



HAL
open science

Intérêt de l'homocystéine dans l'évaluation du risque cardiovasculaire au CHRU de Nancy

Julien Lévy

► **To cite this version:**

Julien Lévy. Intérêt de l'homocystéine dans l'évaluation du risque cardiovasculaire au CHRU de Nancy. Médecine humaine et pathologie. 2020. hal-03805931

HAL Id: hal-03805931

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03805931>

Submitted on 7 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE
Pour obtenir le grade de
DOCTEUR EN MÉDECINE

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
DE BIOLOGIE MÉDICALE

Présenté et soutenu publiquement dans le cadre du troisième cycle de Médecine
Spécialisée par

Julien LEVY

Le 1^{er} septembre 2020

**INTERET DE L'HOMOCYSTEINE DANS L'EVALUATION DU
RISQUE CARDIOVASCULAIRE AU CHRU DE NANCY**

Membres du Jury

M. le Professeur Jean-Louis GUEANT	Président et Directeur
Mme le Professeur Rosa-Maria RODRIGUEZ GUEANT	Juge
M. le Professeur Stéphane ZUILY	Juge
Mme le Professeur Brigitte LEININGER-MULLER	Juge



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE



FACULTÉ de MÉDECINE
NANCY

Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT

Doyen de la Faculté de Médecine :
Professeur Marc BRAUN

Vice-doyenne
Pr Laure JOLY

Assesseurs :

Premier cycle : Dr Nicolas GAMBIER
Deuxième cycle : Dr Antoine KIMMOUN
Troisième cycle : Pr Laure JOLY
Formation à la recherche : Pr Nelly AGRINIER
Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER
CUESIM : Pr Stéphane ZUILY
SIDES : Dr Julien BROSEUS
Vie Facultaire : Dr Philippe GUERCI
Étudiant : Mme Audrey MOUGEL

Chargés de mission

Docimologie : Dr Jacques JONAS
Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER
PACES : Pr Mathias POUSSEL
Relations internationales : Pr Jacques HUBERT

Présidente du Conseil de la Pédagogie : Pr Louise TYVAERT
Président du Conseil Scientifique : Pr Jean-Michel HASCOET

=====

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND –
Pierre BEY - Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL – Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY –
Michel BOULANGE - Jean-Louis BOUTROY – Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET -
Daniel BURNEL - Claude CHARDOT Jean-François CHASSAGNE - François CHERRIER – Henry COUDANE -
Jean-Pierre CRANCE - Jean-Pierre DESCHAMPS - Jean-Bernard DUREUX - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE -
Bernard FOLIGUET - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER –
Jean-Luc GEORGE - Alain GERARD - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ –
Simone GILGENKRANTZ -Gilles GROSDIDIER - François GUILLEMIN - Philippe HARTEMANN –
Gérard HUBERT - Claude HURIET - Michèle KESSLER - François KOHLER - Henri LAMBERT - Pierre LANDES
- Pierre LASCOMBES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU - Jacques LECLERE -
Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - François MARCHAL –
Jean-Claude MARCHAL – Yves MARTINET - Pierre MATHIEU - Michel MERLE - Daniel MOLÉ - Pierre MONIN -
Pierre NABET – Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Francis PENIN - Claude PERRIN - Luc PICARD -
François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER –
Denis REGENT - Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER –
Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON - Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER -
Gilbert THIBAUT - Paul VERT - Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET –
Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WEBER – Denis ZMIROU - Faïez ZANNAD

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Etienne ALIOT - Pierre BEY - Henry COUDANE - Serge BRIANÇON - Jean-Marie GILGENKRANTZ –
Simone GILGENKRANTZ - Michèle KESSLER - Alain LE FAOU - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS –
Luc PICARD - François PLENAT -
Jean-Pierre VILLEMOT - Faiez ZANNAD

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^e Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{re} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Marc BRAUN – Professeure Manuela PEREZ

2^e sous-section : (*Histologie, embryologie et cytogénétique*)

Professeur Christo CHRISTOV

3^e sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur Guillaume GAUCHOTTE

43e Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1^{re} sous-section : (*Biophysique et médecine nucléaire*)

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER –
Professeur Antoine VERGER

2^e sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD –
Professeure Valérie CROISÉ - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur Benjamin GORY –
Professeur Damien MANDRY - Professeur Pedro GONDIM TEIXEIRA

44^e Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{re} sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^e sous-section : (*Physiologie*)

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur Mathias POUSSEL

3^e sous-section (*Biologie cellulaire*)

Professeure Véronique DECOT-MAILLERET

4^e sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

45^e Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : (*Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LOZNIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

2^e sous-section : (*Parasitologie et Mycologie*)

Professeure Marie MACHOUART

3^e sous-section : (*Maladies infectieuses ; maladies tropicales*)

Professeur Bruno HOEN - Professeur Thierry MAY - Professeure Céline PULCINI –
Professeur Christian RABAUD

46^e Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : (*Épidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeure Nelly AGRINIER - Professeur Francis GUILLEMIN

4^e sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

47^e Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Professeur Pierre FEUGIER

2^e sous-section : (*Cancérologie ; radiothérapie*)

Professeur Thierry CONROY - Professeur Frédéric MARCHAL - Professeur Didier PEIFFERT –
Professeur Guillaume VOGIN

3^e sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT - Professeure Marie-Thérèse RUBIO

4^e sous-section : (*Génétique*)

Professeur Philippe JONVEAUX - Professeur Bruno LEHEUP

48° Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1^{re} sous-section : (*Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire*)

Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER
Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN

2^e sous-section : (*Médecine intensive-réanimation*)

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY

3^e sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie*)

Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU

4^e sous-section : (*Thérapeutique-médecine de la douleur ; addictologie*)

Professeur Nicolas GIRERD - Professeur François PAILLE - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49° Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

1^{re} sous-section : (*Neurologie*)

Professeur Marc DEBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Sébastien RICHARD –
Professeur Luc TAILLANDIER Professeure Louise TYVAERT

2^e sous-section : (*Neurochirurgie*)

Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

3^e sous-section : (*Psychiatrie d'adultes ; addictologie*)

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Vincent LAPREVOTE - Professeur Raymund SCHWAN

4^e sous-section : (*Pédopsychiatrie ; addictologie*)

Professeur Bernard KABUTH

5^e sous-section : (*Médecine physique et de réadaptation*)

Professeur Jean PAYSANT

50° Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

1^{re} sous-section : (*Rhumatologie*)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

2^e sous-section : (*Chirurgie orthopédique et traumatologique*)

Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur François SIRVEAUX

3^e sous-section : (*Dermato-vénéréologie*)

Professeure Anne-Claire BURSZTEJN - Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

4^e sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie*)

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51° Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{re} sous-section : (*Pneumologie ; addictologie*)

Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT

2^e sous-section : (*Cardiologie*)

Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET –

Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL

3^e sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardiovasculaire*)

Professeur Juan-Pablo MAUREIRA - Professeur Stéphane RENAUD

4^e sous-section : (*Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire*)

Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{re} sous-section : (*Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie*)

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

2^e sous-section : (*Chirurgie viscérale et digestive*)

Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD –

Professeure Adeline GERMAIN

3^e sous-section : (*Néphrologie*)

Professeur Luc FRIMAT - Professeure Dominique HESTIN

4^e sous-section : (*Urologie*)

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

53° Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET MÉDECINE GÉNÉRALE

1^{re} sous-section : (*Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie*)

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY

Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

3^e sous-section : (*Médecine générale*)

Professeur Jean-Marc BOIVIN – Professeur Paolo DI PATRIZIO

54° Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1^{re} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET
Professeur Emmanuel RAFFO - Professeur Cyril SCHWEITZER

2° sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

3° sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

4° sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

55° Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{re} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

2° sous-section : (Ophtalmologie)

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD

3° sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61° Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64° Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

65° Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeure associée Sophie SIEGRIST

Professeur associé Olivier BOUCHY

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42° Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{re} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON

2° sous-section : (Histologie, embryologie, et cytogénétique)

Docteure Isabelle KOSCINSKI

44° Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1^{re} sous-section : (Biochimie et biologie moléculaire)

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Catherine MALAPLATE –

Docteur Marc MERTEN - Docteur Abderrahim OUSSALAH

2° sous-section : (Physiologie)

Docteure Silvia DEMOULIN-ALEXIKOVA - Docteur Jacques JONAS

45° Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{re} sous-section : (Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Hélène JEULIN - Docteure Véronique VENARD

2° sous-section : (Parasitologie et mycologie)

Docteure Anne DEBOURGOGNE

46° Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{re} sous-section : (Epidémiologie, économie de la santé et prévention)

Docteur Cédric BAUMANN - Docteure Frédérique CLAUDOT - Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE
Docteur Arnaud FLORENTIN (stagiaire)

2° sous-section (Médecine et Santé au Travail)

Docteure Isabelle THAON

3° sous-section (Médecine légale et droit de la santé)

Docteur Laurent MARTRILLE

47° Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{re} sous-section : (Hématologie ; transfusion)

Docteur Julien BROSEUS – Docteure Maud D'AVENI

2° sous-section : (Cancérologie ; radiothérapie)

Docteure Lina BOLOTINE

3° sous-section : (Immunologie)

Docteure Alice AARNINK (stagiaire)

4° sous-section : (Génétiq

Docteure Céline BONNET

48° Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE

1° sous-section : (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

Docteur Philippe GUERCI

2° sous-section : (Médecine intensive-réanimation)

Docteur Antoine KIMMOUN

3° sous-section : (Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteure Françoise LAPICQUE - Docteur Julien SCALA-BERTOLA

49° Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP ET RÉÉDUCATION

2° sous-section : (Neurochirurgie)

Docteur Fabien RECH (stagiaire)

3° sous-section : (Psychiatrie d'adultes ; addictologie)

Docteur Thomas SCHWITZER (stagiaire)

50° Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE ET CHIRURGIE PLASTIQUE

4° sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51° Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3° sous-section : (Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire)

Docteur Fabrice VANHUYSE

4° sous-section : (Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire)

Docteure Nicla SETTEMBRE

52° Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF ET URINAIRE

1^{re} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)

Docteur Anthony LOPEZ

2° sous-section : (Chirurgie viscérale et digestive)

Docteur Cyril PERRENOT

53° Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE ET MÉDECINE GÉNÉRALE

3° sous-section : (Médecine générale)

Docteure Kénora CHAU (stagiaire)

54° Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

4° sous-section : (Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; Gynécologie médicale)

Docteure Éva FEIGERLOVA

5° sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale)

Docteur Mikaël AGOPIANTZ (stagiaire)

55° Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{re} sous-section : (Oto-Rhino-Laryngologie)

Docteur Patrice GALLET

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^e Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

7^e Section : SCIENCES DU LANGAGE : LINGUISTIQUE ET PHONETIQUE GENERALES

Madame Christine DA SILVA-GENEST

19^e Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

64^e Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA

65^e Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Madame Nathalie AUCHET - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ - Monsieur Christophe NEMOS

66^e Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

69^e Section : NEUROSCIENCES

Madame Sylvie MULTON

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Cédric BERBE

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)

Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)

Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)

Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)

Professeure Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)

Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)

Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Université d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)

Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)

Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)

Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)

Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)

Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

REMERCIEMENT

À notre Maître et Président du Jury

Monsieur le Professeur Jean-Louis GUEANT

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU Nancy

Pour l'honneur que vous me faites en acceptant la direction et présidence de cette thèse. Je vous remercie de l'intérêt et du temps que vous avez bien voulu consacrer à mon travail. Soyez assuré de notre profond respect et de notre reconnaissance.

À notre Maître et Juge

Madame le Professeur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Laboratoire de Biochimie et Biologie moléculaire, CHRU Nancy

Pour m’avoir confié ce travail et en avoir accepté la direction, pour votre soutien et gentillesse, soyez assurée de ma profonde gratitude.

À notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Stéphane ZUILY

*Professeur des Universités – Praticien Hospitalier, Service de médecine vasculaire, CHRU
Nancy*

Pour nous avoir fait l'honneur de juger cette thèse. Je vous remercie sincèrement pour l'intérêt que vous avez bien voulu porter à mon travail. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

À notre Maître et Juge

Madame le Professeur Brigitte LEININGER-MULLER

Professeur des Universités

Pour nous avoir fait l'honneur de juger cette thèse. Soyez assurée de notre profonde reconnaissance.

À l'ensemble des équipes des laboratoires du CHRU de NANCY et de l'Institut de Cancérologie de Lorraine

Monsieur le Professeur Abderrahim Oussalah, vous avez su dès le premier jour de mon internat en biologie médicale me transmettre vos connaissances avec passion et enthousiasme. Merci beaucoup pour votre aide si précieuse lors de la rédaction de ce manuscrit. Vos cours sur tableau, les sessions Excel et biblio vont me manquer!

À ma famille

À mes parents, exercice difficile, j'ai tellement de souvenirs et d'émotions en commençant à écrire ces lignes. J'ai d'abord pensé ne faire qu'un mot pour chacun, mais je ne peux m'empêcher de vous remercier tout d'abord pour votre incroyable complémentarité, pour m'avoir toujours soutenu dans mes choix et permis de mener mes études dans les meilleures conditions. Si j'en suis là aujourd'hui, c'est grâce à vous. J'espère vous rendre par ce travail un petit peu de tout cela.

À maman, pour ta présence douce et bienveillante en toutes occasions. Ton goût pour les voyages, le théâtre, les musées et même l'humour! Avec tout mon amour!

À papa, merci pour ta patience et ton soutien sans faille. Ton goût pour le travail bien fait, ta rigueur et ta minutie ont toujours fait mon admiration et m'ont inspiré.

À mon frère, je vais t'épargner tous tes pseudonymes, on ne sait jamais qui pourrait lire ces lignes !! Pas facile d'avoir un petit frère, surtout quand il veut faire les mêmes choses que vous, tout seul, en mieux, et qu'il y arrive ! Merci, de m'avoir fait participer à tes bêtises (tu t'en sortais déjà très bien tout seul) pour nos parties de console, tes cris d'Ewok et tes histoires de Kida !!! Pour m'avoir supporté, soutenu, écouté dès qu'il le fallait. Je serais toujours là pour t'épauler, te conseiller, même si tu me rends la tâche un peu plus difficile depuis Nantes.

À mes grands-parents

À mami Edith, pour toutes tes expériences, enseignements et histoires, qui resteront gravées dans ma mémoire ! Pour n'avoir jamais oublié le moindre de mes examens ou concours tout au long de mon cursus. Avec tout mon amour

À mami Eliane, pour ton soutien sans faille depuis le début de mes études. Merci pour tous ces week-end à Strasbourg où j'ai toujours été chouchouté, pour tes petits plats et gâteaux! Je n'oublierais jamais nos après-midi ou soirées de jeu où tu me racontais Toulouse.

Avec tout mon amour

À papi Jérôme et papi Henry, j'espère que vous auriez été fiers de votre petit fils aujourd'hui...

À mes amis

À Simon, Walken, Moine,

Depuis la P1, on en aura fait du chemin... Je repense à nos fous rires (Val tho), à notre check, à ta grimace, à nos soirées, à nos vacances sur le bateau, à Arcachon, au ski, au Pérou aussi. Merci d'avoir toujours été là, dans les bons comme les moins bons moments. J'espère qu'on va continuer comme ça pour encore très très longtemps !

À Louis, Loulou,

C'est à un retour tous les 2 de Chamonix que je t'ai vraiment découvert! Je repense forcément à nos fins de soirées sur le banc à refaire le monde, au ski (ou tu pourrais faire moniteur), à nos voyages où tu es mon GO préféré... J'ai toujours pu compter sur toi, tes conseils sont précieux! Merci pour tout ça, ce n'est qu'un début !

À Alexandre, Drag, Cendre, Papa Ours,

Merci, pour tous nos appels de 3h, les soirées dans ton appart à refaire le monde, les fous rires, le ski (ou tu es toujours le premier sur les pistes...)! Ne change rien, j'ai de la chance de te compter parmi mes amis!

À Gautier, Gauth,

Bientôt 15 ans que l'on se suit pour nos études mais pas que... J'ai tellement de souvenirs en boite, en vacances, à St maxime, à St Marcel, difficile de tout résumer en quelques lignes. Merci pour tout ! <3

À Julien, Djidj,

Je n'oublierai jamais cette D4 passée en ta compagnie ! L'équipe du dimanche et les califonia rolls après les cas cliniques! Je repense à tous ces skis, et soirées... que des bons moments !!! J'espère que notre amitié durera encore de nombreuses années.

À Charles, Charlou,

Je repense forcément à tous ces skis dans ton chalet, toujours de super moments, même si tu es un peu trop rapide, il faut absolument arrêter de farter tes skis, mais aussi à cette année de révision rue Anatole France avec de la Ricoré!

Merci pour tout !

À **Chris**, le roi des louvetiers, la petite caille de braque, pour les soirées à l' étang et les nombreuses vacances ! Ce n'est qu'un début !

À **Vince, Jean, Alexane, Charlotte, Daphné, Perrine, Benita,**

Pour nos soirées, nos repas, nos vacances, vos blagues, vos conseils... Merci !!!

À **mes cointernes**

Pierre, Alexis, Caroline, Olivia, Delphine, Romain, Amy, Elodie, Madjé, Marion, Claire, Charlotte, Carole, Emmanuelle, Derick, Melaine, Guillaume, Anne-Julie, Stéphanie, Tom, Matthieu, Clémence, Melissa, Marine, Benoit

Grâce à vous tous, mon internat est passé à une vitesse folle ! Merci beaucoup !

À Charlotte

Pour ta patience, ton calme, ta douceur, ton rire, ta joie de vivre et ton amour qui me comblent un peu plus, tous les jours. Je suis tellement enthousiaste à l'idée des choses qu'ils nous restent à faire ensemble! PS : ...

À la mémoire de mon grand-père Jérôme

SERMENT

« Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque ».

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	21
TABLE DES FIGURES	23
TABLE DES TABLEAUX	24
1. INTRODUCTION	25
2. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	26
2.1. Homocystéine.....	26
2.1.1. Présentation	26
2.1.2. Transport et formes circulantes	28
2.1.3. Les voies du métabolisme	29
2.1.3.1. La reméthylation	29
2.1.3.1.1. Voie de la Méthionine Synthase (MS)	29
2.1.3.1.2. Voie de la Bétaïne-homocystéine méthyltransférase (BHMT)	30
2.1.3.2. La transulfuration	31
2.2. Facteurs modifiant la concentration de l'Hcy	31
2.2.1. Conditions physiologiques normales	31
2.2.2. Les facteurs environnementaux	32
2.2.3. Médicaments.....	32
2.2.4. Pathologies	32
2.2.5. Les facteurs génétiques	33
2.2.5.1. Variants du gène CBS	33
2.2.5.2. Variants du gène MTHFR	33
2.2.5.3. Variants du gène TCN2	34
2.2.5.4. Autres facteurs génétiques du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 et tests de complémentation	34
2.2.5.4.1. Anomalie du transport du lysosome au cytoplasme	34
2.2.5.4.1.1. Groupe de complémentation CblF (gène LMBRD1)	34
2.2.5.4.1.2. Groupe de complémentation CblJ (gène ABCD4)	35
2.2.5.4.2. Étapes cytoplasmiques	35

2.2.5.4.2.1.	Groupe de complémentation CblC (gène MMACHC)	35
2.2.5.4.2.2.	Groupe de complémentation CblD (gène MMADHC)	35
2.2.5.4.3.	Synthèse de la méthylcobalamine (MeCbl)	35
2.2.5.4.3.1.	Groupe de complémentation CblE (gène MTRR)	35
2.2.5.4.3.2.	Groupe de complémentation CblG (gène MTR)	36
2.2.6.	Les déterminants nutritionnels	36
2.2.6.1.	Vitamine B12	37
2.2.6.1.1.	Introduction	37
2.2.6.1.2.	Métabolisme intracellulaire	37
2.2.6.2.	Vitamine B9	39
2.2.6.2.1.	Introduction	39
2.2.6.2.2.	Métabolisme	40
2.2.6.2.2.1.	La synthèse de la méthionine	40
2.2.6.2.2.2.	La conversion sérine-glycine	40
2.2.6.2.2.3.	La synthèse des acides aminés	40
2.2.6.2.2.4.	La synthèse des acides nucléiques	41
2.2.6.2.3.	Synthèse des bases pyrimidiques	41
2.2.6.2.4.	Synthèse des bases puriques	41
2.2.6.3.	Vitamine B6	41
2.2.6.3.1.	Introduction	41
2.2.6.3.2.	Métabolisme	42
2.3.	Hyperhomocystéinémie : facteur de risque des maladies cardiovasculaires	45
2.3.1.	Mécanisme physiopathologique	45
2.3.2.	Etudes épidémiologiques	47
2.3.3.	Études interventionnelles	48
3.	OBJECTIF DE LA THESE	50
4.	ARTICLE	51
5.	CONCLUSION	89
6.	BIBLIOGRAPHIE	90

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AdoCbl	AdénosylCobalamine
ARN	Acide RiboNucléique
AVC	Accident vasculaire cérébral
BHMT	Bétaine Homocystéine Méthyltransférase
Cbl	Cobalamine
CBS	Cystathionine- β -Synthase
CGL	Cystéine- γ -Lyase
CRP	Protéine C Réactive
CYS	Cystéine
DHF	Acide Dihydrofolique
dUMP	désoxy Uridilate Mono Phosphate
dTMP	désoxy Thimidilate Mono Phosphate
FIGLU	Acide Formimino Glutamique
FR	Facteur de risque
Hcy	Homocystéine
Hcyémie	Homocystéinémie
HHcy	Hyperhomocystéinémie
IRC	Insuffisance rénale chronique
MeCbl	Méthyl Cobalamine
MMA	Acide méthylmalonique
MMACHC	Methylmalonic aciduria and homocystinuria type C
MMADHC	Methylmalonic aciduria and homocystinuria type D
MSR	Methionine sulfoxide reductase
MTR	Méthionine Synthase
MéthylTHF	Méthyl TétraHydroFolate
MTHFR	Méthylene Tétra Hydro Folate Reductase
MUT	Méthylmalonyl-CoA Mutase
MS	Méthionine Synthase
N5,10-méthylèneTHF	N5,10-méthylèneTétraHydroFolate

N5,10-méthénylTFH	N5,10-méthénylTétraHydroFolate
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucléotide
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PLP	Pyridoxine 5'-Phosphate
SAH	S-AdénosylHomocystéine
SAHH	S-Adénosyl Homocystéine Hydrolase
SAM	S-Adénosyl Méthionine
SHMT	Sérine Hydroxy Méthyl Transférase
TCA	Acide Tricarboxylique
TCII	Transcobalamine II
tHcy	Homocystéine plasmatique totale
THF	Acide Tétrahydro Folique
TVP	Thrombose veineuse profonde

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Structure moléculaire de l'Hcy	26
Figure 2. Mécanisme de synthèse de l'Hcy par la SAH hydroxylase (SAHH)	27
Figure 3. Répartition des 4 formes d'Hcy plasmatiques	28
Figure 4. Métabolisme de l'Hcy chez l'homme	29
Figure 5. Réaction de transméthylation par la méthionine synthase (MS)-vitamine B12 dépendante.....	30
Figure 6. Réaction de transméthylation de la bétaine sur l'Hcy par la BHMT pour former de la méthionine. ...	30
Figure 7. Réaction de transulfuration de l'Hcy par la cystathionine- β -synthase (CBS) et son cofacteur la vitamine B6 (PLP, phosphate de pyridoxal).	31
Figure 8. Métabolisme intracellulaire de la vitamine B12.	36
Figure 9. Structure moléculaire 2D de la vitamine B12.	37
Figure 10. Métabolisme et fonction de la vitamine B12.....	38
Figure 11. Structure moléculaire de la vitamine B9 et ses dérivés méthylés ou formylés	39
Figure 12. Structure moléculaire de la vitamine B6	42
Figure 13. Métabolisme de la vitamine B6 dans le cadre de la transulfuration de l'Hcy.	43
Figure 14. Mécanisme physiopathologique permettant d'expliquer l'athérogénicité de l'homocystéine.....	46

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1. Facteurs influençant la tHcy	44
---	----

1. INTRODUCTION

Les pathologies cardiovasculaires constituent une cause majeure de morbidité et de mortalité dans le monde. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), environ 17,5 millions soit 30 % des décès leur sont imputables (1). L'athérosclérose est une composante importante de la physiopathologie des maladies cardiovasculaires (2). L'OMS définit l'athérosclérose comme une association variable de modifications de l'intima des artères de gros et moyen calibre (3). L'athérosclérose est une pathologie multifactorielle renforcée par des facteurs de risque cardiovasculaire : le tabagisme, l'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle, le diabète, l'obésité abdominale et des facteurs psychosociaux (4). Ces paramètres sont bien établis mais les données épidémiologiques recueillies ces 30 dernières années ont suggéré que d'autres facteurs biologiques pourraient être associés à l'augmentation du risque de pathologies cardiovasculaires. Parmi ceux-ci, l'homocystéine (Hcy). L'Hcy est un acide aminé découvert en 1932 par Butz, Lewis et du Vigneaud (5). Selon des études relativement récentes, l'Hcy favorise le dysfonctionnement endothélial, le stress oxydatif, l'inflammation, la prolifération cellulaire et la thrombose (6, 7). McCully fut le premier en 1969 à proposer une anomalie de la voie métabolique de l'Hcy comme responsable d'une pathologie (8). Il observa une athérothrombose précoce et des décès chez des enfants avec des hyperhomocystéinémies plasmatiques (HHcy) sévères dues à une pathologie métabolique : l'homocystinurie congénitale. Cette pathologie génétique est rare, mais apporte un modèle humain *in vivo* des lésions associées à une intoxication chronique par l'Hcy.

