

Antonio Coelho Neto<sup>1</sup>, Rodrigo Palácio Azevedo<sup>1</sup>, Maria Bethania Peruzzo Santos<sup>1</sup>, Luciano de Camargo Galdieri<sup>2</sup>, Vânia D'Almeida<sup>3</sup>, Jose Luiz Gomes do Amaral<sup>4</sup>, Flávio Geraldo Resende Freitas<sup>1</sup>, Flavia Ribeiro Machado<sup>5</sup>

## Nível plasmático de homocisteína: marcador de gravidade em pacientes sépticos?

*Homocysteine plasma levels as a marker of clinical severity in septic patients*

1. Médico do Setor de Terapia Intensiva da Disciplina de Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
2. Mestre, Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
3. Doutora, Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
4. Professor Titular da Disciplina de Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.
5. Doutora, Professora Adjunta da Disciplina de Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

Recebido da Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP – São Paulo (SP), Brasil.

Submetido em 27 de Agosto de 2010  
Aceito em 26 de Novembro de 2010

### Autor para correspondência:

Rodrigo Azevedo  
Disciplina de Anestesiologia, Dor e Terapia Intensiva  
Rua Napoleão de Barros, 715 - 5ª andar  
CEP: 04024-002 - São Paulo (SP), Brasil.  
Fone/Fax: (11) 5576-4069  
E-mail: rpazevedo@unifesp.br

### RESUMO

**Objetivo:** Homocisteína e a sepse estão ambos associados à inflamação e ativação endotelial. O objetivo desse estudo foi verificar se o nível plasmático de homocisteína está relacionado à gravidade do quadro séptico.

**Métodos:** Estudo clínico, prospectivo e observacional, incluindo pacientes com sepse grave ou choque séptico com menos de 48 horas de instalação da disfunção orgânica. Os níveis de homocisteína foram determinados no dia da inclusão no estudo e nos dias 3, 7, 14. A associação entre homocisteína com o escore *Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)* foi avaliada pelo teste de Sperman e com mortalidade pelo teste de Mann-Whitney. Os resultados foram considerados significativos se  $p < 0,05$ .

**Resultados:** Foram incluídos 21 pacientes e feitas 60 coletas para avaliação da homocisteína total (mediana de 6,92 (5,27 - 9,74  $\mu\text{mol/l}$ )). O teste de correlação Spearman não mostrou associação

entre homocisteína e SOFA ( $r = -0,15$  e  $p = 0,26$ ). Também não foi encontrada correlação da medida de homocisteína na data de admissão do estudo e a diferença do SOFA obtido no 3º dia e o SOFA da admissão (deltaSOFA) ( $r = 0,04$  e  $p = 0,87$ ). A variação da homocisteína do 3º dia e a admissão no estudo (deltaHmc) e a variação do SOFA no mesmo período não estavam correlacionadas ( $r = -0,11$  e  $p = 0,66$ ). A homocisteína da admissão não se correlacionou com mortalidade na UTI ( $p=0,46$ ) ou com a mortalidade hospitalar. ( $p=0,13$ ). Mesmo quando foi utilizado o deltaHmc não houve correlação ( $p=0,12$  e  $p=0,99$ , respectivamente).

**Conclusão:** O nível basal de homocisteína ou sua variação nos primeiros dias da disfunção não estiveram relacionadas com a piora dos parâmetros funcionais dos sistemas orgânicos ou mortalidade nos pacientes sépticos.

