

بررسی سطح هوموسیستین تام، فولات و ویتامین B12 در جمعیت شهری ۶۴-۲۵ ساله ساکن پایگاه تحقیقات جمعیتی دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر حسین فخرزاده^{۱*}، دکتر سارا قطبی^۲، دکتر رسول پور ابراهیم^۳، دکتر معصومه نوری^۳، دکتر رامین حشمت^۴، دکتر علیرضا شفاپی^۵، دکتر باقر لاریجانی^۶

چکیده

مقدمه: هوموسیستین به عنوان یک عامل خطرزای مستقل بیماری‌های قلب و عروق شناخته شده است. میزان مقادیر هوموسیستین تام پلاسما، یک شاخص حساس در تشخیص موارد کمبود اسید فولیک و ویتامین B12 محسوب می‌گردد. فولات و ویتامین B12 دارای یک اثر محافظتی بر روی بیماری‌های قلبی - عروقی هستند. مطالعه حاضر اولین پژوهشی است که به توصیف مقادیر هوموسیستین، اسید فولیک و ویتامین B12 در ۱۲۱۴ ایرانی سالم می‌پردازد.

روش‌ها: این بررسی طی انجام یک مطالعه مقطعی در قالب "مطالعه هوموسیستین تهران" در چارچوب مطالعه عوامل خطر بیماری‌های قلبی - عروقی، با رعایت دستورالعمل مدون MONICA بر روی ۱۵۷۳ فرد ۶۴-۲۵ ساله ساکن منطقه ۱۷ شهر تهران (پایگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی تهران) با روش نمونه‌گیری خوشه‌ای، به منظور تعیین مقادیر هوموسیستین، اسید فولیک و ویتامین B12 پلاسمایی با مراجعه به منازل، تکمیل پرسشنامه، مصاحبه، معاینه و خونگیری از نمونه‌ها انجام شد. نمونه‌های خون در لوله‌های Venoject جمع‌آوری شده، مورد بررسی آزمایشگاهی با رعایت شرایط لازم قرار گرفتند.

یافته‌ها: در مجموع، ۱۲۱۴ فرد از نظر متغیرهای مذکور مورد مطالعه قرار گرفتند، ۴۲۸ نفر (۳۵/۳٪) مذکر و ۷۸۶ نفر (۶۴/۷٪) مونث بودند. شیوع هیپرهوموسیستینمی در مردان و زنان به ترتیب ۹۶/۴٪ و ۸۳/۳٪ محاسبه گردید که اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد ($p < ۰/۰۰۰۱$). میانگین غلظت هوموسیستین در هر دو جنس (مردان $۱۹/۰۲ \pm ۱/۴۶ \mu\text{mol/l}$ ، زنان $۱۴/۰۵ \pm ۱/۴۵ \mu\text{mol/l}$) با افزایش سن افزایش نشان می‌داد. تعداد ۵۲۷ نفر (۹۸/۹٪) از مردان و ۸۳۳ نفر (۹۸/۰٪) از زنان دچار کمبود اسید فولیک و تعداد ۱۶۱ نفر مرد (۳۰/۱٪) و ۲۳۲ نفر زن (۲۷/۲٪) با کمبود ویتامین B12 مواجه بودند.

نتیجه‌گیری: در بررسی انجام شده، شیوع هیپرهوموسیستینمی تام و کمبود اسید فولیک و ویتامین B12 نسبت به سایر جوامع بطور قابل توجهی بالاست. اجرای مداخلات پیشگیرانه از طریق غنی‌سازی مواد غذایی با اسید فولیک ضروری به نظر می‌رسد.

کلیدواژه‌ها: هوموسیستین، اسید فولیک، ویتامین B12، بیماری‌های قلب و عروق، سن، جنس

۱- استادیار بیماری‌های قلب و عروق، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- محقق مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- محقق مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- دستیار اپیدمیولوژی، محقق مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۵- محقق مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۶- استاد بیماری‌های غدد و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

***نشانی:** تهران، خیابان کارگر شمالی، نبش جلال آل احمد، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم؛

تلفن: ۸۰۲۶۹۰۲-۳؛ نمابر: ۸۰۲۹۳۹۹؛ پست الکترونیک: emrc@sina.tums.ac.ir

مقدمه

هوموسیستتین یک اسید آمینه ضروری است و از دمتیلاسیون اسید آمینه متیونین حاصل می‌شود [۱]. در متابولیسم هوموسیستتین، فولات به عنوان کوسوبسترا و ویتامین B12 به عنوان کوفاکتور دخالت دارد [۲]. همچنین در مسیر رمتیلاسیون هوموسیستتین به متیونین، حضور این کوآنزیم‌ها ضروری است [۳]. مطالعات جمعیتی مختلف نشان داده‌اند که متابولیسم هوموسیستتین علاوه بر آنکه به میزان این ویتامین‌های کوفاکتور بستگی دارد، با نقایص ژنتیکی آنزیم‌های شرکت کننده در متابولیسم هوموسیستتین [۴] و نیز نژاد و قومیت افراد ارتباط دارد [۵].

سطوح بالای هوموسیستتین تام گردش خون، در ارتباط با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی، آترواسکلروز، سکته، نقایص مادرزادی نظیر نقص لوله عصبی، آلزایمر، اختلالات شناختی و مشکلات مختلف نورولوژیک است [۶-۱۵]. به علاوه هوموسیستتین باعث ایجاد تغییراتی در DNA سلولها می‌شود که می‌تواند اثرات سرطان‌زا داشته باشد [۱۶ و ۱۷].

هوموسیستتین یک شاخص عملی حساس در تشخیص غلظت‌های ناکافی فولات و ویتامین B12 سلولی است [۱۸] و افزایش سطح آن مدت زمان زیادی قبل از وقوع کمبود کلاسیک این ویتامین‌ها قابل ملاحظه است. میزان ناکافی این ویتامین‌ها در بدن، بر تندرستی انسان اثرات قابل توجهی بجای می‌گذارد که ممکن است مستقل از نقش این ویتامین‌ها در متابولیسم هوموسیستتین باشد. افزایش غلظت پلاسمایی هوموسیستتین نشانگر وضعیت اجتماعی - اقتصادی پایین و تغذیه نامناسب است و ممکن است هیپر هوموسیستینمی به جای این که علت بیماری‌های قلبی - عروقی باشد، زائیده این بیماری‌ها به شمار آید [۱۹].