Le rôle de l'Hcy dans le développement des pathologies cardiovasculaires est largement débattu dans de nombreuses études épidémiologiques et interventionnelles.

Dans une première partie bibliographique, notre travail s'attache à étudier l'Hcy, son métabolisme et ses déterminants, puis le lien entre l'Hcy et les pathologies cardiovasculaires. Dans un second temps, nous poursuivons par une étude rétrospective observationnelle d'une population de patients pour lesquels un dosage d'Hcy plasmatique était demandé au centre hospitalier universitaire de Nancy. Nous nous sommes ensuite intéressés exclusivement aux patients pris en charge pour une pathologie cardiovasculaire.

2. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1. Homocystéine

2.1.1. Présentation

L'Hcy est un acide aminé soufré porteur d'un groupement thiol réducteur (**HS-CH₂-CH₂-CH(NH₂)-COOH**) découvert en 1932 (5). Cet acide aminé n'est pas absorbé par l'alimentation et n'intervient pas dans la synthèse peptidique.

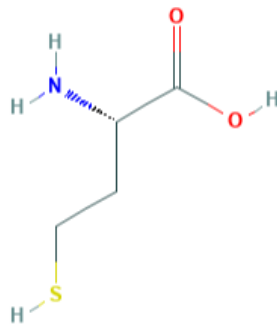


Figure 1. Structure moléculaire de l'Hcy (Source : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

La seule source d'Hcy chez les mammifères provient de l'hydrolyse de la S-AdénosylHomocystéine (SAH) par une enzyme ubiquitaire, la S-AdénosylHomocystéine Hydrolase (SAHH). Cette réaction libère une molécule d'Hcy et d'adénosine par molécule de SAH hydrolysée (9). Cette réaction fait intervenir successivement le Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD⁺) et le NADH,H⁺ (**Figure 2**).

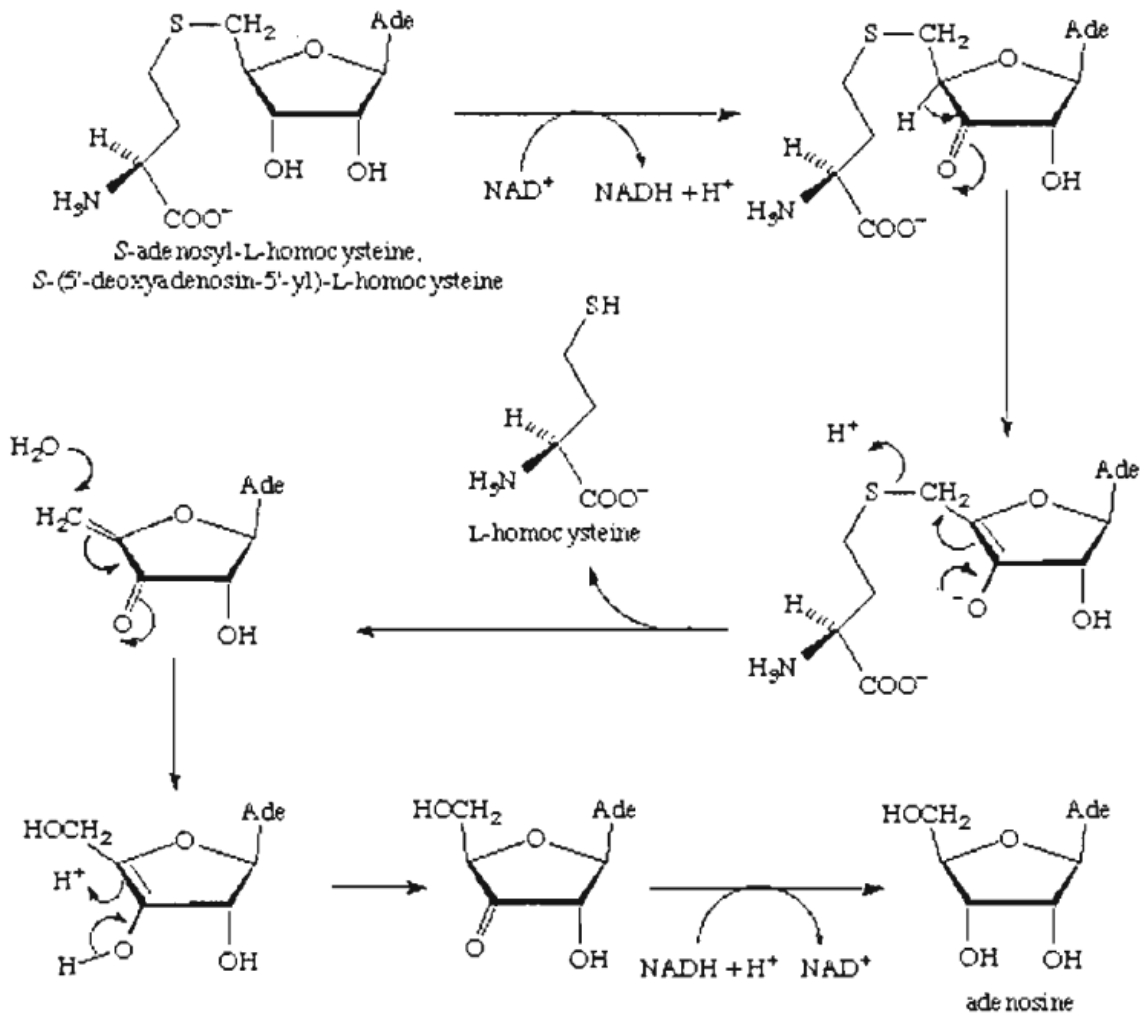


Figure 2. Mécanisme de synthèse de l'Hcy par la SAH hydroxylase (SAHH)
(adapté à partir de Palmer, John and Abeles, 1979 (9))

L'équation bilan de cette réaction est :



Comme cette réaction est réversible, en cas d'HHcy, la synthèse de SAH peut être favorisée. Dans ce cas, cela joue un rôle important dans la régulation de l'activité enzymatique du cycle de la reméthylation de l'Hcy.

2.1.2. Transport et formes circulantes

La concentration plasmatique moyenne totale d'Hcy (tHcy) chez l'homme est d'environ 6 à 12 μM .

On dénombre 4 formes organiques d'Hcy plasmatiques (10):

-l'Hcy liée aux protéines plasmatiques par un pont disulfure, principalement à l'albumine (75-80 % de la tHcy),

-l'Hcy sous forme d'hétérodimère liée à la cystéine Hcy-Cys,

-l'Hcy sous forme d'homodimère Hcy-Hcy,

-l'Hcy libre.

La proportion d'Hcy libre est faible (environ 2%).

La tHcy est la somme de toutes les formes d'Hcy présentent dans le plasma ou le sérum (Figure 3).

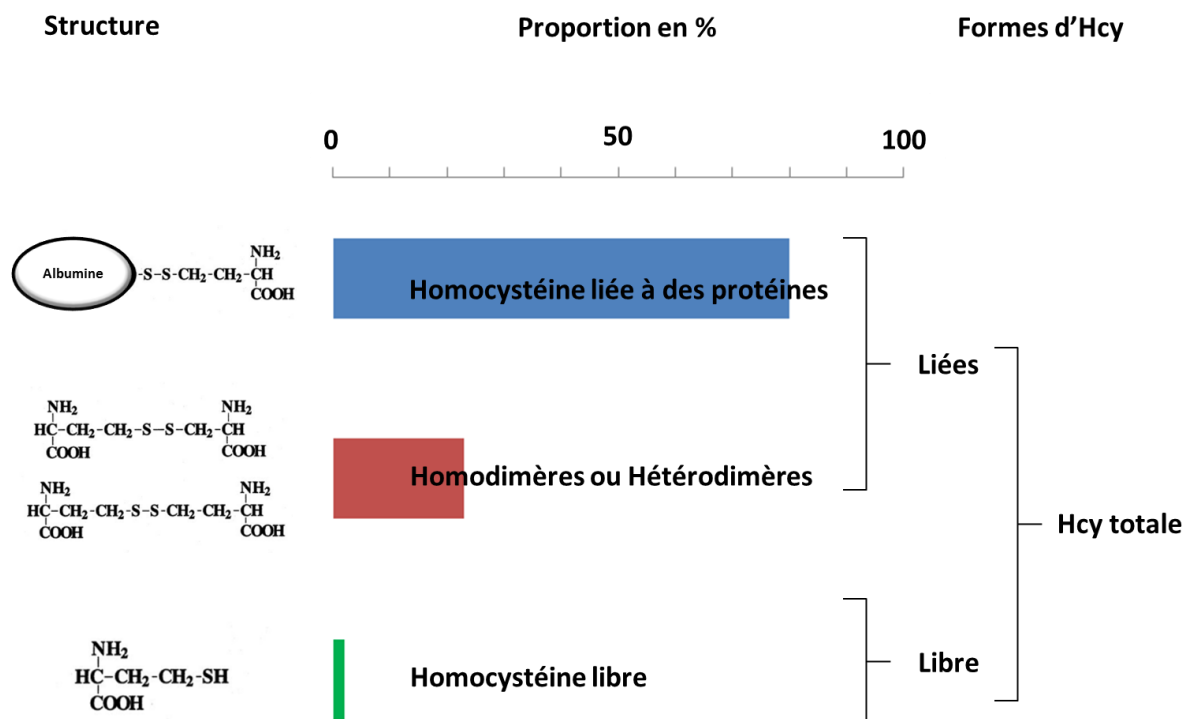


Figure 3. Répartition des 4 formes d'Hcy plasmatiques

(adapté à partir de Mudd et al., 2000.(10)).

2.1.3. Les voies du métabolisme

L'Hcy est un acide aminé situé au carrefour de deux voies métaboliques : la reméthylation et la transulfuration (11) (**Figure 4**).

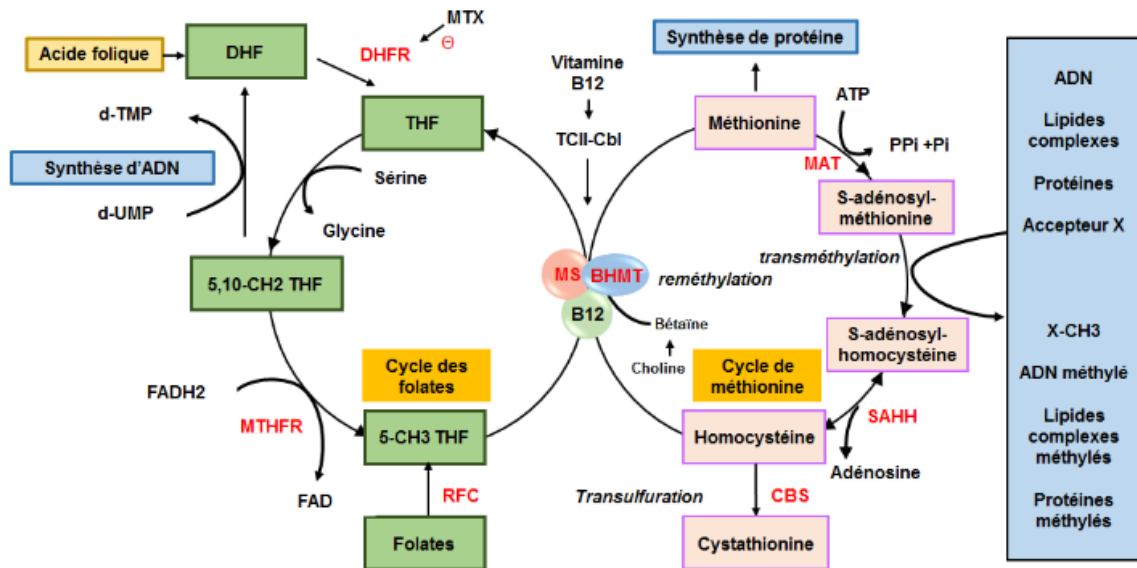


Figure 4. Métabolisme de l'Hcy chez l'homme (adapté à partir de Selhub J, 1999.(11))

2.1.3.1. La reméthylation

Lors de la reméthylation, l'Hcy peut acquérir un groupement méthyle pour former la méthionine. Cette réaction s'effectue par deux voies indépendantes qui font intervenir soit la 5-méthyltétrahydrofolate-homocystéine S-méthyltransférase, aussi appelée méthionine synthase (MS), soit la bétaine homocystéine méthyltransférase (BHMT).

2.1.3.1.1. Voie de la Méthionine Synthase (MS)

La réaction catalysée par la MS dépend d'un cofacteur : la méthylcobalamine (MeCbl), forme active de la vitamine B12. L'Hcy obtient un groupement méthyle provenant du 5-méthyltétrahydrofolate. La MS est ubiquitaire mais son expression est variable en fonction des tissus (12, 13) (**Figure 5**).

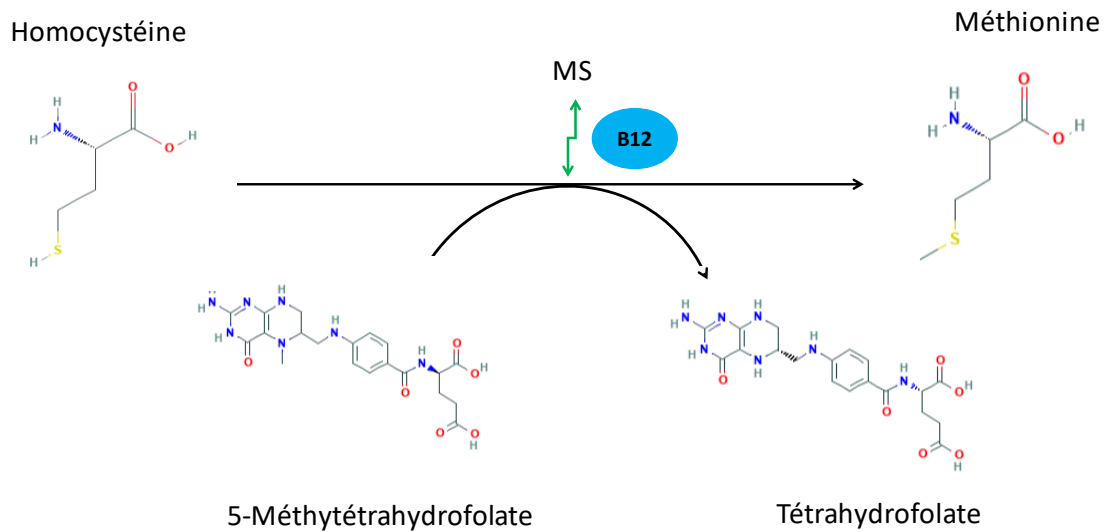


Figure 5. Réaction de transméthylation par la méthionine synthase (MS)-vitamine B12 dépendante. Cette enzyme permet le transfert d'un groupement méthyle du 5-Méthyltetrahydrofolate sur l'Hcy et aboutit à la formation de la méthionine. (Source : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2.1.3.1.2. Voie de la Bétaïne-homocystéine méthyltransférase (BHMT)

La BHMT est une enzyme zinc-dépendante. Elle est principalement présente au niveau du foie mais aussi dans le rein (14). Au niveau du foie, elle assure 50% des réactions de reméthylation de l'Hcy. Cette réaction aboutit au transfert d'un groupement méthyle de la bétaïne vers l'Hcy et entraîne la formation de méthionine et de diméthyl-glycine (**Figure 6**).

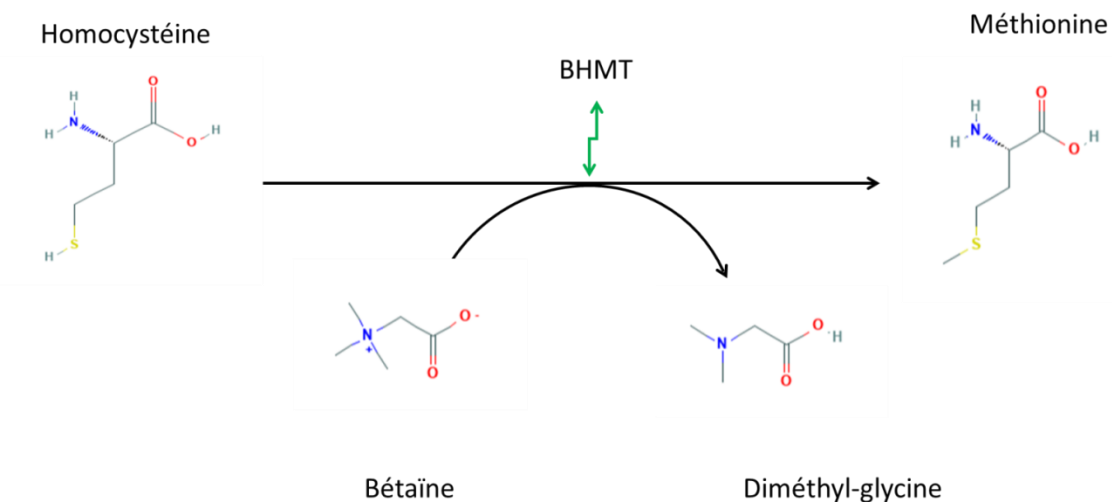


Figure 6. Réaction de transméthylation de la bétaïne sur l'Hcy par la BHMT pour former de la méthionine. (Source : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2.1.3.2. La transulfuration

La majorité de l'Hcy n'est pas reméthylée mais catabolisée en cystéine par la voie de la transulfuration. Elle est assurée par la cystathionine- β -synthase (CBS) qui permet la condensation de l'Hcy avec la sérine pour former la cystathionine. Cette dernière est clivée et désaminée en cystéine et α -cétobutyrate par la Cystéine- γ -Lyase (CGL). Ces deux réactions nécessitent la présence d'un cofacteur enzymatique, le phosphate de pyridoxal (PLP) ou vitamine B6 (**Figure 7**). Cette voie est favorisée en cas d'excès d'Hcy et contrairement aux autres voies métaboliques, elle est irréversible.

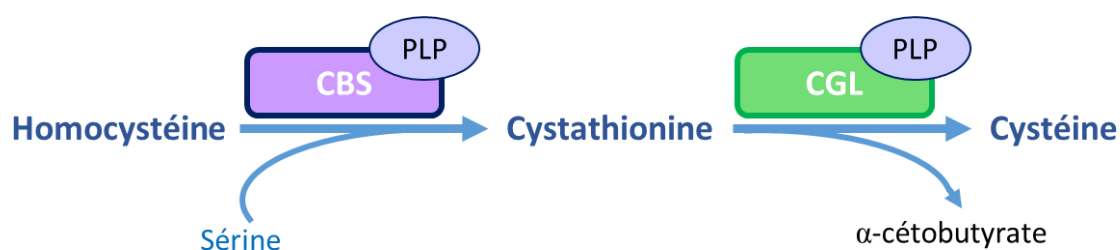


Figure 7. Réaction de transulfuration de l'Hcy par la cystathionine- β -synthase (CBS) et son cofacteur la vitamine B6 (PLP, phosphate de pyridoxal). Cette réaction aboutit à la formation de la cystathionine qui est ensuite clivée par la Cystéine- γ -Lyase (CGL) et son cofacteur le PLP également en cystéine et α -cétobutyrate.

2.2. Facteurs modifiants la concentration de l'Hcy

Les principaux facteurs qui contribuent à une augmentation de l'Hcy plasmatique incluent l'âge, le sexe, des facteurs environnementaux, certains médicaments et différentes conditions pathologiques. En ce qui concerne les HHcy sévères, elles sont principalement dues à des anomalies génétiques.

2.2.1. Conditions physiologiques normales

On observe avec l'âge une élévation graduelle de l'homocystéinémie (Hcyémie) basale. Les personnes âgées ont des concentrations plus élevées d'Hcy. Dans cette population, le statut vitaminique a une influence majeure (15).

Par ailleurs, il est établi que les hommes présentent une Hcyémie basale supérieure de 25% à celle des femmes avant ménopause, due à une plus grande masse musculaire et/ou aux effets

des hormones sexuelles (16, 17). L'augmentation de l'Hcyémie après la ménopause chez la femme peut être réduite par un traitement substitutif (17). (**Tableau 1**)

2.2.2. Les facteurs environnementaux

Plusieurs facteurs environnementaux influencent la tHcy. Les plus importants sont le tabagisme (18), la consommation excessive d'alcool (19, 20), de café (21) et les carences nutritionnelles en vitamines B9, B12 et B6. (**Tableau 1**)

2.2.3. Médicaments

De nombreux traitements sont responsables d'HHcy. Les principaux sont les oestroprogestatifs synthétiques utilisés dans les pilules contraceptives, les antagonistes des folates tel que le méthotrexate (22), les anticonvulsivants comme la phénytoïne (23, 24). Le protoxyde d'azote (N₂O), inhibiteur de la méthionine synthase, conduit lui aussi à une augmentation de l'Hcy plasmatique même après une courte exposition (25, 26). Les transplantations cardiaques ou rénales engendrent des HHcy qui dépendent de l'utilisation d'immunosuppresseurs, comme la ciclosporine, perturbant la clairance rénale de l'Hcy. Enfin, les antidiabétiques oraux tels que les sulfamides ou la metformine sont également responsables d'une augmentation de la concentration plasmatique d'Hcy (27). (**Tableau 1**)

2.2.4. Pathologies

Certaines conditions pathologiques peuvent engendrer une augmentation de l'Hcy plasmatique. Parmi elles, l'hypothyroïdie (28), l'insuffisance rénale (29-31), les affections inflammatoires (notamment intestinales)(32), l'arthrite rhumatoïde, le psoriasis, le diabète de type II, les maladies lymphoprolifératives et certains cancers (sein, ovaire, pancréas) (33). Chez les insuffisants rénaux, on observe une accumulation plasmatique d'Hcy qui corrèle à celle de la créatinine. Cette accumulation serait secondaire à une altération de la clairance rénale de l'Hcy, qui, dans les conditions physiologiques normales, est responsable de 70 % de son élimination (29-31). La concentration plasmatique en Hcy varie entre 20 et 30 µM chez les patients en stade terminal d'insuffisance rénale chronique (IRC). Pour différents types de cancers on observe une élévation plus ou moins importante qui résulterait de l'incapacité des cellules germinales et malignes à utiliser l'Hcy intracellulaire. (**Tableau 1**)

2.2.5. Les facteurs génétiques

La majorité des cas les plus sévères d'HHcy sont dus à des variants pathogènes à l'état homozygote dans des gènes codant pour les enzymes clés du métabolisme de l'Hcy, des folates ou de la vitamine B12 (**Tableau 1**). Il s'agit principalement des enzymes cystathionine-β-synthase (CBS), méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), Méthionine Synthase (MS), méthionine sulfoxyde reductase (MSR) et de protéines en lien avec le métabolisme de la vitamine B12.

2.2.5.1. Variants du gène CBS

L'homocystéinurie congénitale est causée par une altération biallélique du gène *CBS* codant pour l'enzyme du même nom intervenant dans la voie de la transsulfuration (11). On constate des Hcy plasmatiques pouvant atteindre 400µM (34). Le gène *CBS* se situe sur le chromosome 21 et possède 23 exons. Une soixantaine de variants pathogènes différents sont décrits. Les 2 variants les plus fréquents sont les suivants :

- le variant c.919G>A au niveau de l'exon 8, entraînant la substitution d'une glycine par une sérine en position 307 de la séquence protéique (NM_000071.3(CBS):c.919G>A (p.Gly307Ser)),
- le variant c.833T>C au niveau de l'exon 8, entraînant la substitution d'une isoleucine par une thréonine en position 278 de la séquence protéique (NM_000071.3(CBS):c.833T>C (p.Ile278Thr)).