**Descritores:** Homocisteína; Sepse; Disfunção orgânica; Mortalidade

### INTRODUÇÃO

A homocisteína (Hmc) é um aminoácido intermediário que contém um radical sulfidríla. É formado através da conversão do aminoácido metionina em cisteína. Cerca de 70 a 80% da Hmc plasmática está ligada a proteínas, principalmente a albumina.<sup>(1)</sup> Em relação a Hmc livre, apenas 7% encontra-se na forma reduzida.<sup>(2)</sup> Este aminoácido tem sido apontado como indicador de risco de doenças cardiovasculares, principalmente coronarianas.<sup>(3-5)</sup> Os mecanismos pelos quais a Hmc promove lesão vascular são controversos, mas incluem aumento do estresse oxidativo,<sup>(6)</sup> trombogênese excessiva,<sup>(7)</sup> disfunção endotelial<sup>(8)</sup> e interferência na mitose das células musculares lisas.<sup>(9,10)</sup> Há pelo menos quarenta anos, níveis alterados de Hmc plasmática vêm demonstrando relação com doenças sistêmicas.

Mais recentemente, a Hmc ganhou destaque quando um crescente número de publicações mostrou que este aminoácido tinha ligação com a doença aterosclerótica.<sup>(3-5,11-13)</sup> Processos degenerativos da camada íntima do endotélio, como inflamação e trombogênese, estão listados como possíveis fenômenos fisiopatológicos no desenvolvimento da lesão endotelial relacionados a Hmc.<sup>(14,15)</sup>

A disfunção endotelial encontrada na evolução aterosclerótica do vaso relacionada com as alterações dos níveis plasmáticos da Hmc possui similaridades com a disfunção endotelial da sepse. Síndrome sistêmica associada à elevação de mediadores inflamatórios, entre eles, citocinas, derivados do ácido aracônico, espécies reativas do oxigênio, óxido nítrico, *intercellular adhesion molecule* (ICAM) e a *endothelial leucocyte adhesion molecule* (ELAM), a sepse apresenta como parte fundamental de seu mecanismo fisiopatológico a disfunção endotelial.<sup>(16)</sup> Dessa forma, uma situação hipermetabólica, pró-inflamatória e pró-trombótica como a que encontramos na sepse seria o cenário ideal para se encontrar alterações nos níveis de Hmc.

Em virtude disso, surge a pergunta da possível relação entre a gravidade do quadro séptico, ou seja, do grau de disfunção orgânica, e os níveis plasmáticos de Hmc. O objetivo do presente estudo foi definir quais são os níveis plasmáticos de Hmc em pacientes sépticos e tentar correlacionar esses níveis com a presença e intensidade da disfunção orgânica.

## MÉTODOS

Trata-se de estudo clínico, prospectivo e observacional realizado em Unidade de Terapia Intensiva de um hospital universitário terciário. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e a inclusão de pacientes foi obtida mediante termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram incluídos pacientes com idade acima de 18 anos e diagnóstico de sepse grave ou choque séptico com menos de 48 horas de instalação da disfunção orgânica. Sepse grave foi definida com a presença de foco infeccioso suspeito e pelo menos dois critérios para síndrome de resposta inflamatória sistêmica de acordo com o consenso de 1992,<sup>(17)</sup> aliada a pelo menos uma disfunção orgânica. Choque séptico foi definido como a presença de hipotensão refratária a reposição volêmica com necessidade de início de aminas vasopressoras. Foram consideradas como disfunção a presença de hipotensão, relação entre a pressão parcial de oxigênio e a fração inspirada de oxigênio ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ ) < 250, acidose metabólica com lactato alterado, contagem de plaquetas abaixo de 100.000 células/mm<sup>3</sup>, elevação de bilirrubina total maior que 2 mg/dl, débito urinário menor que 0,5 ml/hora a despeito de adequada reposição volêmica e rebaixamento do nível de consciência.

Essas disfunções deveriam ser claramente secundárias ao processo séptico. Foram excluídos pacientes com insuficiência renal aguda pela interferência com o metabolismo de metionina. Pacientes que desenvolvessem insuficiência renal aguda durante a internação seriam excluídos do estudo. O nível plasmático de homocisteína foi corrigido conforme a idade para pacientes com 70 anos ou mais.

