

Hiperhomocisteinemia: relação com enfermidades e manipulação dietética

Hyperhomocysteinemia: relation with disease and dietary intervention

RESUMO: Homocisteína é um aminoácido sulfurado, obtido a partir da metionina proveniente da dieta ou do catabolismo orgânico, cujo metabolismo é diretamente dependente das vitaminas piridoxina (B6), ácido fólico (B9) e cobalamina (B12). O aumento de homocisteína no plasma, a hiperhomocisteinemia, tem sido relacionado à várias enfermidades relacionadas à idade, como osteoporose, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, acidente vascular cerebral e doença cardiovascular. Também é descrita sua ocorrência em pacientes com câncer, aneurisma aórtico, hipotireoidismo, doença renal avançada e diabetes. Através da manipulação do seu metabolismo pela suplementação com vitaminas B6, B9 e B12 foi possível promover a diminuição nos teores plasmáticos de homocisteína, tendo o ácido fólico desempenhado papel chave nesse processo. Apesar destes resultados, ainda se estuda se a suplementação vitamínica é capaz de reduzir o risco de doenças relacionada à hiperhomocisteinemia. Na veterinária, hiperhomocisteinemia é observada em cães com doença renal crônica e doença valvar de mitral. Os efeitos da suplementação em cães aparentam ser similares ao observado em humanos, mas alguns resultados são divergentes. Estudos apontam para o uso de homocisteína plasmática como biomarcador em diversas enfermidades, tendo potencial uso na Medicina Veterinária, sendo de grande interesse avaliar-se os efeitos da suplementação vitamínica nestas condições clínicas.

Palavras-chave: canino, hiperhomocisteinemia, ácido fólico, cobalamina, piridoxina.

Abstract: Homocysteine is a sulfur amino acid obtained from methionine from diet or organic catabolism, and its metabolism is directly dependent on the vitamins pyridoxine (B6), folic acid (B9) and cobalamin (B12). The increase in plasma homocysteine, named hyperhomocysteinemia, has been linked to a number of age-related diseases, such as osteoporosis, Alzheimer's disease, Parkinson's disease, stroke and cardiovascular disease. Its occurrence is also described in patients with cancer, aortic aneurysm, hypothyroidism, advanced kidney disease and diabetes. By manipulating its metabolism through supplementation with vitamins B6, B9 and B12 it was possible to promote a decrease in plasma levels of homocysteine, with folic acid playing a key role in this process. Despite these results, it is still studied whether vitamin supplementation can reduce the risk of hyperhomocysteinemia related diseases. In veterinary medicine, hyperhomocysteinemia was observed in dogs with chronic kidney disease and mitral valve disease. The effects of supplementation on dogs appear to be similar to that observed in humans, but some results diverge. Studies point to the use of plasma homocysteine as a biomarker in several diseases, with potential use in Veterinary Medicine, and it is of great interest to evaluate the effects of vitamin supplementation in these clinical conditions.

Key-words: canine, hyperhomocysteinemia, folic acid, cobalamin, pyridoxine.

