

9. Cater NB, Heller HJ, Denke MA. Comparison of the effects of medium-chain triacylglycerols, palm oil, and high oleic acid sunflower oil on plasma triacylglycerol fatty acids and lipid and lipoprotein concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 41-45.
10. Bonanome A, Grundy SM. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. *N Engl J Med* 1988; 318: 1244-1248.
11. Zock PL, Katan MB. Hydrogenation alternatives: effects of trans fatty acids and stearic acid versus linoleic acid on serum lipids and lipoproteins in humans. *J Lipid Res* 1992; 33: 399-410.
12. Kris-Etherton PM, Derr J, Mitchell DC, Mustad VA, Russell ME, McDonnell ET, Salabsky D, et al. The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins: I. Effects of whole food diets high in cocoa butter, olive oil, soybean oil, dairy butter, and milk chocolate on the plasma lipids of young men. *Metabolism* 1993; 42: 121-129.
13. Harris WS. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 1645S-1654S.
14. Judd JT, Clevidence BA, Muesing RA, Wittes J, Sunkin ME, Podczasy JJ. Dietary trans fatty acids: effects on plasma lipids and lipoproteins of healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 861-868.

## Summary

*Effects of dietary fatty acids on the total, LDL- and HDL-cholesterol concentration. Thijsen MAMA and Mensink RP. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2005; 30: 199-203*

The dietary fatty acid composition is not only an important determinant of the total-cholesterol concentration, but also of the distribution of cholesterol across the different lipoproteins. In contrast to LDL cholesterol, which is positively associated with cardiovascular risk, high HDL-cholesterol concentrations protect against the development of cardiovascular diseases. When compared with carbohydrates, *trans*- and saturated-fatty acids raise concentrations of LDL-cholesterol more than those of HDL-cholesterol. Consequently, these fatty acids have no (saturated fatty acids) or even detrimental effects (*trans*-fatty acids) on the total/HDL-cholesterol ratio. When carbohydrates are iso-energetically exchanged for unsaturated fatty acids, LDL cholesterol decreases whereas HDL-cholesterol increases, resulting in a reduced total/HDL-cholesterol ratio. Consequently, iso-energetic replacement of saturated and *trans*-fatty acids by a mixture of *cis*-unsaturated fatty acids will affect the lipoprotein profile in a favourable fashion. The effects of fatty acids on other cardiovascular risk markers should, however, also be taken into account in the development of dietary recommendations.

*Key words: fatty acids; diet; total cholesterol; LDL-cholesterol; HDL-cholesterol*

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2005; 30: 203-207

## De rol van hyperhomocysteinemie in endotheel-afhankelijke vaatverwijding

S.G. HEIL, J.M.F. TRIJBELS en H.J. BLOM

Een verhoogde concentratie van homocysteïne in het bloed is geassocieerd met een verhoogde kans op het ontstaan van hart- en vaatziekten. Zowel genetische als omgevingsfactoren liggen ten grondslag aan het ontstaan van hyperhomocysteinemie. Momenteel wordt er, naast het karakteriseren van deze genetische en omgevingsfactoren, tevens veel onderzoek verricht naar de vraag waarom een verhoogde concentratie van homocysteïne leidt tot een verhoogd risico op hart- en vaatziekten. Dit artikel geeft een overzicht van de recente bevindingen over de rol van homocysteïne in endotheel-afhankelijke vaatverwijding. Het blijkt dat een verhoogde plasmahomocysteïneconcentratie geassocieerd is met oxidatieve stress, hetgeen zou kunnen leiden tot inactivatie van stikstofmonoxide (NO). Tevens blijkt dat de vaatverwijding, die

gemedieerd wordt door de endotheliale hyperpolariserende factor (EDHF), verminderd is in hyperhomocysteinemie, wat verklaard zou kunnen worden door een verstoorde DNA-methylering.

