

# Metabolismo da homocisteína em doenças neurológicas

## *Homocysteine metabolism in neurologic disorders*

Celmir de Oliveira Vilaça<sup>1,2</sup>, Marcos Raimundo Gomes de Freitas<sup>2</sup>, Osvaldo José Moreira do Nascimento<sup>2</sup>, Marco Orsini<sup>2</sup>, Marco Antônio Araujo Leite<sup>2</sup>, Jano Alves de Souza<sup>1</sup>

### RESUMO

**Objetivo:** Realizar uma revisão sobre o metabolismo do aminoácido sulfurado homocisteína, analisando como elevações de seus níveis séricos se correlacionam com a fisiopatologia das mais diversas doenças neurológicas, assim como sobre o tratamento da hiperhomocisteinemia. **Método:** Revisão não sistemática de artigos que abordassem o papel da homocisteína associado a doenças neurológicas. Foi priorizada a utilização de artigos que apresentassem no título as palavras-chave “homocisteína” ou “hiperhomocisteinemia”, associadas a palavras-chave contendo as enfermidades neurológicas de maior prevalência como acidente vascular cerebral, doença de Alzheimer, doença de Parkinson e outras. Foram utilizadas as bases de dados do PubMed, Lilacs e Google Scholar. **Resultados:** Foram utilizados 35 artigos em inglês e 2 artigos em português para a confecção desta revisão. **Conclusão:** A homocisteína se encontra elevada em associação com as mais diversas doenças neurológicas. Contudo, em muitas delas não está estabelecido se esse aumento é um achado secundário ou se representa um papel da homocisteína na patogênese dessas enfermidades. Mais estudos são necessários para estabelecer o papel da homocisteína em situações neurológicas. O tratamento da hiperhomocisteinemia é fácil, sendo feito com reposição de vitamina B<sub>12</sub> e, principalmente, de folatos.

**Palavras-chave:** Homocisteína, S-adenosil-homocisteína, metionina, doenças neurológicas.

### ABSTRACT

**Objective:** Review the metabolism of sulfur amino acid homocysteine and how elevation of its serum levels is correlated with the pathophysiology of several neurological diseases, as well as the treatment of hyperhomocysteinemia. **Method:** A non-systematic review of articles discussing the role of homocysteine associated with neurological diseases was performed. The use of articles that presented in the title the keywords “homocysteine” or “hyperhomocysteinemia” associated with keywords containing the most prevalent neurological disorders such as stroke, Alzheimer’s disease, Parkinson’s disease and others were preferred. The search was underdone through PubMed, Google Scholar and Lilacs databases. **Results:** There were selected 35 articles in English and 2 articles in Portuguese in this review. **Conclusion:** High levels of homocysteine are associated with various neurological disorders. However, in many of these are not established whether this increase is a consequence of these disorders or if homocysteine plays a role in the pathogenesis of these diseases. More studies are needed to establish the participation of homocysteine in neurological disorders. The treatment of hyperhomocysteinemia is easy, being done with replacement of vitamin B<sub>12</sub> and especially folate.

**Keywords:** Homocysteine, S-adenosyl-homocysteine, methionine, neurologic disorders.

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia (INTO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

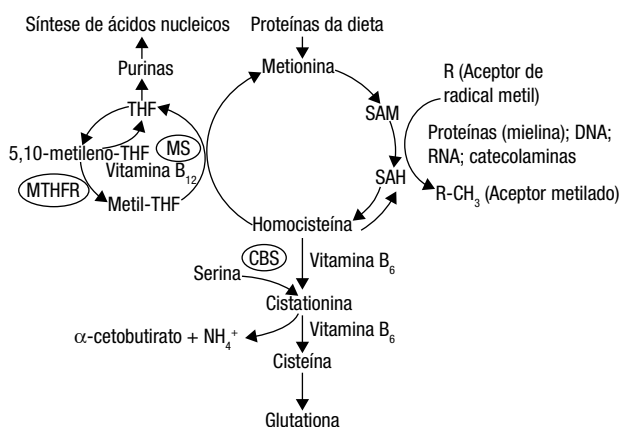
<sup>2</sup> Universidade Federal Fluminense (UFF), Departamento de Medicina Clínica - Neuro - UPC (Unidade de Pesquisa Clínica). Divisão de Neurologia, Hospital Universitário Antônio Pedro (HUAP), Programa de Pós-Graduação em Neurologia/Neurociências, Niterói, RJ, Brasil.

