

# Influencia de la menopausia en la concentración plasmática de homocisteína

Consuelo Fernández-Miranda<sup>a</sup>, María de la Calle<sup>a</sup>, José Manuel Bris<sup>a</sup>, Mercedes Muelas<sup>b</sup>, Pilar Gómez<sup>c</sup> y Pilar Díaz-Rubio<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Medicina Interna. Unidad de Lípidos. <sup>b</sup>Servicio de Ginecología. Unidad de Menopausia. <sup>c</sup>Servicio de Bioquímica. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

**FUNDAMENTO:** La elevación de las concentraciones de homocisteína plasmática en las mujeres posmenopáusicas se ha descrito en algunos estudios, aunque en otros no se ha objetivado. Creamos de interés conocer si en las mujeres españolas se encuentran aumentados los valores de homocisteína tras la menopausia.

**PACIENTES Y MÉTODO:** En 100 mujeres posmenopáusicas (edad media [DE] 56 [6] años) se determinaron las concentraciones de homocisteína, creatinina, ácido fólico, vitamina B<sub>12</sub> y lipoproteínas. Los controles fueron 50 mujeres con menstruaciones periódicas (edad: 29 [6] años), 50 varones con edad similar a las mujeres posmenopáusicas y 50 varones con edad similar a las premenopáusicas. Todos los sujetos del estudio se encontraban sanos.

**RESULTADOS:** Las concentraciones de homocisteína fueron más elevadas en las mujeres posmenopáusicas que en las premenopáusicas (8,6 [2,1]; intervalo de confianza [IC] del 95%, 8,2-9,1, frente a 7,7 [1,6]; IC del 95%, 7,2-8,1  $\mu$ mol/l;  $p < 0,05$ ), sin que fueran diferentes en los dos grupos de varones. Se objetivó hiperhomocisteinemia en 9 mujeres posmenopáusicas y en ninguna premenopáusica (el 9 frente al 0%;  $p = 0,03$ ). Los valores de colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad fueron superiores (155 [32]; IC del 95%, 148-161, frente a 111 [32]; IC del 95%, 101-120 mg/dl;  $p < 0,05$ ), y los de colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad inferiores (54 [12]; IC del 95%, 52-57, frente a 64 [18]; IC del 95%, 59-69 mg/dl;  $p < 0,05$ ) en las mujeres posmenopáusicas que en las premenopáusicas. Las concentraciones de homocisteína en las posmenopáusicas estaban asociadas negativamente a las de ácido fólico y positivamente a las de creatinina, sin existir asociación con la edad, concentración de vitamina B<sub>12</sub> y lipoproteínas.

**CONCLUSIONES:** La concentración de homocisteína aumenta en las mujeres posmenopáusicas. Esto puede contribuir, junto con la existencia de hipercolesterolemia, a aumentar su riesgo cardiovascular.

*Palabras clave:* Homocisteína. Posmenopausia. Ácido fólico. Colesterol.

## Influence of menopausal status in homocysteine plasma levels

**BACKGROUND:** Some studies have found that postmenopausal women have increased plasma homocysteine levels while others do not. The aim of this study was to know if homocysteine levels are increased in Spanish postmenopausal women.

**PATIENTS AND METHODS:** In 100 postmenopausal women (age: mean [SD] 56 [6] years) homocysteine, creatinine, folic acid, vitamin B<sub>12</sub> and lipoproteins were determined. Controls were 50 premenopausal women (age: 29 [6] years), 50 men with similar age to postmenopausal women, and 50 men with similar age to premenopausal women. All the subjects of the study were healthy.

**RESULTS:** Homocysteine concentrations were higher in postmenopausal compared with premenopausal women (8.6 [2.1]; 95% confidence interval [CI], 8.2-9.1 vs 7.7 [1.6]; 95% CI, 7.2-8.1  $\mu$ mol/l;  $p < 0.05$ ), but were not different between both men groups. Hyperhomocysteinemia was found in 9 postmenopausal but in any premenopausal women (9% vs 0%;  $p = 0.03$ ). Low density lipoprotein cholesterol values were higher (155 [32]; 95% CI, 148-161 vs 111 [32]; 95% CI, 101-120 mg/dl;  $p < 0.05$ ), and high density lipoprotein cholesterol lower (54 [12]; 95% CI, 52-57 vs 64 [18]; 95% CI, 59-69 mg/dl;  $p < 0.05$ ) in postmenopausal than premenopausal women. In postmenopausal women homocysteine levels were negatively associated with folic acid and positively associated with creatinine levels, but there was not association with age, vitamin B<sub>12</sub> serum levels and lipoproteins.