غلظت‌های بالای هوموسیستتین تام ناشتا، در ارتباط با غلظت کم فولات و ویتامین B12 گردش خون و یا مصرف ناکافی این ویتامین‌هاست [۲۰]. به همین سبب آزمایش خون برای تعیین هیپرهوموسیستینمی در ارزیابی وضعیت تغذیه‌ای

افراد، رویکردی سودمند محسوب می‌شود [۲۱] و در آزمون‌های آزمایشگاهی، سطح پلاسمایی هوموسیستتین تام به عنوان یک نشانگر حساس در تشخیص کمبود فولات و کوبالامین پذیرفته شده است [۲۲]. از طرفی، غلظت پلاسمایی فولات به عنوان قوی ترین عامل تعیین کننده غلظت هوموسیستتین تام شناخته شده است، هر چند میزان غلظت فولات می‌تواند تحت تأثیر عواملی نظیر مصرف ناکافی، پلی‌مورفیسم ژنتیکی و یا تداخل اثر با داروهای مختلف، کاهش یافته باشد. البته کمبود ویتامین B12 نیز سطوح بافتی و سرمی هوموسیستتین را افزایش می‌دهد [۲۳]. فولات و ویتامین B12 دارای یک اثر محافظتی بر روی بیماری‌های قلبی - عروقی هستند که احتمالاً بخشی از این اثر، توسط مکانیسم‌های مستقل از هوموسیستتین اعمال می‌شود [۲۴ و ۲۵]. کمبود میزان فولات با ایجاد نقایص لوله عصبی و نیز ابتلا به سرطان مرتبط است [۴].

مطالعات جمعیتی حاکی از آن است که بیشتر افرادی که غلظت‌های ناکافی سرمی فولات و ویتامین B12 دارند، از غلظت‌های بالای هوموسیستتین برخوردارند [۱۹]. یک روش عملی برای ارزیابی میزان فولات بدن، تعیین میزان فولات خون به عنوان یک نشانگر زیستی تغذیه‌ای است [۲۶] و سطح فولات خون، نشانگر میزان مصرف فولات می‌باشد. هر چند عوامل مختلفی بر مراحل جذب و دسترسی سلول‌ها^۱ اثر گذاشته، سبب تفاوت سطوح فولات در بافت‌های مختلف می‌شود [۲۷].

پژوهش‌ها نشان داده اند که در اکثر موارد، غلظت‌های بالای هوموسیستتین تام با غلظت پایین ویتامین‌ها همراه می‌شود. اما تعیین درصد مواردی که بتوان غلظت‌های بالای هومو-سیستتین را به میزان ناکافی ویتامین B متناسب ساخت، نیازمند داشتن یک تعریف استاندارد برای هیپرهومو-سیستینمی تام است که متأسفانه هنوز چنین تعریفی بطور جامع ارائه نشده است و همه مجامع علمی از محدوده^۲ مرجع غلظت هوموسیستتین استفاده می‌کنند [۱].

^۱ bioavailability

^۲ reference ranges

بعضی از داروها مانند مکمل‌های غذایی، داروهای ضد صرع و ضد سرطان در نظر گرفته شده بود. کلیه نمونه‌ها از روز قبل از اندازه‌گیری فشار خون و خون‌گیری، نسبت به رعایت موارد توصیه شده از جمله مدت زمان ناشتا بودن، توجیه شده بودند و فرم رضایت‌نامه کتبی از تک افراد اخذ گردید. پرسشنامه‌ای حاوی پرسش‌هایی در زمینه سوابق بیماری‌های دیابت، فشار خون بالا، مصرف داروها و آگاهی افراد از بیماری‌شان و همچنین عادات زندگی و کشیدن سیگار جهت کلیه نمونه‌ها تکمیل گردید. وزن افراد با حداقل پوشش و بدون کفش با ترازوی استاندارد Soehnle بر روی سطح کاملاً سخت و هموار اندازه‌گیری شد و ترازو در هر خوشه نمونه‌گیری دو بار یعنی در هر ۱۲ بار اندازه‌گیری کالیبره گردید. قد نمونه‌ها توسط قدسنج در وضعیت ایستاده بدون کفش، کلاه و گیره سر به نحوی اندازه‌گیری شد که سر کاملاً عمودی، بدن کاملاً قائم، نگاه به روبرو، پاها جفت و پاشنه پاها چسبیده به قدسنج بود. اندازه دور کمر با قرار دادن متر پارچه‌ای روی فوقانی‌ترین قسمت ستیغ ایلپاک مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. نمونه خون پس از ۱۲ ساعت ناشتا بودن، توسط لوله‌های Venoject گرفته شد و پس از جداسازی، جهت اندازه‌گیری بیوشیمیایی هوموسیستین، اسید فولیک و ویتامین B12 به آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه تهران منتقل گردید. از مجموع ۱۵۷۳ نفری که تکمیل پرسشنامه و خون‌گیری از آنان انجام گرفته بود، تعداد ۳۵۹ نفر از مطالعه تعیین سطوح هوموسیستین، اسید فولیک و ویتامین B12 خارج شدند که علت آن نداشتن معیارهای ورود به مطالعه و یا مناسب نبودن نمونه‌های خون بود. هوموسیستین پلازما را به روش HPLC^۱ بر طبق شیوه Gilfix و همکاران [۳۰] اندازه گرفتیم. اندازه‌گیری اسید فولیک و ویتامین B12 با روش رادیوایمونواسی صورت پذیرفت.

هر چند توزیع غلظت‌های پلاسمایی هوموسیستین در برخی از جمعیت‌ها گزارش گردیده، اما اطلاعات ناچیزی از توصیف غلظت‌های هوموسیستین در جمعیت ایرانیان سالم در دست است [۲۸]. در مطالعه حاضر، غلظت‌های هوموسیستین تام، اسیدفولیک و ویتامین B12 پلاسمای ۱۲۱۴ ایرانی سالم در قالب "مطالعه هوموسیستین تهران" مورد اندازه‌گیری قرار گرفته است. این پژوهش در نوع خود اولین مطالعه‌ای است که به توصیف مقادیر هوموسیستین تام، اسیدفولیک و ویتامین B12 در چنین حجم نمونه‌ای از ایرانیان سالم پرداخته است.

روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه مقطعی است که بر روی ۱۵۷۳ فرد (۶۱۵ نفر مرد و ۹۵۸ نفر زن) ۶۴-۲۵ ساله در ۱۱۵ خوشه انتخاب شده از منطقه ۱۷ شهر تهران انجام شده است. منطقه ۱۷ از نظر ویژگی‌های ترکیب جمعیتی و وضعیت دموگرافیک، بعنوان منطقه هدف مطالعات جمعیتی دانشگاه علوم پزشکی تهران انتخاب شده است. این پژوهش با الگوسازی از پروژه مونیکی سازمان بهداشت جهانی در این منطقه پیاده شد. طراحی روش نمونه‌گیری این مطالعه شبیه به سایر مطالعاتی است که در چارچوب پروژه مونیکی انجام گرفته‌اند [۲۹]. انتخاب خوشه‌ها طبق سرشماری نفوس و مسکن سال ۱۳۷۵ و با مشاوره مرکز آمار ایران انجام گردیده است. عملیات میدانی جمع‌آوری داده‌ها با همکاری ۱۰ نفر از کارشناسان علوم اجتماعی گرایش مردم‌شناسی و ۱۰ نفر از پرستاران آموزش دیده، تحت نظارت کارشناسان مرکز آمار ایران به مدت ۶ ماه در منطقه ۱۷ شهر تهران انجام شده است. کلیه افراد سالم ۲۵ تا ۶۴ ساله در این پژوهش وارد شدند. معیار خروج از مطالعه، ابتلا به بیماری‌های سیستمیک مزمن نظیر بیماری‌های قلب و عروق، نارسایی کلیه و کبد، بیماری‌های غدد درون‌ریز و تیروئید، بیماری‌های پرولیفراتیو، بعضی از حالت‌های فیزیولوژیک نظیر حاملگی و مصرف