**Endereço para correspondência:** Dr. Marco Antonio Araujo Leite. Rua Tavares de Macedo, 95/902, Icaraí – 24220-215 – Niterói, RJ, Brasil. E-mail: marcoantonio.araujoleite@gmail.com

## INTRODUÇÃO

A homocisteína (HCT) é um aminoácido sulfurado (contém grupamento tiol ou -SH) não participante da constituição das proteínas corporais. Não é diretamente obtida pela dieta, sendo derivada do metabolismo do aminoácido metionina, principalmente no fígado.<sup>1</sup>

O metabolismo da HCT envolve a participação de reações de remetilação para metionina por meio da enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTFH), utilizando folato como cofator. Também participa do processo de remetilação a enzima metionina sintase (MS), esta usando a vitamina B<sub>12</sub> como cofator. Alternativamente, a HCT é eliminada mediante reações de transulfuração com a participação da enzima cistationina β-sintase (CBS), utilizando-se da vitamina B<sub>6</sub> com a produção de cistationina<sup>2-4</sup> (Figura 1).



MS: metionina sintase; SAM: S-adenosil metionina; SAH: S-adenosil-homocisteína; CBS: cistationina β-sintase; MTHFR: metiltetrahidrofolato redutase.

**Figura 1.** Metabolismo da homocisteína.<sup>2-4</sup>

Aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína e sua relação com doenças neurológicas foi primeiro aventado, em 1969, por McCully. Ele observou, na autópsia de uma criança, acelerado processo de atrogênese associado a altos níveis de HCT.<sup>5</sup> Os achados se assimilavam aos encontrados em crianças com homocistinúria, doença caracterizada por presença de disfunção intelectual, crises convulsivas, atrofia cerebral e doença aterosclerótica precoce em decorrência da disfunção da CBS e hiper-homocisteinemia (hiper-HCT).<sup>3</sup>

Posteriormente, ao longo das últimas quatro décadas e, principalmente, a partir dos anos 1990, a HCT foi associada a outras doenças neurológicas além da doença vascular.

A avaliação laboratorial dos níveis séricos de HCT envolve a dosagem de sua quantidade total no plasma. Desse total, 70% a 80% representam a quantidade de HCT ligada a proteínas, 25% correspondem à quantidade encontrada sob a forma de dímeros de homocisteína/homocistina ou dímeros de homocisteína-cisteína. Os 5% restantes representam a forma livre de HCT.<sup>1,6</sup>

A dosagem de HCT geralmente é realizada em jejum e muitos pacientes, embora apresentem níveis de HCT séricos normais durante o jejum, apresentam níveis elevados após teste de sobrecarga de metionina.<sup>1,3</sup>

A hiper-HCT pode ser classificada em moderada, quando os níveis séricos se encontram na faixa de 15 a 30 μmol/l, intermediária, com valores de 30 a 100 μmol/l e severa, com níveis acima de 100 μmol/l.<sup>5</sup>

O objetivo do presente artigo foi realizar uma revisão não sistemática sobre os níveis de HCT nas doenças neurológicas de maior prevalência. Deu-se ênfase em como a elevação da HCT pode estar relacionada à fisiopatologia dessas enfermidades. Discute-se também o tratamento da hiper-HCT com reposição de vitamina B<sub>12</sub> e folatos.