**CONCLUSION:** In postmenopausal women increased homocysteine concentrations, together with hypercholesterolemia, could contribute to the raise of their cardiovascular risk.

*Key words:* Homocysteine. Postmenopausal status. Folic acid. Cholesterol.

*Med Clin (Barc)* 2001; 116: 206-208

Correspondencia: Dra. C. Fernández-Miranda.  
Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario 12 de Octubre.  
Ctra. de Andalucía, km 5,400. 28041 Madrid.  
Correo electrónico: cfmiranda@inicia.es

Recibido el 16-10-2000; aceptado para su publicación el 9-1-2001

El riesgo de enfermedad cardiovascular en la mujer aumenta de forma importante después de la menopausia, en relación con el descenso de los valores estrogénicos. La elevación del colesterol sérico, que es más manifiesta en este estado<sup>1</sup>, contribuye al aumento del riesgo cardiovascular. La hiperhomocisteinemia se considera otro factor de riesgo independiente de aterosclerosis en arterias cerebrales<sup>2,3</sup>, coronarias<sup>2,4,5</sup> y periféricas<sup>2,6</sup>. Además, los valores de homocisteína son importantes predictores de mortalidad en sujetos de ambos性os con y sin enfermedad coronaria<sup>7,8</sup>. Algunos autores han descrito que en la posmenopausia se produce un aumento de los valores de homocisteína<sup>9-12</sup>, aunque otros no lo han objetivado<sup>13,14</sup>. Esta discordancia se ha atribuido a variaciones poblacionales y a diferencias tanto en el tamaño de la muestra como en los métodos empleados para la determinación de la homocisteína<sup>15</sup>. Por otra parte, es sabido que los valores de homocisteína son más elevados en los varones<sup>12,13</sup> y que dichos valores se incrementan con la edad<sup>12,16</sup>.

El objetivo de este estudio ha sido conocer las concentraciones de homocisteína plasmática en las mujeres españolas postmenopáusicas sanas, en comparación con premenopáusicas y con varones de diferentes edades, y su relación con las lipoproteínas séricas y otros parámetros bioquímicos.

## Pacientes y método

Se han estudiado 100 mujeres posmenopáusicas sanas (edad media [DE]: 56 [6] años; mediana, 55; rango, 35-67 años) con ausencia de menstruación desde al menos 12 meses antes del estudio y con valores de estradiol en suero inferior a 10 pg/ml. Los controles fueron 50 mujeres sanas (edad: 29 [6] años; mediana, 26; rango, 24-43 años) con menstruaciones periódicas, 50 varones sanos con edad similar a las mujeres premenopáusicas (30 [7] años; mediana, 26; rango, 23-45 años) y 50 varones sanos con edad similar a las posmenopáusicas (56 [5] años; mediana, 55; rango, 48-68 años). Las mujeres posmenopáusicas provenían de la unidad de menopausia y los demás sujetos del servicio de medicina preventiva del hospital, adonde habían acudido para un examen de salud. Ninguno de ellos tenía diabetes mellitus, hipertensión arterial, insuficiencia renal, hipotiroidismo, psoriasis ni enfermedad cardiovascular, ni recibía tratamiento hormonal, hipolipemiante ni

multivitamínico. Todos los sujetos del estudio seguían una dieta variada, sin restricciones. En los grupos de mujeres, eran fumadoras 9 posmenopáusicas (9%) y 4 premenopáusicas (8%), y en los de varones cinco en el grupo de mayores (10%) y cuatro en el de jóvenes (8%). Los participantes dieron su consentimiento para la realización del estudio.