2.2.5.2. Variants du gène MTHFR

MTHFR catalyse la formation de N5-méthyltétrahydrofolate (N5-méthylTHF) à partir de N5,10-méthylènetétrahydrofolate (N5,10-méthylène-THF) (37). Ce dérivé méthylé du tétrahydrofolate (THF) est nécessaire pour la reméthylation de l'Hcy en méthionine. Le gène codant pour la MTHFR se trouve sur le chromosome 1 et comprend 11 exons (35, 36). Les principaux variants pathogènes décrits sont :

- le variant c.665C>T au niveau de l'exon 4 entraînant la substitution d'une alanine par une valine en position 222 de la séquence protéique, (NM_005957.5(MTHFR):c.665C>T (p.Ala222Val)). Ce variant entraîne une diminution de 50% de l'activité de MTHFR (39) et la rend également thermolabile (38). Sa prévalence est élevée, allant de 5 à 15% selon les populations (40, 41). Chez les porteurs homozygotes mutés, la tHcy est d'autant plus élevée que la déficience en folate est importante (42-45).

- le variant c.1298A>C au niveau de l'exon 7 entraînant la substitution d'une glutamine par une alanine en position 429 de la séquence protéique (NM_005957.4(MTHFR):c.1286A>C (p.Glu429Ala)). Il diminue de 30% l'activité enzymatique de MTHFR (46).

2.2.5.3. Variants du gène *TCN2*

Le gène *TCN2* code pour la transcobalamine II (TCII) permettant le transport de la cobalamine des entérocytes vers les cellules utilisatrices. Il est situé sur le chromosome 22 et possède 9 exons. Le variant le plus commun, c.776G>C, se situe au niveau de l'exon 6 et correspond à la substitution d'une base arginine par une proline en position 259 de la séquence protéique (NM_000355.4(TCN2): c.776G>C (p.Arg259Pro)) (58). Ce variant a pour conséquence la diminution de la transcription de la TCII et la diminution de la concentration plasmatique de la TCII. Dans la population caucasienne, la faible influence du statut homozygote pour ce variant sur la concentration plasmatique de l'Hcy est documentée (59). En revanche, une association des formes mutées de *MTHFR* et de *TCN2* favorise l'apparition d'une HHcy sévère chez l'embryon et augmente le risque de fausse couche (60).

2.2.5.4. Autres facteurs génétiques du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 et tests de complémentation

Des fibroblastes de patients sont utilisés pour réaliser des tests fonctionnels enzymatiques ou d'incorporation d'éléments radio-marqués. Ils permettent de mettre en évidence des défauts d'origine génétique du métabolisme intracellulaire de la vitamine B12. Lors des tests, on parle de complémentation lorsque le phénotype sauvage est rétabli. Dix groupes de complémentations ont été identifiés et sont nommés de cblA à cblJ (61, 62). Le mode d'hérédité de chacun de ses troubles est décrit comme autosomique récessif. En fonction de l'étape métabolique atteinte, les défauts d'origine génétique peuvent altérer la synthèse ou l'utilisation de l'Adocobalamine (cofacteur de la méthylmalonyl-CoA mutase) (AdoCbl), de la méthylcobalamine (MeCbl) ou des deux. Ces troubles sont alors associés à une augmentation de l'Hcy et de l'acide méthylmalonique (MMA) (63).

2.2.5.4.1. Anomalie du transport du lysosome au cytoplasme

2.2.5.4.1.1. Groupe de complémentation *CblF* (gène *LMBRD1*)

L'accumulation lysosomale de Cbl libre, non-liée à des protéines, est initialement décrite dans des fibroblastes de 2 patients présentant une accumulation de MMA et une HHcy, suggérant

l'existence d'un système spécifique de transport de la Cbl du lysosome vers le cytoplasme. Le gène *LMBRD1*, n'a été identifié qu'en 2009 (64) et code pour la protéine de transport LMBD1 (**Figure 8**).

2.2.5.4.1.2. Groupe de complémentation *CblJ* (gène *ABCD4*)

Le gène *ABCD4* code pour une protéine du même nom impliquée comme LMBD1 dans le relargage lysosomal de la Cbl vers le cytoplasme (**Figure 8**).

2.2.5.4.2. Étapes cytoplasmiques

2.2.5.4.2.1. Groupe de complémentation *CblC* (gène *MMACHC*)

Lorsque la cobalamine est libérée dans le cytoplasme, elle est prise en charge par la protéine MMACHC (methylmalonic aciduria and homocystinuria type C), codée par le gène *MMACHC*. Il a été suggéré que MMACHC pourrait être une protéine de transport de la Cbl entre les protéines lysosomales LMBD1 ou ABCD4 et les enzymes responsables de la synthèse des deux cofacteurs (**Figure 8**).

2.2.5.4.2.2. Groupe de complémentation *CblD* (gène *MMADHC*)

Ce défaut peut être à l'origine de 3 phénotypes différents, la déficience en MeCbl, celle en AdoCbl ou bien la combinaison des deux. Il existe une corrélation forte entre le type et l'emplacement des variants du gène *MMADHC* (methylmalonic aciduria and homocystinuria type D) et les trois phénotypes associés au défaut cblD. Il est probable que la fonction d'adressage de la Cbl par MMADHC fasse intervenir une interaction avec une autre protéine capable de lier la Cbl : la protéine MMACHC est l'hypothèse la plus probable (**Figure 8**).

2.2.5.4.3. Synthèse de la méthylcobalamine (MeCbl)

2.2.5.4.3.1. Groupe de complémentation *CblE* (gène *MTRR*)

Le défaut cblE résulte de variants dans le gène *MTRR* qui code pour l'enzyme MSR permettant la régénération de la forme fonctionnelle de la cobalamine (cbl) (52). Il est situé sur le chromosome 5 et possède 15 exons. Plus de 25 variants pathogènes sont décrits dans ce gène, majoritairement des variants faux-sens (**Figure 8**).

2.2.5.4.3.2. Groupe de complémentation CblG (gène MTR)

Il a été démontré que le gène responsable du défaut cblG est le gène *MTR* codant pour la MS (67, 68). Il se trouve sur le chromosome 1 et possède 33 exons. Plus de 40 variants pathogènes (faux-sens, non-sens, «*frameshift*» ou décalage du cadre de lecture) du gène *MTR* ont été identifiées. Un grand nombre de ces variants conduisent à la production d'une protéine tronquée de certains domaines critiques pour sa fonction enzymatique (**Figure 8**).

Le gène *MTR* responsable de la synthèse de la MS (47) se trouve sur le chromosome 1 et possède 33 exons. Plus de 40 variant pathogènes sont décrits.

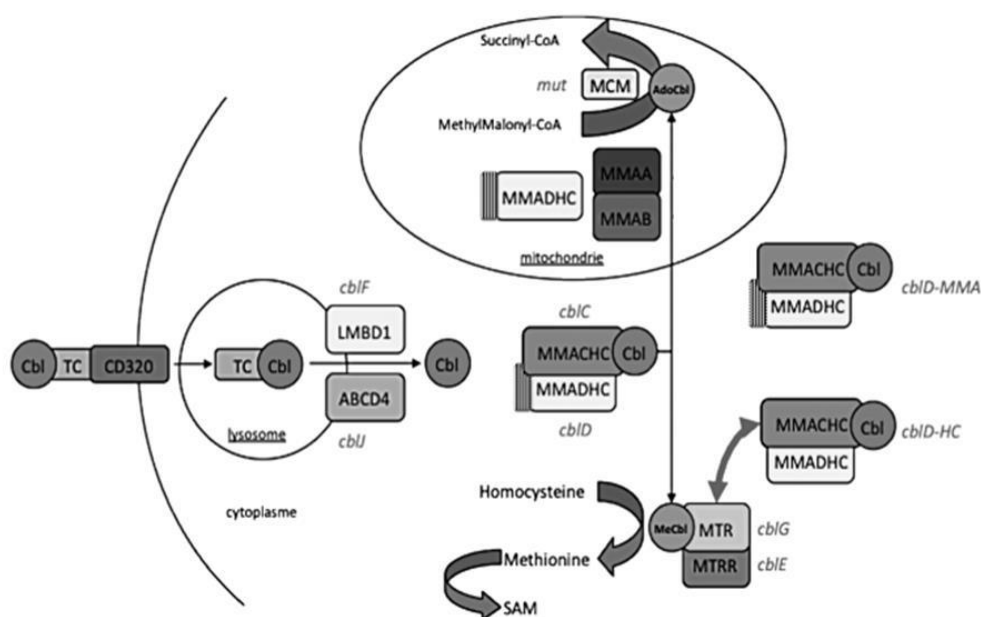


Figure 8. Métabolisme intracellulaire de la vitamine B12. (Source :Guéant et al 2014 (64)) La Cbl liée à la transCbl pénètre dans la cellule par endocytose. Le transport de la Cbl libérée du lysosome dans le cytoplasme est défectueux chez les patients atteints des défauts *cblF* et *cblJ*. Des étapes défectueuses dans le cytosol après la libération lysosomale sont présentes chez les patients atteints des défauts *cblC* et *cblD*. Dans le cytoplasme, l'Hcy est convertie en méthionine grâce à la MS qui utilise comme cofacteur, la MeCbl (patients atteints des défauts *cblE*, *cblG*).

2.2.6. Les déterminants nutritionnels

La vitamine B12, la vitamine B9 et la vitamine B6 sont les principaux déterminants nutritionnels. Les 3 types de carences en vitamines du groupe B entraînant une hyperHcy sont :

- La carence en PLP, coenzyme dérivé de la vitamine B6, qui entraîne l'interruption de la voie de la transulfuration.

- La carence en folates responsable d'un déficit en 5-méthylTHF qui est un donneur de méthyl lors la reméthylation de l'Hcy.
- La carence en vitamine B12, qu'elle soit due à un défaut d'apport, d'absorption ou de transport sanguin, induisant une baisse de la transméthylation du méthylTHF ce qui entraîne un déséquilibre entre reméthylation et transsulfuration, ce qui provoque une trappe métabolique des folates dans la forme méthylTHF, les rendant, inutilisables. (Tableau 1)

2.2.6.1. Vitamine B12

2.2.6.1.1. Introduction

La vitamine B12 ou cobalamine (Cbl) ($C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$) est une molécule composée en 2 parties : un groupe planaire (noyau corrine (69): structure annulaire entourant un atome de cobalt) et un groupe nucléotidique (70) (**Figure 9**).

Elle est synthétisée uniquement par certains microorganismes. L'homme, est incapable de synthétiser *de novo* l'AdoCbl et la MeCbl. L'apport en vitamine B12 se fait donc uniquement par l'alimentation (71).

Différentes formes de vitamine B12 résultent du remplacement du cyanide par un groupement hydroxylé, adénosyl, ou méthyl : on les appelle les cobalamines.

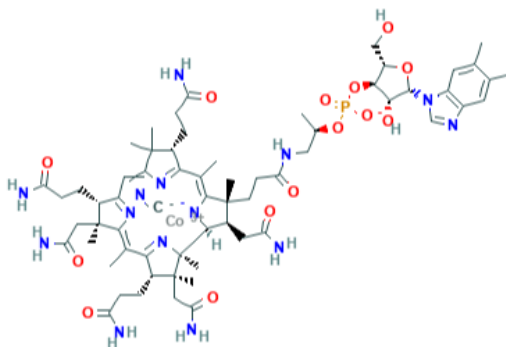


Figure 9. Structure moléculaire 2D de la vitamine B12.

(Source :<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2.2.6.1.2. Métabolisme intracellulaire

Les étapes du métabolisme de la vitamine B12 sont présentées dans la **Figure 10**. Tout d'abord, la Cbl est libérée dans le cytoplasme suite à la dégradation lysosomale de la TCII. Dans le cytoplasme, la cob(III)alamine, (forme la plus oxydée de la cobalamine) doit être

convertie en cob(II)alamine puis en cob(I)alamine par deux réductases. Dans la mitochondrie, la cob(I)alamine est ensuite convertie sous sa forme coenzyme : l'adénosylcobalamine. Cette molécule permet la conversion, par l'enzyme méthylmalonyl-CoA mutase (MUT), du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA, nécessaire au métabolisme du propionate. Dans le cytoplasme, la méthylcobalamine fonctionne comme une coenzyme dans la réaction impliquant la méthionine synthase (MS). La MS transfère un groupement méthyle de la méthylcobalamine à l'homocystéine pour former la méthionine (71). Dans ce processus, la méthylcobalamine est convertie en cob(I)alamine. Le 5-méthyltétrahydrofolate (5-MTHF, 5-méthyl-H4PteGlu) va alors fournir à la cob(I)alamine un méthyle afin de la régénérer en méthylcobalamine et le 5-MTHF est converti en tétrahydrofolate. Les folates et la cobalamine sont donc étroitement liés et nécessaires au métabolisme des monocarbone.

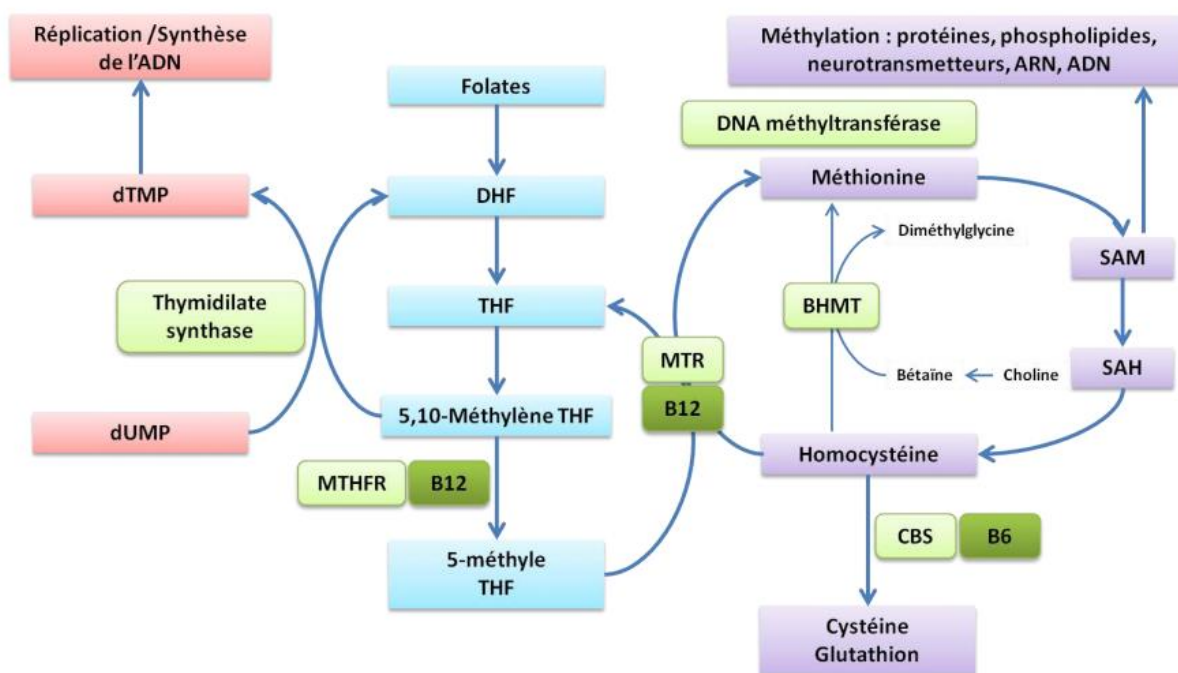


Figure 10. Métabolisme et fonction de la vitamine B12 (72). Dans le cytoplasme, la vitamine B12 est nécessaire pour la synthèse de la méthionine dans laquelle un groupe méthyle est transféré du méthyltétrahydrofolate à l'homocystéine par la méthionine synthase, avec la méthyl-B12 pour coenzyme. Dans les mitochondries, la vitamine B12 participe également à la conversion du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA par l'enzyme méthylmalonyl-CoA mutase avec l'adénosyl-B12 comme cofacteur. Dans la carence en B12, les substrats des deux réactions dépendantes de B12 s'accumulent, ce qui conduit à des niveaux accrus de l'acide méthylmalonique et l'homocystéine dans le plasma. (D'après Green et al. 2017(71))

2.2.6.2. Vitamine B9

2.2.6.2.1. Introduction

L'acide folique ($C_{19}H_{19}N_7O_6$), ou acide ptéroylmonoglutamique (vitamine B9) est composé d'un noyau ptérine, d'un acide para-amino-benzoïque lié à une molécule d'acide glutamique (73) (**Figure 11**). Les folates sont synthétisés par les microorganismes et les plantes. L'apport en vitamine B9 se fait donc par l'alimentation, sous forme de ptéroylpolyglutamates.

Les formes actives dans l'organisme sont l'acide dihydrofolique (DHF), l'acide tétrahydrofolique (THF) et ses dérivés méthylés ou formylés portant des radicaux monocarbonés en position 5 et/ou 10 : N5-formylTHF, N10-formylTHF, N5-méthylTHF, N5-formiminoTHF, N5,10-méthylèneTHF et N5,10-méthénylTétraHydroFolate (N5,10-méthénylTHF) (74) (**Figure 11**). Ces dérivés de l'acide folique ont une fonction de coenzymes qui assurent avec des enzymes spécifiques le transfert de radicaux monocarbonés dans plusieurs réactions métaboliques essentielles.

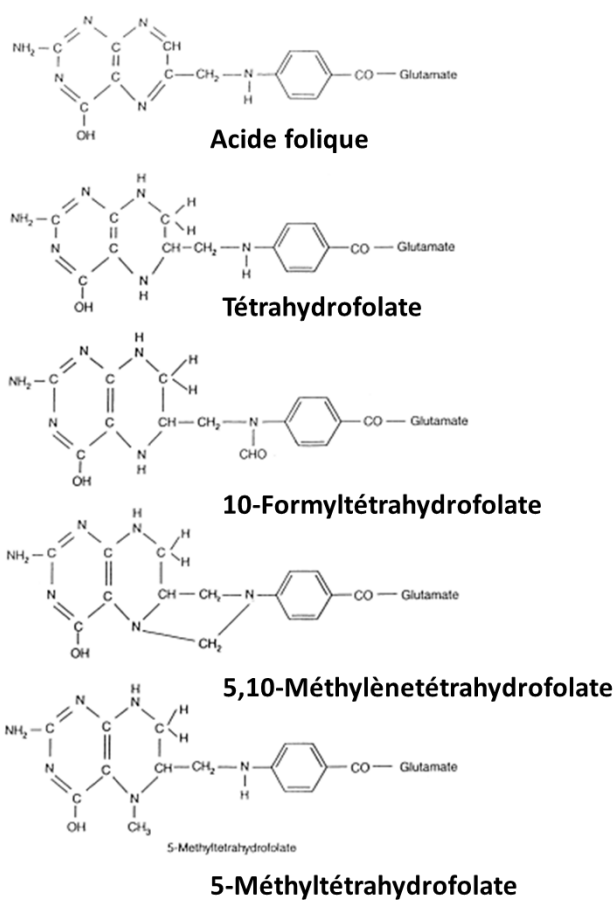


Figure 11. Structure moléculaire de la vitamine B9 et ses dérivés méthylés ou formylés

(D'après J.M Scott (74))

2.2.6.2.2. Métabolisme

Les dérivés de l'acide folique participent à la synthèse de la méthionine, à la conversion sérine-glycine, à la synthèse des acides aminés, des acides nucléiques et au transport d'unités monocarbonés. Les folates alimentaires sont sous la forme de ptéroylpolyglutamates. Après leur absorption, ils sont scindés en monoglutamates dans les entérocytes puis transformés en N5-méthylTHF. Ce dernier traverse la barrière intestinale et atteint les cellules utilisatrices via la circulation sanguine. Une fois dans les cellules, les dérivés de l'acide folique subissent une polyglutamation par la folypolyglutamate synthase, permettant ainsi leur rétention intracellulaire. Cette étape est nécessaire à leur intégration dans le métabolisme des monocarbonés (75). Parmi les dérivés polyglutaminés, le tétrahydroptéroylglutamate (H4PteGlu) est le substrat préférentiel pour la folypolyglutamate synthase et sa forme polyglutamatée H4PteGlu_n joue un rôle majeur dans le métabolisme des monocarbonés.

2.2.6.2.2.1. *La synthèse de la méthionine*

Le N5-méthylTHF est le donneur du groupement méthyle qui sera transféré sur l'homocystéine par transméthylation à l'aide de la vitamine B12, cofacteur de la méthionine synthase. La réaction aboutit à la régénération du THF et à la formation de méthionine. La méthionine pourra alors être transformée en S-adénosylméthionine (SAM), donneur universel de groupements méthyles pour les réactions de méthylation dans l'organisme (ADN, protéines, lipides...), aboutissant à la formation de S-adénosylhomocystéine (SAH).

2.2.6.2.2.2. *La conversion sérine-glycine*

La conversion de la sérine en glycine s'effectue dans la mitochondrie en présence de THF et aboutit à la synthèse du N5,10-méthylèneTHF. L'enzyme clé de cette réaction est la sérine hydroxyméthyltransférase (SHMT) (76).

2.2.6.2.2.3. *La synthèse des acides aminés*

La conversion de l'histidine en acide glutamique passe par un intermédiaire métabolique, l'acide formimino-glutamique (FIGLU). Cette réaction s'effectue dans le cytoplasme et nécessite le THF qui sera transformé en N5,10-méthénylTHF.

2.2.6.2.2.4. *La synthèse des acides nucléiques*

▪ **Synthèse des bases pyrimidiques**

La forme polyglutamagée du tétrahydroptéroylglutamate H4PteGlu_n peut être convertie en formaldéhyde : N5,10-méthylène-H4PteGlu_n. Ce dernier peut être utilisé pour la synthèse de la thymine, une base pyrimidique indispensable à la synthèse de l'ADN, par la méthylation dans le cytoplasme du désoxyuridilate monophosphate (dUMP) en thymidylate (dTMP), grâce à la thymidilate synthase (77).

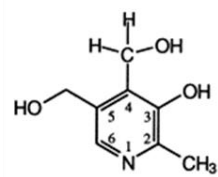
▪ **Synthèse des bases puriques**

Le N10-formylTHF et le N5,10-méthylèneTHF donnent respectivement, les 2^d et 8^e atomes de carbone du noyau purine dans le cytoplasme.

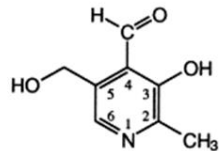
2.2.6.3. Vitamine B6

2.2.6.3.1. Introduction

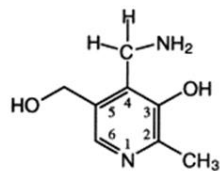
Le terme de vitamine B6 regroupe différents dérivés de la 3-hydroxy-2-méthylpyridine. Ils se distinguent par le groupement situé en position 4. Ce groupement peut être alcool (pyridoxol ou pyridoxine), aldéhyde (pyridoxal) ou amine (pyridoxamine) (**Figure 12**). La formule brute de la pyridoxine est C₈H₁₁O₃N.



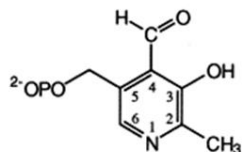
Pyridoxine



Pyridoxal



Pyridoxamine



Phosphate de pyridoxal

Figure 12. Structure moléculaire de la vitamine B6

(Source :<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

2.2.6.3.2. Métabolisme

La vitamine B6 (pyridoxine) est active sous forme de phosphate de pyridoxal (PLP) et elle intervient dans plus d'une centaine de réactions en tant que cofacteur. Les enzymes qui l'utilisent comme cofacteur appartiennent parfois à la classe des transférases, mais ce sont principalement les lyases. Parmi ces enzymes PLP-dépendantes, 3 enzymes gravitent directement autour du métabolisme de l'homocystéine : la cystathionine- β -synthase, la cystathionine- γ -lyase et la sérine hydroxyméthyltransférase (**Figure 13**).