## MÉTODOS

Para a realização da presente atualização, foram utilizadas as bases de dados PubMed, Lilacs e Google Scholar, no período compreendido entre janeiro de 1997 e dezembro de 2014. Realizou-se revisão não sistemática de artigos, considerando artigos originais, descritivos ou experimentais, assim como artigos de revisão e opiniões de *experts*, excluindo-se artigos contendo apenas relatos de casos. Foram utilizadas para a busca as palavras-chave “homocisteína” e “hiper-homocisteinemia”, associadas a doenças de maior prevalência neurológica, como acidente vascular cerebral (AVC), epilepsia, doença de Alzheimer, doença de Parkinson (DP) e outras. Artigos que contivessem a associação de homocisteína/hiper-homocisteinemia com cada doença neurológica em unitermos no título, tanto em inglês como em português, foram priorizados. Alguns artigos foram escolhidos com base no número de citações e pela relevância na discussão dos mecanismos relacionando HCT ou hiper-homocisteinemia na fisiopatologia das afecções neurológicas mais frequentes, não sendo adotado ne-

nhum critério específico para exclusão dos artigos. O estudo foi realizado no Serviço de Pós-graduação em Neurologia/Neurociências da Universidade Federal Fluminense (UFF).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram escolhidos 35 artigos em língua inglesa e 2 artigos em português, que a seguir serão analisados e discutidos.

## HOMOCISTEÍNA E DOENÇA CEREBROVASCULAR

Entre todas as patologias neurológicas, a relação entre HCT e doença vascular é a mais estabelecida. A doença aterosclerótica é a principal causa de morte em países desenvolvidos, quando se associam o AVC e o infarto agudo do miocárdio (IAM).<sup>7</sup> Pacientes com hiper-HCT severa (acima de 100  $\mu\text{mol/l}$ ) costumam apresentar evento vascular antes dos 30 anos, como nos casos descritos de homocistinúria.<sup>7</sup> É interessante notar que tanto a hiper-HCT de jejum como a de pós-sobrecarga de metionina durante alimentação rica em proteínas estão associadas ao aumento de risco de doença cerebrovascular.<sup>3</sup>

A hiper-HCT pode estar mais associada à doença cerebrovascular em comparação com a doença cardiovascular ou vascular periférica.<sup>8</sup> A HCT, assim como seu metabólito ácido homocisteico (HCA), atua como agonista glutamatérgico dos receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) cerebrais. A hiperestimulação desses receptores ocasiona aumento da excitotoxicidade cerebral glutamatérgica por meio do influxo de cálcio e apoptose neuronal.<sup>8</sup>

A HCT diminui o transporte de arginina para as plaquetas. Esse processo é necessário para a produção de óxido nítrico (NO), que atua como relaxante vascular e diminui a agregação plaquetária.<sup>9</sup>

A elevação dos níveis de HCT também favorece a agregação plaquetária mediante o aumento da síntese plaquetária de tromboxano  $A_2$ . Concomitantemente, a HCT apresenta capacidade de ativar substâncias pró-coagulantes da circulação, como o fator V, e de inibir a atividade de substâncias anticoagulantes naturais, como a proteína C e a trombomodulina, aumentando a formação de trombina.<sup>10</sup>

O aumento da HCT acarreta a produção de espécies reativas de oxigênio, possivelmente por meio

da auto-oxidação com outra molécula de HCT. Esse processo leva à formação de espécies reativas de oxigênio e à peroxidação de moléculas de LDL-colesterol, promovendo lesão endotelial e proliferação da musculatura lisa vascular. Todos esses eventos colaboram para o processo de aterogênese.<sup>7,11</sup>

A hiper-HCT também provoca desvio do metabolismo HCT para a formação de S-adenosil-homocisteína (SAH), acarretando diminuição das reservas de adenosina intracelular. A adenosina é uma purina que atua na diminuição da reatividade plaquetária e risco vascular.<sup>12</sup>

## HOMOCISTEÍNA E EPILEPSIA

A maioria das medicações anticonvulsivantes reduz a quantidade de folato sérico, levando à hiper-HCT. Isso pode colocar pacientes em uso de anticonvulsivantes durante décadas em maior risco de evento vascular na senescência.<sup>4</sup> Os defeitos do tubo neural encontrados em recém-nascidos de gestantes sob terapia anticonvulsivante e atribuídos à carência de folato podem representar, na verdade, um papel nocivo da homocisteína nessas gestações. Nesse contexto, há aumento nos níveis de HCT sérica e no líquido amniótico em mães de recém-nascidos com defeitos do tubo neural.<sup>3</sup>