¹ high-performance liquid chromatography

جدول ۱ - مقادیر هوموسیستتین مورد استفاده در مطالعه

هوموسیستتین طبیعی	> ۱۰ μmol/l
هیپرهوموسیستتینی خفیف	۱۰ - ۳۰ μmol/l
هیپرهوموسیستتینی متوسط	۳۰ - ۱۰۰ μmol/l
هیپرهوموسیستتینی شدید	< ۱۰۰ μmol/l

با توجه به این که بر پذیرش یک طبقه بندی خاص برای مقادیر هوموسیستتین در بین مجامع علمی جهان اتفاق نظری وجود ندارد، در مطالعه ما هوموسیستتین با مقادیر بیش از ۱۰ μmol/l، هیپرهوموسیستتینی در نظر گرفته شد [۳۱]. جدول یک، طبقه بندی مورد استفاده در مطالعه ما را نشان می دهد.

همچنین مقادیر پلاسمایی اسید فولیک کمتر از ۱۱ nmol/l را به عنوان کمبود اسید فولیک و مقادیر پلاسمایی کمتر از ۱۸۵ pmol/l ویتامین B12 را کمبود ویتامین B12 محسوب نمودیم [۱].

اطلاعات تکمیل شده در پرسشنامه ها پس از پایان هر جلسه توسط بازیبن مرکز آمار ایران مورد بررسی قرار گرفت و اطلاعات ناقص جهت تکمیل مجدد به پرسشگران عودت داده شد. کلیه مراحل جمع آوری اطلاعات با نظارت کارشناسان مرکز آمار ایران انجام پذیرفت. داده ها پس از ورود در بانک اطلاعات رایانه ای با استفاده از نرم افزار SPSS11.5 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقادیر هوموسیستتین، اسید فولیک و ویتامین B12 به دلیل عدم برخورداری از توزیع طبیعی و وجود چولگی^۱ شدید با تغییر متغیر در پایه لگاریتم طبیعی به صورت نرمال در آمده و مقایسه های مربوطه با استفاده از آزمون های پارامتری انجام شده و مقادیر میانگین هندسی و فاصله اطمینان ۹۵٪ آنها ارائه گردید.

نتایج

از مجموع ۱۲۱۴ فرد مورد مطالعه، ۴۲۸ نفر (۳۵/۳٪) مذکر و ۷۸۶ نفر (۶۴/۷٪) مونث بودند. کلیه این افراد در محدوده

سنی ۲۵ تا ۶۴ سال انتخاب شده بودند. تعداد ۴۱۳ نفر از مردان (۹۶/۴٪) و تعداد ۶۵۵ نفر از زنان (۸۳/۳٪) از هیپر هوموسیستتینی رنج می بردند که بین دوجنس اختلاف معنی داری را نشان می دهد ($p < ۰/۰۰۰۱$). به علاوه، تعداد ۵۲۷ نفر (۹۸/۹٪) از مردان و ۸۳۳ نفر (۹۸/۰٪) از زنان دچار کمبود اسید فولیک بودند که البته اختلاف بین دوجنس معنی دار نبود ($p = ۰/۲۸۱$). همچنین تعداد ۱۶۱ نفر از مردان (۳۰/۱٪) و ۲۳۲ نفر از زنان (۲۷/۲٪) با کمبود ویتامین B12 مواجه بودند که اختلاف معنی دار نبود ($p = ۰/۸۴۶$).

مطابق جدول ۲، در مردان گروه سنی ۵۴ - ۴۵ و ۶۴ - ۵۵ سال، به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۹٪ افراد دچار هیپر هوموسیستتینی هستند. این ارقام در زنان همین دو گروه سنی به ترتیب ۸۳/۱٪ و ۹۰/۳٪ است.

از ۱۲۱۴ نفر، ۱۰۰۲ نفر (۸۲/۵٪) دارای هیپر هوموسیستتینی خفیف، ۲۶ نفر (۵/۴٪) هیپر هوموسیستتینی متوسط و ۱۴۶ نفر (۱۲٪) هوموسیستتین طبیعی داشتند. همچنین ۹۳/۱٪ و ۳۵/۸٪ از افراد به ترتیب از کمبود اسید فولیک و ویتامین B12 رنج می بردند. در حالی که تنها ۱/۷٪ و ۶۹/۲٪ از افراد مقادیر طبیعی اسید فولیک و ویتامین B12 را دارا بودند. برای بررسی ارتباط هوموسیستتین تام با مقادیر مختلف اسید فولیک و ویتامین B12، ضریب همبستگی پیرسون محاسبه شد که به ترتیب اعداد ۰/۲۷ - و ۰/۱۹ - به دست آمد و با توجه به $p < ۰/۰۰۰۱$ ، نتیجه می گیریم که با افزایش غلظت اسید فولیک، غلظت هوموسیستتین کاهش می یابد و به طور مشابه، با افزایش غلظت ویتامین B12 نیز، غلظت هوموسیستتین کاهش نشان می دهد.

^۱skewness

دو جنس اختلاف معنی داری را نشان داد ($p < 0/0001$) و در مورد ویتامین B12 اگر چه بین سطوح پلاسمایی این ویتامین در دو جنس اختلاف دیده می شود، اما از لحاظ آماری معنی دار نیست ($p=0/063$). میانگین هندسی غلظت هوموسیستتین، اسید فولیک و ویتامین B12 در کل افراد به ترتیب $15/64 \mu\text{mol/l}$ ($SD=1/50$)، $3/94 \text{ nmol/l}$ ($SD=1/67$) و $262/88 \text{ pmol/l}$ ($SD=1/82$) بوده است.

جدول ۴ بر اساس چارک های مقادیر هوموسیستتین، اسید فولیک و ویتامین B12 ترسیم شده است. با توجه به این جدول، ملاحظه می شود که درصد مردان هر گروه سنی، با افزایش چارک هوموسیستتین، بالا می رود. اما در زنان این رویه معکوس است. همچنین با افزایش سن، نسبت مردان و زنان در چارک اول مربوط به هوموسیستتین و اسید فولیک در مقایسه با چارک چهارم افزایش نشان می دهد. در مردان، درصد چارک چهارم هوموسیستتین نسبت به زنان به طور قابل توجهی بالاتر است. با ملاحظه توزیع افراد در چارک های مربوط به هوموسیستتین، مشاهده می گردد که در گروه سنی ۵۵ - ۶۵ سال مردان و ۲۵-۳۴ سال زنان، بالاترین میزان توزیع دیده می شود.