*Trefwoorden: Hyperhomocysteinemie; stikstofmonoxide (NO); endotheliale hyperpolariserende factor (EDHF); folaat*

Homocysteïne is een zwavelhoudend aminozuur dat via demethylering van het essentiële aminozuur methionine ontstaat. Methionine wordt door het enzym methionine-adenosinemethyltransferase (MAT) omgezet in S-adenosylmethionine (AdoMet). AdoMet is een belangrijke methyl donor voor tal van methyleeringsreacties waaronder die van DNA, RNA, eiwitten en lipiden. Door het afsplitsen van de methylgroepen wordt S-adenosylhomocysteïne (AdoHcy) gevormd, dat vervolgens door S-adenosylhomocysteïnehydrolase (AHCY) in een reversibele reactie wordt gehydrolyseerd tot homocysteïne. Het gevormde homocysteïne kan uiteindelijk gemetaboliseerd worden via twee routes: het kan enerzijds geremethyleerd worden tot methionine door methioninesynthase (MTR) of

Laboratorium voor Kindergeneeskunde en Neurologie, Universitair Medisch Centrum St Radboud

Correspondentie: Dr. S.G. Heil, Laboratorium voor Kindergeneeskunde en Neurologie, Universitair Medisch Centrum St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen  
E-mail: s.heil@cukz.umcn.nl

door BHMT. Anderzijds kan homocysteïne afgebroken worden tot cystathionine door het enzym cystathionine-beta-synthase (CBS) (figuur 1). De remethylering van homocysteïne tot methionine is afhankelijk van de beschikbaarheid van methylgroepen die verkregen worden uit de reductie van folaten, welke via het dieet verkregen worden.

Een verhoogd gehalte van homocysteïne in plasma kan het gevolg zijn van genetische factoren, omgevingsfactoren of een combinatie van beide. Een bekend voorbeeld van een genetisch defect dat resulteert in hyperhomocysteinemie is de door ons ontdekte 677C>T-variant in het methyleentetrahydrofolaatreductase(MTHFR)gen. Het MTHFR-677TT-genotype kan in combinatie met een niet-optimale folaat status resulteren in verhoogde homocysteïneconcentraties, hetgeen een fraai voorbeeld is van een gen-omgevingsinteractie. Omgevingsfactoren die kunnen resulteren in hyperhomocysteinemie zijn onder andere een verlaagde inname van B-vitamines, zoals foliumzuur (vitamine B<sub>11</sub>), pyridoxine (vitamine B<sub>6</sub>) en cobalamine (vitamine B<sub>12</sub>). Deze B-vitamines zijn als co-factor betrokken bij de remethylering of transsulfurering van homocysteïne (figuur 1). Foliumzuurtherapie is succesvol gebleken in het verlagen van hyperhomocysteinemie. Daarnaast is recentelijk ook aangetoond dat het toedienen van foliumzuur resulteert in een verbetering van de endotheelfunctie (1).

Hyperhomocysteinemie is een risicofactor voor onder andere hart- en vaatziekten, obstetrische complicaties, neuralebuisafwijkingen en andere congenitale afwijkingen. Data verkregen uit retrospectieve en prospectieve studies laten een associatie zien tussen hyperhomocysteinemie en hart- en vaatziekten (2, 3). Momenteel lopen verschillende gerandomiseerde klinische trials die binnen nu en enkele jaren resultaten

zullen opleveren betreffende de vraag of het verlagen van homocysteïne door foliumzuur inderdaad resulteert in een vermindering van de kans op het ontstaan van hart- en vaatziekten. Naast het uitvoeren van klinische trials wordt er ook onderzoek gedaan aan het mechanisme waarlangs een verhoogd homocysteïnegehalte leidt tot hart- en vaatziekten.

### Mechanisme van de toxische werking van homocysteïne

Een verhoogde homocysteïneconcentratie kan leiden tot endotheeldisfunctie. Verschillende mechanismen zijn hiervoor gepostuleerd, waaronder oxidatieve stress en een verstoorde methylering (4-6).