Los parámetros evaluados fueron: edad, tabaquismo, valores plasmáticos de homocisteína y valores séricos de creatinina, vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico extraeritrocitario y lipoproteínas tras 12 h de ayuno. Las concentraciones plasmáticas de homocisteína se determinaron por inmunoanálisis de fluorescencia polarizada mediante un analizador IMx (Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, EE.UU.)<sup>17</sup>. La sangre recogida en EDTA se colocó inmediatamente en hielo y se centrífugó durante la hora posterior a la extracción. Una vez separado el plasma, se congeló a -20 °C hasta su análisis. Los coeficientes de variación intra e interdía de la técnica en nuestro laboratorio oscilaron entre el 0,66 y el 4,03%. Se consideró que había hiperhomocisteinemia cuando los valores de homocisteína eran superiores a la media más dos desviaciones estándar de los hallados en 208 mujeres y 119 varones sanos, con los que previamente se habían establecido los rangos de referencia de nuestro laboratorio (varones > 14,3 µmol/l; mujeres > 12 µmol/l). Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) ( $d < 1,006$  g/ml) se aislaron mediante ultracentrifugación preparativa en una ultracentrifugadora Kontron T-1075 (Kontron Instruments, Milán, Italia) utilizando un rotor TFT 80.4. En el infranadante, el valor del colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) fue deducido tras la sustracción del valor del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL) cuantificado por método directo enzimático (Boehringer Mannheim, Alemania). El colesterol y los triglicéridos séricos se midieron por métodos enzimáticos (Boehringer Mannheim, Alemania). La lipoproteína (a) (Lp(a)) se midió por nefelometría (Behringwerke AG, Marburg, Alemania). La vitamina B<sub>12</sub> y el ácido fólico se determinaron por radioinmunoanálisis (SimulTRAC-SNB, ICN Pharmaceuticals, Diagnostics Division, Orangetburg, Nueva York, EE.UU.), y la creatinina por el método Jaffé (Boehringer Mannheim, Alemania).

#### Análisis estadístico

La comparación de medias de variables cuantitativas se determinó mediante la prueba de la t de Student o análisis de la variancia para medidas múltiples, y la de variables cualitativas mediante el test exacto de Fisher. El coeficiente de correlación de Pearson se utilizó para verificar la asociación estadística entre variables cuantitativas. Debido a que las concentraciones de vitamina B<sub>12</sub>, ácido fólico y Lp(a) presentaban distribuciones muy alejadas de la normalidad, se realizó una transformación logarítmica neperiana de sus valores antes del análisis estadístico. Las diferencias se consideraron significativas para  $p < 0,05$ .

#### Resultados

Cuando las concentraciones de homocisteína se compararon en los 4 grupos de sujetos, se encontraron elevadas en las mujeres posmenopáusicas en relación con las premenopáusicas (8,6 [2,1]; intervalo de confianza [IC] del 95%, 8,2-9,1 frente a 7,7 [1,6]; IC del 95%, 7,2-8,1 µmol/l;  $p < 0,05$ ). No existían diferencias entre los dos grupos de varones, aunque en ellos las concentraciones eran más elevadas que en los grupos de mujeres. Los valores de vitamina B<sub>12</sub> y de ácido fólico no eran diferentes en ninguno de los grupos de sujetos, y los de creatinina eran inferiores en los grupos de mujeres comparados con los de varones (tabla 1). De las 100 mujeres posmenopáusicas, sólo nueve eran fumadoras

TABLA 1

#### Concentraciones de homocisteína, creatinina, vitamina B<sub>12</sub> y ácido fólico en mujeres posmenopáusicas comparadas con las de premenopáusicas y varones

	Grupo 1 Mujeres posmenopáusicas (n = 100) Edad: 56 (6)	Grupo 2 Mujeres premenopáusicas (n = 50) Edad: 29 (6)	Grupo 3 Varones jóvenes (n = 50) Edad: 30 (7)	Grupo 4 Varones mayores (n = 50) Edad: 56 (5)
Homocisteína (µmol/l)	8,6 (2,1)*	7,7 (1,6)*	10,1 (2,6)	10,0 (2,2)
Creatinina (mg/dl)	0,91 (0,13)**	0,87 (0,16)**	1,03 (0,14)	0,98 (0,13)
Vitamina B <sub>12</sub> (pg/ml)	547 (97-999)	504 (324-828)	545 (307-993)	501 (190-954)
Ácido fólico (ng/ml)	8,7 (3,0-19,4)	8,0 (2,7-20,0)	7,0 (3,2-16,7)	7,9 (3,6-15,0)

Los valores se exponen como medias (DE) o medianas (rangos); \* $p < 0,05$  con respecto a los demás grupos; \*\* $p < 0,05$  con respecto a los grupos 3 y 4.