برطبق جدول ۳، میانگین هندسی غلظت هوموسیستتین در گروه سنی ۵۵-۶۴ سال در هر دو جنس بیش از سایر گروه ها و در مردان بالاتر از زنان بود. به علاوه، غلظت اسید فولیک در مردان گروه سنی ۴۵-۵۴ سال و در زنان گروه های سنی ۲۵-۳۴ و ۴۵-۵۴ سال کمترین مقدار را داشت. در مورد ویتامین B12، کمترین غلظت در مردان گروه سنی ۴۵-۵۴ سال و در زنان گروه سنی ۳۵-۴۴ سال مشاهده گردید. به طور کلی میانگین هندسی غلظت هوموسیستتین در هر دو جنس با افزایش سن افزایش نشان می داد و در تمامی گروه های سنی، میانگین هندسی غلظت هوموسیستتین در افراد مذکر بالاتر از افراد مونث بود. اما میانگین هندسی غلظت فولات در تمام گروه ها در زنان بیش از مردان مشاهده گردید. میانگین هندسی غلظت ویتامین B12 به استثنای گروه سنی ۳۵-۴۴ سال، در کلیه گروه های سنی زنان بیشتر از مردان بود. میانگین هندسی مقادیر هوموسیستتین در مردان $19/02 \mu\text{mol/l}$ ($SD = 1/46$) و در زنان $14/05 \mu\text{mol/l}$ ($SD=1/45$) بوده که مقایسه آنها اختلاف معنی داری را بین دو جنس نشان می دهد ($p=0/004$). میانگین هندسی اسیدفولیک در مردان $3/66 \text{ nmol/l}$ ($SD = 1/65$) و در زنان $4/1 \text{ nmol/l}$ ($SD = 1/67$) و در مورد ویتامین B12 به ترتیب $251/39 \text{ pmol/l}$ ($SD = 1/94$) و $269/27 \text{ pmol/l}$ ($SD=1/75$) اندازه گیری شد. مقایسه غلظت اسید فولیک بین

جدول ۲ - شیوع غلظت های بالای هوموسیستتین و پایین اسید فولیک و ویتامین B12 به تفکیک جنس و گروه های سنی

جنسیت	گروه های سنی	تعداد نمونه	هوموسیستتین (%)	اسیدفولیک (%)	ویتامین B12 (%)
مردان	۲۵ - ۳۴	۱۶۵	۹۴/۵	۹۵/۲	۲۳/۶
	۳۵ - ۴۴	۱۰۱	۹۵/۰	۸۹/۱	۲۳/۸
	۴۵ - ۵۴	۶۷	۱۰۰/۰	۹۱/۰	۲۵/۴
	۵۵ - ۶۴	۹۵	۹۹/۰	۹۳/۷	۲۹/۵
زنان	۲۵ - ۳۴	۳۰۲	۷۹/۴	۹۳/۰	۲۳/۵
	۳۵ - ۴۴	۱۸۵	۸۴/۹	۹۴/۱	۲۷/۶
	۴۵ - ۵۴	۱۶۶	۸۳/۱	۹۲/۸	۲۹/۵
	۵۵ - ۶۴	۱۳۳	۹۰/۳	۹۳/۲	۲۵/۶

جدول ۳- میانگین غلظت هوموسیستتین، فولات و ویتامین B12 به تفکیک جنس و گروه های سنی.

مشخصات نمونه	گروه های سنی افراد مذکر				گروه های سنی افراد مونث				جمع
	۲۵ - ۳۴	۳۵ - ۴۴	۴۵ - ۵۴	۵۵ - ۶۴	۲۵ - ۳۴	۳۵ - ۴۴	۴۵ - ۵۴	۵۵ - ۶۴	
تعداد افراد	۱۶۵	۱۰۱	۶۷	۹۵	۳۰۲	۱۸۵	۱۶۶	۱۳۳	۱۲۱۴
هوموسیستتین $\mu\text{mol/l}$ *	۱۸/۰	۱۸/۵	۱۹/۵	۲۱/۳	۱۳/۳	۱۴/۱	۱۴/۲	۱۵/۶	۱۵/۶۴
**	۱۶/۹-۱۹/۱	۱۷/۲-۱۹/۹	۱۷/۹-۲۱/۱	۱۹/۹-۲۲/۸	۱۲/۸-۱۳/۹	۱۳/۳-۱۴/۹	۱۳/۴-۱۵	۱۴/۷-۱۶/۷	۱۵/۳-۱۶
فولات nmol/l *	۳/۶	۳/۷	۳/۳	۳/۹	۴/۰	۴/۱	۴/۰	۴/۳	۳/۹۴
**	۳/۴-۳/۹	۳/۳-۴/۲	۳/۹-۳/۷	۳/۶-۴/۳	۸/۳-۴/۳	۳/۸-۴/۵	۳/۷-۴/۳	۴/۰-۴/۷	۳/۸-۴/۱
ویتامین B12 pmol/l *	۲۵۵/۸	۲۶۲/۶	۲۳۵/۱	۲۴۴/۱	۲۷۶/۱	۲۵۶/۵	۲۶۴/۸	۲۷۸/۰	۲۶۲/۸۸
**	۲۳۲-۲۸۱	۲۲۴-۳۰۸	۱۹۴-۲۸۴	۲۱۶-۲۷۶	۲۵۹-۲۹۴	۲۳۶-۲۷۸	۲۴۱-۲۹۰	۲۵۱-۳۰۷	۲۵۴-۲۷۲

* میانگین هندسی (Geometric Mean)

** فاصله اطمینان ۹۵٪ (Confidence Interval)

باتوجه به وضعیت چارک های مربوط به اسید فولیک، بیشترین توزیع در گروه سنی ۴۵-۵۴ سال مردان و ۶۵-۵۵ سال زنان دیده می شود.

بحث

پژوهش های مختلف، سطوح بالای هوموسیستتین تام پلاسما را به عنوان یک عامل خطر مستقل بیماری های قلب و عروق معرفی کرده اند [۶، ۱۲-۱۰، ۳۲]. در مطالعات متعدد غلظت هوموسیستتین در مردان بیشتر از زنان ارزیابی شده و با افزایش سن، افزایش یافته است [۳۳، ۳۴]. همچنین سطح فولات و ویتامین B12 به عنوان دو عامل مهم تعیین کننده میزان هوموسیستتین پلاسما معرفی شده اند [۳۵]. پژوهش ها نشان داده اند، در افرادی که سطح اسید فولیک و ویتامین B12 پایین است، غلظت هوموسیستتین تام بالاتر است و درمان با این ویتامین ها سبب کاهش سطح هوموسیستتین می شود [۱].