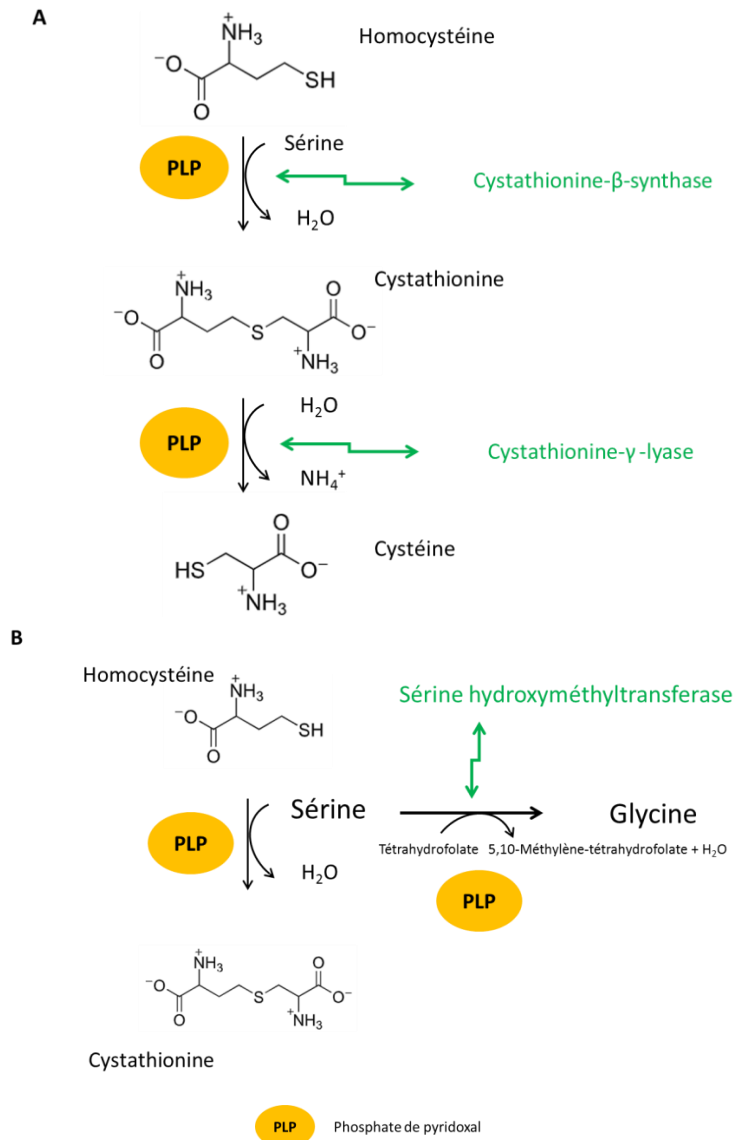


Figure 13. Métabolisme de la vitamine B6 dans le cadre de la transsulfuration de l'Hcy.

A. Dans la voie de la transsulfuration, l'Hcy s'associe à la sérine pour former la cystathionine au cours d'une réaction irréversible catalysée par la cystathionine-β-synthase avec pour cofacteur le PLP. La cystathionine est hydrolysée par une seconde enzyme cystathionine-γ-lyase pour former la cystéine avec également le PLP comme cofacteur.

B. La sérine est le précurseur direct de la glycine : celle-ci est formée via une réaction réversible catalysée par la sérine hydroxyméthyltransférase. Cette enzyme ne fonctionne qu'en présence de deux cofacteurs : le PLP et le THF.

Tableau 1. Facteurs influençant la tHcy (Adapté à partir de Christina Bolander-Gouaille et al., 2002 (78)).

Légende: ↓ : Réduction de la tHcy ; (↑) : augmentation de la tHcy restant dans les valeurs de référence ; ↑ : tHcy modéré (15-30µM) ; ↑↑ :tHcy intermédiaire (30-100µM) ; ↑↑↑ :tHcy sévère (>100microM).

Facteurs influençant la tHcy	Effet
Facteurs génétiques	
Homozygote <i>CBS</i>	↑↑↑
Homozygote <i>MTHFR</i>	↑↑↑
Variants Cobalamine (C, D, E, F, G, J)	↑↑↑
Syndrome de Down	↓
<i>MTHFR</i> Thermolabile	↑
Hétérozygote <i>CBS</i>	↑
Hétérozygote <i>MTHFR</i>	↑
Facteurs physiologiques	
Age	(↑)
Sexe masculin	(↑)
Diminution de la fonction rénale	(↑)
Augmentation de la masse musculaire	(↑)
Habitus	
Supplémentation Vitaminique	↓
Tabagisme	(↑)
Consommation café	(↑)
Consommation alcool	↑↓
Activité physique	↓
Pathologies	
Carence B9	↑↑
Carence B12	↑↑↑
Carence B6	↑
Insuffisance rénale	↑↑
Hypothyroïdie	↑
Traitements	
B9 antagonistes (méthotrexate)	↑
B12 antagonistes (N ₂ O)	↑↑
B6 antagonistes	↑
Antiépileptiques	↑
Contraception	↑
Aminothiols (acetylcystéin)	↓
Autres (L-dopa, cholestyramine, niacine)	↑

2.3. Hyperhomocystéinémie : facteur de risque des maladies cardiovasculaires

Les pathologies cardiovasculaires sont définies comme un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins (3) et comprenant :

- les maladies coronariennes : infarctus du myocarde, angor et mort subite,
- les accidents vasculaires cérébraux, ischémiques ou hémorragiques, constitués ou transitoires,
- et les pathologies vasculaires périphériques : artériopathie oblitérante des membres inférieurs, sténose de l'artère rénale, insuffisance rénale par néphroangiosclérose.

L'étude INTERHEART, une étude cas témoins dans 52 pays, rapporte les facteurs de risque (FR) des maladies cardiovasculaires (3, 4). Nous pouvons distinguer :

- les FR non modifiables : âge, sexe, histoire familiale,
- les FR modifiables : hypertension, dyslipidémies, diabète, surpoids et obésité, sédentarité, tabagisme et alimentation,
- d'autres FR potentiels : HHcy, augmentation de la protéine C réactive (CRP) et de la lipoprotéine (a).

La possibilité d'un rôle de l'Hcy dans l'athérosclérose est pour la première fois évoquée, en 1962, après la découverte de l'homocystinurie congénitale, maladie rare, chez des enfants souffrant d'un retard mental en Irlande du Nord (79). McCully (1969) démontre ensuite l'existence d'une relation entre l'augmentation de la concentration d'Hcy (en cas d'HHcy sévère) et l'athérosclérose (8).

2.3.1. Mécanisme physiopathologique

Les hypothèses formulées pour expliquer l'athérogénicité de l'HHcy sont multiples (6, 7, 80). Les expériences réalisées chez l'animal et *in vitro* mettent en évidence que l'Hcy induit une dysfonction endothéliale qui pourrait être liée en partie à la diminution de la production d'acide nitrique dans les cellules musculaires lisses. Cette inhibition entraînerait une activation de facteurs de transcription spécifiques, stimulant la prolifération des cellules musculaires lisses et conduisant, ainsi, à une action mitogénique. Il existe également une « hypothèse lipidique » selon laquelle l'altération du métabolisme des lipoprotéines,

essentiellement les LDL, sous l'action des groupements thiol de l'Hcy, induirait secondairement une atteinte de la paroi vasculaire en favorisant le développement de cellules spumeuses. L'Hcy entrainerait également une hyperagrégabilité plaquettaire et exercerait enfin des effets procoagulants en augmentant l'activité des facteurs V et XII et en inhibant l'expression de la protéine C (81) (**Figure 14**).

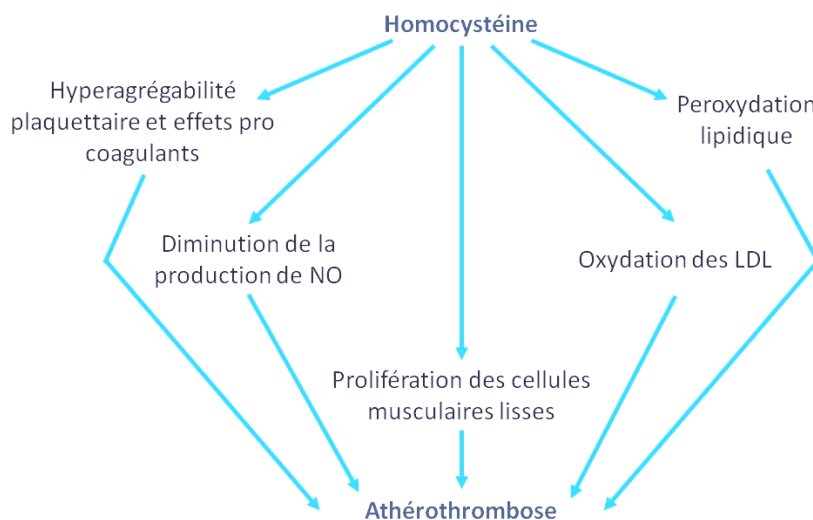


Figure 14. Mécanisme physiopathologique permettant d'expliquer l'athérogénicité de l'homocystéine.

Les anomalies du métabolisme de l'Hcy sont désormais au centre d'une attention croissante en raison de leur rôle potentiel dans la pathogenèse de l'athérosclérose et d'autres maladies comme la thrombose veineuse. Cependant cette relation est inconstante selon les études et le type d'intervention.

La prévalence de l'HHcy est estimée à 5% dans la population générale, entre 20 et 50% chez les sujets ayant présenté une pathologie vasculaire artérielle et entre 10 et 25% chez les sujets ayant présenté une thrombose veineuse (82).

Plusieurs travaux ont cherché à confirmer le rôle pro-athérogène d'une HHcy intermédiaire ou modérée à l'aide d'études épidémiologiques et interventionnelles et démontrer ainsi une relation entre la concentration en Hcy et les coronaropathies, les thromboses veineuses, les artériopathies et les atteintes cérébrovasculaires (83).

2.3.2. Etudes épidémiologiques

De nombreuses études prospectives et rétrospectives ont été publiées sur le lien d'une augmentation de l'Hcy plasmatique chez les malades souffrant d'athérosclérose ou de thrombose artérielle. Les études prospectives montrent qu'une élévation de l'Hcy de 5 $\mu\text{mol/L}$ augmenterait le risque cardiovasculaire de 20 à 30%, alors que les études rétrospectives montrent une augmentation du risque de 60 à 90% (84). En 1995 Boushey *et al.* réalise une méta-analyse portant sur 27 études prospectives et transversales observationnelles sur différentes populations comprenant 4000 patients. Il met en évidence qu'une augmentation de la concentration en Hcy plasmatique de 5 $\mu\text{mol/L}$ est associée à un risque relatif de 1,6 et 1,8 de coronaropathies, respectivement chez les hommes et les femmes, et à un risque relatif de 1,5 de maladies cérébrovasculaires, ce qui pourrait être équivalent à une augmentation du risque de maladies cardiovasculaires suite à une élévation de 0,5mmol/L du cholestérol plasmatique (85).

En 2002, la méta-analyse de Wald *et al.* vise à déterminer la causalité entre l'augmentation de l'Hcy sérique et les maladies cardiovasculaires, en particulier les cardiopathies ischémiques, les thromboses veineuses profondes (TVP) avec ou sans embolie pulmonaire et les accidents vasculaires cérébraux (AVC) (86). Cette méta-analyse inclut deux types d'études : 72 études cas-témoins (avec 16 849 cas) portant sur la prévalence du variant NM_005957.5(MTHFR):c.665C>T (p.Ala222Val) du gène *MTHFR* et 20 études prospectives (3820 sujets) sur l'Hcy sérique et le risque de maladie cardiovasculaire. Les résultats concluent à un lien de causalité car une augmentation de 5 $\mu\text{mol/L}$ de l'Hcy sérique était liée :

- pour les cardiopathies ischémiques, à un risque relatif de 1,42 dans les études liées au variant du gène *MTHFR* et de 1,32 dans les études prospectives,
- pour les TVP, à un risque relatif de 1,60 dans les études liées au variant du gène *MTHFR* (pas d'études prospectives sur le sujet),
- pour les AVC, à un risque relatif de 1,65 dans les études liées au variant du gène *MTHFR* et de 1,59 dans les études prospectives.

En conclusion, une diminution de la concentration en Hcy de 3 $\mu\text{mol/L}$ réduirait le risque de cardiopathies ischémiques de 16%, de TVP de 25% et d'AVC de 24%.

Une autre méta-analyse, réalisée par Clarke *et al.* en 2002, porte sur 30 études (cas témoins et prospectives) englobant 5073 patients avec cardiopathie et 1113 avec AVC. Le taux plasmatique d'Hcy apparaît comme un facteur de risque indépendant dans les maladies cardiovasculaires et les AVC, avec une forte association observée dans les études

rétrospectives (cas témoins) par rapport aux études prospectives. Une diminution de 25% (près de 3 $\mu\text{mol/L}$) de la concentration en Hcy était associée à une diminution de 11% du risque de maladies cardiovasculaires ischémiques et de 19% du risque d'AVC (87).

Enfin, une méta-analyse publiée en 2008 par Humphrey *et al.* conclut que chaque augmentation de 5 $\mu\text{mol/L}$ d'Hcy élève de 20% le risque d'évènement cardiovasculaire, indépendamment des facteurs de risque traditionnels (88).

2.3.3. Études interventionnelles

Si les études observationnelles sont en faveur d'un lien épidémiologique entre l'HHcy et la survenue d'évènements cardiovasculaires, il a fallu par des études interventionnelles tenter de démontrer l'efficacité d'une vitaminothérapie pour diminuer l'HHcy.

Les premières évaluations de l'effet de la correction de l'HHcy ou de l'abaissement des concentrations en Hcy sur la survenue d'évènements cardiovasculaires sont observées au cours d'études sur l'homocystinurie congénitale dans lesquelles une diminution très significative des évènements cardiovasculaires est constatée grâce à la correction de l'HHcy par vitaminothérapie en vitamine B9 et vitamine B6 (89).

Les études interventionnelles ont tout d'abord rapporté des résultats discordants en ce qui concerne la vitaminothérapie en prophylaxie secondaire.

L'étude randomisée contre placebo de Schnyder *et al.* inclue 205 patients venant de subir une angioplastie coronaire avec un groupe vitaminothérapie (B9: 1 mg, B12: 400 μg , B6: 10mg) versus un groupe placebo. Elle montre après un suivi de 6 mois que la vitaminothérapie est associée à un moindre risque de resténose (19,6 vs 37,6% $p=0,01$), à une diminution du risque de revascularisation (10,8 vs 22,3% $p=0,047$), à un diamètre luminal minimal plus large ($1,72 \pm 0,76$ mm vs $1,45 \pm 0,88$ mm $p=0,02$) et à une prévalence plus faible d'évènements cardiovasculaires (12,7 versus 24,5% $p=0,055$) (90).

Ces résultats sont mis en défaut en 2004 par une seconde étude randomisée contre placebo avec 636 patients ayant subi une angioplastie coronaire avec stent avec un groupe vitaminothérapie (B9 :1,2 mg, B12 :60 µg, B6 :48 mg/j, après un bolus initial de B9 [1 mg], B12 [1 mg] et B6 [5 mg]) vs un groupe placebo. Dans le groupe vitaminothérapie, le diamètre luminal minimal est plus petit ($1,59 \pm 0,62$ mm vs $1,74 \pm 0,64$ mm $p=0,008$) mais avec un taux plus élevé de resténose (34,5 vs 26,5% $p=0,05$) et de revascularisation (15,8 vs 10,6 % $p = 0,05$) (91).

Le suivi trop court et le nombre de patients inclus trop faible sont deux limites importantes. De grands essais prospectifs multicentriques contrôlés contre placebo analysant l'effet de la vitaminothérapie (vitamine B9 ± associée aux vitamines B6 et B12) et la diminution des concentrations en Hcy chez des patients ayant déjà présentés des épisodes ischémiques sont entrepris. On comptabilise de nombreux essais randomisés contre placebo incluant chacun plus de 1000 patients avec un suivi supérieur à un an : B-PROOF (92), CSPPT (93), Li (94), SEARCH (95), VITATOPS (96), SU.FOL.OM3 (97), BVAIT (98), WAFACS (99), WENBIT (100), NORVIT (101), FOLARDA (102), GOES (103), CHAOS(104) HOPE-2(105) VISP (106).

Ces études sont incluses dans plusieurs méta-analyses récentes. Mise à jour en 2017, la méta-analyse de Carvajal *et al.* comprend 15 essais randomisés et 71 422 patients avec un suivi de 1 à 7,3 ans. On ne retrouve, par rapport au placebo, aucune différence dans les effets en ce qui concerne la réduction de l'Hcyémie pour l'infarctus du myocarde (réduction de l'homocystéine : 7,1% vs placebo : 6,0 %; RR 1,02 IC95% (0,95-1,10), 12 essais; N = 46.699), pour le décès quelle qu'en soit la cause (réduction de l'Hcy : 11,7% versus placebo : 12,3%, RR 1,01 IC95% (0,96-1,06), 11 essais, N = 44.817) ou pour les événements indésirables graves (réduction de l'Hcy : 8,3% vs placebo : 8,5%, RR 1,07, IC95% (1,00-1,14) 8 essais, N = 35.788) (107). Les méta-analyses de Clarke *et al.*, 2010 (108), Huang *et al.*, 2012 (109), Huo *et al.*, en 2012 (110) et Ji *et al.*, en 2013 obtiennent des résultats similaires (111).

Néanmoins, la méta-analyse de Carvajal rapporte également qu'une vitaminothérapie entraînant une réduction de l'Hcyémie est associée à une réduction de la survenue d'AVC: (diminution de l'homocystéine : 4,3% vs placebo :5,1%, RR 0,90 IC95% (0,82-0,99), 10 essais, N = 44.224) (107). La méta-analyse de Wang *et al.* en 2007 rapporte des résultats identiques (112).

3. OBJECTIF DE LA THÈSE

La grande majorité des études épidémiologiques et des études d'intervention avec supplémentation par vitamine du groupe B évaluent uniquement des HHcy modérées. Les patients présentant une HHcy intermédiaire (30-100 μM) et sévère ($> 100 \mu\text{M}$), n'ont ainsi pas été spécifiquement étudiés (113).

Le but de ce travail d'évaluer l'influence de l' HHcy intermédiaire et sévère liée à des carences vitaminiques et/ou des anomalies génétiques chez des patients atteints par une maladie cardiovasculaire.

Pour cela, nous avons réalisé une étude rétrospective de patients hospitalisés au centre hospitalier universitaire de NANCY ayant bénéficié systématiquement d'un dosage de l'Hcy plasmatique dans le cadre de l'exploration de leur pathologie cardiovasculaire et/ou maladie thromboembolique.

Certains de ces patients ont été traités dans le centre de référence pour les pathologies héréditaires du métabolisme et ont fait l'objet d'investigations diagnostiques nutritionnelles, métaboliques et génétiques plus approfondies.

1 **4. ARTICLE**

2 **Cardiovascular Manifestations of Intermediate and Major Hyperhomocysteinemia Due**
3 **to Vitamin B12 and Folate deficiency and/or Inherited Disorders of One-Carbon**
4 **Metabolism: A 3.5-years Retrospective Cross-sectional Study of Consecutive Patients.**

5
6 Julien Levy, MD^{1,2}; Rosa-Maria Rodriguez-Guéant, MD, PhD¹⁻³; Abderrahim Oussalah, MD,
7 PhD¹⁻³; Elise Jeannesson, PharmD, PhD¹⁻²; Denis Wahl, MD, PhD⁴; Stéphane Ziuly, MD,
8 PhD⁴; Jean-Louis Guéant, MD, PhD, AGAF¹⁻³

9
10 **Names for PubMed indexing:** Levy, Rodriguez-Guéant, Oussalah, Jeannesson, Wahl, Ziuly,
11 Guéant

12
13 **1** Department of Molecular Medicine, Division of Biochemistry, Molecular Biology,
14 Nutrition, and Metabolism, University Hospital of Nancy, F-54000 Nancy, France;

15 **2** Reference Centre for Inborn Errors of Metabolism (ORPHA67872), University Hospital of
16 Nancy, F-54000 Nancy, France;

17 **3** INSERM UMR_S 1256, Nutrition, Genetics, and Environmental Risk Exposure (NGERE),
18 Faculty of Medicine of Nancy, F-54000 Nancy, France;

19 **4** Vascular Medicine Division and Regional Competence Centre for Systemic And
20 Autoimmune Diseases, Nancy Academic Hospital, Nancy, France.

21
22 **Corresponding author:**

23 Pr. Jean-Louis Guéant, University of Lorraine, INSERM UMR_S 1256, Nutrition, Genetics,
24 and Environmental Risk Exposure (NGERE), Faculty of Medicine of Nancy, F-54000 Nancy,
25 France.

26 Telephone: +33 3 83 68 32 92

27 Fax: +33 3 83 15 35 91

28 E-mail address: jean-louis.gueant@univ-lorraine.fr

29

30 **Abbreviations:** **1-CM:** one-carbon metabolism; **AAF:** alternative allele frequency; **a β 2GPI:**
31 anti- β 2-glycoprotein I antibodies; **aCL:** anticardiolipin antibodies; **aPL:** antiphospholipid
32 antibodies (aPL); **aPTT:** activated partial thromboplastin time; **BMI:** body mass index; **CVD:**
33 cardiovascular diseases; **Hcy:** homocysteine; **HHcy:** hyperhomocysteinemia; **LA:** lupus
34 anticoagulant; **PT:** prothrombin time.

35 **ABSTRACT**

36 **Background:** The association of moderate hyperhomocysteinemia (HHcy) (15–30 $\mu\text{mol/L}$)
37 with cardiovascular diseases (CVD) in most observational studies has been challenged by the
38 lack of benefit of vitamin supplementation to lowering homocysteine. Consequently, the
39 results of interventional studies have confused the debate regarding the management of
40 patients with intermediate/severe HHcy.

41
42 **Objective:** To evaluate the influence of intermediate (30–100 $\mu\text{mol/L}$) and severe (> 100
43 $\mu\text{mol/L}$) HHcy related to vitamin deficiencies and/or inherited disorders on CVD outcomes.

44
45 **Design:** We carried out a retrospective cross-sectional study on consecutive patients who
46 underwent a homocysteine assay in a French University Regional Hospital Center. Patients
47 with CVD outcomes were assessed for vitamin B12, folate, Hcy, methylmalonic acid, and
48 next-generation clinical exome sequencing.

49
50 **Results:** We report 165 patients hospitalized for thromboembolic and other cardiovascular
51 manifestations among 1006 patients consecutively recruited. Among them, 84% (138/165)
52 had Hcy $>30 \mu\text{mol/L}$ and 27% Hcy $>50 \mu\text{mol/L}$ (44/165). HHcy was related to a deficiency in
53 vitamin B12 and/or folate in nearly 55% (87/165), mutations in one or more genes of one-
54 carbon and/or vitamin B12 metabolisms in 11% (19/165), and renal failure in 26% (44/165)
55 of the studied patients. HHcy was the single vascular risk retrieved in almost 9% (15/165) of
56 patients. 60% (101/165) of patients received a supplementation to treat HHcy, with a
57 significant decrease in median Hcy from 41 to 17 $\mu\text{mol/L}$. No recurrence of thromboembolic
58 manifestations was observed after treatment of patients with HHcy as single risk, after nearly
59 4-years follow-up.

60 **Conclusion:** The high frequency of intermediate/severe HHcy differs from the moderate
61 HHcy reported in previous observational studies of patients with pre-existing CVD. Our study
62 points out the importance of diagnosing and treating nutritional deficiencies and inherited
63 disorders to reverse intermediate/severe HHcy associated with CV outcomes.

64

65 **Keywords:** Homocysteine; cardiovascular disease risk; intermediate to severe
66 hyperhomocysteinemia; thromboembolic manifestations; next-generation clinical exome
67 sequencing; Reference Centre for Inborn Errors of Metabolism.