## HOMOCISTEÍNA E TRANSTORNOS COGNITIVOS

Idosos com aumento dos níveis de HCT apresentam quadro de atrofia hipocampal independentemente da presença de critérios para doença de Alzheimer (DA). Também apresentam maior risco de evolução para DA no futuro. Admite-se que a HCT é mais tóxica para neurônios hipocampais em relação a outros neurônios corticais.<sup>13</sup>

Pacientes com DA podem apresentar pior evolução clínica em casos de aumento da HCT.<sup>14</sup> O aumento da HCT provocaria elevação nos níveis da proteína amiloide e aumentaria a sua toxicidade nas placas senis, assim como promoveria hiperfosforilação da proteína Tau.<sup>15</sup> Somado a isso, altos níveis de HCT promoveriam estresse oxidativo por geração de radicais superóxido a partir de seu grupo tiol após oxidação. Além disso, a HCT provoca estresse na função de síntese do retículo endoplasmático, acarretando ativação de vias celulares e caspases e levando à apoptose neuronal.<sup>15</sup>

## HOMOCISTEÍNA E TRANSTORNOS DO MOVIMENTO

Durante o metabolismo da levodopa pela catecol-O-metiltransferase (COMT), há produção de 3-O-metildopa (3-OMD). A COMT utiliza a SAM como doadora de radical metil. A SAM origina SAH, e esta última, por meio de hidrólise, origina HCT.<sup>16</sup> Rati-ficam-se tais achados pela capacidade do inibidor da COMT entacapona em reduzir os níveis de HCT em pacientes com DP em tratamento com levodopa.<sup>2,17</sup> O aumento nos níveis de HCT provoca sensibilização de neurônios dopaminérgicos a danos induzidos por íons de ferro na substância negra do mesencéfalo, podendo acelerar a evolução da DP.<sup>18,19</sup> Além disso, a SAM é o principal doador de radicais metil para diversas reações intracerebrais. Alterações de metilação no DNA neuronal decorrentes de hiper-HCT provocam acúmulo de SAH e inibem a produção de SAM, ocasionando variações na expressão gênica. Isso pode resultar em morte neuronal, também contribuindo para progressão da DP.<sup>18</sup> O aumento de HCT também poderia colaborar para o aumento do risco cardiovascular em pacientes com DP,<sup>20</sup> assim como acelerar o surgimento da demência associada à DP.<sup>2</sup>

Níveis de HCT aumentados também são encontrados em pacientes com doença de Huntington.<sup>17</sup> Tal fato pode ser consequência da capacidade da proteína huntingtina em interagir com a CBS, causando níveis elevados de HCT. A HCT ocasionaria seus efeitos neurotóxicos em locais onde há alta densidade de receptores NMDA, como no corpo estriado. Esse local é onde se localizam os neurônios espinhais médios do caudado, sítio anatômico preferencial de início do processo degenerativo da doença.<sup>21</sup>

## HOMOCISTEÍNA E DOENÇA DO NEURÔNIO MOTOR

Estudos indicam aumento da HCT em pacientes com esclerose lateral amiotrófica (ELA).<sup>22,23</sup> Esse aumento pode se correlacionar com a progressão da doença, sendo independente dos níveis de folato ou vitamina B<sub>12</sub>.<sup>23</sup> A HCT é capaz de causar a morte do neurônio motor por excitotoxicidade glutamatérgica com influxo de cálcio.<sup>24</sup> Ademais, neurônios motores com mutação da SOD (superóxido dismutase), responsável pela forma mais comum de ELA familiar, parecem ser mais suscetíveis ao dano causado por altos níveis de HCT.<sup>23</sup>

## HOMOCISTEÍNA E NEUROPATIAS PERIFÉRICAS

Níveis elevados de HCT são um achado secundário em doenças causadoras tanto de neuropatia como de hiper-HCT. Exemplos são: hipotireoidismo, diabetes, etilismo e insuficiência renal ou baixos níveis de folato e vitamina B<sub>12</sub>.<sup>17</sup> Contudo, um único trabalho demonstrou a existência de aumento da HCT em pacientes com neuropatia periférica, independentemente de qualquer outra etiologia. Embora não se saiba como elevações da HCT sérica sozinhas possam originar uma neuropatia, esse achado pode ser relevante em casos de neuropatias de causa desconhecida.<sup>25</sup>