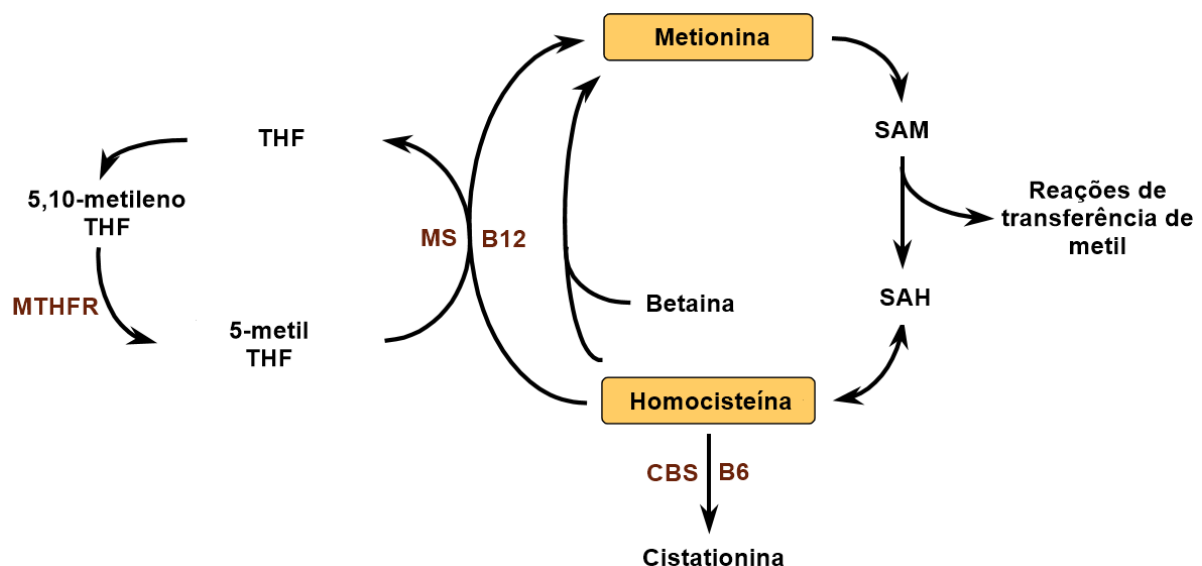
Desenvolvimento

Homocisteína e seu metabolismo

A homocisteína é um aminoácido sulfurado, obtido a partir da desmetilação da metionina proveniente da dieta ou do catabolismo orgânico. Essa via de desmetilação, ocorre preferencialmente no jejum e, em situação de sobrecarga de metionina dietética a via de transulfuração é mais utilizada e resulta na produção

de cisteína. Diversas vitaminas do complexo B são necessárias para que suas vias metabólicas ocorram. A piridoxina ou vitamina B6 é coenzima para a enzima cistationina β -sintetase que converte de forma irreversível a homocisteína em cistationina. A cobalamina ou vitamina B12 é cofator para a enzima que irá realizar a remetilação da homocisteína em metionina, que também requer a doação de um grupamento metil proveniente de um análogo do folato (ácido fólico ou vitamina B9), análogo este cuja formação depende de uma enzima cuja coenzima é cobalamina dependente (KUMAR et al., 2017; LOPES; MACEDO; NEVES, 2004). Dessa forma, o metabolismo da homocisteína é afetado diretamente pelo status orgânico de vitaminas do complexo B e encontra-se ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Metabolismo da homocisteína



(Fonte: Lentz et al., 2003)

Legenda: THF = Tetraidrofolato; MTHFR = 5,10-metileno tetraidrofolato redutase; MS = Metionina sintetase; CBS = cistationina β -sintase; SAM = S-adenosilmetionina; SAH = S-adenosil homocisteína.

É importante destacar que o organismo promove o transporte da homocisteína a partir do meio extracelular de forma a manter constante o meio intracelular. Os teores de homocisteína observados em plasma e urina representam sua síntese

celular, utilização e integridade das vias metabólicas (LOPES; MACEDO; NEVES, 2004). A homocisteína plasmática é influenciada por fatores fisiológicos, genéticos, nutricionais e induzida por medicamentos e hormônios. Seu aumento, chamado de hiperhomocisteinemia, pode ser decorrente, dentre outros fatores, da deficiência das vitaminas que atuam como coenzimas no metabolismo da homocisteína. Estudos demonstraram que a concentração plasmática de homocisteína é inversamente associada com as concentrações das vitaminas B2, B6 e B12 e em particularmente com a B9 (CHEN et al., 2005; KANG; WONG; NORUSIS, 1987; BMJ, 1998). Além das deficiências vitamínicas, outros fatores ambientais, como o aumento da ingestão de metionina, certos medicamentos, estado de doença, gravidez e lactação, contribuem para as variações nos níveis de homocisteína. Em geral, a contribuição dietética da homocisteína sozinha é insignificante, devido aos seus baixos níveis na maioria dos alimentos (KUMAR et al., 2017).