Dados demográficos, características da sepse e o escore *Acute Physiological Chronic Health Evaluation* II (APACHE II)<sup>(18)</sup> foram registrados para todos os pacientes. O escore *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA) foi utilizado para seguimento da disfunção orgânica.<sup>(19)</sup> Amostras de sangue para determinação dos níveis de Hmc foram colhidas no dia da inclusão no estudo e nos dias 3, 7, 14. Os pacientes foram seguidos durante sua internação na unidade de terapia intensiva (UTI) e até 28 dias após a inclusão para determinação da mortalidade.

As amostras foram colhidas em veia periférica ou artéria no paciente deitado em posição supina com garroteamento menor que 3 minutos, após 8 horas de jejum. Após coleta, foram colocadas em tubos com EDTA e os tubos acondicionados em gelo para o transporte imediato ao laboratório. Cuidado com a rapidez do transporte era necessário para que as hemácias não alterassem os níveis da Hmc. Após separado, o plasma foi congelado a  $-20^\circ\text{C}$ , até a dosagem.

A dosagem dos níveis de Hmc plasmática foi baseada no método de Pfeiffer et al.<sup>(20)</sup> para aplicação em cromatografia líquida de alto desempenho. Todas as substâncias químicas foram obtidas da Sigma Chemical Co. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol/L}$ .

A hiperhomocisteinemia foi classificada em: moderada (15 a 30  $\mu\text{mol/L}$ ), intermediária (30 a 100  $\mu\text{mol/L}$ ) e grave (> 100  $\mu\text{mol/L}$ ).<sup>(21)</sup> O estudo da associação entre as variáveis homocisteína e SOFA foi realizado através do teste de correlação de Spearman. Para essas análises, optou-se também pela expressão dos resultados da homocisteína de forma logarítmica, submetidos a correlação de Pearson. Relacionou-se ainda o nível plasmático na admissão no estudo e a variação da homocisteína entre o 3º e 1º dia ( $\Delta\text{Hmc}$ ) a variações do SOFA entre o 3º e o 1º dia ( $\Delta\text{SOFA}$ ), ambos expressos em variação absoluta, sendo o último analisado tanto como variável contínua como de forma categorizada em piora ou melhora. Um SOFA inalterado ( $\Delta\text{SOFA}=0$ ) foi considerado como piora, por sugerir evolução clínica desfavorável.

Os dados categóricos foram expressos como percentagem e os contínuos como média e desvio padrão (mínimo-máximo) ou mediana (interquartil 25%-75%). Na comparação entre sobreviventes e não sobreviventes, utilizou-se o teste de Mann-Whitney. Os resultados foram considerados significativos se  $p < 0,05$ .

**RESULTADOS**

Foram incluídos 21 pacientes (11 homens e 10 mulheres) com idade média de 43,9 ± 19,38 anos (17-78 anos) e APACHE II de 18,19 ± 8,23 (2-35). O principal foco infeccioso foi pulmonar, tendo sido diagnosticado pneumonia em 71,43% dos pacientes, seguido por infecção abdominal (47,62% dos pacientes) e infecção urinária (33,3% dos pacientes). Sepses grave foi diagnosticada em 33,3% dos pacientes e choque séptico em 66,5% da amostra. O número médio de disfunções orgânicas presentes no momento da inclusão no estudo foi de 2,19 ± 0,87 (1 a 4 disfunções), com 76,19% dos pacientes apresentando duas ou mais disfunções. A média do SOFA do primeiro dia foi de 7,48 ± 3,76 (1 a 14). A mortalidade durante a internação na UTI foi de 23,8% e em 28 dias, 28,6%. Os dados gerais dos pacientes incluídos estão disponíveis na tabela 1.

Foram feitas 60 coletas para avaliação da Hmc total com mediana de 6,79 (5,07 - 9,77) µmol/l, quando consideradas todas as amostras coletadas. O valor da mediana encontrado nos indivíduos do gênero feminino foi de 9,3045 (5,73 - 13,41) µmol/L e no gênero masculino foi de 6,97 (4,76 -

8,63) µmol/L, com p= 0,28. A mediana dos níveis de Hmc em cada um dos dias de coleta, bem como a média dos valores do SOFA, estão disponíveis na tabela 2.