در مطالعات اپیدمیولوژیک کشورهای مختلف، تعیین میزان غلظت هوموسیستتین پلاسما همواره مورد توجه بوده است. هرچند که تعریف هیپروهوموسیستتینمی هنوز به طور استاندارد ارایه نگردیده و البته علت آن این است که هنوز هم در تعیین میزان طبیعی آن تفاوت ها و اختلافاتی بین مراکز علمی

مختلف وجود دارد [۸]. مطالعه NHANES III بر روی ۸۰۸۶ فرد بالای ۱۲ سال نشان داده است که در حدود دوسوم افراد مورد مطالعه، غلظت هوموسیستتین تام بالا و کاهش سطح اسید فولیک و ویتامین B12 داشته اند. به عبارت دیگر نظیر سایر مطالعات [۳۳، ۳۴]، غلظت هوموسیستتین سرم با غلظت اسید فولیک و ویتامین B12 رابطه معکوس و با سن و جنسیت مذکر رابطه مستقیم داشته است [۳۳، ۳۶]. همچنین میانگین غلظت هوموسیستتین پلاسما $\mu\text{mol/l}$ ۹/۶ گزارش شده است [۳۷]. در مطالعه Hordaland در کشور نروژ، بر روی ۱۱۹۴۱ فرد ۴۰-۶۷ سال بدون سابقه بیماری های عروقی، دیابت و HTN در گروه سنی ۴۰-۴۲ سال غلظت هوموسیستتین تام در مردان $\mu\text{mol/l}$ ۱۰/۸ و در زنان $\mu\text{mol/l}$ ۹/۱ اندازه گیری شده است. در گروه سنی ۶۵-۶۷ سال، این ارقام به ترتیب $\mu\text{mol/l}$ ۱۲/۳ و $\mu\text{mol/l}$ ۱۱/۰ گزارش گردیده و میانگین هندسی هوموسیستتین به طور کلی $\mu\text{mol/l}$ ۱۶/۵-۵/۱ در زنان و $\mu\text{mol/l}$ ۱۸/۷-۶/۲ در مردان بوده است [۲۲، ۱۰].

در پژوهش انجام شده در فلسطین اشغالی بر روی ۱۶۵۶ فرد بالای ۶۹ سال با معیاری مشابه مطالعه ما، شیوع کمبود اسید فولیک در کل جامعه ۱۲/۶٪ گزارش شده است [۳۸]. در بررسی مشابهی در کشور کره بر روی افراد ۷۲-۲۳ سال،

جدول ۴- توزیع مقادیر هوموسیستین، اسید فولیک و ویتامین B12 به تفکیک جنس و گروه های سنی

گروه های سنی	جنس	چارک ها ^۱ (%)			
		۴	۳	۲	۱
هوموسیستین	مذکر	۳۷/۲	۲۵/۶	۱۹/۵	۱۷/۷
		۴۳/۶	۲۳/۸	۲۰/۸	۱۱/۹
		۳۸/۸	۳۲/۸	۲۶/۹	۱/۵
		۵۶/۸	۲۸/۴	۱۱/۶	۳/۲
	مؤنث	۱۲/۰	۱۸/۳	۳۲/۹	۳۶/۹
		۱۴/۶	۲۵/۹	۲۶/۵	۳۳/۰
		۱۶/۱	۲۴/۸	۲۶/۱	۳۲/۹
		۲۲/۶	۳۱/۶	۲۶/۳	۱۹/۵
اسید فولیک	مذکر	۱۸/۷	۲۵/۲	۲۷/۱	۲۹/۰
		۲۴/۴	۲۴/۴	۲۳/۳	۲۷/۸
		۱۱/۷	۲۳/۳	۲۵/۰	۴۰/۰
		۲۷/۰	۲۴/۷	۲۰/۲	۲۸/۱
	مؤنث	۲۷/۳	۲۳/۸	۲۶/۶	۲۲/۳
		۳۰/۴	۲۱/۶	۲۷/۵	۲۰/۵
		۳۰/۳	۲۳/۹	۲۲/۶	۲۳/۲
		۳۳/۹	۲۶/۴	۲۱/۵	۱۸/۲
ویتامین B12	مذکر	۲۱/۴	۳۲/۱	۲۳/۳	۲۳/۳
		۲۴/۲	۳۳/۰	۱۷/۶	۲۵/۳
		۲۱/۰	۲۵/۸	۲۷/۴	۲۵/۸
		۲۲/۵	۱۸/۰	۲۹/۲	۳۰/۳
	مؤنث	۲۶/۸	۲۸/۹	۲۱/۶	۲۲/۶
		۲۶/۰	۱۵/۸	۳۳/۳	۲۴/۹
		۲۵/۸	۲۵/۲	۲۰/۶	۲۸/۴
		۲۸/۶	۲۵/۴	۲۳/۰	۲۳/۰

^۱ quartiles

شیوع کمبود اسید فولیک در مردان و زنان با معیار اسید فولیک کمتر از ۳ng/ml به ترتیب ۶/۱٪ و ۲/۱٪ اعلام شده است [۲۸].

در بررسی انجام شده در عربستان سعودی بر روی ۱۴۲۶ فرد ۶۹-۲۰ سال، میانگین هندسی هوموسیستتین در مردان ۹/۰ $\mu\text{mol/l}$ و در زنان ۸/۰۸ $\mu\text{mol/l}$ اندازه گیری شده است که در مردان به طور معنی داری بالاتر بوده است. در هر دو جنس، غلظت اسید فولیک و ویتامین B12 رابطه معکوس قابل ملاحظه ای با غلظت هوموسیستتین داشته اند (۳۹).

پژوهشی در کاستاریکا با حجم نمونه ۴۶۲ نفر، غلظت هوموسیستتین را در مردان مناطق شهری ۵/۵ $\mu\text{mol/l}$ و در زنان ۷/۳ $\mu\text{mol/l}$ و در مناطق روستایی به ترتیب ۱۲/۰ $\mu\text{mol/l}$ و ۸/۹ $\mu\text{mol/l}$ گزارش کرده است که به طور معنی داری در مناطق روستایی بالاتر بوده است. ۳۱٪ از زنان شهرنشین و ۴۰٪ از زنان روستانشین غلظت فولات کمتر از ۶/۸ nmol/l داشته اند و به طور کلی ساکنین روستاها به ویژه زنان در مقایسه با شهرنشینان، غلظت هوموسیستتین تام بالاتر و مصرف کمتر ویتامین های B را داشته اند (۴۰).

در مطالعه ای در تایلند بر روی ۳۳۴۵ فرد ۶۵-۲۰ ساله، میانگین غلظت هوموسیستتین پلاسما در مردان ۱۱/۴۹۵ $\mu\text{mol/l}$ و در زنان ۸/۵۴۷ $\mu\text{mol/l}$ اندازه گیری شده است. به علاوه شیوع هیپر هوموسیستتینمی در میان مردان بیش از زنان بوده است [۴۱].

نتایج تحقیقی در آلمان بر روی ۲۶۰ بزرگسال ۵۰-۲۶ ساله نشان داده سطح هوموسیستتین پلاسمایی مردان (۱۱/۴±۴/۵ $\mu\text{mol/l}$) به طور معنی داری بالاتر از زنان (۹/۲±۳/۳ $\mu\text{mol/l}$) بوده است. همچنین غلظت اسید فولیک پلاسمای مردان ۶/۳±۲/۶ ng/l و زنان ۷/۳±۳/۴ ng/l اندازه گیری شده است. غلظت ویتامین B12 در پلاسمای مردان و زنان به ترتیب ۴۴۷/۴±۱۳۳/۸ pg/l و ۴۹۶/۷±۱۴۳/۵ pg/l بوده، ارتباط هوموسیستتین پلاسما با غلظت اسید فولیک و ویتامین B12 معکوس بوده است [۲۱].