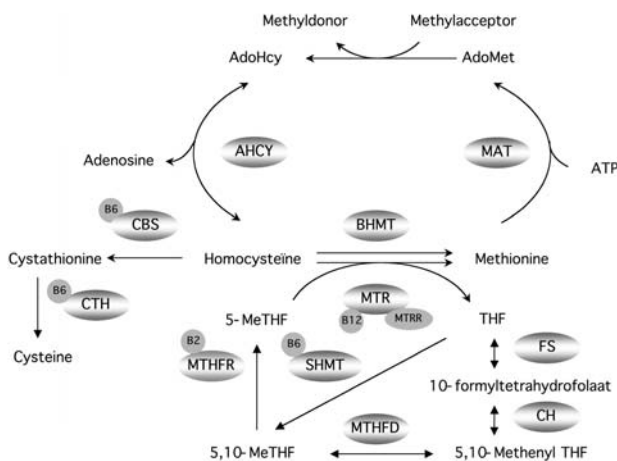
Endothelcellen zijn betrokken bij de regulatie van tal van belangrijke processen, waaronder regulatie van de balans tussen stolling en fibrinolyse, samenstelling van de subendotheliale matrix, adhesie van leucocyten, ontsteking en vaatverwijding. Om deze belangrijke processen naar behoren te kunnen uitvoeren produceren de endothelcellen verschillende stoffen die betrokken zijn bij deze processen, waaronder stikstofmonoxide (NO), prostacycline, endotheline (ET-1), angiotensine-II (AngII), von Willebrand-factor, adhesiemoleculen en cytokines (1).

Resultaten verkregen uit humaan- en dierexperimenteel onderzoek tonen aan dat hyperhomocysteinemie kan leiden tot een verstoorde endotheelafhankelijke vaatverwijding. Zo is met behulp van angiografie en Doppler-‘imaging’ aangetoond dat dieet-geïnduceerde hyperhomocysteinemische apen een verstoorde vaatfunctie vertoonden (7). Bij de mens wordt de relatie tussen hyperhomocysteinemie en endotheeldisfunctie ondersteund door het feit dat de NO-afhankelijke vaatverwijding verstoord was in individuen met verhoogde homocysteïneconcentraties (8). Tevens werd dit bekrachtigd door de bevinding dat orale toediening van methionine in controlepersonen resulteerde in hyperhomocysteinemie en een verminderde endotheelafhankelijke vaatverwijding (9).

### Hyperhomocysteinemie in relatie tot de NO-afhankelijke vaatverwijding

Endothelcellen produceren zowel vaatverwijdende als vaatvernauwende stoffen om de vaattonus te kunnen reguleren. De best gekarakteriseerde vaatverwijdende stoffen zijn NO en prostacycline (PGI<sub>2</sub>). Tevens wordt er een derde, vooralsnog onbekende, vaatverwijdende stof door de endothelcel geproduceerd, die hyperpolarisatie van de gladde spiercel veroorzaakt; deze stof wordt daarom endotheliale hyperpolarisende factor (EDHF) genoemd (figuur 2).

NO bezit naast vaatverwijdende eigenschappen ook eigenschappen die het ontstaan van trombose tegengaan. NO is namelijk betrokken bij de vaatverwijding doordat het de gladde spiercellen aanzet tot relaxatie en tevens de aggregatie van bloedplaatjes en adhesie van leucocyten vermindert. Hyperhomocysteinemie kan leiden tot een verminderde beschikbaarheid van NO door een verminderde productie of door alternatieve mechanismen zoals oxidatieve stress of S-nitrosylering (1, 10, 11). NO wordt in de endothelcel geproduceerd door de endothel-specifieke isovorm van