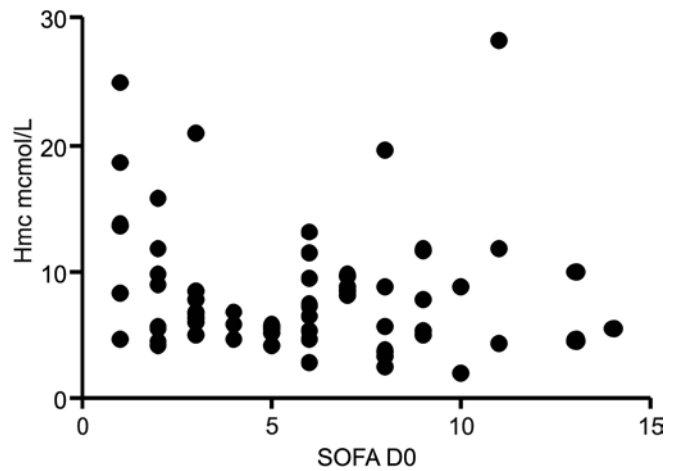
Não foi encontrada associação entre os níveis de homocisteína na data de admissão do estudo (D0) e a evolução para alta ou óbito na saída da UTI (não sobreviventes: 5,06 (4,76 -9,80) e sobreviventes: 8,06 (5,79 - 9,86), p = 0,46) ou com a mortalidade hospitalar (5,45 (4,71 - 8,99) vs 8,64 (6,83 - 10,03), para não sobreviventes e sobreviventes, respectivamente, p = 0,13). Mesmo quando considerado o deltaHmc não houve correlação com a evolução, tanto para mortalidade na UTI (não sobreviventes: -7.25(-7,50 -1.05) vs sobreviventes: -0,70(-3,45 - -0,67), p= 0,12) como para mortalidade hospitalar (não sobreviventes: -0.77(-7,25 - 0.42) vs sobreviventes: -1.09(-6.00 - 0,30), p= 0,99).

Os níveis de homocisteína não se correlacionaram com o SOFA registrado no dia da coleta (r = -0,15 e p = 0,26) (Figura 1). A expressão da homocisteína de forma logarítmica não alterou esses resultados (r= -0,15, p=0,23). Quando se analisou a medida de homocisteína na data de admissão do estudo, correlacionando-a com o deltaSOFA, não foi encontrada correlação (r = 0,04 e p = 0,87) (Figura 2). Mesmo quando o deltaSOFA foi analisado de forma categorizada não houve diferença entre os indivíduos com boa evolução clíni-

**Tabela 1 - Características da população**

Variável	Resultado
Gênero masculino	52,38
Idade (anos)	43,9 ± 19,38
APACHE II	18,19 ± 8,23
SOFA da inclusão	7,48 ± 3,76
SOFA D3	
Classificação	
Sepses grave	33,3%
Choque séptico	66,7%
Foco	
Infecção de trato respiratório	71,43%
Infecção abdominal	47,62%
Infecção de trato urinário	33,3%
Mortalidade	
UTI	23,8%
28º dia	28,6%

Apache – *Acute Physiological Chronic Health Evaluation*; SOFA – *Sequential Organ Failure Assessment*; UTI – unidade de terapia intensiva. Resultados expressos em percentual ou média ± desvio padrão.



SOFA – *Sequential Organ Failure Assessment*.