## HOMOCISTEÍNA E DOENÇA DESMIELINIZANTE

A SAM é o principal doador de radical metil para várias reações no sistema nervoso central (SNC), como a síntese de ácidos nucleicos, neurotransmissores e lipídios, entre esses os componentes da mielina.<sup>18,26</sup> A hipometilação da proteína básica da mielina torna a mielina menos hidrofóbica, mais instável e suscetível a dano oxidativo e inflamatório.<sup>27</sup> Estudos de metanálise mostram aumento dos níveis de HCT em pacientes com esclerose múltipla (EM), podendo ser esse mais um evento na fisiopatologia da EM.<sup>27,28</sup> Como nas outras doenças degenerativas já abordadas, também ocorreria hiperativação da NMDA em pacientes com EM e hiper-HCT.<sup>29</sup> Um único trabalho também demonstra elevação dos níveis de HCT em pacientes com neuromielite óptica, contudo esse aumento não foi relacionado à progressão da neuromielite, sendo considerado um achado secundário ao processo inflamatório decorrente da doença.<sup>30</sup>

## HOMOCISTEÍNA E DEPENDÊNCIA QUÍMICA

Em pacientes etilistas, o álcool, mediante a formação de acetaldeído, é inibidor da MS, com diminuição da remetilação da HCT para produção de metionina.<sup>31</sup> A hiper-HCT também está associada à ocorrência de crises convulsivas durante períodos de abstinência do álcool. A hiperestimulação de receptores NMDA pela HCT e de seus produtos de oxidação, como HCA, sem o efeito inibitório do álcool sobre os receptores de ácido gama-aminobutírico (GABA) durante a abstinência, ocasionaria hiperexcitação cortical e crises convulsivas.<sup>6</sup> Alternativamente, a hiper-HCT

provoca a formação de SAH, consumindo as reservas de adenosina, uma purina com efeito anticonvulsivante, além do já descrito efeito de proteção vascular.<sup>12</sup> O aumento dos níveis de HCT também pode colaborar para o déficit cognitivo e atrofia cerebral em pacientes com histórico de etilismo.<sup>32</sup>

O cigarro também causa hiper-HCT e este pode contribuir para o aumento do risco vascular relacionado ao tabagismo. O tabaco diminui as reservas de piridoxal fosfato, a forma ativa da vitamina B<sub>6</sub>. A piridoxina (B<sub>6</sub>) é um cofator da enzima CBS, portanto sua inativação inibe a via de transulfuração da HCT, acarretando hiper-HCT.<sup>5</sup> Alternativamente, o tabaco promove a liberação de substâncias tóxicas nitrogenadas, causando a inativação da vitamina B<sub>12</sub> e diminuindo a função de remetilação da HCT pela MS.<sup>33</sup>

Poucos estudos avaliaram correlação da cocaína e seus derivados como o *crack* com níveis de HCT. Esses estudos mostram evidência de elevação da HCT ou aumento da reatividade da HCT sob a ação da cocaína. Isso está em concordância com a possibilidade de a hiper-HCT estar envolvida no risco vascular e de crises convulsivas em usuários de cocaína.<sup>34,35</sup>

## TRATAMENTO DA HIPER-HOMOCISTEINEMIA

O tratamento da hiper-homocisteinemia engloba a reposição de vitamina B<sub>12</sub> e folatos, com o objetivo de favorecer a remetilação da HCT para a formação de metionina. Esse tratamento é barato e de baixo risco. Embora a reposição de folato apresente maior impacto na redução da hiper-HCT, em comparação com a reposição de vitamina B<sub>12</sub>, a deficiência da última é a principal causa de elevação de HCT na população.<sup>5</sup> Sempre existe a preocupação de a terapia com folatos mascarar um quadro de déficit de vitamina B<sub>12</sub> preexistente, resultando em piora do quadro neurológico.<sup>36</sup> Recomenda-se, portanto, a reposição associada de ambos os elementos. Houve desânimo sobre o tratamento da hiper-HCT após o estudo multicêntrico VITATOPS não mostrar utilidade na reposição de vitamina B<sub>12</sub> e folato na profilaxia secundária do AVC e do acidente isquêmico transitório (AIT). Contudo, o estudo não avaliou o efeito da diminuição da hiper-HCT em outras enfermidades neurológicas em que pode ocorrer participação da HCT.<sup>37</sup> Uma das explicações para o insucesso do tratamento é a possibilidade, discutida anteriormente, de altos ní-