در مطالعه New South Wales با حجم نمونه ۳۸۷ نفر، میانگین غلظت هوموسیستتین تام ۵/۲ $\mu\text{mol/l}$ ± ۱۰/۳ بوده و

اعلام شده است که در ۴۰٪ نمونه ها غلظت هوموسیستتین تام بالاتر از ۱۰ $\mu\text{mol/l}$ بوده است. در این مطالعه نیز بین غلظت هوموسیستتین تام پلاسما و اسید فولیک و ویتامین B12 رابطه منفی مشاهده شده است [۴۲]. در مطالعه Framingham با بررسی ۱۹۶۰ فرد ۸۲-۲۸ ساله، میانگین هندسی هوموسیستتین تام به طور معنی داری در مردان (۱۱٪) بالاتر از زنان و در افراد بالای ۶۵ سال (۲۳٪) بالاتر از ۴۵ سال به بالا بوده است. به علاوه، رابطه هوموسیستتین تام با اسید فولیک و ویتامین B12 به طور معنی داری مثبت بوده است [۴۳]. نتایج پژوهشی در کانادا بر روی ۵۸۴ فرد ۵۹-۲۳ ساله نشان داده که غلظت هوموسیستتین تام پلاسما در مردان (۹/۷±۴/۹ $\mu\text{mol/l}$) به طور قابل توجهی بالاتر از زنان (۷/۶±۴/۱ $\mu\text{mol/l}$) است به طوری که در زنان ۲۱٪ پایین تر از مردان بوده است. همچنین اختلاف غلظت اسید فولیک پلاسمای مردان (۸/۶±۵/۲ nmol/l) با زنان (۹/۸±۶/۶ nmol/l) معنی دار بوده است [۴۴].

در ایران مطالعات محدودی در توصیف مقادیر هوموسیستتین رایج شده و البته اندازه گیری همزمان مقادیر اسید فولیک و ویتامین B12 در هیچ مطالعه ای انجام نشده است. تنها یک مطالعه در شیراز بر روی ۴۰۲ فرد بالای ۱۵ سال، میانگین هندسی هوموسیستتین را در مردان ۷/۳ mmol/L و در زنان ۶/۳ mmol/l گزارش کرده که اختلاف بین مرد و زن معنی دار بوده و با افزایش سن، افزایش یافته است [۲۸].

مقایسه نتایج این پژوهش ها با مطالعه منطقه ۱۷ شهر تهران نشان می دهد شیوع اختلالات هوموسیستتین، اسید فولیک و ویتامین B12 در این منطقه بالاست. شیوع هیپر هوموسیستتینمی در همه گروه های سنی و در هر دو جنس با افزایش سن افزایش می یابد. شیوع به دست آمده در مردان مانند سایر مطالعات ذکر شده بالاتر از زنان است. میانگین غلظت هوموسیستتین تام با افزایش سن در هر دو جنس افزایش می یابد. البته سایر مطالعات نیز چنین یافته هایی را گزارش کرده اند: افزایش سن و جنسیت مذکر، در ارتباط با غلظت های بالاتر هوموسیستتینمی تام هستند. به ازای هر ۲۰ سال افزایش سن، سطح هوموسیستتین به طور متوسط

یک علت ژنتیکی برای ایجاد هیپروموسیتینمی، پلی‌مورفیسم C677T در ژن MTHFR (متیلن‌ترا هیدروفولات ردوکتاز) می‌باشد که در موارد هوموزیگوت آن، غلظت هوموسیتین بالا می‌باشد [۴۴، ۲۸]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که از علل نسبتاً شایع هیپروموسیتینمی، موتاسیون هوموزیگوت C677T همراه با وضعیت مختل اسید فولیک بدن است [۵۹، ۵۸]. هیپروموسیتینمی به ویژه در افراد مسن‌تر ممکن است در نتیجه کاهش عملکرد آنزیم CBS (Cystathionine β -Synthase) که در ترانس سولفوراسیون هوموسیتین به Cystathionine دخالت دارد، باشد [۶۰].

پخت طولانی مدت سبزیجات احتمالاً تا ۹۰٪ محتوای فولات غذاها را تخریب می‌کند [۵۷-۵۵]. از طرف دیگر گزارش شده که در میان مهاجرین شهرنشین که از نظر اجتماعی - اقتصادی در مضیقه‌اند، دریافت اسید فولیک و ویتامین B12 که بر سطح هوموسیتین اثر معکوس دارند، کم بوده و در بین این افراد خطر بیماری‌های عروقی بالاتر است [۶۱]. با توجه به تأثیر عوامل ژنتیکی و نژاد بر سطح هوموسیتین، انجام یک پژوهش در باره ژن‌های MTHFR و CBS ضروری به نظر می‌رسد. به علاوه انجام تحقیقات بیشتر برای بررسی غلظت هوموسیتین، اسید فولیک و ویتامین B12 پلاسما به ویژه در سایر شهرها و روستاها لازم است. همچنین باید با انجام این پژوهش‌ها مبادرت به تعیین محدوده مرجع براساس سن و جنس برای افراد ایرانی نمود. زیرا به نظر می‌رسد مقادیر ارایه شده از سوی سایر کشورها برای مملکت ما کارایی نداشته باشد. به دلیل فقر اطلاعات و پژوهش‌های لازم در بررسی همه این زمینه‌ها در کشور ما، ممکن است مطالعات آینده بتوانند علل ناشناخته‌ای را در ایجاد هیپروموسیتینمی آشکار سازند.

از آنجا که غلظت اسید فولیک به عنوان عامل پیشگویی کننده غلظت هوموسیتین شناخته شده است، ارزیابی اثرات غذاهای سرشار از فولات بر روی غلظت هوموسیتین تام پلاسما سودمند به نظر می‌رسد [۶۲]. به علاوه برای پیشگیری از وقوع بیماری‌های مرتبط با هیپروموسیتینمی و کمبود

۱/۳ $\mu\text{mol/l}$ بالا می‌رود [۴۵]. دلایل غلظت های بالاتر هوموسیتین در سن بالا به درستی مشخص نیست. هر چند احتمالاً با افزایش سن، متابولیسم کلیوی هوموسیتین به دلیل کاهش عملکرد کلیه دستخوش تغییر می‌شود [۴۷، ۴۶] به علاوه به دلیل سوء جذب ویتامین B12 در روده افراد مسن، غلظت هوموسیتین افزایش می‌یابد [۴۸]. به طور کلی در مردان غلظت هوموسیتین به طور متوسط ۱ $\mu\text{mol/l}$ بالاتر از زنان است [۴۵، ۴۹]. احتمالاً علت اختلاف سطح هوموسیتین در دو جنس مذکر و مؤنث به اختلاف وضعیت ویتامین های بدن [۳۳]، بالاتر بودن توده عضلانی [۵۰] و تولید بیشتر کراتین فسفات [۵۱] در مردان و اثرات کاهنده استروژن در زنان [۵۳، ۵۲] مربوط می‌شود. بخشی از ارتباط بین سن و جنسیت مؤنث باید به وسیله فرآیند یائسگی شرح داده شود زیرا غلظت هوموسیتین تام همانطور که ذکر شد در خانم‌های یائسه بالاتر از پیش یائسه است [۵۴، ۴۹].