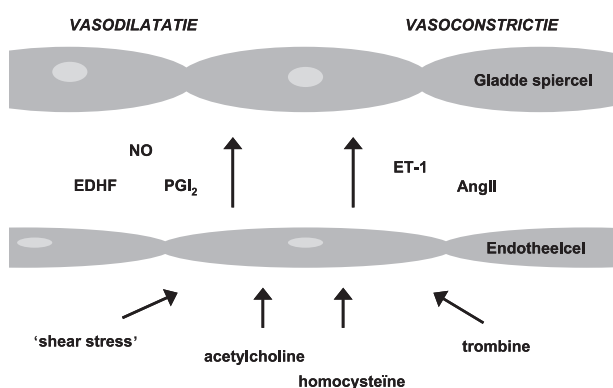


**Figuur 1.** Het folataafhankelijke methioninemetabolisme. De regulerende enzymen met hun co-factoren zijn weergegeven. AHCY = S-adenosylhomocysteïnehydrolase; MAT = methionine-adenosyltransferase; BHMT = betaine-homocysteïne-methyltransferase; MTHFR = methyleentetrahydrofolaatreductase; MTR = methioninesynthase, MTRR: methioninesynthasereductase; SHMT = serinehydroxymethyltransferase; MTHFD = methyleentetrahydrofolaatdehydrogenase; FS = 10-formyl-tetrahydrofolaatsynthetase; CH = 5,10-methenyltetrahydrofolaatsynthetase; CBS = cystathionine-beta-synthase; CTH = cystathionine-gamma-lyase.

NO-synthase (eNOS). Wanneer dit eNOS-enzym niet goed functioneert, door bijvoorbeeld defecten in het gen dat voor eNOS codeert, dan kan dit leiden tot een verminderde productie van NO. In het eNOS-gen zijn verschillende variaties beschreven waarvan er één resulteert in een aminozuursubstitutie. Deze variatie betreft een nucleotidesubstitutie van G naar T op positie 894 van het coderende gedeelte van het eNOS-gen (894 G>T) (12). Als gevolg van deze variatie zal er in het eiwit in plaats van glutamine asparagine worden ingebouwd op positie 298 van het eiwit (Glu298Asp). De 894G>T-variant is een mogelijke risicofactor voor het ontstaan van arterieel vaatlijden (12). Tevens is er een associatie aangetoond tussen deze 894G>T-variant en een verhoogd homocysteïnegehalte (13). Deze bevinding en de relatie tussen hyperhomocysteinemie en een verstoorde endotheelafhankelijke vaatverwijding brengen het eNOS-gen onder de aandacht in relatie tot homocysteïnetoxiciteit.

#### Interactie tussen eNOS 894 G>T en hyperhomocysteinemie

Recentelijk heeft onze groep de relatie tussen de 894G>T-variant in het eNOS-gen en een verhoogde homocysteïneconcentratie onderzocht. De 894G>T-variant werd gegenotypeerd in een groep van 170 patiënten met recidief veneuze trombose en in 433 controles. Het eNOS 894TT-genotype kwam iets vaker voor in de patiënten dan in de controles (OR 1,3 [0,7-2,5]) en zou de kans op trombose kunnen verhogen. Het brede betrouwbaarheidsinterval staat niet toe hieraan conclusies te verbinden. Vervolgens werd het effect van de 894G>T-variant op homocysteïne bestudeerd. In de controles was geen associatie tussen de 894G>T-variant en homocysteïne- noch folaatspiegels waarneembaar. In de patiëntengroep werd wel een lichte verhoging gevonden van de nuchtere en post-methionine'load'-spiegels van homocysteïne in

