takahashi K, Yamada M. Vitamin B₁₂ levels in serum and cerebrospinal fluid of people with Alzheimer's disease. *Acta Psychiatr Scand* 1990; 82: 327–329
- ⁵⁰ Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042–1050
- ⁵¹ Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J Clin Invest* 1986; 77: 1370–1376
- ⁵² D'Emilia DM, Lipton SA. Ratio of S-nitrosohomocyst(e)ine to homocyst(e)ine or other thiols determines neurotoxicity in rat cerebrocortical cultures. *Neurosci Lett* 1999; 265: 103–106
- ⁵³ Hirano K, Miki M, Yasuda H, Tamai H, Kawamura N, Mino M. Homocysteine induces iron-catalyzed lipid peroxidation of low-density lipoprotein that is prevented by alpha-tocopherol. *Free Rad Res* 1994; 21: 267–276
- ⁵⁴ Jones BG, Rose FA, Tudball N. Lipid peroxidation and homocysteine induced toxicity. *Atherosclerosis* 1994; 105: 165–170
- ⁵⁵ Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J* 1997; 11: 118–124
- ⁵⁶ Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis: the role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58: 731–741
- ⁵⁷ Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, Robinson J, Thomas O, Leonhard JV, Deanfield JE. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 854–858
- ⁵⁸ van den Berg M, Boers GH, Franken DG, Blom HJ, van Kamp GJ, Jakobs C, Rauwerda JA, Klufft C, Stehouwert CD. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in young patients with peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 176–181
- ⁵⁹ Ashfield-Watt PA, Moat SJ, Doshi SN, McDowell IF. Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. What is the link? *Biomed Pharmacother* 2001; 55: 425–433
- ⁶⁰ Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, Loscalzo J. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 91: 308–318
- ⁶¹ Tsai JC, Wang H, Perrella MA, Yoshizumi M, Sibinga NE, Tan LC, Haber E, Chang TH, Schlegel R, Lee ME. Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1996; 97: 146–153
- ⁶² Silverman MD, Tumuluri RJ, Davis M, Lopez G, Rosenbaum JT, Lelkes PI. Homocysteine upregulates vascular cell adhesion molecule-1 expression in cultured human aortic endothelial cells and enhances monocyte adhesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22 (4): 587–592
- ⁶³ Jakubowski H, Zhang L, Bardeguet A, Aviv A. Homocysteine thiolactone and protein homocysteinylation in human endothelial cells. Implications for Atherosclerosis. *Circ Res* 2000; 87: 45–51
- ⁶⁴ Scheltens P, Barkhof F, Valk J, Algra PR, van der Hoop RG, Nauta J, Wolters EC. White matter lesions on magnetic resonance imaging in clinically diagnosed Alzheimer's disease: evidence for heterogeneity. *Brain* 1992; 115: 735–748
- ⁶⁵ Hogervorst E, Ribeiro HM, Molyneux A, Budge M, Smith AD. Plasma homocysteine levels, cerebrovascular risk factors and cerebral white matter changes (leukoaraiosis) in patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2002; 59: 787–793
- ⁶⁶ Watkins D, Rosenblatt DS. Functional methionine synthase deficiency (cblE and cblG): clinical and biochemical heterogeneity. *Am J Med Genet* 1989; 34: 427–434
- ⁶⁷ Bleich S, Bandelow B, Javaheripour K, Müller A, Degner D, Wilhelm J, Havemann-Reinecke U, Sperling W, Rütther E, Kornhuber J. Hyperhomocysteinemia – A new risk factor for brain shrinkage in alcoholism. *Neurosci Lett* 2002; (in press)
- ⁶⁸ Sachdev PS, Valenzuela M, Wang XL, Looi JC, Brodaty H. Relationship between plasma homocysteine levels and brain atrophy in healthy elderly individuals. *Neurology* 2002; 58: 1539–1541
- ⁶⁹ Schwarz S, Zhou GZ. N-methyl-D-aspartate receptors and CNS symptoms of homocystinuria. *Lancet* 1991; 337 (8751): 1226–1227
- ⁷⁰ Beal MF, Swartz KJ, Finn SF, Mazurek MF, Kowall NW. Neurochemical characterization of excitotoxic lesions in the cerebral cortex. *J Neurosci* 1991; 11: 147–158
- ⁷¹ Lipton SA, Kim WK, Choi YB, Kumar S, Démilia DM, Rayudu PV, Arnelle DR, Stamler JS. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 5923–5928
- ⁷² Kornhuber J, Kaiserauer CH, Kornhuber AW, Kornhuber ME. Alcohol consumption and blood-cerebrospinal fluid barrier dysfunction in man. *Neurosci Lett* 1987; 79: 218–222
- ⁷³ Zhang D, Lipton SA. L-homocysteic acid selectively activates N-methyl-D-aspartate receptors of rat retinal ganglion cells. *Neurosci Lett* 1992; 139: 173–177
- ⁷⁴ Huang RF, Huang SM, Lin BS, Wie JS, Liu TZ. Homocysteine thiolactone induces apoptotic DNA damage mediated by increased intracellular hydrogen peroxide and caspase 3 activation in HL-60 cells. *Life Sci* 2001; 68: 2799–2811
- ⁷⁵ Kruman II, Culmsee C, Chan SL, Kruman Y, Guo Z, Penix L, Mattson MP. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *J Neurosci* 2000; 20: 6920–6926
- ⁷⁶ Qutinen PA, Sood SK, Liaw PCY, Sarge KD, Maeda N, Hirsh J, Ribau J, Podor TJ, Weitz JI, Austin RC. Characterization of the stress-inducing effects of homocysteine. *Biochem J* 1998; 332: 213–221
- ⁷⁷ Parsons RB, Waring RH, Ramsden DB, Williams AC. In vitro effect of the cysteine metabolites homocysteic acid, homocysteine and cysteic acid upon human neuronal cell lines. *Neurotoxicology* 1998; 19: 599–604
- ⁷⁸ Dalton ML, Gadson Jr PF, Wrenn RW, Rosenquist TH. Homocysteine signal cascade: production of phospholipids, activation of protein kinase C, and the induction of c-fos and c-myc in smooth muscle cells. *FASEB J* 1997; 11: 703–711
- ⁷⁹ Moore P, El-Sherbeny A, Roon P, Schoenlein P, Ganapathy V, Smith SB. Apoptotic cell death in the mouse retinal ganglion cell layer is induced in vivo by the excitatory amino acid homocysteine. *Exp Eye Res* 2001; 73: 45–57
- ⁸⁰ Ho PI, Collins SC, Dhitavat S, Ortiz D, Ashline D, Rogers E, Shea TB. Homocysteine potentiates β -amyloid neurotoxicity: role of oxidative stress. *J Neurochem* 2001; 78: 249–253
- ⁸¹ White AR, Huang X, Jobling MF, Barrow CJ, Beyreuther K, Masters CL, Bush AI, Cappai R. Homocysteine potentiates copper- and amyloid beta peptide-mediated toxicity in primary neuronal cultures: possible risk factors in the Alzheimer's-type neurodegenerative pathways. *J Neurochem* 2001; 76: 1509–1520
- ⁸² Saltzman E, Mason JB, Jacques PF, Selhub J, Salem D, Schaefer EJ, Turisini C, Bendich A, Rosenberg IH. B vitamin supplementation lowers homocysteine levels in heart disease. *Clin Res* 1994; 42: 172A
- ⁸³ Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; 340: 1449–1454