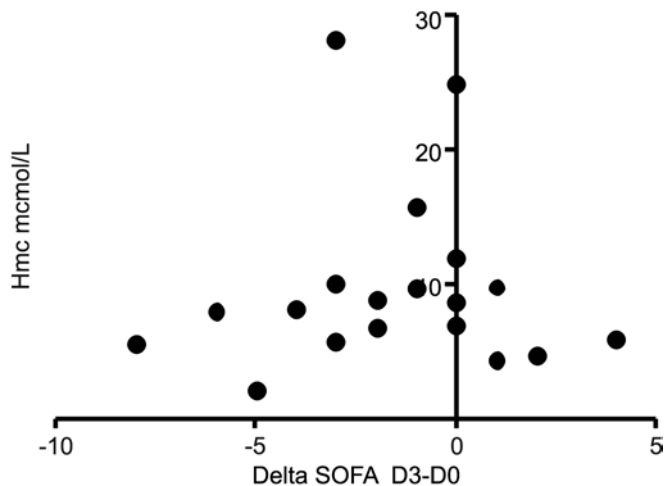
**Figura 1- Correlação entre níveis séricos de homocisteína e escore Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) considerando todos os dias do estudo. Spearman (r = -0,15 e p = 0,26).**

**Tabela 2 - Níveis plasmáticos de homocisteína e gravidade dos pacientes sépticos**

Variável	Dia 0 (N=21)	Dia 3 (N=19)	Dia 7 (N=15)	D 14 (N=5)	Global
Hmc (µmol/L)	7,94 (5,33 - 9,91)	6,53 (4,36 – 8,94)	7,49 (5,12 – 11,62)	5,40 (4,64 – 9,14)	6,79 (5,07 - 9,77)
SOFA	7,62 ± 3,72	5,63 ± 3,05	4,6 ± 2,5	2,80 ± 1,92	

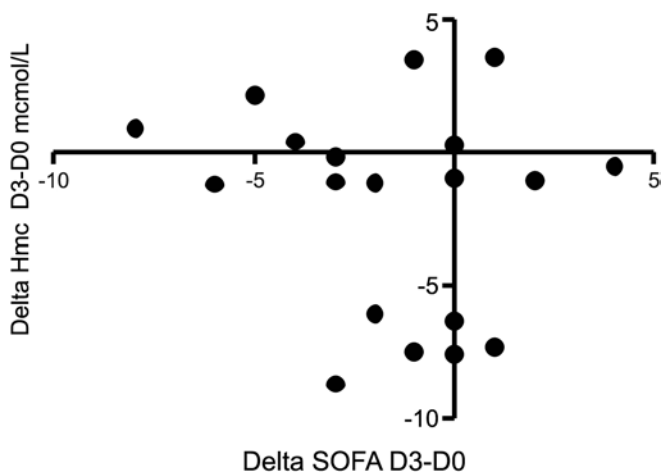
Hmc – homocisteína; SOFA – *Sequential Organ Failure Assessment*. Resultados expressos em mediana (25-75%) e média ± desvio padrão.

ca (8,19(5,7-10,0) e aqueles com piora desse score (7,8(5,3-10,8) com  $p=0,86$ . Também não foi possível demonstrar associação entre o deltaHmc a evolução das disfunções orgânicas medidas pela variação do SOFA no mesmo período ( $r = -0,11$  e  $p = 0,66$ ) (Figura 3).



SOFA – *Sequential Organ Failure Assessment*.

**Figura 2 -** Correlação entre níveis séricos de homocisteína e variação do escore *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA) entre o dia 3 e o dia de inclusão no estudo. Spearman ( $r = 0,04$  e  $p = 0,87$ ).



SOFA – *Sequential Organ Failure Assessment*.

**Figura 3 -** Correlação entre o delta dos níveis séricos de homocisteína no dia 3 e dia de inclusão no estudo com a variação do escore SOFA no mesmo período. Spearman ( $r = -0,11$  e  $p = 0,66$ ).

## DISCUSSÃO

O presente estudo não demonstrou correlação entre homocisteína e a gravidade do quadro séptico avaliada pelo escore SOFA ou pela mortalidade.