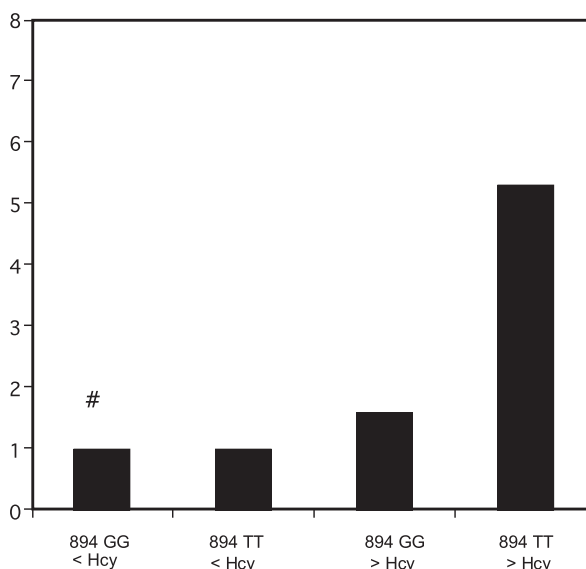


**Figuur 2.** Endotheel-afhankelijke vaatverwijding. Als reactie op stimuli van buitenaf zoals 'shear stress', acetylcholine, trombine of homocysteïne zal de endothelcel zowel vaatverwijdende als vaatvernauwende stoffen produceren om de vaattonus te reguleren. De vaatverwijdende stoffen bestaan voornamelijk uit stikstofmonooxide (NO), prostacycline (PGI<sub>2</sub>) en endotheliale hyperpolariserende factor (EDHF). Vaatvernauwende stoffen zijn bijvoorbeeld endotheline-1 (ET-1) en angiotensine II (AngII). De geproduceerde stoffen zullen in de gladde spiercellen voor dilatatie of constrictie van het bloedvat zorgen.

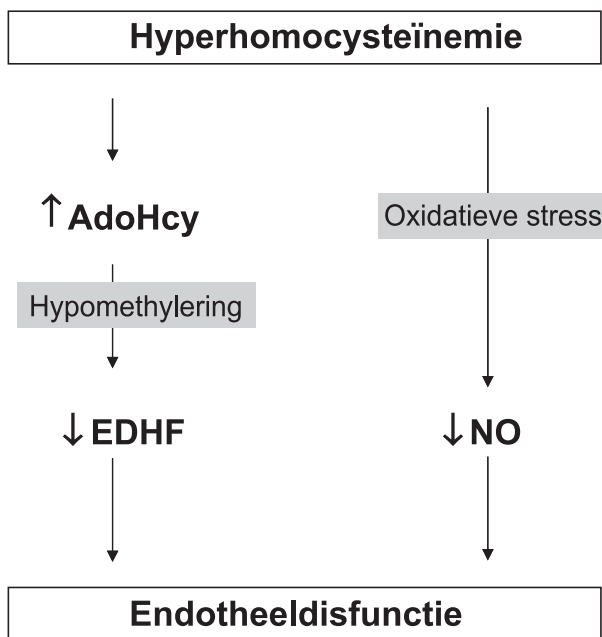
de groep met het 894TT-genotype (14). Omdat deze verhoging van homocysteïne alleen in de patiëntengroep waargenomen werd, is dit een aanwijzing dat de combinatie van hyperhomocysteinemie en het eNOS-894TT-genotype leidt tot een hoger risico op trombose. Aanwezigheid van uitsluitend een verhoogde homocysteïneconcentratie leidt tot een 2-voudig verhoogd risico op trombose (figuur 3). Het eNOS-894TT-genotype zelf leidt niet tot een hoger risico op trombose. Wanneer echter beide factoren aanwezig zijn leidt dit tot een meer dan 5-voudig risico op trombose (OR 5,3 [1,1-24,1], figuur 3). Het vinden van interactie tussen deze twee factoren geeft niet alleen informatie over de kans op trombose maar levert tevens resultaten op voor het achterliggende mechanisme. Deze resultaten tonen aan dat de toxische effecten van homocysteïne via NO verlopen. Homocysteïne kan ontgiftigd worden door NO door het vormen van S-nitrosohomocysteïne (14, 15). Wanneer er echter minder NO beschikbaar is, dan kan dit leiden tot een verhoogde blootstelling van de endotheelcel aan de schadelijke effecten van homocysteïne.

Recentelijk is er ook een rol voor eNOS-ontkoppeling beschreven in relatie tot hyperhomocysteinemie (16). Deze bevinding werd toegeschreven aan een verminderde beschikbaarheid van tetrahydrobiopterine (BH<sub>4</sub>), een belangrijke co-factor voor eNOS. Wanneer er voldoende BH<sub>4</sub> beschikbaar is zal dit resulteren in NO-productie, indien er echter minder BH<sub>4</sub> beschikbaar is dan leidt dit tot ontkoppeling van eNOS en zal het enzym overgaan tot de productie van zuurstofradicalen.