TABLA 2

#### Perfil lipídico de las mujeres posmenopáusicas comparado con el de las premenopáusicas y de los varones

	Grupo 1 Mujeres posmenopáusicas (n = 100) Edad: 56 (6)	Grupo 2 Mujeres premenopáusicas (n = 50) Edad: 29 (6)	Grupo 3 Varones jóvenes (n = 50) Edad: 30 (7)	Grupo 4 Varones mayores (n = 50) Edad: 56 (5)
Colesterol total (mg/dl)	232 (36) <sup>a</sup>	189 (38)	183 (26)	226 (33) <sup>a</sup>
Colesterol LDL (mg/dl)	155 (32) <sup>a</sup>	111 (32)	117 (34)	159 (30) <sup>a</sup>
Colesterol HDL (mg/dl)	54 (12) <sup>b</sup>	64 (18) <sup>c</sup>	49 (12)	44 (10)
Triglicéridos (mg/dl)	105 (67)	71 (29)	92 (48)	126 (52)
Lipoproteína (a) (mg/dl)	13 (2-130)	10 (2-82)	11 (2-83)	10 (2-84)

Los valores se expresan con medias (DE) o medianas (rangos); LDL: lipoproteínas de baja densidad; HDL: lipoproteínas de alta densidad. <sup>a</sup> $p < 0,05$  respecto a los grupos 2 y 3; <sup>b</sup> $p < 0,05$  respecto a los grupos 2 y 4; <sup>c</sup> $p < 0,05$  respecto a los grupos 1, 3 y 4; para convertir los valores de colesterol y triglicéridos en mmol/l, multiplicar por 0,02586 y 0,01129, respectivamente.

( $\leq 20$  cigarrillos/día), y sus concentraciones de homocisteína no eran diferentes de las que no fumaban (7,8 [2,4]; IC del 95%, 5,5-10,0 frente a 8,9 [2,2]; IC del 95%, 7,7-10,2 µmol/l;  $p = 0,29$ ). Se objetivó hiperhomocisteinemia en 9 mujeres posmenopáusicas y en ninguna premenopáusica (el 9 frente al 0%;  $p = 0,03$ ). También se objetivó en los varones, en dos (4%) en el grupo de jóvenes y en uno (2%) en el de mayores, sin que existiera diferencia significativa al comparar estos porcentajes con los de las mujeres hiperhomocisteinémicas. De los 12 sujetos con valores de homocisteína aumentados sólo 3 mujeres posmenopáusicas eran fumadoras, sin que se conocieran otros factores de riesgo cardiovascular en los demás.

Las concentraciones de colesterol total estaban aumentadas en las mujeres postmenopáusicas (232 [36]; IC del 95%, 225-240 frente a 189 [38]; IC del 95%, 178-200 mg/dl;  $p < 0,05$ ) comparadas con las premenopáusicas, así como las de cLDL (155 [32]; IC del 95%, 148-161 frente a 111 [32]; IC del 95%, 101-120 mg/dl;  $p < 0,05$ ). Ambos parámetros lipídicos también estaban aumentados en los varones mayores en comparación con las premenopáusicas y los varones jóvenes. Las concentraciones de cHDL eran más bajas en las posmenopáusicas que en las premenopáusicas (54 [12]; IC del 95%, 52-57 frente a 64 [18]; IC del 95%, 59-69 mg/dl;  $p < 0,05$ ). Los valores de triglicéridos y de Lp(a) no eran dife-

rentes en los distintos grupos de sujetos (tabla 2).

Las concentraciones de homocisteína en las mujeres posmenopáusicas se correlacionaban negativamente con las de ácido fólico ( $r = -0,27$ ;  $p = 0,03$ ) y positivamente con las de creatinina ( $r = 0,29$ ;  $p = 0,004$ ) sin que existiera correlación con la edad ni con los valores de vitamina B<sub>12</sub> y de las diferentes lipoproteínas.