Este resultado contrariou as expectativas iniciais. A homocisteína vem sendo correlacionada com doenças cardiovasculares devido aos elevados níveis plasmáticos encontrados em pacientes com arteriosclerose. A fisiopatologia desta alteração parece ser a disfunção endotelial ligada a estresse oxidativo, trombogênese e alterações na íntima do endotélio.<sup>(14,22)</sup> Na sepse, a lesão endotelial também figura como pedra-angular de sua fisiopatologia. Na evolução do quadro séptico, o circuito inflamação-coagulação e a diminuição da fibrinólise tem relação direta com as disfunções orgânicas observadas nos pacientes críticos. O motivo seria a coagulação intravascular que diminuiria o fluxo da microvasculatura, perpetuando a disfunção endotelial ocasionada pela hipoperfusão e, conseqüentemente, aumento da resposta inflamatória.<sup>(16,23)</sup> Desta forma, a avaliação dos níveis plasmáticos de homocisteína total e a correlação com os valores do SOFA dariam a interpretação da ligação entre estes parâmetros nas alterações orgânicas e o possível envolvimento da homocisteína na fisiopatologia da disfunção endotelial na sepse.

Apesar dos vários estudos correlacionando homocisteína à doenças cardio e cerebrovasculares,<sup>(3,5,10-13,21)</sup> na literatura encontram-se poucas evidências de seu papel na fisiopatologia de pacientes sépticos. A lesão endotelial produzida pelo quadro séptico pode levar, entre outras disfunções, a quadros de síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e lesão pulmonar aguda (LPA), muito freqüentes em pacientes sépticos.<sup>(24)</sup> Utilizando o mesmo racional do presente estudo, ou seja, da relação entre hiperhomocisteinemia e hipercoagulabilidade, Tsangaris et al. realizaram um estudo no qual os níveis plasmáticos de homocisteína também não estiveram relacionados a pior evolução de pacientes com SDRA e LPA.<sup>(25)</sup> Esta conclusão vai ao encontro dos resultados aqui demonstrados.

Os motivos desta não correlação podem estar associados ao tamanho da amostra, à população estudada, a fatores do próprio metabolismo da homocisteína, às alterações metabólicas no quadro séptico, a questões nutricionais ou ao próprio desenho do trabalho.

Esse estudo apresenta alguns pontos fortes. A coleta serial dos níveis plasmáticos de homocisteína no momento da admissão, no 3º, 7º e 14º dia permitiu a análise dos resultados ao longo do tempo. Destaque-se ainda que a variação dos valores da homocisteína poderia estar relacionada à coleta de dados por um período prolongado (maior que 1 mês), diferentes técnicas de dosagem, coleta e variações entre pessoas e individuais. Este risco não existiu, pois as coletas duraram no máximo 15 dias com intervalos entre 3 a 7 dias. Foi utilizada a mesma técnica de avaliação de homocisteína para todos os pacientes e no mesmo laboratório. As coletas respeitaram os cuidados consensuais para dosagem da homocisteína total. As análises foram feitas com independência entre indivíduos e

dependência num mesmo indivíduo, o que diminui o viés relacionado a variação em uma população. Leve-se em consideração, também, o fato da análise valorizar a correlação dos níveis de homocisteína e do marcador de disfunção orgânica, SOFA, e não os valores isolados de homocisteína num mesmo indivíduo.