Homocisteinemia e sua relação com enfermidades

É bem descrito para seres humanos que altas concentrações plasmáticas de homocisteína induz efeitos deletérios e relaciona-se com a ocorrência de diversas enfermidades (KUMAR et al., 2017; WANG, et al. 2002; LENTZ et al., 2003). Há esforços contínuos para entender se hiperhomocisteinemia é fator causal da enfermidade ou se é consequência da mesma (KUMAR et al., 2017).

O aumento de homocisteína no plasma tem sido descrito em enfermidades relacionadas à idade, como osteoporose, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, acidente vascular cerebral, doença cardiovascular e, também é observado em pacientes com câncer, aneurisma aórtico, hipotireoidismo, doença renal avançada e diabetes.

Foi identificada sua relação com a hipertrofia e disfunção diastólica ventricular esquerda (YE et al., 2016) e a presença de aterosclerose também já foi mostrada em pacientes que cursam com hiperlipidemia e hiperhomocisteinemia (GLUECK et al., 1995). Além de ter um efeito citotóxico sobre as células endoteliais (BLANN et al., 1992), foi demonstrado que a hiperhomocisteinemia afeta o relaxamento e resistência de grandes artérias e vasos, levando a um quadro de disfunção endotelial, que também acontece em problemas como hipercolesterolemia e hipertensão (LENTZ et al., 2003). A hiperhomocisteinemia foi associada a expressão de proteínas quimiotáticas, que vão estimular a migração de células inflamatórias, como macrófagos e monócitos e a ligação delas no endotélio, sendo este processo sugestivo de um início de formação de placas ateroscleróticas (WANG et al., 2002).

Hiperhomocisteinemia também está relacionada com desenvolvimento de demências e alterações da função cognitiva, sendo sua relação com o Alzheimer e autismo investigada (RAVAGLIA et al., 2005), neste último, atribui-se o aumento nos níveis de homocisteína à incapacidade do cérebro em metabolizar esse composto (KALUZNA-CZAPLINSKA et al., 2012). Seu aumento pode ter papel também na formação de placas β -amiloide, que se relaciona ao início do desenvolvimento do Alzheimer (KUMAR et al., 2017). Por outro lado, observou-se um potencial efeito neurotóxico de altos níveis de homocisteína, por meio de uma estimulação excessiva dos neurônios (LIPTON et al., 1997).

A homocisteinemia aumenta de acordo com a progressão da disfunção renal, provavelmente devido à uma menor taxa de filtração glomerular (YE et al., 2016).

Homocisteína plasmática em Medicina Veterinária

Ainda são poucos os estudos em Medicina Veterinária que avaliam a possível relação da homocisteína com o desenvolvimento e progressão de doenças. Até o momento, estudos apontam para o papel da homocisteína como um possível biomarcador para o monitoramento de pacientes com degeneração valvar crônica de mitral (DVCM) e doença renal crônica (DRC) em cães (ROSSI et al., 2008). Na insuficiência cardíaca congestiva secundária à DVCM observa-se que os níveis plasmáticos de homocisteína aumentam com a progressão dos estágios da enfermidade, sendo a concentração média observada de 13,73umol/L, 18,86umol/L e 28,26umol/L respectivamente para os estágios B, C e D (LEE et al., 2017).

O mesmo aumento gradual relacionado a progressão da enfermidade foi observado em cães com DRC (ROSSI et al., 2013a), indicando que esse aumento pode estar associado à redução na taxa de filtração glomerular, o que também explicaria o hiperhomocisteinemia encontrada em alguns cães hipotireoideos (GOLYNSKI et al., 2017). Outro aspecto é que a hiperhomocisteinemia estava presente em cães com proteinúria e pode ser relacionada ao fato da proteinúria ser mais frequente em cães com DRC grave. Apesar disso, observa-se que a homocisteína não é um marcador com potencial uso clínico para estes pacientes com DRC tendo em vista que existem outros validados, mais vantajosos e eficientes para o monitoramento da DRC (ROSSI et al., 2013a).

Patterson et al. (2013), encontraram valores de homocisteína séricos menores em cães com síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) e sepse, comparativamente à cães saudáveis. Os autores discutem a possibilidade de que cães apresentem mecanismos diferentes de regulação de homocisteína em processos inflamatórios ou que nestes quadros apresentem baixas concentrações de metionina, devido à um estado nutricional alterado. Resultados parecidos foram

vistos em cães da raça Greyhound, onde as maiores concentrações séricas de homocisteína foram vistas em animais saudáveis, quando comparados à cães que apresentavam diarreia crônica e doença trombótica (HEILMANN et al., 2017).