#### Discusión

En el presente estudio las mujeres postmenopáusicas presentan unos valores de homocisteína más elevados que las premenopáusicas, existiendo hiperhomocisteinemia en 9 mujeres pertenecientes al primer grupo. Es conocido que los valores de homocisteína se incrementan con la edad, especialmente a partir de los 70 años<sup>16</sup>. En nuestro estudio, ninguno de los sujetos alcanzaba dicha edad y los valores de homocisteína no diferían entre los grupos de varones a pesar de que su diferencia de edad era similar a la existente entre los grupos de mujeres. El riñón tiene un papel importante en el metabolismo de la homocisteína, aumentando sus concentraciones cuando disminuye la función renal<sup>18</sup>. En nuestra serie, no se encontraron diferencias en las concentraciones de creatinina sérica entre las mujeres pre y posmenopáusicas. Aunque en los sujetos con importante hábito tabáquico se ha referido un incremento de los valores de homocisteína<sup>19</sup>, en el presente

estudio no se comprobó dicho aumento en las mujeres posmenopáusicas fumadoras, si bien ninguna de ellas consumía más de 20 cigarrillos diarios. Las concentraciones de colesterol total y cLDL estaban más elevadas en las mujeres posmenopáusicas que en las premenopáusicas, como se ha descrito anteriormente<sup>1</sup>, aunque no se correlacionaban con las de homocisteína. Existía una correlación negativa en las mujeres posmenopáusicas entre los valores de homocisteína y los de ácido fólico, como también se ha referido previamente en dichas mujeres<sup>10</sup>, pero no había correlación con los de vitamina B<sub>12</sub>. Estos datos están en consonancia con los de los estudios de muestras poblacionales representativas en que las concentraciones de homocisteína tuvieron una fuerte asociación inversa con las de folatos, siendo mucho más débil con las de vitamina B<sub>12</sub><sup>20,21</sup>.

La disminución de los estrógenos en la mujer posmenopáusica no sólo contribuye a la existencia de hiperlipemia, sino también a la elevación de los valores de homocisteína por mecanismos no bien conocidos. En la mujer premenopáusica se ha descrito la existencia de una mayor transaminación de la metionina, lo que contribuiría a mantener sus valores de homocisteína más bajos<sup>22</sup>. En varios trabajos se ha referido un descenso de las concentraciones de homocisteína en las mujeres posmenopáusicas que reciben tratamiento sustitutivo hormonal<sup>23-25</sup>, aunque en otros no se ha objetivado<sup>26</sup>. Lo que sí reconocen los autores en general es el descenso significativo de las concentraciones de homocisteína en mujeres pre y posmenopáusicas y en varones, tras una dieta rica en ácido fólico o administración del mismo a la dosis de 0,4-5 mg/día, incluso cuando su concentración en suero es normal<sup>27-29</sup>.

Por otra parte, un estudio prospectivo actual refiere que en mujeres sanas posmenopáusicas con valores elevados de homocisteína existe un riesgo aumentado de futuros episodios cardiovasculares. Esta asociación es independiente de la existencia de otros factores de riesgo<sup>30</sup>. Aunque parece clara la conveniencia de tratar la hiperhomocisteinemia en las mujeres posmenopáusicas, aún no se conoce si el descenso de los valores de homocisteína reducirá el riesgo de enfermedad cardiovascular.

En definitiva, las concentraciones plasmáticas de homocisteína se encuentran elevadas en las mujeres posmenopáusi-

cas y se asocian negativamente a las de ácido fólico. Esto, junto con la existencia de hipercolesterolemia en dichas mujeres, puede contribuir al aumento de su riesgo cardiovascular.