در مطالعه ما اختلاف قابل توجهی در میانگین غلظت هوموسیتین تام سرم با سایر مطالعات انجام شده وجود دارد. با توجه به این بررسی که نشان دهنده ۸۲/۵٪ شیوع ابتلا به هیپروموسیتینمی خفیف ($10 < \text{Hcy} < 30 \mu\text{mol/l}$) می‌باشد، به نظر می‌رسد که نحوه توزیع هوموسیتین و تمرکز آن در این محدوده و نیز فراوانی ناچیز مقادیر طبیعی آن در جمعیت، موجب افزایش میانگین هوموسیتین شده است و شاید بتوان گفت که علیرغم بالا بودن میانگین، شدت هیپروموسیتینمی در این جمعیت خیلی بالا نیست. مقایسه مقادیر اسید فولیک و ویتامین B12 در سایر پژوهش‌ها با نتایج حاصل از مطالعه ما، نشان دهنده کاهش قابل توجه این مقادیر در منطقه ۱۷ است. در توجیه علت این تفاوت ها می‌توان به عوامل جغرافیایی، ژنتیک، قومیت و نژاد، عادات تغذیه ای متفاوت، دریافت ناکافی ویتامین B در رژیم غذایی، روش های پخت ناصحیح سبزیجات و همچنین عدم غنی سازی فراورده‌های غلات در کشور ما اشاره نمود [۵۷-۵۵، ۳۷، ۲۸، ۲۱].

اسید فولیک و ویتامین B12 باید به اندازه گیری سطح هوموسیستین و فولات در خون افراد اقدام شود و به ویژه در کسانی که غلظت هوموسیستین بالاتر از $14 \mu\text{mol/l}$ دارند، مکمل‌های با دوز $400-800 \mu\text{g}$ در روز تجویز شود. تنها راه برای تعیین میزان تاثیر درمان با فولات، آزمایش دوباره سطح هوموسیستین پلاسما است [۶۳].

اقدام ضروری بعدی، غنی سازی فراورده‌های غلات با اسید فولیک، همانند سایر کشورهاست [۶۴]. انگیزه اصلی از انجام

غنی سازی، کاهش نقایص لوله عصبی و در درجات بعدی کاهش وقوع بیماری‌های قلبی و ابتلا به سرطان است که هر دو با وضعیت فولات بدن در ارتباطند [۶۵-۶۷]. موفقیت‌های حاصل از غنی سازی، شامل کاهش موارد کمبود فولات و کاهش همزمان هوموسیستین تام پلاسما، به سرعت در جامعه نمود خواهند یافت [۶۸].

مآخذ

1. Sipponen P, Laxen F, Houtari K, et al. Prevalence of low vitamin B12 and high homocysteine in serum in an elderly male population : association with atrophic gastritis and helicobacter pylori infection . Scand J Gastroenterol 2003;38 (12):1209 -16 .
2. Gerhard GT, Malinow MR, DeLoughery TG, et al. Higher total homocysteine concentrations and lower folate concentrations in premenopausal black women than in premenopausal white women . Am J Clin Nutr 1999 ; 70 : 252 – 60 .
3. Graham IM , OCallaghan P. The role of folic acid in the prevention of cardiovascular disease . Curr Opin Lipidol 2000 ; 11 : 577 – 587 .
4. Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia : interruption of the coordinate regulation by S – adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine . Am J Clin Nutr. 1991 ; 55 :131 – 8 .
5. Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, et al. Plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 concentrations and risk for early – onset coronary artery disease . Am J Clin Nutr 1994 ; 59 : 940 – 8 .
6. Refsum H, Ueland P, Nygrad O, and Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. Ann Rev Med 1998; 49: 31- 62.
7. Danesh J, Lewington S. Plasma homocysteine and coronary heart disease : systemic review of published epidemiologic studies . J Cardiovasc Risk . 1998 ; 229 – 232 .
8. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Hanjey G, et al. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. Ann Intern med 1999; 131: 363-75
9. Clarke R , Collins R. Can dietary supplements with folic acid or vitamin B6 reduce cardiovascular risk ? Design of clinical trials to test the homocysteine hypothesis of vascular disease . J Cardiovasc Risk 1998 ; 5 : 249 – 55 .
10. Ford ES, Smith SJ, Stroup DF, et al . Homocysteine and cardiovascular disease : a systemic review of the evidence with special emphasis on case- control studies and nested case- control studies . Int J Epidemiol 2002 ; 31 : 59 –7.
11. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. JAMA 1997; 277: 1775-81.
12. Jacques PF, Kalmbach R, Bagley PJ, et al . the relationship between riboflavin and plasma total homocysteine in the Framingham offspring cohort is influenced by folate status and the C677T transition in the methylenetetrahydrofolate reductase gene . J Nutr 2002 ; 132 : 283 – 8 .
13. Daly LE , Kirke PN , Molly A , Weir DG, et al . Folate levels and neural tube defects , implications for prevention . JAMA 1995 ; 274 :1698 – 702 .
14. Lindenbaum J, Heaton EB, Savage DG, Brust JC, et al . Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. N Engl J Med. 1988; 318 : 1720 – 8 .
15. Nygrad O, Refsum H, Ueland PM, et al . Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution : the Hordaland Study . Am J Clin Nutr. 1998 ;67 : 263 – 70 .
16. Houlston RS, Tomlinson IPM . Polymorphism and Colorectal Tumour Risk. Gastroenterology 2001 ; 121 : 282 – 301 .
17. Lucock M, Daskalakis I. New perspectives on folate status: a differential role for the vitamin in cardiovascular disease , birth defects and other conditions . Br J Biomed Sci 2000 ; 57 : 254 – 260 .