Cães da raça Greyhound possuem maior predisposição a doença gastrointestinal crônica, o que explica a alta incidência de hipocobalaminemia e hipofolatemia, devido à má absorção desses compostos. Nesses cães observou-se um aumento de homocisteína, relacionado à hipofolatemia, mas sem relação com a hipocobalaminemia (HEILMANN et al., 2017).

De forma semelhante, a deficiência de cobalamina é uma alteração presente em cães das raças Border Collie e Shar-Pei, e pode estar associada à pancreatite, doenças intestinais e outras alterações. Estudos mostram que em cães dessas raças também apresentam um aumento dos níveis de homocisteína (LUTZ et al., 2012; GRÜTZNER et al., 2013; ROSSI et al., 2013b). No entanto, outros dados também revelam que a hiperhomocisteinemia pode estar presente em cães com concentrações normais de cobalamina e folato (HEILMANN et al., 2017) ou uma hipocobalaminemia pode estar presente em concentrações normais de homocisteína (ROSSI et al., 2013b). Ainda, em alguns casos não se observou nenhuma correlação entre as concentrações de homocisteína e de cobalamina e folato (PATTERSON et al., 2013). Já foi sugerido que os cães podem ter uma via alternativa não dependente de vitamina B12, para a metabolização da homocistina (ROSSI et al., 2013b).

Em outra situação, foi visto que shar-peis que possuíam deficiência de cobalamina, quando comparados com outros cães que também tinham essa anormalidade, apresentavam concentrações maiores de homocisteína do que os outros animais (GRÜTZNER et al., 2013).

Efeito da suplementação dietética de vitaminas do Complexo B na homocisteinemia

Desde 1966 já se investigavam estratégias dietéticas para o controle sérico de homocisteína. A princípio, procurou-se identificar o papel de dieta com teores reduzidos de metionina, porém apesar dos resultados positivos, passou-se a investigar mais a fundo o efeito da suplementação das vitaminas B6, B9 e B12 sobre os valores plasmáticos de homocisteína (KOMROWER et al., 1966).

Logo foi observado que o ácido fólico se caracterizou como um dos fatores mais importantes na redução da homocisteinemia. Notou-se que há uma relação inversa entre os níveis séricos de homocisteína e folato, mostrando que uma maior ingestão deste componente, é bastante eficiente no controle da homocisteína (BOUSHEY et al., 1995). O papel do folato sobre a metabolização da homocisteína se mostrou benéfico mesmo em pacientes que não tinham deficiência desta vitamina e, cuja suplementação oral, foi capaz de provocar reduções dos valores da homocisteinemia (BRATTSTRÖM, 1996). Em humanos, não é necessária dose muito alta de ácido fólico para este efeito e, após um tempo da suplementação, os níveis de homocisteína tendem a apresentar um platô (BOUSHEY et al., 1995).

Tanto para B6 quanto para B12, observou-se que, em alguns casos, a suplementação isolada com essas vitaminas, não promoveu alterações nas concentrações plasmáticas de homocisteína, sugerindo-se a redução da homocisteína seriam notados em pacientes que apresentassem deficiência destas vitaminas (BRATTSTRÖM, 1996). De forma oposta, a administração intramuscular ou intravenosa de cobalamina, em pacientes sem deficiência de B12, mostrou melhora significativa das concentrações séricas de homocisteína (ARAKI et al., 1993).

Em pacientes com hiperhomocisteinemia, também se observou que a associação de B6 e B9 foi capaz de trazer os valores de homocisteína para a normalidade (GLUECK et al., 1995). Apesar da maior evidência para a suplementação com vitaminas B9 e B12 (BRATTSTRÖM, 1996), a associação das três vitaminas parece apresentar resultados mais efetivos no controle da concentração plasmática da homocisteína (SMITH et al., 2010).