veis de HCT acarretarem elevação da SAH. A SAH inibe a produção da SAM necessária para a metilação de diversas reações vitais ao pleno funcionamento do SNC. A SAH não é difusível através das membranas celulares e não sofreria interferência com a reposição de vitamina B<sub>12</sub> ou folatos.<sup>15</sup>

## CONCLUSÃO

A homocisteína se encontra elevada em associação com as mais diversas doenças neurológicas, contudo em muitas delas não está estabelecido se esse aumento representa uma causa ou se é secundário a outros fatores ligados à fisiopatologia dessas enfermidades. Destaca-se o papel da hiper-homocisteinemia na excitotoxicidade neuronal, por meio dos receptores NMDA com influxo de cálcio e apoptose neuronal, como sendo o mecanismo implicado na maioria dessas entidades. Mais estudos são necessários para estabelecer o papel da homocisteína nas doenças neurológicas. O tratamento de seus elevados níveis séricos é fácil, sendo feito com a reposição de vitamina B<sub>12</sub> e folatos.

## REFERÊNCIAS

1. Neves LB, Macedo DM, Lopes AC. Homocisteína. J Bras Patol Med Lab. 2004;40(5):311-20.
2. Postuma RB, Lang AE. Homocysteine and levodopa: should Parkinson disease patients receive preventative therapy? Neurology. 2004;63(5):886-91.
3. Diaz-Arrastia R. Homocysteine and neurologic disease. Arch Neurol. 2000;57(10):1422-7.
4. Sachdev P. Homocisteína e transtornos psiquiátricos. Rev Bras Psiquiatr. 2004;26(1):50-6.
5. Badawy AA. Moderate alcohol consumption as a cardiovascular risk factor: the role of homocysteine and the need to re-explain the 'French Paradox'. Alcohol Alcohol. 2001;36(3):185-8.
6. Bleich S, Degner D, Sperling W, Bönsch D, Thürauf N, Kornhuber J. Homocysteine as a neurotoxin in chronic alcoholism. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2004;28(3):453-64.
7. Wang H, Tan H, Yang F. Mechanisms in homocysteine-induced vascular disease. Drug Discov Today Dis Mech. 2005;2(1):25-31.
8. Lipton SA, Kim WK, Choi YB, et al. Neurotoxicity associated with dual actions of homocysteine at the N-methyl-D-aspartate receptor. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997;94(11):5923-8.
9. Boldyrev AA. Why homocysteine is a risk factor of neurodegenerative diseases mini review. Neurochem J. 2007;1(1):14-20.
10. Haynes WG. Hyperhomocysteinemia, vascular function and atherosclerosis: effects of vitamins. Cardiovasc Drugs Ther. 2002;16(5):391-9.
11. Garcia A, Zanibbi K. Homocysteine and cognitive function in elderly people. CMAJ. 2004;171(8):897-904.