68 INTRODUCTION

69 Cardiovascular diseases (CVD) are a leading cause of death worldwide (1). The World Health
70 Organization defines cardiovascular diseases as disorders affecting the heart and blood
71 vessels, including coronary heart disease, cerebrovascular disease, peripheral arterial disease,
72 congenital heart defects, deep vein thrombosis, and pulmonary embolism (1). Atherosclerosis
73 is a prominent pathophysiological component of CVDs (2), which is enhanced by
74 cardiovascular risk factors, including smoking, high cholesterol, high blood pressure,
75 diabetes, abdominal obesity, and psychosocial factors (3). These risk factors explain the major
76 part but not the whole landscape of CVDs. Other risk factors, such as an increase in
77 homocysteine (Hcy) levels, produce other types of vascular injury and need additional
78 evaluations. Hcy is an intermediate metabolite of one-carbon metabolism (1-CM), which
79 promotes endothelial dysfunction, oxidative stress, inflammation, cell proliferation, and
80 thrombosis (4, 5). The increase in Hcy is usually classified into three categories, moderate
81 (15–30 $\mu\text{mol/L}$), intermediate (30–100 $\mu\text{mol/L}$), or severe ($> 100 \mu\text{mol/L}$)
82 hyperhomocysteinemia (HHcy). The metabolism of Hcy relies on nutritional factors that
83 include folate, vitamin B12, and vitamin B6 (6-10). Deficiency in one or more of these
84 vitamins produces HHcy, which can be reduced or even normalized by supplementation (10-
85 14). Intermediate and severe HHcy may also be caused by mutations in genes involved in 1-
86 CM as well as those related to vitamin B12 and folate (15-17). The association between HHcy
87 and atherosclerotic disease was first proposed more than 40 years ago by McCully, who
88 reported vascular lesions in patients with intermediate and severe HHcy related to inherited
89 disorders of 1-CM (18). Later, a vast majority of observational studies concluded that
90 moderate HHcy is associated with CVD risk. These studies have shown that a moderate
91 increase in Hcy is a risk factor for cardiovascular mortality, ischemic heart disease, peripheral
92 arterial disease, and venous thrombosis (19-27). In contrast, most interventional studies with

93 vitamin supplementation found no benefit of lowering Hcy in patients with or at risk of CVD
94 (28-31). Several meta-analyses confirmed these conclusions and challenged those from
95 observational studies (28-31). Nonetheless, the influence of intermediate (30–100 $\mu\text{mol/L}$)
96 and severe ($> 100 \mu\text{mol/L}$) HHcy on CVD outcomes in association with vitamin deficiencies
97 and/or inherited metabolic disorders have not been studied explicitly in most observational
98 and interventional studies (32), since a vast majority of these studies have included patient
99 with baseline Hcy levels below 30 $\mu\text{mol/L}$. The frequency of genetic, metabolic, or nutritional
100 causes and the effects of lowering intermediate/severe HHcy on CVD outcomes have
101 deserved a too limited interest, despite the previous study by McCully (18).

102 To address this gap in knowledge, we carried out a retrospective cross-sectional study that
103 assessed consecutive patients in whom intermediate or severe HHcy was diagnosed during an
104 assessment at the University Regional Hospital Center of Nancy for the occurrence of CVD
105 outcomes. Some of these patients were subject to more in-depth metabolic and genetic
106 evaluation and treated at the Reference Centre for Inborn Errors of Metabolism
107 (ORPHA67872) of the University Hospital of Nancy.

108 **PATIENTS ET METHODS**

109 **Study design and population**

110 We carried out a retrospective cross-sectional study on consecutive patients who had serum
111 Hcy assessment during a consultation or hospitalization at the University Hospital of Nancy
112 between January 2015 and August 2018.

113

114 **Study aims**

115 The primary aim was to evaluate the influence of intermediate (30–100 $\mu\text{mol/L}$) and severe
116 (>100 $\mu\text{mol/L}$) HHcy related to vitamin deficiencies and/or inherited disorders on CVD
117 outcomes. The secondary aim was to evaluate whether B12/folate deficiencies and inherited
118 disorders produce different CV outcomes.

119

120 **Patients' selection criteria**

121 Hcy was assayed in patients who belonged to five groups of diseases, including
122 cardiovascular/thromboembolic, neurological, cognitive, hematological, and digestive.
123 Among these groups, we focused our study on patients affected by cardiovascular and/or
124 thromboembolic manifestations.

125

126 **Data collected for the study**

127 Clinical data were retrieved through electronic chart review using DxCare® software
128 (Dedalus France, Le Plessis Robinson, France). We considered the following clinical
129 parameters, sex, age, risk factors, including diabetes, smoking, arterial hypertension,
130 dyslipidemia, early cardiovascular family history, body mass index [BMI], obesity, chronic
131 renal failure, hemodialysis, kidney transplant, bariatric surgery, and drug intake. Biological
132 data were extracted using the GLIMS laboratory information management system v9 (MIPS

133 France S.a.r.l., Paris, France). Biochemical data were retrieved from the “Nancy Biochemical
134 Database”, which is a prospectively maintained electronic database that increments the
135 biochemical results of consecutive patients hospitalized in 67 healthcare departments at the
136 University Hospital of Nancy (33-36). The “Nancy Biochemical Database” is registered at the
137 French National Commission on Informatics and Liberty, CNIL, under the record
138 N°1763197v0.

139

140 **Vitamin B12, folate, homocysteine, methylmalonic acid, and other biological assays**

141 Vitamin B12 and folate serum concentrations were determined by the SNB SimulTRAC-box
142 for radio-immunoassay with [57Co]-vitamin B12/[125]-folate as tracers (MP Biomedicals
143 SARL, Illkirch-Graffenstaden, France). Red blood cell folate (RBC folate) was determined
144 using the same radio-immunoassay method after total blood extract hemolysis in the presence
145 of ascorbic acid. Plasma homocysteine and methylmalonic acid (MMA) levels were
146 determined by UPLC-MS/MS, by using an ACQUITY UPLC BEH C18 column (1.7 µm,
147 2.1mm × 50mm, Waters Corporation, Guyancourt, France). Patients were classified into five
148 subgroups according to Hcy concentration, group 1: Hcy < 15 µmol/L, group 2: Hcy: 15–30
149 µmol/L, group 3: Hcy: 30–50 µmol/L, group 4: Hcy: 50–100 µmol/L, group 5: Hcy > 100
150 µmol/L.

151 Other biochemical parameters, including fasting plasma concentrations of glucose,
152 cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, ASAT, ALAT, C-reactive protein, and albumin
153 were determined by colo-turbidimetry on an AU 2700 Olympus Chemistry Analyzer
154 (Beckman Coulter, Villepinte, France). LDL-cholesterol values were calculated using the
155 Friedwald formula. Hematological parameters, including hemoglobin and mean corpuscular
156 volume, were determined by fluorescence flow cytometry on a Sysmex® XN-9000 analyzer
157 (Sysmex Corporation, Villepinte, France). Activated partial thromboplastin time (aPTT),

158 prothrombin time (PT), and fibrinogen were determined by viscosity-based detection system
159 on a STAR MAX2 analyser (Stago, Asnières-sur-Seine, France). Anti-thrombin (AT), Protein
160 C and Protein S assays were determined by photo-optical clot detection on an ACLTop 700
161 (Werfen, Le Pré-Saint-Gervais, France). Antiphospholipid antibodies (aPL), which included
162 lupus anticoagulant (LA), IgG and IgM anticardiolipin antibodies (aCL), and IgG and IgM
163 anti- β_2 -glycoprotein I antibodies (a β_2 GPI) were performed according to established guidelines
164 as previously described (37). The genotyping of coagulation factors II (*F2*,
165 NM_000506.4:c.97G>A , rs1799963) and V (*F5*, NM_000130.4:c.1601G>A, rs6025)
166 variants was performed using loop-mediated isothermal amplification (LACAR Kit, Seraing,
167 Belgium) on a LightCycler LC480 instrument (ROCHE, Meylan, France). The genotyping of
168 the *MTHFR* (NM_005957.5:c.665C>T), (NM_005957.4:c.1286A>C), *MTRR*
169 (NM_002454.3:c.66A>G), (NM_002454.3:c.524C>T), *MTR* (NM_000254.2:c.2756A>G),
170 variants was performed using fluorescence resonance energy transfer on a LightCycler LC480
171 instrument.

172

173 **Next-generation clinical exome sequencing**

174 Patients were assessed at the Department of personalized medicine in the setting of the
175 National Reference Center of Rare Inherited Disorders to look for genetic defects that could
176 elucidate their clinical presentation. We performed a molecular diagnosis approach based on
177 next-generation sequencing of 4813 genes using the TruSight One sequencing panel. All the
178 details related to the panel, including the technical note and the gene list, are available at
179 <https://emea.illumina.com/products/by-type/clinical-research-products/trusight-one.html>. We
180 have developed a standardized and systematic approach for analyzing and prioritizing the
181 genetic variants in the setting of our molecular diagnosis approach, as previously described
182 (38, 39). The following strategy was used for filtering and prioritizing the genetic variants:

183 Step #1: Import all retrieved genetic variants; Step #2: Retain only low frequency and rare
184 variants by excluding variants with a reported alternative allele frequency (AAF) > 5% in the
185 following databases: the Exome Aggregation Consortium (ExAC) and the Genome
186 Aggregation Database (gnomAD Exomes). The aim of step #2 is to retain rare (AAF < 1%)
187 and low-frequency (AAF < 5%) variants which exhibit relatively large effects on disease risk
188 such as those involved in severe monogenic diseases; Step #3: Exclude intronic or
189 synonymous variants; Step #4: Prioritization of genetic variants for their association with the
190 studied phenotype using the PhoRank gene ranking based on the Phevor algorithm. The
191 Phorank score was calculated according to the RefSeq Genes 105v2, NCBI gene source, using
192 the following ontologies: Human Phenotype Ontology, Gene Ontology, and OMIM
193 Phenotype Ontology. Functional variant annotation was performed using the following tools:
194 MutationTaster (40), Functional Analysis through Hidden Markov Models (FATHMM) (41),
195 MetaSVM / MetaLR scores (42), Sorting Tolerant From Intolerant (SIFT) (43), Protein
196 Variation Effect Analyzer (Provean) (44), and deleterious annotation of genetic variants using
197 neural networks (DANN) (45). Variant pathogenicity was reported according to the American
198 College of Medical Genetics and Genomics/Association for Molecular Pathology
199 (ACMG/AMP) variant guidelines (46). All bioinformatic analyses were performed using the
200 SNP & Variation Suite (v8.8.3; Golden Helix, Inc., Bozeman, MT, USA).

201

202 **Statistical analyses**

203 All quantitative variables are shown as the median and interquartile range (IQR, 25–75th
204 percentile) and qualitative variables as percentages and 95% confidence interval (95% CI).

205 We used the Mann-Whitney *U* test or the Kruskal-Wallis test to compare the distribution of
206 biological biomarkers according to the different subgroups, as appropriate. We compared
207 homocysteine levels before and after treatment using the Wilcoxon paired test. Statistical

208 analyses were performed using Stata SE, version 12.1 (College Station, Texas, US), based on
209 a two-sided type I error with an alpha level of 0.05.

210

211 **RESULTS**

212 **Clinical and biological characteristics of patients**

213 During the study period, 1400 patients had plasma Hcy assay. Among these, 394 were
214 excluded for missing data on extraction. Of the 1006 remaining patients, a total of 165
215 patients had plasma Hcy determination in relation with a diagnosis of cardiovascular and/or
216 thromboembolic disease (**Figure 1**), including 152 patients admitted in the department of
217 cardiology for arterial thrombosis, venous thrombosis, vasculitis, vascular-placental
218 pathology, arterial and venous thrombosis, and 13 patients admitted in other departments for
219 hematological or digestive disease associated with CVD outcomes. The details of the clinical
220 and biological characteristics of the 165 patients are reported in **Table 1**. The median age was
221 46 years (IQR, 35–59) and the proportion of males was at 57% (94/165). Most of the patients
222 had arterial (79/165, 47.8%) or venous thrombosis (65/165, 39.3%). 80.6% (133/165) of
223 patients had at least one risk factor for CVD other than HHcy, including 39.8% (53/165) with
224 one risk factor, 38.3% (51/165) with two risk factors, 17.2% (23/165) with three risk factors
225 and 4.5% with four or five risk factors (6/165). The most frequently observed risk factors
226 were: smoking (78/165, 47%), hypertension (64/165, 39%), and dyslipidemia (56/165, 34%)
227 (**Table 1**). Few patients had a family history of cardiovascular disease 5% (9/165). Around a
228 quarter of patients (44/165, 26%) had at least one abnormal biological markers of
229 thrombophilia (**Table 1**).

230 The median Hcy concentration was 38.9 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 31.5–51.5). The majority of patients
231 (94/165, 57%) had an intermediate HHcy, and 27% (44/165) had a Hcy $>50 \mu\text{mol/L}$. Only 6%
232 (10/165) of patients have a normal Hcy concentration and 10.3% (17/165) a moderate HHcy.
233 There was no significant difference in Hcy concentration between the different groups of

234 cardiovascular/thromboembolic events (**Figure 2**).

235 Vitamin B12 was assayed in 87 cases (55%) and serum B9 in 50 of these cases. A deficit in
236 vitamin B12 was reported in 36 cases (41.3%), a deficit in folate in 18 cases (36%) and a
237 combined deficit in both vitamins in 6 cases (7%). The median concentrations of Hcy and
238 methylmalonic acid in B12 deficient patients were at 36.3 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 27.7–46.5) and 0.58
239 $\mu\text{mol/L}$ (IQR 0.37–0.79), respectively (**Supplemental Table 1**). The median concentrations
240 of Hcy and methylmalonic acid in B9 deficient patients were at 42 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 38.8–59.2)
241 and 0.33 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 0.17–0.62), respectively (**Supplemental Table 1**). The deficiency was
242 mainly due to malabsorption and/or mutations in genes of B12 absorption and/or iatrogenic
243 effects of proton pump inhibitors. HHcy was also related with renal failure in 44 other cases
244 (26.6%), including 23 cases (52.3%) with KDIGO stage 3, 10 with KDIGO stage 4 (22.7%)
245 and 11 with end-stage renal failure (KDIGO stage 5) (25%) (**Supplemental Table 1**).

246

247 **Patients with HHcy as the single risk factor of CV diseases**

248 A subgroup of 15 cases (9%) had HHcy with no other identified CVD risk. The median age of
249 this subgroup was 33 years (IQR, 27–47), and the proportion of males was 57% (9/165). The
250 median concentrations of Hcy and methylmalonic acid were 50.4 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 31.3–50.4)
251 and 0.225 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 0.11–0.335), respectively. 47% (7/15) had a Hcy level between 30
252 and 50 $\mu\text{mol/L}$ and 53% (8/15) Hcy > 50 $\mu\text{mol/L}$. Only one patient had a deficit in folate. The
253 median concentrations of vitamin B12 and serum folates were 191 pmol/L (IQR, 130–292)
254 and 9.9 nmol/L (IQR, 5.9–18.5), respectively. Among the 15 patients, seven had venous
255 thrombosis, five had arterial thrombosis, and one had both arterial and thrombosis. Most of
256 the patients (10/15, 66.7%) were assessed at the National Center of Inborn Errors of
257 Metabolism, 5 (33.3%) were diagnosed with a genetic abnormality related to 1-CM, and 10
258 (66.7%) received a supplementation therapy.

259 **Patients treated in the National Center of Inborn Errors of Metabolism**

260 Forty-six patients were referred to the National Center of Inborn Errors of Metabolism. 95.6%
261 (44/46) and 4.4% (2/46) of these patients were adults and children, respectively. Among these
262 patients, 45.6% (21/46) had arterial thrombosis, 39% (18/46) venous thrombosis, 8.7% (4/46)
263 had both arterial and venous thrombosis, and 4.3% (2/46) vascular placental pathology. NGS
264 exome analysis was performed in 30 patients (65.2%). We reported mutation of genes of
265 vitamin B12 and 1-CM in 19 patients (63.3%), including in *CUBN*, *AMN* and *GIF* genes
266 related with B12 absorption in seven cases, *CD320*, *ABCC1*, *MMAB* genes related with blood
267 transport and intracellular metabolism in four cases and *MTR*, *MTRR*, *MTHFR* and *CBS* genes
268 encoding enzymes of the 1-CM in eleven cases (**Table 2**). Additionally, the rs1801133
269 polymorphism of *MTHFR*, was assessed in 55 patients (33.3%). Among them, 28 patients
270 (50.9%) were homozygous for the minor allele of *MTHFR*, a frequency that was 5-fold higher
271 than that reported in the French population (47). The median (IQR) level of Hcy was 48
272 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 38.2–58.7), 36.2 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 32.5–42.7), and 34.6 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 24.6–41.7)
273 in patients exhibiting homozygous genotype for the minor allele (*TT*), heterozygous genotype
274 (*CT*), and homozygous genotype for the major allele (*CC*), respectively.

275

276 **Supplementation of patients**

277 On the 165 studied patients, 101 (61.2%) received a supplementation therapy by vitamin B12
278 and/or folate and/or betaine and/or vitamin B6 in relation with either a folate or vitamin B12
279 deficiency or a genetic cause of HHcy. On the 101 treated patients, 44 (43.5%) were treated
280 and followed at the National Center of Inborn Errors of Metabolism. After a median follow-
281 up of 44 months, the median Hcy concentration was lowered from a baseline median Hcy
282 value of 41.5 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 33.6–60.4) to a median post-treatment Hcy value of 17.6 (IQR,
283 12.1–28) $\mu\text{mol/L}$ (difference = 23.9 $\mu\text{mol/L}$; $P < 0.001$) (**Figure 3**). We observed no

284 recurrence of CVD outcomes in patients who had no other risk factor than HHcy after nearly
285 4-years follow-up.

286

287 **DISCUSSION**

288 Our study highlights the high frequency of intermediate or severe HHcy (84%, 138/165) in
289 165 patients that have undergone an assessment of their plasma Hcy level in the setting of
290 thromboembolic and other cardiovascular manifestations, among 1006 patients consecutively
291 recruited during 3.5 years at a University Regional Hospital Center in France. Among them,
292 84% had HHcy above 30 $\mu\text{mol/L}$, which was related to either vitamin B12 and/or folate
293 deficiency, genetic cause or renal failure.

294 The search for a deficiency in vitamin B12 and or folate was carried out in only 55% (91/165)
295 of the reported patients, including all the 44 patients studied in the reference center for
296 metabolic diseases. US and European Societies of Cardiology do not recommend including
297 HHcy as a risk factor of CVD, and as a consequence, there is a lack of consideration and/or
298 knowledge of cardiologists to diagnose and treat patients with intermediate and severe HHcy.
299 The vitamin B12 deficiency was established according to evocative clinical symptoms, low
300 concentration of B12, and increased Hcy and/or MMA. Nearly 55% (87/65) of patients had a
301 deficit in vitamin B12 or folate, with the same cardiovascular outcomes as the other cases.
302 The deficiencies were related to malabsorption and/or mutations in the *CUBN*, *AMN*, or *GIF*
303 genes involved in B12 absorption and/or iatrogenic effects of proton pump inhibitors. Four
304 patients had malabsorption related to ileitis in the context of Crohn's disease. The increased
305 risk of thromboembolic outcomes associated with HHcy has already been reported in Crohn's
306 disease, where it is secondary to vitamin B 12 deficiency caused by ileitis (48).

307 Next-generation sequencing-based molecular diagnosis to search for rare genetic variants
308 related to inherited disorders of vitamin B12 and HHcy had never been performed in a CVD

309 adult population. All patients recruited in the Reference Center who had a familial history of
310 HHcy were screened by clinical exome sequencing. In total, we reported mutations in 1-CM
311 genes in 19 cases (11% of the reported population). The identified genes were related to the
312 absorption and metabolism of vitamin B12 and with key enzymes of the 1-CM. Our data
313 show, therefore, that the presence of 1-CM genetic variants is dramatically enriched in
314 patients with intermediate to severe HHcy, compared to reference populations. The
315 identification of genetic variants made it possible to provide personalized therapeutic
316 approaches and follow-up adapted to the inherited disorders, using vitamin B12 and/or folate
317 and/or vitamin B6 and/or betaine.

318 Chronic kidney disease was observed in 26% (44/165) of patients with HHcy in the absence
319 of any other causal factor. The association of HHcy with CVD outcomes can be secondary to
320 chronic kidney disease (49). Conversely, vascular disease may impair renal function, which in
321 turn could lead to HHcy (50). Renal failure produces HHcy through reduced filtration and
322 decreases the transsulfuration of Hcy, leading to increased Hcy plasma concentrations (51).
323 Of note, renal failure contributed to HHcy in nine cases with B12 and folate deficiency.
324 Besides the well-known influence of renal failure in HHcy, it has been shown that renal
325 failure may increase the risk of vitamin B12 deficit (52) and impairs the cellular uptake of
326 B12 (53).

327 To our knowledge, no previous retrospective cross-sectional study has reported the rate of
328 CVD manifestations in patients consecutively recruited with median Hcy > 30 $\mu\text{mol/L}$ in
329 relation to vitamin B12 or folate deficiency and/or mutations in genes of vitamin B12
330 absorption or metabolism, or 1-CM. Most observational studies have compared Hcy between
331 CVD cases and controls, or have prospectively studied the occurrence of outcomes in
332 extensive population studies with a normal-to-intermediate range of Hcy median
333 concentrations ranging from 9.8 to 14.6 $\mu\text{mol/L}$ (**Supplemental Table 2**). In contrast, the

334 median of Hcy of our case series was as high as 38.9 $\mu\text{mol/L}$, and only 6% (10/165) of the
335 patients had Hcy < 15 $\mu\text{mol/L}$. Another limitation of most of these observational studies is
336 that Hcy has been assayed a long time after the onset of the vascular accident. It is therefore
337 impossible to distinguish the influence of Hcy on the development of atherosclerosis and
338 arterial thrombosis, from the influence of CVD and related treatments on secondary Hcy (54).
339 A strong relationship has been identified between Hcy and carotid stenosis in prospectively
340 recruited patients (55). The percentage of subjects with carotid stenosis greater than or equal
341 to 25% increased linearly, from 25% for Hcy at 8 $\mu\text{mol/L}$ to 50% when Hcy was above 18
342 $\mu\text{mol/L}$. These differences remain highly significant after adjusting for age, sex, HDL-
343 cholesterol, systolic blood pressure, and smoking. We, therefore, assumed that the risk of
344 vascular lesions was much higher in our series than in the previous observational studies in
345 regard to the association between the magnitude of HHcy and the risk of CVD (55). Several
346 observational studies have shown an increased plasma Hcy in patients with arterial
347 thrombosis (54, 56-64) with median Hcy concentrations even lower than the cut-off of 15
348 $\mu\text{mol/L}$. In most of these studies, patients presented CVD outcomes before the age of 55. In
349 our study, we reported AT and VT as prominent outcomes at a median age of 46 years (IQR,
350 35–59).