No entanto, quando se compara diretamente o papel da suplementação vitamínica sobre as doenças em que se observa hiperhomocisteinemia, os resultados se tornam inconclusivos.

Outro estudo mostra que após o enriquecimento da farinha de trigo com ácido fólico, nos Estados Unidos após orientação da *Food and Drug Administration* (FDA), observou-se redução da concentração plasmática média de homocisteína e redução da mortalidade por AVE na população estadunidense e acredita-se que o maior consumo de ácido fólico pode ter contribuído para essa redução (YANG et al., 2006).

Em metanálise que reuniu 14 trabalhos que investigavam os efeitos da suplementação de ácido fólico isoladamente e de sua associação com piridoxina e cobalamina em diferentes doses sobre pacientes com acidente vascular encefálico (AVE), não evidenciou efeito preventivo da suplementação vitamínica para pacientes nesta condição. Ao se analisar separadamente os efeitos da vitamina B12 sobre a redução do risco de AVE, também não foi comprovado benefício significativo (JI et al., 2013).

Em revisão sistemática de Balk e colaboradores (2007) analisaram 18 trabalhos com suplementações únicas ou associadas das vitaminas B6, B9 e B12, sobre a função cognitiva em humanos. Estes pesquisadores não observaram melhora com

a suplementação oral de vitamina B6, assim como com a suplementação de vitamina B12. Na suplementação oral com ácido fólico os resultados se mostraram variáveis em relação às funções cognitivas, mas houve melhora desta em casos de pacientes que apresentavam deficiência dessa vitamina. Quando da associação das três vitaminas por 3 meses a 2 anos, por via oral ou parenteral, os resultados variaram, não sendo possível concluir sobre este uso conjunto (BALK et al., 2007). Outra metanálise mostrou que suplementação de B9 associada à B6 e B12 não trouxe melhoras em pacientes com função cognitiva diminuída, embora tenha se visto diminuição da concentração de homocisteína sérica (ZHANG et al.; 2017). Contudo, um dos benefícios demonstrados pela suplementação associada de B9 e B12 foi uma menor taxa da atrofia cerebral em pacientes com Alzheimer. Esse resultado indica um possível benefício para as funções cognitivas (SMITH et al., 2010).

Poucos estudos na medicina veterinária fazem um paralelo sobre as doenças em que é observada hiperhomocisteinemia e a suplementação das vitaminas envolvidas no metabolismo deste composto. Um estudo bastante recente procurou verificar os efeitos da suplementação conjunta de arginina, antioxidantes, óleo de peixe e vitaminas do complexo B por seis meses sobre a melhora cognitiva de cães, sendo que este grupo apresentou melhor performance em alguns dos testes realizados para avaliar a função cognitiva quando comparado ao grupo controle não suplementado. Embora não se tenha determinado as quantidades séricas de vitaminas B6, B9 e B12, acredita-se que parte da melhora pode ser atribuída a elas, devido aos dados que se tem para humanos (PAN et al., 2018).

Considerações finais

Embora, em humanos, a relação causa ou consequência e o benefício do controle da hiperhomocisteinemia em pacientes com diversas enfermidades que cursam com esta condição permaneçam incertos, na Medicina Veterinária, este campo de estudo permanece com muitas lacunas que demandam investigações futuras. No sentido de aprimorar o entendimento de possíveis especificidades no metabolismo da homocisteína, identificar a relação entre ocorrência de hiperhomocisteinemia e enfermidades, assim como o benefício da suplementação de vitaminas B6, B9 e B12 e outras intervenções dietéticas.

Referências

- ARAKI, A.; SAKO, Y.; ITO, H. Plasma homocysteine concentrations in Japanese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: effect of parenteral methylcobalamin treatment. **Atherosclerosis**, v.103, p.149-157, 1993.
- BALK, E. M.; RAMAN, G.; TATSIONI, A.; CHUNG, M.; LAU, J.; ROSENBERG, I. H. Vitamin B6, B12, and Folic Acid Supplementation and Cognitive Function: A Systematic review of randomized trials. **Arch Intern Med**, v.167, p.21-30, 2007.
- BLANN, A. D. Endothelial cell damage and homocysteine. **Atherosclerosis**, v.94, p.89-91, 1992.
- BMJ. Homocysteine Lowering Trialist's Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid-base supplements: meta-analysis of randomized trials. **BMJ** v. 316, p. 894-898, 1998.
- BOUSHEY, C. J.; BERESFORD, S. A. A.; OMENN, G. S.; MOTULSKY, A. G. A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease. **JAMA**, v.274, p.1049-1057, 1995.