Dentre os pontos fracos de nosso estudo podem ser destacados o baixo número de pacientes, a inclusão de pacientes com idade superior a 60 anos e o fato das dosagens plasmáticas se restringirem a homocisteína. A homocisteína é estável em uma população controle. Em um trabalho realizado na Austrália foi demonstrado que os níveis séricos da homocisteína variam muito pouco até os sessenta anos, sendo que após esta data existe uma relação linear de  $1\mu\text{mol/L/}$  década. Pacientes com níveis elevados de creatinina estáveis (insuficiência renal crônica) também apresentavam uma relação linear com  $148\mu\text{mol/L/}$  ( $\mu\text{mol/L}$ ).<sup>(26)</sup> Estes dados foram utilizados na população desse estudo para correção dos níveis de homocisteína total. Como houve esta extrapolação, isto pode ser considerado um viés. Porém, isso ocorreu em apenas três pacientes (idade acima de 60 anos) e dois com insuficiência renal crônica (dois dos três acima de 60 anos), o que corresponde a apenas 15% dos pacientes e 13% das amostras colhidas. Analisando outro possível aspecto limitador, vale dizer que o comportamento da homocisteína respeita os níveis de cofatores das suas vias metabólicas. Dois desses cofatores que poderiam se alterar durante a resposta metabólica do quadro séptico seriam os folatos e vitaminas do complexo B. Estes servem como cofatores tanto na metilação da homocisteína (cobalamina) quanto na produção de cistationa (vitamina B6).<sup>(27-29)</sup> Devido a condição nutricional hipermetabólica, a variação destes complementos poderiam interferir nos níveis de homocisteína. Pode ainda interferir nos níveis destes cofatores a dieta oferecida aos pacientes incluídos nesta amostra. Infelizmente as dosagens séricas se restringiram a homocisteína.

## CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados sugerem não haver correlação entre os níveis séricos de homocisteína e o escore SOFA

ou a mortalidade. Sendo SOFA um marcador aceito de disfunção orgânica no paciente séptico conclui-se que não foi possível correlacionar os níveis séricos de homocisteína com a piora dos parâmetros funcionais dos sistemas orgânicos, o que indica a provável não ligação da homocisteína na fisiopatologia da disfunção endotelial da sepse.

---

## ABSTRACT

**Objective:** Homocysteine and sepsis are both associated with inflammation and endothelial activation. Therefore this study was aimed to evaluate if the plasma homocysteine level is related with the septic patient clinical severity.

**Methods:** Severe sepsis or septic shock patients, with less than 48 hours from organ dysfunction start, were admitted to this prospective observational study. Homocysteine levels were determined by the time of study admission and then on the Days 3, 7 and 14. The homocysteine association with the Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score was evaluated using the Spearman test, and its association with mortality using the Mann-Whitney test. A  $p < 0.05$  value was considered statistically significant.

**Results:** Twenty one patients were enrolled, and 60 blood samples were collected to measure total homocysteine [median  $6.92$  ( $5.27 - 9.74 \mu\text{mol/L}$ )]. The Spearman correlation test showed no association between homocysteine and SOFA ( $r = 0.15$  and  $p = 0.26$ ). Also no correlation was found for the homocysteine level by the study admission time and the difference between the Day 3 SOFA score versus by study admission ( $\Delta\text{SOFA}$ ) ( $r = 0.04$  and  $p = 0.87$ ). Homocysteine variation between the Day 3 and the study admission ( $\Delta\text{Hmc}$ ) and SOFA score variation in the same period were not correlated ( $r = -0.11$  and  $p = 0.66$ ). Homocysteine by the study admission was not correlated with death in intensive care unit rate ( $p = 0.46$ ) or in-hospital death rate ( $p = 0.13$ ). This was also true for  $\Delta\text{Hmc}$  ( $p = 0.12$  and  $p = 0.99$ , respectively).

**Conclusion:** Baseline homocysteine levels and its variations within the first dysfunction days were not related with septic patients' worsened organ function parameters or mortality.

**Keywords:** Homocysteine; Sepsis; Organ dysfunction; Mortality

---

## REFERÊNCIAS

1. Refsum H, Helland S, Ueland PM. Radioenzymic determination of homocysteine in plasma and urine. *Clin Chem.* 1985;31(4):624-8.
2. Andersson A, Isaksson A, Brattström L, Hultberg B. Homocysteine and other thiols determined in plasma by HPLC and thiol-specific postcolumn derivatization. *Clin Chem.* 1993;39(8):1590-7.
3. Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, Gaziano JM, Allen RH, Stabler SP, et al. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction: relation with vitamins B6, B12, and folate. *Am J Epidemiol.* 1996;143(9):845-59.
4. Genest JJ Jr, McNamara JR, Upson B, Salem DN, Ordovas