Naast S-nitrosylering zou ook een verhoogde productie van zuurstofradicalen de interactie tussen eNOS-894G>T en hyperhomocysteinemie kunnen verklaren. In eerdere studies is namelijk aangetoond dat hyperhomocysteinemie leidt tot een verminderde activiteit



**Figuur 3.** Interactie tussen eNOS-894G>T en hyperhomocysteinemie. Het relatief risico op het ontstaan op recidief trombose is uitgesplitst naar eNOS-894G>T-genotype en verhoogde homocysteïneconcentratie (> 90<sup>ste</sup> percentiel van de controles). Tevens is het relatief risico weergegeven voor de combinatie van beide factoren. # = referentiegroep.



**Figuur 4.** Pathofysiologie van hyperhomocysteinemie. Een verhoogde concentratie van homocysteïne kan enerzijds leiden tot een verhoogde concentratie van de methyleringsremmer AdoHcy. Een verminderde methylering van DNA is mogelijk de oorzaak voor de verminderde EDHF-gemedieerde vaatverwijding in hyperhomocysteinemische ratten. Anderzijds kan een verhoogde homocysteïneconcentratie resulteren in een verhoogde productie van zuurstofradicalen wat vervolgens zou kunnen leiden tot een verminderde beschikbaarheid van NO. Zowel een vermindering van EDHF als van NO zal resulteren in endotheeldisfunctie en kan zo het verhoogde risico op het ontstaan van hart- en vaatziekten verklaren.

van glutathionperoxidase 1 (GPx-1) (17). GPx-1 is betrokken bij het wegvangen van schadelijke radicalen en een verminderde expressie van GPx-1 kan de kans op oxidatieve inactivatie van NO vergroten, wat een verminderde vaatverwijding tot gevolg kan hebben (18, 19). De rol van oxidatieve stress in relatie tot hyperhomocysteinemie wordt ondersteund door onze recente bevinding van verhoogde mRNA-expressie van de regulerende subunit van glutamaat-cysteïniglycyltransferase (GCLM) in aorta van dieet-geïnduceerde hyperhomocysteinemische ratten (1). GCLM is betrokken bij de regulatie van de glutathionsynthese. Uit invitrostudies is gebleken dat overexpressie van GCLM leidt tot verminderde gevoeligheid voor oxidatieve stress (20). De bevinding van verhoogde GCLM-mRNA-expressie in aorta van hyperhomocysteinemische ratten levert dus indirect bewijs voor de aanwezigheid van oxidatieve stress in deze ratten (1). In de toekomst zullen daarom varianten in andere genen, die betrokken zijn bij het ontstaan en de regulatie van oxidatieve stress, bestudeerd worden met behulp van interactieanalyse om zo het achterliggende mechanisme verder te ontrafelen.

#### *Homocysteïne in relatie tot de EDHF-gemedieerde vaatverwijding*

EDHF draagt bij aan de endotheel-afhankelijke vaatverwijding in voornamelijk de weerstandsvaten. Op dit moment is de identiteit van EDHF nog niet volle-

dig opgehelderd. Waarschijnlijk is EDHF ook niet één enkele stof maar bestaan er, afhankelijk van het organisme en vaatbed, meerdere EDHFs. In de huidige literatuur worden verschillende kandidaten genoemd, waaronder cytochroomP450-metabolieten, kalium, waterstofperoxide en zogenaamde 'gap-junctions' (21).