### Agradecimiento

A Paloma Ferrando por su colaboración en el análisis estadístico, y a Manuela Gómez y a Blanca Navalón por su colaboración técnica.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Miller VT. Dyslipoproteinemia in women. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990; 19: 381-398.
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattström LE, Ueland PM et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1997; 277: 1775-1781.
- Vila N, Deulofeu R, Chamorro A, Piera C. Concentraciones plasmáticas de homocisteína en pacientes con infarto cerebral isquémico. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 605-608.
- Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM. Homocysteine and ischemic heart disease. Results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med* 1998; 158: 862-867.
- Fernández-Miranda C, Aranda JL, Gómez González P, Díaz-Rubio P, Estenoz J, Gómez de la Cámara A. La hiperhomocisteinemia es frecuente en pacientes con enfermedad coronaria. Estudio de 202 enfermos. *Med Clin (Barc)* 1999; 113: 407-410.
- Mansoor MA, Bergmark C, Svardal A, Lonning PE, Ueland PM. Redox status and protein binding of plasma homocysteine and other aminothiols in patients with early-onset peripheral vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 232-240.
- Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Volset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-236.
- Kark JD, Selhub J, Adler B, Gofin J, Abramson JH, Friedman G et al. Nonfasting plasma total homocysteine level and mortality in middle-aged and elderly men and women in Jerusalem. *Ann Intern Med* 1999; 131: 321-330.
- Brattstrom LE, Hultberg BL, Hardebo JE. Folic acid responsive postmenopausal homocysteineemia. *Metabolism* 1985; 34: 1073-1077.
- Wouters MG AJ, Moerrees MTh EC, Van Der Mooren MJ, Blom HJ, Boers GH, Schellekens LA et al. Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 801-805.
- Hak AE, Polderman KH, Westendorp IC, Jakobs C, Hofman A, Witteman JCM et al. Increased plasma homocysteine after menopause. *Atherosclerosis* 2000; 149: 163-168.
- Verhoeft P, Meleady R, Daly LE, Graham IM, Robinson K, Boers GH. Homocysteine, vitamin status and risk of vascular disease; effects of gender and menopausal status. European COMAC Group. *Eur Heart J* 1999; 20: 1234-1244.
- Andersson A, Brattström L, Israelsson B, Isaksen A, Hamfelt A, Hultberg B. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender, and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 79-87.
- Dudman NP, Wilcken DE, Wang J, Lynch JF, Macey D, Lundberg P. Disordered methionine/homocysteine metabolism in premature vascular disease. Its occurrence, cofactor therapy, and enzymology. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 1253-1260.
- Moustapha A, Robinson K. Homocysteine: an emerging age-related cardiovascular risk factor. *Geriatrics* 1999; 54: 49-63.
- Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine: determinants of plasma levels in middle-aged and elderly subjects. *J Intern Med* 1994; 236: 633-641.
- Shipchandler MT, Moore EE. Rapid, fully automated measurement of plasma homocysteine with the Abbott IMx analyser. *Clin Chem* 1995; 41: 991-994.
- Arnadottir M, Hultberg B, Nilsson-Ehle P, Thyssell H. The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentration. *Scand J Clin Lab Invest* 1996; 56: 41-46.
- Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE et al. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274: 1526-1533.
- Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Volset SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 263-270.
- Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, Rogers G, Bowman BA, Gunter EW et al. Serum total homocysteine concentrations in the Third National Health and Nutrition Examinations Survey (1991-1994): population reference ranges and contribution of vitamin status to high serum concentrations. *Ann Intern Med* 1999; 131: 331-339.
- Blom HJ, Boers GH, Van den Elzen JP, Van Roessel JJ, Trijbels JM, Tangerman A. Differences between premenopausal women and young men in the transamination pathway of methionine catabolism, and the protection against vascular disease. *Eur J Clin Invest* 1988; 18: 633-638.
- Van der Mooren MJ, Wouters MG AJ, Blom HJ, Schellekens LA, Eskes TKAB, Rolland R. Hormone replacement therapy may reduce high serum homocysteine in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 733-736.
- Van der Mooren MJ, Demacker PNM, Blom HJ, Rijke YB, Rolland R. The effect of sequential three-monthly hormone replacement therapy on several cardiovascular risk estimators in postmenopausal women. *Fertil Steril* 1997; 67: 67-73.
- Mijatovic V, Kenemans P, Jakobs C, Van Baal WM, Peters-Muller ER, Van der Mooren MJ. A randomized controlled study of the effects of 17 beta-estradiol-dydrogesterone on plasma homocysteine in postmenopausal women. *Obstet Gynecol* 1998; 91: 432-436.
- Berger PB, Herrmann RR, Dumescic DA. The effect of estrogen replacement therapy on total plasma homocysteine in healthy postmenopausal women. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 18-23.
- Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PWF, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med* 1999; 340: 1449-1454.
- Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. *Br Med J* 1998; 316: 894-898.
- Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354: 407-413.
- Ridker PM, Manson JE, Buring JE, Shih J, Miatas M, Hennekens CH. Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women. *JAMA* 1999; 281: 1817-1821.