351 Up to three-quarters of CVD can be attributed to what is considered as classical risk factors,
352 highlighting the search for other second-line risk factors (65). We reported HHcy as the single
353 risk factor of CVD in 9% (15/165) of cases. These patients were younger, had higher Hcy
354 levels, and a higher rate of genetic substratum for HHcy when compared to patients with other
355 risk factors (**Supplemental Table 1**). These results point out HHcy as a biomarker of CVD
356 risk, as previously suggested (66, 67). Indeed, the addition of Hcy level to the Framingham
357 Risk Score significantly improved the risk prediction in post-hoc analyses of the MESA
358 (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) and NHANES III (National Health and Nutrition

359 Examination Survey III) studies (66, 67).

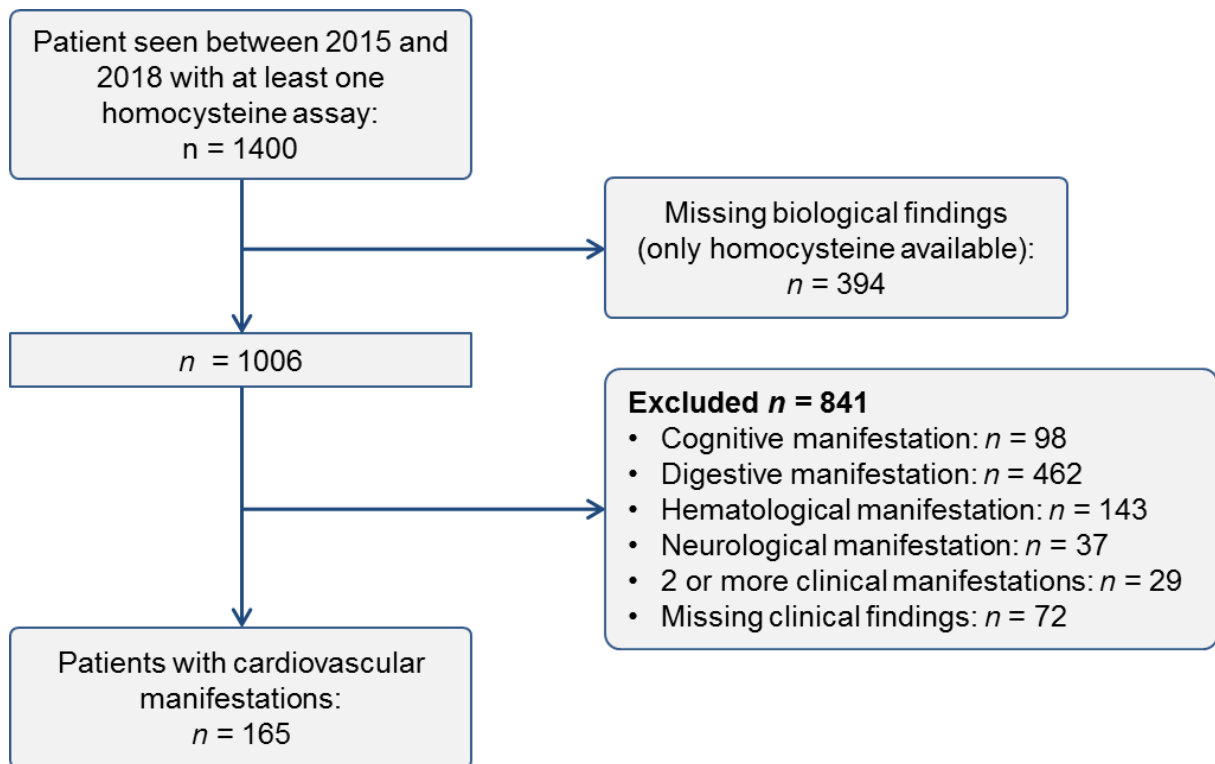
360 Despite the association between plasma Hcy and CVD events reported in most observational
361 studies, the randomized controlled trials and meta-analyses have shown that Hcy-lowering
362 interventions by vitamin B12, folate and/or vitamin B6 did not reduce the occurrence of most
363 CVD, even if debate still exists on a possible benefit on stroke (68, 69). Our study may help
364 to understand better the discrepancy between observational studies and randomized clinical
365 trials. In the trials which did not include patients with renal failure or heart transplantation, the
366 Hcy concentration at baseline ranged from 9.7 to 14.3 $\mu\text{mol/L}$, a range of concentrations close
367 to Hcy of control populations and dramatically lower than those reported in our study.
368 Consequently, these trials lowered Hcy by less than 5 units, while in our study, the specific
369 treatment of deficiencies and inherited disorders produced a decrease of 24.5 units of median
370 homocysteine levels, with no recurrence of CVD outcomes after several months follow-up in
371 patients without other risk factors. Furthermore, the studies reported in the literature did not
372 evaluate the effect of the treatment on CVD outcomes in patients with B12 and/or folate
373 deficiency and/or genetic causes of HHcy at baseline. They did not consider the influence of
374 vitamin B supplementation in the subgroup of patients with Hcy $> 30 \mu\text{mol/L}$, despite the
375 initial evidence provided by the Hcy vascular hypothesis published in 1969 by McCully (18).
376 This first report on Hcy association with CVD observed early athero-thrombosis in children
377 linked to a dramatic increase in plasma Hcy due to mutations in key genes of 1-CM.
378 Subsequent studies reported that treatment of severe HHcy with folic acid and vitamin B6
379 significantly reduced the risk of cardiovascular events and venous thrombosis, in a series of
380 32 patients with congenital homocystinuria (70). Despite these evidences, large-scale
381 epidemiological studies and interventional studies have only focused on the vascular risk
382 generated by moderate HHcy.

383 In conclusion, our study shows a high frequency of vitamin B12 and/or folate deficiency

384 and/or genetic causes related to intermediate/severe HHcy in patients consecutively recruited
385 for CVD occurrence at a University Regional Hospital Center. The high frequency of
386 intermediate/severe HHcy differs from that of moderate HHcy reported in observational
387 studies of patients with pre-existing cardiovascular disease. For many practitioners, the failure
388 of intervention studies to prevent the occurrence or recurrence of CVD outcomes has ruled
389 out the need to assess and treat HHcy. The results of interventional studies have jeopardized
390 the debate for the proper management of patients with intermediate to severe HHcy. Our
391 study points out the importance of diagnosing and treating nutritional deficiencies and
392 inherited disorders of 1-CM in order to reverse intermediate/severe HHcy and their potential
393 impact on CVD outcomes. On the other hand, there is no benefit of vitamin B supplements in
394 patients who already present a cardiovascular disease and for whom there is a modest
395 elevation of homocysteine. This message should be translated into recommendations by
396 medical societies.

397	ACKNOWLEDGEMENT
398	Conflict of Interest (COI) Statement
399	Authors declare no conflict of interest.
400	

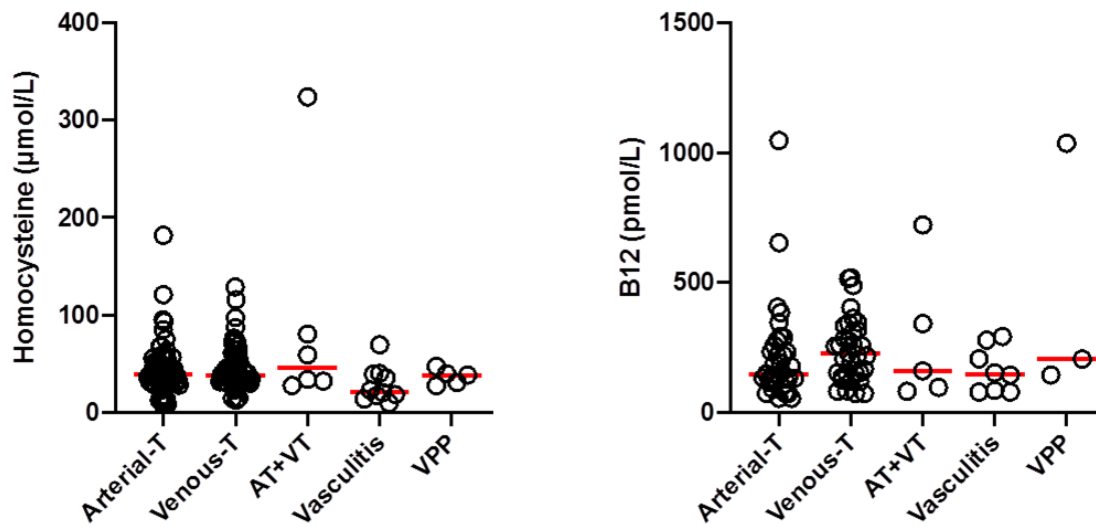
401 *Figure 1. Flow of participant in the study.*



402

403

404 *Figure 2. Levels of homocysteine and B12 according to clinical manifestations.*



405

406 Note. AT: Arterial Thrombosis. VPP: Vascular Placental Pathology. VT: Venous Thrombosis.

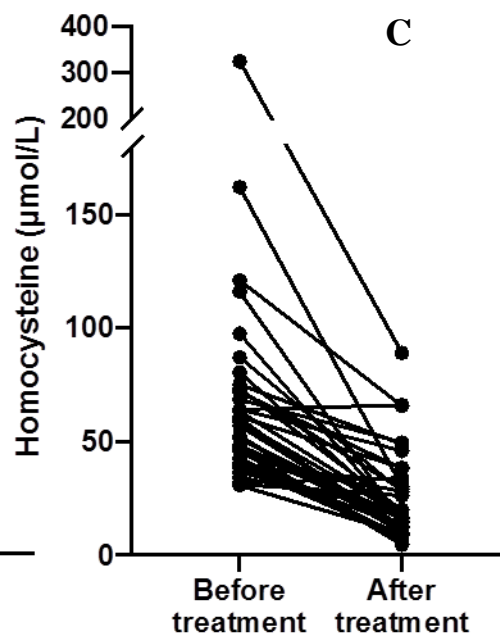
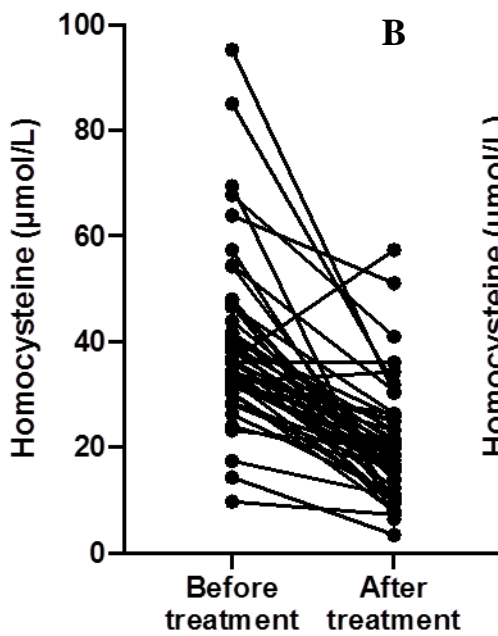
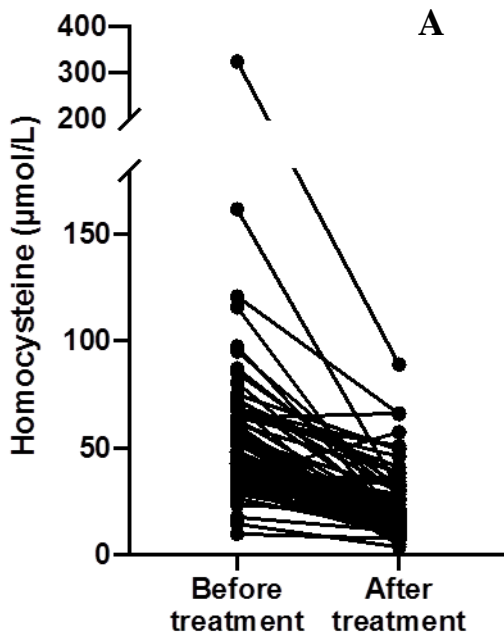
407

408 **Figure Legend:**

409 There was no significant difference in Hcy concentration between the different groups of
410 cardiovascular / thromboembolic events.

411

412 *Figure 3. Pairwise comparison of homocysteine values in patients before and after*
413 *diagnosis-oriented therapy and which included at least one of the following treatments:*
414 *cobalamin, folic acid, pyridoxine, and betaine.*



418 **Figure legend:**

419 **A : All cardiovascular patients:** After a median follow-up of 44 months, the median Hcy
420 concentration was lowered from a baseline median Hcy value of 41.5 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 33.6–
421 60.4) to a median post-treatment Hcy value of 17.6 $\mu\text{mol/L}$ (IQR 12.1–28) (difference = 23.9
422 $\mu\text{mol/L}$; $P < 0.001$).

423 **B : Patients patients outside the referral center:** After a median follow-up of 44 months,
424 the median Hcy concentration was lowered from a baseline median Hcy value of 36.25
425 $\mu\text{mol/L}$ (IQR 31.9–43.9) to a median post-treatment Hcy value of 17.15 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 12.4–
426 24.9) (difference = 19.1 $\mu\text{mol/L}$; $P < 0.001$).

427 **C: Patients treated in the National Center of Inborn Errors of Metabolism:** After a
428 median follow-up of 44 months, the median Hcy concentration was lowered from a baseline
429 median Hcy value of 57 $\mu\text{mol/L}$ (IQR 42.5–72.7) to a median post-treatment Hcy value of
430 17.7 $\mu\text{mol/L}$ (IQR, 12.1–32.7) (difference = 39.3 $\mu\text{mol/L}$; $P < 0.001$)

431 *Table 1. Characteristics of the 165 patients included in the study.*

Demographics and BMI	N	Whole population
Age — N, median (IQR)	165	46 (35–59)
Male sex — n/N, % (95% CI)	94/165	57.0 (49.3–64.6)
Body mass index (kg/m ²) — N, median (IQR)	104	24.5 (20.8–29.8)
Patient's medical history and Risk factors		
Tobacco consumption — (n/N, %)	78/165	47.3 (39.6–55)
Obesity — (n/N, %)	27/165	16.4 (10.7–22.1)
Hypertension — (n/N, %)	64/165	38.8 (31.3–46.3)
Dyslipidemia — (n/N, %)	56/165	33.9 (26.6–41.2)
Diabetes — (n/N, %)	13/165	7.88 (3.72–12)
Cardiovascular disease — (n/N, %)	133/165	80.6 (74.5–86.7)
Kidney transplantation — (n/N, %)	9/165	5.45 (1.95–8.96)
Renal failure — (n/N, %)	22/165	13.3 (8.09–18.6)
Hemodialysis — (n/N, %)	17/165	10.3 (5.62–15)
Family history of early cardiovascular event — (n/N, %)	9/165	5.45 (1.95–8.96)
Laboratory findings — N, median (IQR)		
Homocysteine (µmol/L)	165	38.9 (31.5–51.5)
Methylmalonic acid (µmol/L)	65	0.61 (0.26–0.82)
Vitamin B12 (pmol/L)	87	191 (130–292)
Folates, serum (nmol/L)	50	9.9 (5.9–18.5)
Folates, erythrocyte (nmol/L)	29	769 (537–1149)
Hemoglobin (g/dL)	153	13.6 (12.1–15.1)
MCV (fL)	153	93 (89–97)
Glomerular filtration rate (mL/min)	141	72 (54–94)
Total cholesterol (g/L)	113	5.02 (3.99–6.01)
HDL cholesterol (g/L)	97	1.09 (0.95–1.33)
LDL cholesterol (g/L)	92	3.11 (2.36–4.16)
Triglycerides (g/L)	112	1.75 (1.06–2.65)
ASAT (U/L)	120	23 (18–30)
ALAT (U/L)	120	20 (14–32)
Albumin (g/L)	18	37.2 (33.6–41.9)
Iron (µmol/L)	99	14.0 (9.3–19.0)
C-reactive protein (mg/L)	110	4.7 (1.5–14.4)
Patients' subgroups according to homocysteine level — (n/N, %)		
Homocysteine, stratum 1 (<15 µmol/L)	10/165	6.1(2.4–9.7)
Homocysteine, stratum 2 (15–30 µmol/L)	17/165	10.3 (5.6–15)
Homocysteine, stratum 3 (30–50 µmol/L)	94/165	57 (49.3–64.6)
Homocysteine, stratum 4 (50–100 µmol/L)	39/165	23.6 (17.1–30.2)
Homocysteine, stratum 5 (>100 µmol/L)	5/165	3.03 (0.4–5.7)

Patients' subgroups according to the KDIGO classification — (n/N, %)		
KDIGO Stage 1	43/141	30.5 (22.8–38.2)
KDIGO Stage 2	54/141	38.3 (30.2–46.4)
KDIGO Stage 3	23/141	16.3 (10.1–22.5)
KDIGO Stage 4	10/141	7.09 (2.8–11.4)
KDIGO Stage 5	11/141	7.8 (3.3–12.3)
Thrombophilia investigations		0 (–)
Testing for LA, aCL, and aB2GP1	133/165	80.6 (74.5–86.7)
Positive result for LA, aCL, and/or aB2GP1	28/133	21.1 (14–28.1)
Positive result for LA, (Class IIa)	14/28	50 (30.3–69.7)
Positive result for aCL, (Class IIb)	9/28	32.1 (13.7–50.6)
Positive result for aB2GP1, (Class IIc)	0/28	0 (–)
Positive result	23/28	82.1 (67–97.3)
Double positive result	4/28	14.3 (0.5–28.1)
Triple positive result	1/28	3.57 (0–10.9)

432 Note. aB2GP1: anti- β_2 glycoprotein I antibodies. aCL: anticardiolipin antibodies ALAT:
433 Alanine aminotransferase. ASAT: Aspartate aminotransferase. HDL cholesterol: High
434 Density Lipoprotein cholesterol. LA: lupic anticoagulant. LDL cholesterol: Low Density
435 Lipoprotein cholesterol. MCV: Mean corpuscular volume

436 **Table 2. Results of NGS exome analysis in the study.**

Patient	Age (years)	Sex	Cardiovascular manifestation	Homocysteine (μmol/L)	MMA (μmol/L)	B12 (pmol/L)	B9 (nmol/L)	Gene	Variant (HGVS, c.)	Variant (HGVS, p.)	Alternative Allele Frequency
<i>Vitamin B12 absorption gene</i>											
P1	26	M	VT, AT (Others)	80.5	0.3	121	NA	AMN	c.773T>C	p.Leu258Ser	4.31×10 ⁻³
P2	40	M	VT (DVT), PE	87.1	0.31	648	NA	GIF	c.910C>T	p.Pro304Ser	9×10 ⁻⁴
P3	31	M	AT (MI)	51.9	0.34	116	45	CUBN	c.5840C>A	p.Ser1947Tyr	2.63×10 ⁻⁴
P4	27	M	VT (DVT), PE	51.4	NA	144.9	NA	CUBN CUBN	c.2461T>G c.8635C>A	p.Leu821Val p.Leu2879Ile	6×10 ⁻⁵ 2.64×10 ⁻²
P5	31	F	AT (Others)	60.4	0.21	62.58		CUBN	c.6469A>G	p.Asn2157Asp	5.62×10 ⁻³
P6	39	M	PE	48.2	NA	NA	NA	CUBN AMN	c.7365T>A c.829A>G	p.Asp2455Glu p.Thr277Ala	5.62×10 ⁻³ 4.96×10 ⁻³
P7	31	F	VT (DVT)	71.7	NA	175	NA	CUBN	c.6469A>G	p.Asn2157Asp	5.62×10 ⁻³
<i>Vitamin B12 transport and metabolism gene</i>											
P8	30	M	AT (Others)	40.5	NA	324.1	8.8	MTRR	c.1549A>G	p.Thr517Ala	4.48×10 ⁻³
P9	35	F	VT (DVT), PE	116	0.21	222	NA	ABBC1	c.1299G>T	p.Arg433Ser	1.36×10 ⁻²
P10	58	M	AT (MI)	57	NA	90	NA	CD320	c.11G>A	p.Gly4Asp	2.29×10 ⁻³
P3	31	M	AT (MI)	51.9	0.34	116	45	MTRR	c.147A>G	p.Ile49Met	4.66×10 ⁻¹
<i>Vitamin B12 intracellular metabolism gene</i>											
P11	57	M	AT (MI)	31.9	0.87	406	45	MTR	c.2044-2A>T	p.Gly999Glu	1.27×10 ⁻²
P12	28	M	VT (DVT), PE	73.2	0.12	NA	NA	MTR	c.2044-2A>T	p.Gly999Glu	1.27×10 ⁻²
P13	35	M	AT (MI)	58.6	0.63	306	32	MMAB	c.556C>T	p.Arg186Trp	1.4×10 ⁻⁴
P14	38	F	VT (SVT)	45.9	NA	73.9	NA	MMAB	c.*1742_*1752 delAAAAAAAAAAAA	Intronic	Not reported*

<i>Other one carbon metabolism gene</i>												
<i>P15</i>	35	M	AT (MI)	182	1.3	74	7	<i>MTHFR</i>	c.665C>T	p.Ala222Val	3.15×10 ⁻¹	
<i>P16</i>	63	F	AT (Others)	46.5	NA	83.62	130	<i>MTHFR</i>	c.665C>T	p.Ala222Val	3.15×10 ⁻¹	
<i>P17</i>	44	M	AT (Others)	75.2	0.82	188	12.3	<i>MTHFR</i>	c.665C>T	p.Ala222Val	3.15×10 ⁻¹	
<i>P3</i>	31	M	AT (MI)	51.9	0.34	116	45	<i>MTHFR</i>	c.665C>T	p.Ala222Val	3.15×10 ⁻¹	
<i>P7</i>	31	F	VT (DVT)	71.7	NA	175	NA	<i>MTHFR</i>	c.665C>T	p.Ala222Val	3.15 ×10 ⁻¹	
<i>P18</i>	75	F	VT (DVT), PE	72.7	1.73	119.6	4.8	<i>CBS</i>	c.451G>A	p.Gly151Arg	1.21×10 ⁻⁵	
<i>P19</i>	3	M	VT (Others)	64.3	NA	1311	45	<i>CBS</i>	c.526 G>A	p.Glu176 Lys	Not reported*	

437 Note: AT: Arterial Thrombosis. DVT: Deep Venous Thrombosis. MI: Myocardial Infarction. PE: Pulmonary embolism. SVT: Superficial
438 Venous Thrombosis. VT: Venous Thrombosis.

439 *Supplemental Table 1. Characteristics of the 165 patients included in the study stratified according to B12/folate deficiencies, renal failure*
 440 *and inherited disorders.*

	Whole population		Subgroup: vitamin B12 Deficiency			Subgroup: folates deficiency			Subgroup: CKD KDIGO, stage 3–5			Subgroup: Inherited disorders of OCM		
Demographics and BMI					<i>P</i> -value*			<i>P</i> -value*			<i>P</i> -value*			<i>P</i> -value*
Age — N, median (IQR)	165	46 (35–59)	34	53 (40–67)	0.03†	18	41 (33–50)	0.37†	44	61 (50–66)	<0.0001†	19	35 (30–43)	0.003†
Male sex — n/N, % (95% CI)	94/165	57.0 (49.3–64.6)	14/34	41.2 (23.7–58.6)	0.19‡	6/18	33.3 (9.2–57.5)	0.10‡	25/44	56.8 (41.6–72.1)	0.99‡	14/19	73.7 (51.9–95.5)	0.14‡
Body mass index (kg/m ²) — N, median (IQR)	104	24.5 (20.8–29.8)	23	26.2 (19.8–30.3)	0.77†	12	28.3 (20.0–31.4)	0.43†	33	25.9 (21.1–30.2)	0.55†	10	26.9 (19.4–32.4)	0.53†
Patient's medical history and Risk factors — (n/N, %)														
Tobacco consumption	78/165	47.3 (39.6–55)	18/34	52.9 (35.3–70.6)	0.38‡	6/18	33.3 (9.2–57.5)	0.26‡	16/44	36.4 (21.6–51.2)	0.02‡	7/19	36.8 (13–60.7)	0.46‡
Obesity	27/165	16.4 (10.7–22.1)	9/34	26.5 (10.8–42.1)	0.26‡	5/18	27.8 (4.9–50.7)	0.50‡	9/44	20.5 (8.1–32.9)	0.47‡	5/19	26.3 (4.5–48.1)	0.20‡
Hypertension	64/165	38.8 (31.3–46.3)	18/34	52.9 (35.3–70.6)	0.12‡	8/18	44.4 (19–69.9)	0.77‡	31/44	70.5 (56.4–84.5)	<0.0001‡	4/19	21.1 (0.9–41.2)	—
Dyslipidemia	56/165	33.9 (26.6–41.2)	11/34	32.4 (15.8–48.9)	0.65‡	6/18	33.3 (9.2–57.5)	0.77‡	20/44	45.5 (30.1–60.8)	0.13‡	8/19	42.1 (17.7–66.6)	0.44‡
Diabetes	13/165	7.88 (3.72–12)	6/34	17.6 (4.2–31.1)	0.05‡	1/18	5.6 (0–17.3)	—	6/44	13.6 (3.1–24.2)	0.19‡	0/19	0 (–)	—
Cardiovascular disease	133/165	80.6 (74.5–86.7)	31/34	91.2 (81.1–100)	0.08‡	14/18	77.8 (56.5–99.1)	0.74‡	42/44	95.5 (89–101.9)	0.03‡	13/19	68.4 (45.4–91.4)	0.21‡
Renal failure	22/165	13.3 (8.09–18.6)	1/34	2.9 (0–8.9)	0.007‡	2/18	11.1 (0–27.2)	—	19/44	43.2 (27.9–58.4)	<0.0001‡	2/19	10.5 (0–25.7)	—
Hemodialysis	17/165	10.3 (5.62–15)	1/34	2.9 (0–8.9)	0.02‡	2/18	11.1 (0–27.2)	—	14/44	31.8 (17.5–46.1)	<0.0001‡	1/19	5.3 (0–16.3)	—
Kidney transplantation	9/165	5.45 (1.95–8.96)	0/34	0 (–)	0.04‡	2/18	11.1 (0–27.2)	—	8/44	18.2 (6.3–30)	<0.0001‡	1/19	5.3 (0–16.3)	—
Family history of early CV event	9/165	5.45 (1.95–8.96)	2/34	5.9 (0–14.2)	0.99‡	2/18	11.1 (0–27.2)	—	0/44	0 (–)	—	0/19	0 (–)	—
Laboratory findings — N, median (IQR)														
Homocysteine (μmol/L)	165	38.9 (31.5–51.5)	34	36.3 (27.7–46.5)	0.27†	18	42.0 (38.8–59.2)	0.22†	44	33.4 (30.5–41.5)	0.003†	19	60.4 (49.0–74.7)	<0.0001†
Methylmalonic acid (μmol/L)	65	0.61 (0.26–0.82)	25	0.58 (0.37–0.79)	0.62†	11	0.33 (0.17–0.62)	0.09†	20	0.71 (0.47–0.92)	0.002†	11	0.34 (0.23–0.86)	0.87†
Vitamin B12 (pmol/L)	87	191 (130–292)	33	116 (81–132)	<0.0001†	18	206 (120–255)	0.33†	27	219 (145–321)	0.12†	13	188 (110–319)	0.63†
Folates, serum (nmol/mL)	50	9.9 (5.9–18.5)	15	7.2 (6.0–13.3)	0.59†	18	5.4 (3.9–5.9)	<0.0001†	18	10.2 (8.4–20.7)	0.19†	8	28.7 (7.9–45.0)	0.08†
Folates, red cell (nmol/L)	29	769 (537–1149)	12	562 (421–954)	0.05†	5	430 (388–535)	0.003†	11	1133 (734–2217)	0.02†	5	564 (432–1199)	0.35†
Hemoglobin (g/dL)	153	13.6	31	13.9	0.46†	16	13.2	0.55†	44	12.2	<0.0001†	17	13.7	0.12†