Recentelijk heeft onze onderzoeksgroep de EDHF-gemedieerde vaatverwijding bestudeerd in renale arteriolen van dieet-geïnduceerde hyperhomocysteinemische ratten. De specifieke EDHF-gemedieerde vaatverwijding werd gemeten na het remmen van NO en prostacyclines met specifieke remmers. Deze was duidelijk verminderd in de hyperhomocysteinemische ratten ten opzichte van de controleratten (22). Gebruikmakend van hetzelfde model werd tevens onderzocht of homocysteïne zelf, of mogelijk een andere metaboliet, de oorzaak is voor de verstoorte EDHF-gemedieerde vaatverwijding. Dit werd onderzocht door de omzetting van homocysteïne in AdoHcy te remmen door toediening van geoxideerd adenosineperjodaat (ADOX), waarna vervolgens de EDHF-gemedieerde vaatverwijding gemeten werd. Toediening van ADOX resulteerde in een vergelijkbare verstoorte EDHF-gemedieerde vaatverwijding als in de hyperhomocysteinemische ratten, terwijl de homocysteïneconcentraties niet verhoogd waren in serum van deze ratten (22). Deze resultaten tonen aan dat niet homocysteïne maar een andere metaboliet uit het mechanisme, mogelijk AdoHcy, verantwoordelijk is voor de verstoorte EDHF-gemedieerde vaatverwijding. Daarnaast werden ook AdoHcy- en AdoMet-concentraties gemeten in de nieren van de hyperhomocysteinemische en controleratten. AdoHcy- en AdoMet-concentraties waren duidelijk verhoogd wat leidde tot een sterk verlaagde AdoMet:AdoHcy-ratio (1, 23). De AdoMet:AdoHcy-ratio wordt vaak gebruikt om de methyleringsgraad weer te geven. Bovenstaande bevindingen zijn daarom een indicatie dat de methylering van DNA verstoord is in hyperhomocysteinemie. Het bestuderen van DNA-methylering in relatie tot hyperhomocysteinemie zal de komende jaren meer informatie geven omtrent het achterliggende mechanisme.

#### **Conclusie**

In dit artikel is een overzicht gegeven van recent verkregen data die betrekking hebben op de relatie tussen hyperhomocysteinemie en endotheel-afhankelijke vaatverwijding. Samenvattend levert dit de volgende conclusies (figuur 4):

- Een verhoogde homocysteïneconcentratie in plasma is geassocieerd met oxidatieve stress hetgeen kan leiden tot inactivatie van NO.
- De EDHF-gemedieerde vaatverwijding is verstoord in hyperhomocysteinemie. Deze vermindering van EDHF zou eerder toe te schrijven zijn aan een verhoging van AdoHcy dan aan een verhoging van homocysteïne. Omdat AdoHcy een remmer is van tal van methyleringsreacties, wijst deze bevinding in de richting van een verstoorte DNA-methylering als mechanisme verantwoordelijk voor de verstoorte EDHF-gemedieerde vaatverwijding.