- JM, Schaefer EJ, Malinow MR. Prevalence of familial hyperhomocyst(e)inemia in men with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb*. 1991;11(5):1129-36.
5. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1997;337(4):230-6.
  6. Clarke R, Naughten E, Cahalane S, Sullivan KO, Mathias P, McCall T, Graham I. The role of free radicals as mediators of endothelial cell injury in hyperhomocysteinemia. *Ir J Med Sci*. 1992;161(9):561-4.
  7. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation*. 1997;95(7):1777-82.
  8. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation*. 1997;95(5):1119-21.
  9. Bellamy MF, McDowell IF. Putative mechanisms for vascular damage by homocysteine. *J Inherit Metab Dis*. 1997;20(2):307-15. Review.
  10. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R, Lee ME. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(14):6369-73.
  11. Boysen G, Brander T, Christensen H, Gideon R, Truelsen T. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke*. 2003;34(5):1258-61.
  12. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med*. 1995;332(5):286-91.
  13. Tanne D, Haim M, Goldbourt U, Boyko V, Doolman R, Adler Y, et al. Prospective study of serum homocysteine and risk of ischemic stroke among patients with preexisting coronary heart disease. *Stroke*. 2003;34(3):632-6.
  14. Gori AM, Sofi F, Marcucci R, Giusti B, Franco Gensini G, Abbate R. Association between homocysteine, vitamin B(6) concentrations and inflammation. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(12):1728-36.
  15. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*. 1969;56(1):111-28.
  16. Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood*. 2003;101(10):3765-77.
  17. Bone RC, Sibbald WJ, Sprung CL. The ACCP-SCCM consensus conference on sepsis and organ failure. *Chest*. 1992;101(6):1481-3.
  18. Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med*. 1985;13(10):818-29.
  19. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med*. 1996;22(7):707-10.
  20. Guerra-Shinohara EM, Paiva AA, Rondo PH, Yamasaki K, Terzi CA, D'Almeida V. Relationship between total homocysteine and folate levels in pregnant women and their newborn babies according to maternal serum levels of vitamin B12. *BJOG*. 2002;109(7):784-91.
  21. Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr*. 1992;12:279-98. Review.
  22. Mansoor MA, Bergmark C, Svardal AM, Lonning PE, Ueland PM. Redox status and protein binding of plasma homocysteine and other amino thiols in patients with early-onset peripheral vascular disease. Homocysteine and peripheral vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(2):232-40.
  23. Pinsky MR, Matuschak GM. Multiple systems organ failure: failure of host defense homeostasis. *Crit Care Clin*. 1989;5(2):199-220.
  24. Ghosh S, Latimer RD, Gray BM, Harwood RJ, Odoro A. Endotoxin-induced organ injury. *Crit Care Med*. 1993;21(2 Suppl):S19-24.
  25. Tsangaris I, Tsantes A, Bagos P, Nikolopoulos G, Kroupis C, Kopterides P, et al. The effect of plasma homocysteine levels on clinical outcomes of patients with acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Am J Med Sci*. 2009;338(6):474-7.
  26. Silberberg J, Crooks R, Fryer J, Włodarczyk J, Nair B, Finucane P, et al. Fasting and post-methionine homocyst(e)ine levels in a healthy Australian population. *Aust N Z J Med*. 1997;27(1):35-9.
  27. Rimm EB, Willett WC, Hu FB, Sampson L, Colditz GA, Manson JE, et al. Folate and vitamin B6 from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women. *JAMA*. 1998;279(5):359-64.
  28. Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattström L, Boers G, Ueland P, et al. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European COMAC Group. *Circulation*. 1998;97(5):437-43. Erratum in: *Circulation* 1999;99(7):983.
  29. Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr*. 1993;57(1):47-53.