		(12.1–15.1)		(11.7–15.2)			(11.1–14.3)		(10.5–13.3)			(13.0–15.8)		
Mean corpuscular volume (fL)	153	93 (89–97)	31	95 (90–102)	0.11†	16	97 (94–103)	0.009†	44	93 (90–97)	0.93†	17	97 (88–104)	0.35†
Estimated GFR (mL/min)§	141	72 (54–94)	30	75 (59–87)	0.23†	16	79 (67–99)	0.02†	44	32 (15–47)	<0.0001†	15	75 (42–101)	0.73†
Total cholesterol (g/L)	113	5.02 (3.99–6.01)	22	4.96 (4.25–5.59)	0.91†	10	4.91 (4.04–6.47)	0.86†	34	4.74 (3.94–5.96)	0.54†	13	5.49 (3.71–6.15)	0.64†
HDL cholesterol (g/L)	97	1.09 (0.95–1.33)	18	1.08 (0.98–1.40)	0.62†	8	1.18 (0.82–1.38)	0.75†	24	1.06 (0.85–1.40)	0.83†	13	1.06 (0.76–1.22)	0.60†
LDL cholesterol (g/L)	92	3.11 (2.36–4.16)	18	3.11 (2.43–4.30)	0.90†	8	3.86 (2.62–4.61)	0.44†	24	2.74 (1.87–3.88)	0.14†	12	3.41 (2.58–4.20)	0.65†
Triglycerides (Unit)	112	1.75 (1.06–2.65)	22	2.11 (1.21–2.81)	0.21†	10	2.12 (1.14–3.63)	0.58†	33	1.87 (1.40–2.69)	0.33†	13	2.06 (0.86–2.80)	0.72†
ASAT (U/L)	120	23 (18–30)	20	24 (20–35)	0.53†	12	28 (17–43)	0.17†	34	21 (16–26)	0.02†	12	26 (21–31)	0.39†
ALAT (U/L)	120	20 (14–32)	20	19 (15–32)	0.78†	12	27 (15–47)	0.12†	34	15 (11–22)	0.005†	12	22 (19–25)	0.59†
Albumin (g/L)	18	37.2 (33.6–41.9)	4	40.2 (36.9–45.0)	—	2	34.5 (33.6–35.3)	0.50†	7	34.8 (33.2–41.0)	0.56†	0	—	—
Iron (Unit)	99	14.0 (9.3–19.0)	19	13.0 (7.3–20.5)	0.66†	9	16.0 (7.8–21.3)	0.44†	32	12.0 (8.5–15.0)	0.01†	9	15 (11.8–18.0)	0.96†
C-reactive protein (mg/L)	110	4.7 (1.5–14.4)	22	5.0 (2.0–10.6)	0.92†	11	11.400 (4.9–17.8)	0.17†	31	7.8 (3.4–20.2)	0.008†	12	8.7 (2.0–15.8)	0.29†
Patients' subgroups according— homocysteine level — (n/N, %)														
Homocysteine, < 15 µmol/L	10/165	6.1 (2.4–9.7)	3/34	8.8 (0–18.9)	—	0/18	0 (–)	—	4/44	9.1 (0.3–17.9)	—	0/19	0 (–)	—
Homocysteine, 15–30 µmol/L	17/165	10.3 (5.6–15)	8/34	23.5 (8.5–38.6)	0.14‡	1/18	5.6 (0–17.3)	0.26‡	6/44	13.6 (3.1–24.2)	0.57‡	0/19	0 (–)	—
Homocysteine, 30–50 µmol/L	94/165	57 (49.3–64.6)	15/34	44.1 (26.5–61.7)	0.51‡	11/18	61.1 (36.2–86.1)	0.27‡	28/44	63.6 (48.8–78.4)	0.27‡	5/19	26.3 (4.5–48.1)	0.005‡
Homocysteine, 50–100 µmol/L	39/165	23.6 (17.1–30.2)	7/34	20.6 (6.3–34.9)	0.99‡	6/18	33.3 (9.2–57.5)	0.32‡	5/44	11.4 (1.6–21.1)	0.03‡	12/19	63.2 (39.3–87)	<0.0001‡
Homocysteine >100 µmol/L	5/165	3.03 (0.4–5.7)	1/34	2.9 (0–8.9)	0.64‡	0/18	0 (–)	0.31‡	1/44	2.3 (–2.3–6.9)	0.99‡	2/19	10.5 (0–25.7)	—
Patients' subgroups according— the KDIGO classification — (n/N, %)														
KDIGO Stage 1	43/141	30.5 (22.8–38.2)	6/30	20 (4.8–35.2)	0.99‡	6/16	37.5 (10.9–64.1)	0.06‡	0/44	0 (0–0)	—	5/15	33.3 (6.3–60.4)	0.77‡
KDIGO Stage 2	54/141	38.3 (30.2–46.4)	15/30	50 (31–69)	0.35‡	7/16	43.8 (16.4–71.1)	0.77‡	0/44	0 (0–0)	—	6/15	40 (11.9–68.1)	0.99‡
KDIGO Stage 3	23/141	16.3 (10.1–22.5)	7/30	23.3 (7.3–39.4)	0.54‡	2/16	12.5 (0–30.7)	0.48‡	23/44	52.3 (36.9–67.6)	—	2/15	13.3 (0–32.8)	—
KDIGO Stage 4	10/141	7.09 (2.8–11.4)	1/30	3.3 (0–10.2)	0.64‡	0/16	0 (–)	0.55‡	10/44	22.7 (9.8–35.6)	—	1/15	6.7 (0–21)	—
KDIGO Stage 5	11/141	7.8 (3.3–12.3)	1/30	3.3 (0–10.2)	0.13‡	1/16	6.3 (0–19.6)	0.42‡	11/44	25 (11.7–38.3)	—	1/15	6.7 (0–21)	—
Thrombophilia investigations														

Testing for LA, aCL, and aB2GP1	133/165	80.6 (74.5–86.7)	23/34	67.6 (51.1–84.2)	0.12‡	14/18	77.8 (56.5–99.1)	0.99‡	31/44	70.5 (56.4–84.5)	0.03‡	15/19	78.9 (58.8–99.1)	0.76‡
Positive result for LA, aCL, and/or aB2GP1	28/133	21.1 (14–28.1)	8/23	34.8 (13.7–55.8)	0.24‡	2/14	14.3 (0–35.3)	0.70‡	7/31	22.6 (7–38.2)	0.58‡	3/15	20 (0–42.9)	—
Positive result for LA, (Class IIa)	14/28	50 (30.3–69.7)	5/8	62.5 (19.2–100)	—	0/2	0 (–)	—	4/7	57.1 (7.7–106.6)	—	3/3	100 (–)	—
Positive result for aCL, (Class IIb)	9/28	32.1 (13.7–50.6)	2/8	25 (0–63.7)	—	1/2	50 (–)	—	2/7	28.6 (0–73.7)	—	0/3	0 (–)	—
Positive result for aB2GP1, (Class IIc)	0/28	0 (–)	0/8	0 (–)	—	0/2	0 (–)	—	0/7	0 (–)	—	0/3	0 (–)	—
Single positive result	23/28	82.1 (67–97.3)	7/8	87.5 (57.9–100)	—	1/2	50 (–)	—	6/7	85.7 (50.8–120.7)	—	3/3	100 (–)	—
Double positive result	4/28	14.3 (0.5–28.1)	0/8	0 (–)	—	0/2	0 (–)	—	1/7	14.3 (0–49.2)	—	0/3	0 (–)	—
Triple positive result	1/28	3.57 (0–10.9)	1/8	12.5 (0–42.1)	—	1/2	50 (–)	—	0/7	0 (–)	—	0/3	0 (–)	—

* Comparison were performed between the studied subgroup and those not belonging to the sub-group.

† Mann-Whitney *U* test; the *P*-value was not reported in case of low sample size.

‡ Chi-squared test or Fisher's exact test as appropriate; the *P*-value was not reported in case of low sample size.

§ The glomerular filtration rate was estimated according to MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) and Schwartz formulas.

|| **ALAT:** Alanine aminotransferase; **ASAT:** Aspartate aminotransferase; **GFR:** glomerular filtration rate; **HDL:** High Density Lipoprotein; **LDL:** Low Density Lipoprotein.

|| Stages of Kidney Disease: Stage 1 with normal or high GFR (eGFR > 90 mL/min), Stage 2 Mild Chronic Kidney Disease (eGFR = 60-89 mL/min), Stage 3 Moderate Chronic Kidney Disease (eGFR = 59-30 mL/min), Stage IV Severe Chronic Kidney Disease (eGFR = 15-29 mL/min), Stage 5 End Stage Chronic Kidney Disease (eGFR <15 mL/min).

441
442
443
444
445
446
447
448

449 *Supplemental Table 2. Characteristics of randomized controlled trials in cardiovascular disease as single preexisting disease.*

Author, year	Country	Design	Name of RCT	Treatment (y)	N	Preexisting disease	FA fortification	Age, (Y)	Male, (%)	Folate, (nmol/L)	HCY, Baseline	Control	FA plus vitamin B	B6	B6 (mg/day)	B9	B9 (mg/day)	B12	B12 (µg/day)	Ref
Baker, 2002	UK	RCT	CHAOS	1.7	1882	CHD	No	NA	NR	14.5	11.2	Placebo	No	No	NA	Yes	5	No	NA	(64)
Schnyder, 2002	Switzerland	RCT	Swiss heart study	1	553	CHD	No	63	87	NA	11.2	Placebo	Yes	Yes	10	Yes	1	Yes	400	(65)
Lange, 2004	Germany Netherlands	RCT	NA	0.7	636	CHD	No	61	77	NA	12.6	Placebo	Yes	Yes	48	Yes	1.2	Yes	60	(66)
Liem, 2004	Netherlands	RCT	FOLARDA	1	283	CHD	No	59	69	NA	NA	Usual care	No	No		Yes	5	No		(67)
Tool, 2004	USA Canada Scotland	RCT	VISP	2	3680	Stroke	Partial	66	63	26	13.5	Low dose vitamin B	Yes	Yes	25	Yes	2.5	Yes	400	(30)
Liem, 2005	Netherlands	RCT	GOES	3.5	593	CHD	No	65	78	16	12.1	Usual care	No	No	NA	Yes	0.5	No	NA	(69)
Bonaa, 2006	Norway	RCT	NORVIT	3.3	2815	MI	No	63	74	11.5	13.1	Placebo	No	No	NA	Yes	0.8	No	NA	(29)
Lonn, 2006	13 countries	RCT	HOPE-2	5	5522	CHD	Partial	69	72	27.4	12.2	Placebo	Yes	Yes	50	Yes	2.5	Yes	1000	(70)
Cole, 2007	USA Canada	RCT	Polyp prevention study	7	1021	Colon adenomas	Yes	57	64	23.8	9.8	Placebo	No	No	NA	Yes	1	No	NA	(71)
Albert, 2008	USA	RCT	WAFACS	7.3	5442	CVD	Yes	63	0	NA	12.3	Placebo	Yes	Yes	50	Yes	2.5	Yes	1000	(28)
Ebbing, 2008	Norway	RCT	WENBIT	3.2	2324	CVD	No	62	80	10d	10.8	Placebo	Yes	Yes	40	Yes	0.8	Yes	400	(72)
Hodis, 2009	USA	RCT	BVAIT	3.1	506	Atherosclerosis	Yes	61	61	21.4	9.7	Placebo	Yes	Yes	50	Yes	5	Yes	400	(73)
Imasa, 2009	Philippines	RCT	NA	0.5	240	CHD	No	59	58	NA	12.8	Placebo	Yes	Yes	10	Yes	1	Yes	400	(74)
Armitage, 2010	UK	RCT	SEARCH	6.7	12064	CHD	No	64	83	16.8	13.5	Placebo	Yes	No	NA	Yes	2	Yes	1000	(75)
Galan, 2010	France	RCT	SU.FOL.OM3	4.7	2501	CVD	No	61	79	15.2	12.8	Placebo	Yes	Yes	3	Yes	0.56	Yes	20	(76)
VITATOPS 2010	20 Countries	RCT	VITATOPS	3.4	814	Stroke	Partial	63	64	NA	14.3	Placebo	Yes	Yes	25	Yes	2	Yes	500	(77)
Bostom, 2011	USA Canada Brazil	RCT	FAVORIT	4	4110	CKD	Yes	52	63	NA	16.4	Low dose vitamin B	Yes	Yes	50	Yes	5	Yes	1000	(78)
Lamas, 2013	USA Canada	RCT	TACT	4.6	1708	CHD	Yes	65	82	NR	NR	Placebo	Yes	Yes	50	Yes	0.8	Yes	100	(79)
Huo, 2015	China	RCT	CSPPT	4.5	20702	Hypertension	No	60	41	8.1	12.5	Usual care	No	No	NA	Yes	0.8	No	NA	(80)

450 *Note: ASFAST indicates Atherosclerosis and Folic Acid Supplementation Trial; BVAIT, B-Vitamin Atherosclerosis Intervention Trial; CHAOS, Cambridge*
451 *Heart Antioxidant Study; CHD, coronary heart disease; CSPPT, China Stroke Primary Prevention Trial; CVD, cardiovascular disease; FA, folic acid;*
452 *FAVORIT, Folic Acid for Vascular Outcome Reduction in Transplantation; FOLARDA, FOLic Acid on Risk Diminishment after Acute myocardial infarction;*
453 *HOPE-2, The Heart Outcomes Prevention Evaluation; MI, myocardial infarction; NORVIT, Norwegian Vitamin Trial; RCT: randomized controlled trials*
454 *SEARCH, Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine; SU.FOL.OM3, Supplementation en Folates et Omega-3 trial;*
455 *TACT, Trial to Assess Chelation Therapy; VISP, Vitamin Intervention for Stroke Prevention; VITATOPS, The VITamins TO Prevent Stroke trial; WAFACS,*
456 *Women's Antioxidant and Folic Acid Cardiovascular Study; WENBIT, Western Norway B Vitamin Intervention Trial.*
457

458 **REFERENCE**

- 459 1. Organization WH. Global status report on noncommunicable diseases 2014: World
460 Health Organization, 2014.
- 461 2. Council NR. Everybody counts: A report to the nation on the future of mathematics
462 education: National Academies Press, 1989.
- 463 3. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanan F, McQueen M, Budaj A,
464 Pais P, Varigos J, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with
465 myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study.
466 *Lancet* (London, England) 2004;364(9438):937-52. doi: 10.1016/S0140-
467 6736(04)17018-9.
- 468 4. McCully KS. Chemical pathology of homocysteine. IV. Excitotoxicity, oxidative
469 stress, endothelial dysfunction, and inflammation. *Ann Clin Lab Sci* 2009;39(3):219-
470 32.
- 471 5. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England journal of medicine*
472 1999;340(2):115-26.
- 473 6. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake
474 as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *Jama*
475 1993;270(22):2693-8. doi: 10.1001/jama.1993.03510220049033.
- 476 7. Tucker KL, Selhub J, Wilson PW, Rosenberg IH. Dietary intake pattern relates to
477 plasma folate and homocysteine concentrations in the Framingham Heart Study. *The*
478 *Journal of nutrition* 1996;126(12):3025-31. doi: 10.1093/jn/126.12.3025.
- 479 8. Quinn K, Basu TK. Folate and vitamin B12 status of the elderly. *European journal of*
480 *clinical nutrition* 1996;50(6):340-2.
- 481 9. Chasan-Taber L, Selhub J, Rosenberg IH, Malinow MR, Terry P, Tishler PV, Willett
482 W, Hennekens CH, Stampfer MJ. A prospective study of folate and vitamin B6 and
483 risk of myocardial infarction in US physicians. *J Am Coll Nutr* 1996;15(2):136-43.
484 doi: 10.1080/07315724.1996.10718578.
- 485 10. Clarke R. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-
486 analysis of randomised trials. *British Medical Journal* 1998;316(7135):894-9.
- 487 11. Landgren F, Israelsson B, Lindgren A, Hultberg B, Andersson A, Brattstrom L.
488 Plasma homocysteine in acute myocardial infarction: homocysteine-lowering effect of
489 folic acid. *J Intern Med* 1995;237(4):381-8. doi: 10.1111/j.1365-2796.1995.tb01190.x.
- 490 12. Collaboration HLT. Dose-dependent effects of folic acid on blood concentrations of
491 homocysteine: a meta-analysis of the randomized trials. *The American journal of*
492 *clinical nutrition* 2005;82(4):806-12.
- 493 13. Green R, Allen LH, Bjorke-Monsen AL, Brito A, Gueant JL, Miller JW, Molloy AM,
494 Nexo E, Stabler S, Toh BH, et al. Correction: Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis*
495 *Primers* 2017;3:17054. doi: 10.1038/nrdp.2017.54.
- 496 14. Devalia V, Hamilton MS, Molloy AM, British Committee for Standards in H.
497 Guidelines for the diagnosis and treatment of cobalamin and folate disorders. *British*
498 *journal of haematology* 2014;166(4):496-513. doi: 10.1111/bjh.12959.
- 499 15. Mudd SH, Finkelstein JD, Irreverre F, Laster L. Homocystinuria: an enzymatic defect.
500 *Science* 1964;144:3-5.
- 501 16. Sacharow SJ, Picker JD, Levy HL. Homocystinuria Caused by Cystathionine Beta-
502 Synthase Deficiency. Edtion ed. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE,
503 Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, eds. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA), 1993.
- 504 17. Ubbink JB, Vermaak W, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6,
505 and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *The American*
506 *journal of clinical nutrition* 1993;57(1):47-53.

- 507 18. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the
508 pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56(1):111-28.
- 509 19. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *The New England*
510 *journal of medicine* 1998;338(15):1042-50. doi: 10.1056/NEJM199804093381507.
- 511 20. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular
512 disease. *Annu Rev Med* 1998;49:31-62. doi: 10.1146/annurev.med.49.1.31.
- 513 21. Alfthan G, Aro A, Gey KF. Plasma homocysteine and cardiovascular disease
514 mortality. *Lancet (London, England)* 1997;349(9049):397. doi: 10.1016/S0140-
515 6736(97)80014-1.
- 516 22. Nygård O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma
517 homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *New*
518 *England Journal of Medicine* 1997;337(4):230-7.
- 519 23. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D,
520 Tishler PV, Hennekens CH. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of
521 myocardial infarction in US physicians. *Jama* 1992;268(7):877-81.
- 522 24. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of
523 plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of
524 increasing folic acid intakes. *Jama* 1995;274(13):1049-57. doi:
525 10.1001/jama.1995.03530130055028.
- 526 25. Moghadasian MH, McManus BM, Frohlich JJ. Homocyst (e) ine and coronary artery
527 disease: clinical evidence and genetic and metabolic background. *Archives of internal*
528 *medicine* 1997;157(20):2299-308.
- 529 26. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on
530 causality from a meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed)* 2002;325(7374):1202. doi:
531 10.1136/bmj.325.7374.1202.
- 532 27. Arnesen E, REFSUM H, BØNAA KH, UELAND PM, FØRDE OH, NORDREHAUG
533 JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *International journal of*
534 *epidemiology* 1995;24(4):704-9.
- 535 28. Albert CM, Cook NR, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E, Buring JE,
536 Manson JE. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and
537 total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized
538 trial. *Jama* 2008;299(17):2027-36. doi: 10.1001/jama.299.17.2027.
- 539 29. Bonna KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, Wang H,
540 Nordrehaug JE, Arnesen E, Rasmussen K, et al. Homocysteine lowering and
541 cardiovascular events after acute myocardial infarction. *The New England journal of*
542 *medicine* 2006;354(15):1578-88. doi: 10.1056/NEJMoa055227.
- 543 30. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, Sides
544 EG, Wang CH, Stampfer M. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke
545 to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention
546 for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *Jama* 2004;291(5):565-75.
547 doi: 10.1001/jama.291.5.565.
- 548 31. Saposnik G, Ray JG, Sheridan P, McQueen M, Lonn E, Heart Outcomes Prevention
549 Evaluation I. Homocysteine-lowering therapy and stroke risk, severity, and disability:
550 additional findings from the HOPE 2 trial. *Stroke* 2009;40(4):1365-72. doi:
551 10.1161/STROKEAHA.108.529503.
- 552 32. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J, Hankey G, Yusuf S. Homocyst (e) ine and
553 cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Annals of*
554 *internal medicine* 1999;131(5):363-75.
- 555 33. Oussalah A, Gleye S, Clerc Urmes I, Laugel E, Callet J, Barbe F, Orłowski S,
556 Malaplate C, Aimone-Gastin I, Caillierez BM, et al. Long-Term ACE Inhibitor/ARB

- 557 Use Is Associated with Severe Renal Dysfunction and Acute Kidney Injury in Patients
558 with severe COVID-19: Results from a Referral Center Cohort in the North East of
559 France. *Clin Infect Dis* 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa677.
- 560 34. Kormann R, Jacquot A, Alla A, Corbel A, Koszutski M, Voirin P, Garcia Parrilla M,
561 Bevilacqua S, Schvoerer E, Gueant JL, et al. Coronavirus disease 2019: acute Fanconi
562 syndrome precedes acute kidney injury. *Clin Kidney J* 2020;13(3):362-70. doi:
563 10.1093/ckj/sfaa109.
- 564 35. Oussalah A, Rischer S, Bensenane M, Conroy G, Filhine-Tresarrieu P, Debard R,
565 Forest-Tramoy D, Josse T, Reinicke D, Garcia M, et al. Plasma mSEPT9: A Novel
566 Circulating Cell-free DNA-Based Epigenetic Biomarker to Diagnose Hepatocellular
567 Carcinoma. *EBioMedicine* 2018;30:138-47. doi: 10.1016/j.ebiom.2018.03.029.
- 568 36. Oussalah A, Ferrand J, Filhine-Tresarrieu P, Aissa N, Aimone-Gastin I, Namour F,
569 Garcia M, Lozniewski A, Gueant JL. Diagnostic Accuracy of Procalcitonin for
570 Predicting Blood Culture Results in Patients With Suspected Bloodstream Infection:
571 An Observational Study of 35,343 Consecutive Patients (A STROBE-Compliant
572 Article). *Medicine (Baltimore)* 2015;94(44):e1774. doi:
573 10.1097/MD.0000000000001774.
- 574 37. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH,
575 PG DEG, Koike T, Meroni PL, et al. International consensus statement on an update
576 of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb*
577 *Haemost* 2006;4(2):295-306. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.01753.x.
- 578 38. Pengo V, Tripodi A, Reber G, Rand JH, Ortel TL, Galli M, De Groot PG,
579 Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the S,
580 Standardisation Committee of the International Society on T, Haemostasis. Update of
581 the guidelines for lupus anticoagulant detection. Subcommittee on Lupus
582 Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation
583 Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb*
584 *Haemost* 2009;7(10):1737-40. doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03555.x.
- 585 39. Lakos G, Favaloro EJ, Harris EN, Meroni PL, Tincani A, Wong RC, Pierangeli SS.
586 International consensus guidelines on anticardiolipin and anti-beta2-glycoprotein I
587 testing: report from the 13th International Congress on Antiphospholipid Antibodies.
588 *Arthritis Rheum* 2012;64(1):1-10. doi: 10.1002/art.33349.
- 589 40. Cordain L, Hickey MS. Ultraviolet radiation represents an evolutionary selective
590 pressure for the south-to-north gradient of the MTHFR 677TT genotype. *The*
591 *American journal of clinical nutrition* 2006;84(5):1243-.
- 592 41. Peyrin-Biroulet L, Guéant-Rodriguez R-M, Chen M, Bronowicki J-P, Bigard M-A,
593 Guéant J-L. Association of MTRR 66A> G polymorphism with superoxide dismutase
594 and disease activity in patients with Crohn's disease. *American Journal of*
595 *Gastroenterology* 2008;103(2):399-406.
- 596 42. Cianciolo G, De Pascalis A, Di Lullo L, Ronco C, Zannini C, La Manna G. Folic acid
597 and homocysteine in chronic kidney disease and cardiovascular disease progression:
598 which comes first. *Cardiorenal medicine* 2017;7(4):255-66.
- 599 43. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular
600 disease. *Nutrition journal* 2015;14(1):1-10.
- 601 44. Long Y, Nie J. Homocysteine in renal injury. *Kidney Diseases* 2016;2(2):80-7.
- 602 45. Gavriilaki E, Paschou E, Kalaitzoglou A, Papaioannou G, Sabanis N. B 12 deficiency
603 in chronic kidney disease: early recognition matters. *Internal Medicine Journal*
604 2015;45(11):1195-6.
- 605 46. Obeid R, Kuhlmann M, Kirsch C-M, Herrmann W. Cellular uptake of vitamin B12 in
606 patients with chronic renal failure. *Nephron Clinical Practice* 2005;99(2):c42-c8.