12. Deussen A. Adenosine-the missing link to understanding homocysteine pathogenicity or more smoke on the horizon? *Cardiovasc Res.* 2003;59(2):259-61.
13. den Heijer T, Vermeer SE, Clarke R, et al. Homocysteine and brain atrophy on MRI of non-demented elderly. *Brain.* 2003;126(Pt 1):170-5.
14. Morris MS. Homocysteine and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2003;2(7):425-8.
15. Zhuo JM, Wang H, Praticò D. Is hyperhomocysteinemia an Alzheimer's disease (AD) risk factor, an AD marker, or neither? *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32(9):562-71.
16. Kuhn W, Roebroek R, Blom H, van Oppenraaij D, Müller T. Hyperhomocysteinemia in Parkinson's disease. *J Neurol.* 1998;245(12):811-2.
17. Zoccolella S, Martino D, Defazio G, Lamberti P, Livrea P. Hyperhomocysteinemia in movement disorders: current evidence and hypotheses. *Curr Vasc Pharmacol.* 2006;4(3):237-43.
18. Mattson MP, Shea TB. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci.* 2003;26(3):137-46.
19. Duan W, Ladenheim B, Cutler RG, Kruman II, Cadet JL, Mattson MP. Dietary folate deficiency and elevated homocysteine levels endanger dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurochem.* 2002;80(1):101-10.
20. Müller T, Muhlack S. Peripheral COMT inhibition prevents levodopa associated homocysteine increase. *J Neural Transm.* 2009;116(10):1253-6.
21. Boutell JM, Wood JD, Harper PS, Jones AL. Huntingtin interacts with cystathionine beta-synthase. *Hum Mol Genet.* 1998;7(3):371-8.
22. Levin J, Bötzel K, Giese A, Vogeser M, Lorenzl S. Elevated levels of methylmalonate and homocysteine in Parkinson's disease, progressive supranuclear palsy and amyotrophic lateral sclerosis. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;29(6):553-9.
23. Zoccolella S, Simone IL, Lamberti P, et al. Elevated plasma homocysteine levels in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology.* 2008;70(3):222-5.
24. Orrell RW. What is the clinical significance of SOD1 mutations in amyotrophic lateral sclerosis? *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010;81(5):473.
25. Luo JJ, Sivaraaman K, Nouh A, Dun NJ. Elevated plasma level of homocysteine is an independent risk factor for peripheral neuropathy. *Br J Med Med Res.* 2014;4(1):161-9.
26. Hooshmand B, Solomon A, Kåreholt I, et al. Homocysteine and holotranscobalamin and the risk of Alzheimer disease: a longitudinal study. *Neurology.* 2010;75(16):1408-14.
27. Zoccolella S, Tortorella C, Iaffaldano P, et al. Elevated plasma homocysteine levels in patients with multiple sclerosis are associated with male gender. *J Neurol.* 2012;259(10):2105-10.
28. Ramsaransing GS, Fokkema MR, Teelken A, Arutjunyan AV, Koch M, De Keyser J. Plasma homocysteine levels in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77(2):189-9.
29. Ashtari F, Abari SS, ShayganNejad V. Serum homocysteine level in patients with multiple sclerosis. *J Res Med Sci.* 2005;10(5):302-4.
30. Zhang L, Shu Y, Sun S, et al. Plasma homocysteine levels in neuromyelitis optica. *Int J Neurol Neurother.* 2014;1(10).
31. Bleich S, Carl M, Bayerlein K, et al. Evidence of increased homocysteine levels in alcoholism: the Franconian alcoholism research studies (FARS). *Alcohol Clin Exp Res.* 2005;29(3):334-6.
32. Bleich S, Bandelow B, Javaheripour K, et al. Hyperhomocysteinemia as a new risk factor for brain shrinkage in patients with alcoholism. *Neurosci Lett.* 2003;335(3):179-82.
33. Sobczak AJ. The effects of tobacco smoke on the homocysteine level – a risk factor of atherosclerosis. *Addict Biol.* 2003;8(2):147-58.
34. Williams RH, Maggiore JA, Shah SM, Erickson TE, Negrusz A. Effects of cocaine abuse on plasma homocysteine and related thiols. *Ther Drug Monit.* 1999;21(4):471.
35. Kowalczyk-Pachel D, Chwatko G, Ciek M, et al. The effects of cocaine on different redox forms of cysteine and homocysteine, and on labile, reduced sulfur in the rat plasma following active versus passive drug injections. *Neurotox Res.* 2013;24(3):377-92.
36. Johnson MA. If high folic acid aggravates vitamin B12 deficiency what should be done about it? *Nutr Rev.* 2007;65(10):451-8.
37. VITATOPS Trial Study Group. B vitamins in patients with recent transient ischaemic attack or stroke in the VITamins TO Prevent Stroke (VITATOPS) trial: a randomised, double-blind, parallel, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2010;9(9):855-65.