18. Lucock M, Daskalakis I, Schorad CJ, et al. Folate – homocysteine interrelations : potential new markers of folate status. *Mol genet Metab* 1999 ; 67 : 23 – 35 .
19. Refsum H, Ueland P, Nygrad O, and Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Ann Rev Med* 1998; 49: 31- 62.
20. de Bree A, Verschuren WM, Blom HJ et al . Lifestyle factors and plasma homocysteine concentrations in a general population sample . *Am J Epidemiol* 2001 ; 154 : 150 -154 .
21. Rauh M, Verwied S, Knerr I, et al . Homocysteine concentrations in a German cohort of 500 individuals : Reference ranges and determinants of plasma levels in healthy children and their parents . *Amino Acids* 2001; 20: 409-418.
22. Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, et al. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med.* 1994; 96: 239–46.
23. Sipponen P, Laxen F, Houtari K, et al . Prevalence of low vitamin B12 and high homocysteine in serum in an elderly male population : association with atrophic gastritis and helicobacter pylori infection . *Scand J Gastroenterol* 2003; 38(12):1209 -16 .
24. Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, et al. Plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 concentrations and risk for early – onset coronary artery disease . *Am J Clin Nutr* 1994; 59 : 940–8.
25. Morrison HI, Schaubel D, Desmeules M, et al . Serum folate and risk of fatal coronary heart disease. *JAMA* 1996; 275: 1893–6.
26. Alfthan G, Laurinen MS, Valsta LM, et al . Folate intake , plasma folate and homocysteine status in a random Finnish population . *European Journal of Clinical Nutrition* 2003 ;57 : 81 -88 .
27. Lim U, Cassano PA. Homocysteine and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 – 1994 . *Am J Epidemiol* 2002 ; 156 : 1105 – 1113 .
28. Golbahar J, Rezaian G, and Bararpour H. Distribution of plasma total homocysteine concentrations in the healthy Iranians . *Clinical Biochemistry* 2004 ;37 :149 151 .
29. WHO MONICA Project. Geographical variation in the major risk factors of coronary heart disease in men and women aged 25-64 years. *World Health Stat Q* 1988; 41: 115-37.
30. Gilfix BM, Blank DW, Rosenblatt DS. Novel reductant for determination of total plasma homocysteine. *Clin Chem* 1997; 43:687-8.
31. Stein JH, McBride PE. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease. *Arc Intern Med* 1998; 158: 1301-1306.
32. Ward M, McNulty H, McPartlin J, et al. Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological dose of folic acid. *QJM* 1997; 90:519-24.
33. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1995; 270: 2693-8.
34. Nygrad O, Vollset SE, Refsum H. Plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland homocysteine study. *JAMA* 1995 ; 274 : 1526 – 33 .
35. Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, et al. Serum total homocysteine concentration is related to self – reported heart attack or stroke history among men and women in the NHANES III . *J NUTR* 2000 130 (12) : 3073 – 6 .
36. Kang S-S ,Wong PWK, Norusis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987; 36: 458 – 62.
37. Lim U, Cassano PA. Homocysteine and blood pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988 – 1994 . *Am J Epidemiol* 2002 ; 156 : 1105 – 1113 .
38. Figlin E, Chetrit A, Shahar A, et al . High prevalences pf vitamin B12 and folic acid deficiency in elderly subjects in Israel . *British Journal of Haematology* 2003; 123: 696 – 701.
39. Ardawi Ms , Rouzi AA, Qari MH, et al. influence of age, sex, folate and vitamin B12 status on plasma homocysteine in Saudis . *Saudi Med J* 2002 ; 23 (8) : 959– 68 .
40. Kim MK, Ordo vas JM, Selhub J, et al . B vitamins and plasma homocysteine concentrations in an urban and rural area of Costa Rica . *J Am Coll Nutr* 2003 ; 22 (3) : 224 – 31 .
41. Leowattana W, Bhuripanyo K, Mahanonda N, et al. Prevalence of hyperhomocysteinemia in normal healthy Thai subjects. *J Med Assoc Thai* 2001; 84 (Suppl 3) : S722 – 9 .
42. Naumovski N, Roach PD, Blades B, et al . The relationship between plasma homocysteine , red cell folate and plasma vitamin B12 in a sample of the New South Wales Central Coast population. *Asia Pac J Clin Nutr* 2003; 12: S24
43. Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, et al. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham Offspring Cohort. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 613-621.
44. Lussier – Cacan S, Xhignesse M, Piolot A, et al. Plasma total homocysteine in healthy subjects : sex – specific relation with biological traits . *Am J Clin Nutr* 1996; 64 : 587 – 93.
45. Stein JH, McBride PE. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease. *Arc Intern Med* 1998; 158: 1301-1306.

46. Norlund L, Grubb A, Flex , et al . The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function als determined by plasma cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36 : 175–8.
47. Guttormsen AB, Ueland PM, Svarstad E, et al . Kinetic basis of hyper homocysteinemia in patients with chronic renal failure . *Kidney Int* 1997; 52 : 495 – 502 .
48. van Asselt DZ, de Groot LC, van Staveren WA, et al . Role of cobalamin intake and atrophic gastritis in mild cobalamin deficiency in older Dutch subjects. *Am J Clin Nutr* 1998 ; 68 : 328 – 34 .
49. Andersson A, Brattstorm L, Israelsson B, et al. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 79-87.
50. Norlund L, Grubb A, Fex G, et al. The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36: 175-178.
51. Malinow MR. Homocysteine and arterial occlusive diseases . *J Intern Med* 1994 ; 53 : 603 – 7 .
52. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, Gooren LJ, et al. Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels: a study in transsexual males and females. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 550-553.
53. Andersson A, Hultberg B, Brattstorm L, et al. Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 377-379.
54. Wouters MG, Moorrees MT, van der Mooren, et al. Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 801-805.
55. Dawson DW, Waters HM. Malnutrition: folate and cobalamin deficiency .*Br J Biomed Sci* 1994 ; 51: 221–7 .
56. Abraham R, Brown MC, North WR, et al . Diets of Asian pregnant women in Harrow : iron and vitamins. *Hum Nutr Appl Nutr* 1987 ; 41 : 164 – 73 .
57. Matthews JH, Wood JK. Megaloblastic anaemia in vegetarian Asians . *Clin Lab Haematol* 1984 ; 6 : 1 – 7 .
58. Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, et al . Determinants of vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (≥ 40 mmol/l) . The Hordaland Homocysteine Study . *J Clin Invest* 1996 ; 98 : 2174 – 83 .
59. Jacques PF, Bostom AG, Wiliams PR, et al . Relation between folate status ,a common mutation in methylenetetrahydrofolatereductase, and plasma homocysteine concentrations . *Circulation* 1996 ; 93 : 7 – 9 .
60. Gartler SM, Hornung SK, Motulsky AG. Effect of chronologic age on induction of cystathione synthase, uroporphyrinogen I Synthase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 1916–9 .
61. Misra A, Vikram NK, Pandey RM, et al . Hyperhomocysteinemia, and low intakes of folic acid and vitamin B12 in urban North India. *Eur J Nutr* 2002; 41(2) : 68–77 .
62. Ganji V, Kafai M. Demographic, health , lifestyle, and blood vitamin determinants of serum total homocysteine concentrations in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 826–33 .
63. Malvin PJ. Elevated homocysteine unresponsive to vitamins. *Medscape Primary Care* 2003 ; 5 (1) . <http://www.medscape.com/viewarticle/449296?src=search>
64. Quinlivan EP, Gregory JF. Effect of food fortification on folic acid intake in the United States. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 221–5.
65. Food and Drug Administration. Food labeling: health claims and label statements; folate and neural tube defects. *Fed Regist* 1993; 58: 53254–95 .
66. MRC Vitamin Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet* 1991; 338: 131–7.
67. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr* 2000; 130: 129–32.
68. Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ. et al. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA* 2001; 258: 2981–6.