- BRATTSTRÖM, L. Vitamins as Homocysteine-Lowering Agents. **The Journal of Nutrition**, v.126, p.1276-1280, 1996.
- CHEN, K. J.; PAN, W. H.; YANG, F. L.; WEI, I. L.; SHAW, N. S.; LIN, B. F. Association of B vitamins status and homocysteine levels in elderly Taiwanese. **Asia Pac J Clin Nutr**, v.4 (3), p. 250-255, 2005.
- GLUECK, C. J.; SHAW, P.; LANG, J. E.; TRACY, T.; SIEVE-SMITH, L.; WANG, Y. Evidence That Homocysteine Is an Independent Risk Factor for Atherosclerosis in Hyperlipidemic Patients. **The American Journal of Cardiology**, v.75, p.132-136, 1995.
- GOLYNSKI, M.; LUTNICKI, K.; KRUMRYCH, W.; SZCZEPANIK, M.; GOLYNSKA, M.; WILKOLEK, P.; ADAMEK, L.; SITKOWSKI, L.; KUREK, L. Relationship between Total Homocysteine, Folic Acid, and Thyroid Hormones in Hypothyroid Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.31, p.1403-1405, 2017.
- GRÜTZNER, N.; HEILMANN, R. M.; STUPKA, K. C.; RANGACHARI, V. R.; WEBER, K.; HOLZENBURG, A.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M. Serum homocysteine and methylmalonic acid concentrations in Chinese Shar-Pei dogs with cobalamin deficiency. **The Veterinary Journal**, v.197, p.420-426, 2013.
- HEILMANN, R. M.; GRÜTZNER, N.; IAZBIK, M. C.; LOPES, R.; BRIDGES, C.S.; SUCHODOLSKI, J. S.; COUTO, C. G.; STEINER, J. M. Hyperhomocysteinemia in Greyhounds and its Association with Hypofolatemias and Other Clinicopathologic Variables. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.31, p.109-116, 2017.
- JI, Y.; TAN, S.; XU, Y.; CHANDRA, A.; SHI, C.; SONG, B.; QIN, J.; GAO, Y. Vitamin B supplementation, homocysteine levels, and the risk of cerebrovascular disease. **American Academy of Neurology**, v.81, p.1298-1307, 2013.

- KALUZNA-CZAPLINSKA, J.; ZURAWICZ, E.; MICHALSKA, M.; RYNKOWSKY, J. A focus on homocysteine in autism. **Acta Biochim Pol**, v.60, p.137-142, 2013.
- KANG, S. S.; WONG, P. W.; NORUSIS, M. Homocysteinemia due to folate deficiency. **Metabolism**, v. 36, p. 458-462, 1987.
- KOMROWER, G. M.; LAMBERT, A. M.; CUSWORTH, D. C.; WESTALL, R. G. Dietary Treatment of Homocystinuria. **Arch Dis Child**, v.41, p.666-671, 1966.
- KUMAR, A.; PALFREY, H. A.; PATHAK, R.; KADOWITZ, P. J.; GETTYS, T. W.; MURTHY, S. N. The metabolism and significance of homocysteine in nutrition and health. **Nutrition & metabolism**, v.14, 2017.
- LEE, C-M.; JEONG, D-M.; KANG, M-H.; KIM, S-G.; HAN, J-I.; PARK, H-M. Correlation between serum homocysteine concentration and severity of mitral valve disease in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v.78, p.440-446, 2017.
- LENTZ, S. R.; RODINOV, R. N.; DAYAL, S. Hyperhomocysteinemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular risk: the potential role of ADMA. **Atherosclerosis Supplements**, v.4, p.61-65, 2003.
- LIPTON, S. A.; KIM, W-K.; CHOI, Y-B.; KUMAR, S.; D'EMILIA, D. M.; RAYUDU, P. V.; ARNELLE, D. R.; STAMLER, J. S. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.94, p.5923-5928, 1997.
- LUTZ, S.; SEWELL, A. C.; BIGLER, B.; RIOND, B.; REUSCH C. E.; KOOK, P. H. Serum cobalamin, urine methylmalonic acid, and plasma total homocysteine concentrations in Border Collies and dogs of other breeds. **American Journal of Veterinary Research**, v.73, p.1194-1199, 2012.
- NEVES, L. B.; MACEDO, D. M.; LOPES, A. C. Homocisteína. **J Bras Patol Med Lab**, v. 40 (5), p. 311-320, 2004.