## Literatuur

1. Heil SG. Unraveling the mystery of homocysteine - a genomic approach. 1-176. 2-2-2005. Radboud University Nijmegen Medical Centre.
2. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325: 1202.
3. Heijer M den, Blom HJ, Gerrits WB, Rosendaal FR, Haak HL, Wijermans PW, Bos GM. Is hyperhomocysteinaemia a risk factor for recurrent venous thrombosis? *Lancet* 1995; 345: 882-885.
4. Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Novembrino C et al. Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. *Clin Chem* 2001; 47: 887-892.
5. Lawrence de Koning AB, Werstuck GH, Zhou J, Austin RC. Hyperhomocysteinemia and its role in the development of atherosclerosis. *Clin Biochem* 2003; 36: 431-441.
6. Austin RC, Lentz SR, Werstuck GH. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ* 2004; 11: S56-S64.
7. Lentz SR, Sobey CG, Piegors DJ, Bhopatkar MY, Faraci FM, Malinow MR, Heistad DD. Vascular dysfunction in monkeys with diet-induced hyperhomocyst(e)inemia. *J Clin Invest* 1996; 98: 24-29.
8. Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, Brownlee M, Bones C, Newcombe RG, Lewis MJ. Hyperhomocysteinemia after an oral methionine load acutely impairs endothelial function in healthy adults. *Circulation* 1998; 98: 1848-1852.
9. Bellamy MF, McDowell IF, Ramsey MW, Brownlee M, Newcombe RG, Lewis MJ. Oral folate enhances endothelial function in hyperhomocysteinaemic subjects. *Eur J Clin Invest* 1999; 29: 659-662.
10. Stanger O, Weger M. Interactions of homocysteine, nitric oxide, folate and radicals in the progressively damaged endothelium. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1444-1454.
11. Dayal S, Arning E, Bottiglieri T, Boger RH, Sigmund CD, Faraci FM, Lentz SR. Cerebral vascular dysfunction mediated by superoxide in hyperhomocysteinemic mice. *Stroke* 2004; 35: 1957-1962.
12. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298-->Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999; 100: 1515-1520.
13. Brown KS, Kluijtmans LA, Young IS, Woodside J, Yarnell JW, McMaster D et al. Genetic evidence that nitric oxide modulates homocysteine. The NOS3 894TT genotype is a risk factor for hyperhomocysteinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1014-1020.
14. Heil SG, Heijer M den, Rijn-Pisa BJ van der, Kluijtmans LA, Blom HJ. The 894 G > T variant of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) increases the risk of recurrent venous thrombosis through interaction with elevated homocysteine levels. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 750-753.
15. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D, Loscalzo J. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest* 1993; 91: 308-318.
16. Topal G, Brunet A, Millanvoye E, Boucher JL, Rendu F, Devynck MA, David-Duflho M. Homocysteine induces oxidative stress by uncoupling of no synthase activity through reduction of tetrahydrobiopterin. *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 1532-1541.
17. Upchurch GR, Jr., Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Jr., Loscalzo J. Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1997; 272: 17012-17017.
18. Weiss N, Zhang YY, Heydrick S, Bierl C, Loscalzo J. Overexpression of cellular glutathione peroxidase rescues homocyst(e)ine-induced endothelial dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 12503-12508.
19. Dayal S, Brown KL, Weydert CJ, Oberley LW, Arning E, Bottiglieri T et al. Deficiency of glutathione peroxidase-1 sensitizes hyperhomocysteinemic mice to endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1996-2002.
20. Tipnis SR, Blake DG, Shepherd AG, McLellan LI. Overexpression of the regulatory subunit of gamma-glutamylcysteine synthetase in HeLa cells increases gamma-glutamylcysteine synthetase activity and confers drug resistance. *Biochem J* 1999; 337: 559-566.
21. Busse R, Edwards G, Feletou M, Fleming I, Vanhoutte PM, Weston AH. EDHF: bringing the concepts together. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23: 374-380.
22. Vriese AS de, Blom HJ, Heil SG, Mortier S, Kluijtmans LA, Van DV, Lameire NH. Endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated renal vasodilatory response is impaired during acute and chronic hyperhomocysteinemia. *Circulation* 2004; 109: 2331-2336.
23. Heil SG, Vriese AS de, Kluijtmans LA, Mortier S, Heijer M den, Blom HJ. The role of hyperhomocysteinemia in nitric oxide (NO) and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)-mediated vasodilatation. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2004; 50: 911-916.

## Summary

*The role of hyperhomocysteinemia in endothelium-dependent vasodilation. Heil SG, Trijbels TMF and Blom HJ. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2005; 30: 203-207*

Hyperhomocysteinemia is associated with increased risk of cardiovascular diseases and can have both a genetic as an environmental origin. Environmental risk factors involve dietary factors such as low intake of B vitamins or life style factors like coffee consumption or smoking. Genetic factors involve variants in genes coding for enzymes of the homocysteine and/or folate metabolism. Besides the identification of factors causing hyperhomocysteinemia, a lot of effort has been put into the unraveling of the pathophysiology of homocysteine. Several mechanisms have been proposed by which homocysteine exerts its detrimental effects on the vascular wall. Among these are endothelial dysfunction, oxidative stress and inhibition of methylation. This article summarizes recent findings of the role of hyperhomocysteinemia in endothelium-dependent vasodilatation. The detrimental effects of homocysteine on the vasculature involve i) increased production of reactive oxygen species, resulting in less NO bioavailability and ii) impaired endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)-mediated vasodilatation that might be explained by DNA hypomethylation.

*Keywords: hyperhomocysteinemia; nitric oxide (NO); endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF); folate*