- PAN, Y.; KENNEDY, A. D.; JÖNSSON, T. J.; MILGRAM, N. W. Cognitive enhancement in old dogs from dietary supplementation with a nutrient blend containing arginine, antioxidants, B vitamins and fish oil. **British Journal of Nutrition**, v.119, p.349-358, 2018.
- PATTERSON, B. E.; BAR, J. W.; FOSGATE, G. T.; BERGHOFF, N.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; BLACK, D. M. Homocysteine in dogs with systemic inflammatory response syndrome. **Journal of Small Animal Practice**, v.54, p.620-624, 2013.
- RAVAGLIA, G.; FORTI, P.; MAIOLI, F.; MARTELLI, M.; SERVADEI, L.; BRUNETTI, N.; PORCELLINI, E.; LICASTRO, F. Homocysteine and folate risk factors for dementia and Alzheimer disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.82, p.636-643, 2005.
- ROSSI, G.; BREDI, S.; GIORDANO, A.; PENGO, G.; DALL'ARA, P.; ROSSI, G.; BO, S.; PALTRINIERI, S. Association between hypcobalaminaemia and hyperhomocysteinemia in dogs. **Veterinary Record**, v.172, 2013b.
- ROSSI, G.; GIORDANO, A.; BREDI, S.; LISI, C.; ROURA, X.; ZATELLI, A.; PALTRINIERI, S. Big-endothelin 1 (big ET-1) and homocysteine in the serum of dogs with chronic kidney disease. **The veterinary journal**, v.198, p.109-115, 2013a.
- ROSSI, S.; ROSSI, G.; GIORDANO, A.; PALTRINIERI, S. Homocysteine measurement by an enzymatic method and potential role of homocysteine as a biomarker in dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.20, p.644-649, 2008.
- SMITH, A. D.; SMITH, S. M.; JAGER, C. A.; WHITBREAD, P.; JOHNSTON, C.; AGACINSKI, G.; OULHAJ, A.; BRADLEY, K. M.; JACOBY, R.; REFSUM, H. Homocysteine-Lowering by B Vitamins Slows the Rate of Accelerated Brain Atrophy

in Mild Cognitive Impairment: A Randomized Controlled Trial. **PLoS One**, v.5, e12244, 2010.

WANG, G.; WOO, C. W. H.; SUNG, F. L.; SIOW, Y. L.; O, K. Increased Monocyte Adhesion to Aortic Endothelium in Rats With Hyperhomocysteinemia. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v.22, p.1777-1783, 2002.

YANG, Q.; BOTTO, L. D.; ERICKSON, J. D.; BERRY R. J.; SAMBELL, C.; JOHANSEN, H.; FRIEDMAN, J. M. Improvement in Stroke Mortality in Canada and the United States, 1990 to 2002. **Circulation**, v. 113, p.1335-1343, 2006.

YE, Z.; ZHANG, Q.; LI, Y.; WANG, C.; ZHANG, J.; MA, X.; PENG, H.; LOU, T. High Prevalence of Hyperhomocysteinemia and Its Association with Target Organ Damage in Chinese Patients with Chronic Kidney Disease. **Nutrients**, v.8, 2016.

ZHANG, D.; YE, J.; MU, J.; CUI, X. Efficacy of Vitamin B Supplementation on Cognitiom in Elderly Patients With Cognitive-Related Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology**, v.30, p.50-59, 2017.