- 607 47. Medrano MJ, Barrado MJ, Almazan J. Is homocysteinaemia a risk factor for venous
608 thrombosis and atherosclerotic vascular disease? *Lancet (London, England)*
609 1995;346(8967):127.
- 610 48. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, O'Leary
611 DH, Wolf PA, Schaefer EJ, Rosenberg IH. Association between plasma homocysteine
612 concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *The New England journal of*
613 *medicine* 1995;332(5):286-91. doi: 10.1056/NEJM199502023320502.
- 614 49. Israelsson B, Brattstrom LE, Hultberg BL. Homocysteine and myocardial infarction.
615 *Atherosclerosis* 1988;71(2-3):227-33. doi: 10.1016/0021-9150(88)90147-5.
- 616 50. Wilcken DE, Reddy SG, Gupta VJ. Homocysteinemia, ischemic heart disease, and the
617 carrier state for homocystinuria. *Metabolism* 1983;32(4):363-70. doi: 10.1016/0026-
618 0495(83)90045-8.
- 619 51. Boers GH, Smals AG, Trijbels FJ, Fowler B, Bakkeren JA, Schoonderwaldt HC,
620 Kleijer WJ, Kloppenborg PW. Heterozygosity for homocystinuria in premature
621 peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *The New England journal of*
622 *medicine* 1985;313(12):709-15. doi: 10.1056/NEJM198509193131201.
- 623 52. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I.
624 Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *The New*
625 *England journal of medicine* 1991;324(17):1149-55. doi:
626 10.1056/NEJM199104253241701.
- 627 53. Kang SS, Wong PW, Cook HY, Norusis M, Messer JV. Protein-bound
628 homocyst(e)ine. A possible risk factor for coronary artery disease. *The Journal of*
629 *clinical investigation* 1986;77(5):1482-6. doi: 10.1172/JCI112461.
- 630 54. Coull BM, Malinow MR, Beamer N, Sexton G, Nordt F, de Garmo P. Elevated plasma
631 homocyst(e)ine concentration as a possible independent risk factor for stroke. *Stroke*
632 1990;21(4):572-6. doi: 10.1161/01.str.21.4.572.
- 633 55. Glueck CJ, Shaw P, Lang JE, Tracy T, Sieve-Smith L, Wang Y. Evidence that
634 homocysteine is an independent risk factor for atherosclerosis in hyperlipidemic
635 patients. *Am J Cardiol* 1995;75(2):132-6. doi: 10.1016/s0002-9149(00)80061-2.
- 636 56. Malinow MR, Nieto FJ, Szklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-
637 medial wall thickening and plasma homocyst(e)ine in asymptomatic adults. *The*
638 *Atherosclerosis Risk in Communities Study. Circulation* 1993;87(4):1107-13. doi:
639 10.1161/01.cir.87.4.1107.
- 640 57. Taylor LM, Jr., DeFrang RD, Harris EJ, Jr., Porter JM. The association of elevated
641 plasma homocyst(e)ine with progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J*
642 *Vasc Surg* 1991;13(1):128-36. doi: 10.1067/mva.1991.24913.
- 643 58. Faeh D, Chiolerio A, Paccaud F. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular
644 disease: should we (still) worry about it? *Swiss medical weekly* 2006;136(47-48):745-
645 56.
- 646 59. Bild DE, Detrano R, Peterson D, Guerci A, Liu K, Shahar E, Ouyang P, Jackson S,
647 Saad MF. Ethnic differences in coronary calcification: the Multi-Ethnic Study of
648 Atherosclerosis (MESA). *Circulation* 2005;111(10):1313-20.
- 649 60. Control CfD, Prevention. NHANES III (National Health and Nutrition Examination
650 Survey), 1988-1994 [Internet].[cited 2018 Mar 2].
- 651 61. Li Y, Huang T, Zheng Y, Muka T, Troup J, Hu FB. Folic acid supplementation and
652 the risk of cardiovascular diseases: a meta-analysis of randomized controlled trials.
653 *Journal of the American Heart Association* 2016;5(8):e003768.
- 654 62. Marti-Carvajal AJ, Sola I, Lathyris D, Dayer M. Homocysteine-lowering interventions
655 for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev* 2017;8:CD006612.
656 doi: 10.1002/14651858.CD006612.pub5.

- 657 63. Wilcken DE, Wilcken B. The natural history of vascular disease in homocystinuria
658 and the effects of treatment. *J Inher Metab Dis* 1997;20(2):295-300. doi:
659 10.1023/a:1005373209964.
- 660 64. Baker F, Picton D, Blackwood S, Hunt J, Erskine M, Dyas M, Ashby M, Siva A,
661 Brown M. Blinded comparison of folic acid and placebo in patients with ischemic
662 heart disease: an outcome trial. *Circulation: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS*
663 530 WALNUT ST, PHILADELPHIA, PA 19106-3621 USA, 2002:741-.
- 664 65. Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM. Effect of homocysteine-lowering
665 therapy with folic acid, vitamin B12, and vitamin B6 on clinical outcome after
666 percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled
667 trial. *Jama* 2002;288(8):973-9. doi: 10.1001/jama.288.8.973.
- 668 66. Lange H, Suryapranata H, De Luca G, Borner C, Dille J, Kallmayer K, Pasalary MN,
669 Scherer E, Dambrink JH. Folate therapy and in-stent restenosis after coronary stenting.
670 *The New England journal of medicine* 2004;350(26):2673-81. doi:
671 10.1056/NEJMoa032845.
- 672 67. Liem AH, van Boven AJ, Veeger NJ, Withagen AJ, Robles de Medina RM, Tijssen
673 JG, van Veldhuisen DJ, Folic Acid on Risk Diminishment After Acute Myocardial
674 Infarction Study G. Efficacy of folic acid when added to statin therapy in patients with
675 hypercholesterolemia following acute myocardial infarction: a randomised pilot trial.
676 *International journal of cardiology* 2004;93(2-3):175-9. doi:
677 10.1016/j.ijcard.2003.02.001.
- 678 68. Wrone EM, Hornberger JM, Zehnder JL, McCann LM, Coplon NS, Fortmann SP.
679 Randomized trial of folic acid for prevention of cardiovascular events in end-stage
680 renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(2):420-6. doi:
681 10.1097/01.asn.0000110181.64655.6c.
- 682 69. Liem A, Reynierse-Buitenwerf GH, Zwinderman AH, Jukema JW, van Veldhuisen
683 DJ. Secondary prevention with folic acid: effects on clinical outcomes. *J Am Coll*
684 *Cardiol* 2003;41(12):2105-13. doi: 10.1016/s0735-1097(03)00485-6.
- 685 70. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, McQueen MJ,
686 Probstfield J, Fodor G, Held C, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B
687 vitamins in vascular disease. *The New England journal of medicine*
688 2006;354(15):1567-77. doi: 10.1056/NEJMoa060900.
- 689 71. Cole BF, Baron JA, Sandler RS, Haile RW, Ahnen DJ, Bresalier RS, McKeown-
690 Eyssen G, Summers RW, Rothstein RI, Burke CA, et al. Folic acid for the prevention
691 of colorectal adenomas: a randomized clinical trial. *Jama* 2007;297(21):2351-9. doi:
692 10.1001/jama.297.21.2351.
- 693 72. Ebbing M, Bleie O, Ueland PM, Nordrehaug JE, Nilsen DW, Vollset SE, Refsum H,
694 Pedersen EK, Nygard O. Mortality and cardiovascular events in patients treated with
695 homocysteine-lowering B vitamins after coronary angiography: a randomized
696 controlled trial. *Jama* 2008;300(7):795-804. doi: 10.1001/jama.300.7.795.
- 697 73. Hodis HN, Mack WJ, Dustin L, Mahrer PR, Azen SP, Detrano R, Selhub J, Alaupovic
698 P, Liu CR, Liu CH, et al. High-dose B vitamin supplementation and progression of
699 subclinical atherosclerosis: a randomized controlled trial. *Stroke* 2009;40(3):730-6.
700 doi: 10.1161/STROKEAHA.108.526798.
- 701 74. Imasa MS, Gomez NT, Nevado JB, Jr. Folic acid-based intervention in non-ST
702 elevation acute coronary syndromes. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 2009;17(1):13-21.
703 doi: 10.1177/0218492309102494.
- 704 75. Study of the Effectiveness of Additional Reductions in C, Homocysteine
705 Collaborative G, Armitage JM, Bowman L, Clarke RJ, Wallendszus K, Bulbulia R,
706 Rahimi K, Haynes R, Parish S, et al. Effects of homocysteine-lowering with folic acid

- 707 plus vitamin B12 vs placebo on mortality and major morbidity in myocardial
708 infarction survivors: a randomized trial. *Jama* 2010;303(24):2486-94. doi:
709 10.1001/jama.2010.840.
- 710 76. Galan P, Kesse-Guyot E, Czernichow S, Briancon S, Blacher J, Hercberg S, Group
711 SFOC. Effects of B vitamins and omega 3 fatty acids on cardiovascular diseases: a
712 randomised placebo controlled trial. *BMJ (Clinical research ed)* 2010;341:c6273. doi:
713 10.1136/bmj.c6273.
- 714 77. Group VTS. B vitamins in patients with recent transient ischaemic attack or stroke in
715 the VITAMins TO Prevent Stroke (VITATOPS) trial: a randomised, double-blind,
716 parallel, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol* 2010;9(9):855-65. doi:
717 10.1016/S1474-4422(10)70187-3.
- 718 78. Bostom AG, Carpenter MA, Kusek JW, Levey AS, Hunsicker L, Pfeffer MA, Selhub
719 J, Jacques PF, Cole E, Gravens-Mueller L, et al. Homocysteine-lowering and
720 cardiovascular disease outcomes in kidney transplant recipients: primary results from
721 the Folic Acid for Vascular Outcome Reduction in Transplantation trial. *Circulation*
722 2011;123(16):1763-70. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.000588.
- 723 79. Lamas GA, Boineau R, Goertz C, Mark DB, Rosenberg Y, Stylianou M, Rozema T,
724 Nahin RL, Lindblad L, Lewis EF, et al. Oral high-dose multivitamins and minerals
725 after myocardial infarction: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2013;159(12):797-
726 805. doi: 10.7326/0003-4819-159-12-201312170-00004.
- 727 80. Huo Y, Li J, Qin X, Huang Y, Wang X, Gottesman RF, Tang G, Wang B, Chen D, He
728 M, et al. Efficacy of folic acid therapy in primary prevention of stroke among adults
729 with hypertension in China: the CSPPT randomized clinical trial. *Jama*
730 2015;313(13):1325-35. doi: 10.1001/jama.2015.2274.
- 731

5. CONCLUSION

Pour conclure, notre travail met en évidence une proportion importante de patients avec carence en vitamine B12 et/ou vitamine B9 et/ou avec causes génétiques liées à une HHcy intermédiaire ou sévère chez des patients successivement recrutés pour la survenue d'une maladie cardiovasculaire. La fréquence élevée des HHcy intermédiaire et sévère diffère de celle rapportée dans les études observationnelles et interventionnelles existantes. Pour de nombreux praticiens, l'échec des études interventionnelles visant à prévenir la survenue ou la récurrence des pathologies cardiovasculaires, exclu la nécessité d'évaluer et de traiter les HHcy.

Notre étude souligne donc l'importance du diagnostic, du traitement, des carences nutritionnelles et des troubles héréditaires du métabolisme des monocarbone, afin de normaliser les HHcy qui leurs sont associées. En revanche, les suppléments vitaminiques du groupe B ne montrent aucun bénéfice chez les patients qui présentent déjà une maladie cardiovasculaire et pour lesquels il n'existe qu'une légère augmentation de l'Hcy plasmatique.

6. BIBLIOGRAPHIE

1. Organization WH. Global status report on noncommunicable diseases 2014: World Health Organization; 2014.
2. Council NR. Improving risk communication. 1989.
3. Organization WH. The world health report 2002: reducing risks, promoting healthy life: World Health Organization; 2002.
4. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* (London, England). 2004;364(9438):937-52.
5. Butz LW, du Vigneaud V. The formation of a homologue of cystine by the decomposition of methionine with sulfuric acid. *Journal of Biological Chemistry*. 1932;99(1):135-42.
6. McCully KS. Chemical pathology of homocysteine. IV. Excitotoxicity, oxidative stress, endothelial dysfunction, and inflammation. *Ann Clin Lab Sci*. 2009;39(3):219-32.
7. Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *New England journal of medicine*. 1999;340(2):115-26.
8. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*. 1969;56(1):111-28.
9. Palmer JL, Abeles RH. The mechanism of action of S-adenosylhomocysteinase. *The Journal of biological chemistry*. 1979;254(4):1217-26.
10. Mudd SH, Finkelstein JD, Refsum H, Ueland PM, Malinow MR, Lentz SR, et al. Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(7):1704-6.
11. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annual review of nutrition*. 1999;19(1):217-46.
12. Chen HP, Marsh EN. How enzymes control the reactivity of adenosylcobalamin: effect on coenzyme binding and catalysis of mutations in the conserved histidine-aspartate pair of glutamate mutase. *Biochemistry*. 1997;36(25):7884-9.

13. Li YN, Gulati S, Baker PJ, Brody LC, Banerjee R, Kruger WD. Cloning, mapping and RNA analysis of the human methionine synthase gene. *Hum Mol Genet.* 1996;5(12):1851-8.
14. Sunden SL, Renduchintala MS, Park EI, Miklasz SD, Garrow TA. Betaine-homocysteine methyltransferase expression in porcine and human tissues and chromosomal localization of the human gene. *Archives of biochemistry and biophysics.* 1997;345(1):171-4.
15. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *Jama.* 1993;270(22):2693-8.
16. Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R, Robinson K, Savon SR, Secic M, et al. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma: sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. *Clinical chemistry.* 1994;40(6):873-81.
17. Andersson A, Brattstrom L, Israelsson B, Isaksson 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(2):79-87.
18. Omoike OE, Paul TK, Ridner SL, Awasthi M, Harirforoosh S, Mamudu HM. Association between smoking status and homocysteine levels and possible effect modification by cholesterol and oestradiol. *Biomarkers.* 2020;25(2):126-30.
19. Rossi F, Spigno G, Luzzani G, Bozzoni ME, Donadini G, Rolla J, et al. Effects of the intake of craft or industrial beer on serum homocysteine. *Int J Food Sci Nutr.* 2020:1-6.
20. DE COURCY GP. Vin, bière et homocystéinémie: Vins, bière, alcool et santé. *Sciences des aliments.* 2004;24(6):469-84.
21. Nygård O, Refsum H, Ueland PM, Stensvold I, Nordrehaug JE, Kvåle G, et al. Coffee consumption and plasma total homocysteine: The Hordaland Homocysteine Study. *The American journal of clinical nutrition.* 1997;65(1):136-43.
22. Haagsma CJ, Blom HJ, van Riel PL, van't Hof MA, Giesendorf BA, van Oppenraaij-Emmerzaal D, et al. Influence of sulphasalazine, methotrexate, and the combination of both on plasma homocysteine concentrations in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1999;58(2):79-84.

23. Froscher W, Maier V, Laage M, Wolfersdorf M, Straub R, Rothmeier J, et al. Folate deficiency, anticonvulsant drugs, and psychiatric morbidity. *Clin Neuropharmacol.* 1995;18(2):165-82.
24. Lewis DP, Van Dyke DC, Willhite LA, Stumbo PJ, Berg MJ. Phenytoin-folic acid interaction. *Ann Pharmacother.* 1995;29(7-8):726-35.
25. Ermens AA, Refsum H, Ruprecht J, Spijkers LJ, Guttormsen AB, Lindemans J, et al. Monitoring cobalamin inactivation during nitrous oxide anesthesia by determination of homocysteine and folate in plasma and urine. *Clinical pharmacology and therapeutics.* 1991;49(4):385-93.
26. Badner NH, Drader K, Freeman D, Spence JD. The use of intraoperative nitrous oxide leads to postoperative increases in plasma homocysteine. *Anesthesia and analgesia.* 1998;87(3):711-3.
27. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care.* 2000;23(9):1227-31.
28. Green R. Serum homocysteine is high in hypothyroidism: a possible link with coronary artery disease. *Irish J Med Sciences.* 1995;164(15):27-8.
29. Hultberg B, Andersson A, Sterner G. Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol.* 1993;40(4):230-5.
30. Hultberg B, Andersson A, Arnadottir M. Reduced, free and total fractions of homocysteine and other thiol compounds in plasma from patients with renal failure. *Nephron.* 1995;70(1):62-7.
31. Arnadottir M, Hultberg B, Vladov V, Nilsson-Ehle P, Thysell H. Hyperhomocysteinemia in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation.* 1996;61(3):509-12.
32. Peyrin-Biroulet L, Rodriguez-Gueant RM, Chamaillard M, Desreumaux P, Xia B, Bronowicki JP, et al. Vascular and cellular stress in inflammatory bowel disease: revisiting the role of homocysteine. *Am J Gastroenterol.* 2007;102(5):1108-15.

33. De Bree A, Verschuren WM, Kromhout D, Kluijtmans LA, Blom HJ. Homocysteine determinants and the evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev.* 2002;54(4):599-618.
34. Desnick R, Ioannou Y, Eng C, Scriver C, Beaudet A, Sly W. *The metabolic and molecular bases of inherited disease.* by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, McGraw-Hill, New York. 2001:3733-74.
35. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AM, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nature genetics.* 1994;7(2):195-200.
36. Goyette P, Pai A, Milos R, Frosst P, Tran P, Chen Z, et al. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Mammalian Genome.* 1998;9(8):652-6.
37. Gaughan DJ, Barbaux S, Kluijtmans LA, Whitehead AS. The human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genes: genomic organization, mRNA structure and linkage to the CLCN6 gene. *Gene.* 2000;257(2):279-89.
38. Kang S-S, Zhou J, Wong P, Kowalisyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *American journal of human genetics.* 1988;43(4):414.
39. Bailey LB, Gregory JF, 3rd. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. *The Journal of nutrition.* 1999;129(5):919-22.
40. Kang S-S, Wong P, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *American journal of human genetics.* 1991;48(3):536.
41. Kang S-S, Passen EL, Ruggie N, Wong P, Sora H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation.* 1993;88(4):1463-9.
42. Brattström L, Wilcken DE, Öhrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation.* 1998;98(23):2520-6.

43. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation*. 1996;93(1):7-9.
44. de Bree A, Verschuren WM, Bjørke-Monsen A-L, Van der Put NM, Heil SG, Trijbels FJ, et al. Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C→ T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *The American journal of clinical nutrition*. 2003;77(3):687-93.
45. McQuillan BM, Beilby JP, Nidorf M, Thompson PL, Hung J. Hyperhomocysteinemia but not the C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase is an independent risk determinant of carotid wall thickening: the Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Study (CUDAS). *Circulation*. 1999;99(18):2383-8.
46. Leclerc D, Sibani S, Rozen R. Molecular biology of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and overview of mutations/polymorphisms. *MTHFR Polymorphisms and Disease* Georgetown, TX: Landes Bioscience/Eurekah com. 2005:1-20.
47. Li YN, Gulati S, Baker PJ, Brody LC, Banerjee R, Kruger WD. Cloning, mapping and RNA analysis of the human methionine synthase gene. *Human molecular genetics*. 1996;5(12):1851-8.
48. Leclerc D, Campeau E, Goyette P, Adjalla C, Christensen B, Ross M, et al. Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the cblG complementation group of folate/cobalamin disorders. *Human molecular genetics*. 1996;5(12):1867-74.
49. Chen LH, Liu M-L, Hwang H-Y, Chen L-S, Korenberg J, Shane B. Human methionine synthase cDNA cloning, gene localization, and expression. *Journal of Biological Chemistry*. 1997;272(6):3628-34.
50. Leclerc D, Wilson A, Dumas R, Gafuik C, Song D, Watkins D, et al. Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(6):3059-64.
51. Zhang Y, Zhang M, Niu T, Xu X, Zhu G, Huo Y, et al. D919G polymorphism of methionine synthase gene is associated with blood pressure response to benazepril in Chinese hypertensive patients. *Journal of human genetics*. 2004;49(6):296-301.

52. Brown CA, McKinney KQ, Kaufman JS, Gravel RA, Rozen R. A common polymorphism in methionine synthase reductase increases risk of premature coronary artery disease. *Journal of Cardiovascular Risk*. 2000;7(3):197-200.
53. Wang Y, Liu Y, Ji W, Qin H, Wu H, Xu D, et al. Analysis of MTR and MTRR Polymorphisms for Neural Tube Defects Risk Association. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(35):e1367.
54. Geisel J, Zimbelmann I, Schorr H, Knapp J-P, Bodis M, Hübner U, et al. Genetic defects as important factors for moderate hyperhomocysteinemia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2001;39(8):698-704.
55. Wilson A, Platt R, Wu Q, Leclerc D, Christensen B, Yang H, et al. A common variant in methionine synthase reductase combined with low cobalamin (vitamin B12) increases risk for spina bifida. *Molecular genetics and metabolism*. 1999;67(4):317-23.
56. Jacques PF, Bostom AG, Selhub J, Rich S, Ellison RC, Eckfeldt JH, et al. Effects of polymorphisms of methionine synthase and methionine synthase reductase on total plasma homocysteine in the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis*. 2003;166(1):49-55.
57. Brilakis ES, Berger PB, Ballman KV, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C> T and methionine synthase reductase (MTRR) 66A> G polymorphisms: association with serum homocysteine and angiographic coronary artery disease in the era of flour products fortified with folic acid. *Atherosclerosis*. 2003;168(2):315-22.
58. Li N, Seetharam S, Lindemans J, Alpers DH, Arwert F, Seetharam B. Isolation and sequence analysis of variant forms of human transcobalamin II. *Biochimica et biophysica acta*. 1993;1172(1-2):21-30.
59. Miller JW, Ramos MI, Garrod MG, Flynn MA, Green R. Transcobalamin II 775G> C polymorphism and indices of vitamin B12 status in healthy older adults. *Blood*. 2002;100(2):718-20.
60. Zetterberg H. Methylenetetrahydrofolate reductase and transcobalamin genetic polymorphisms in human spontaneous abortion: biological and clinical implications. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2004;2(1):7.
61. Froese DS, Gravel RA. Genetic disorders of vitamin B 12 metabolism: eight complementation groups—eight genes. *Expert reviews in molecular medicine*. 2010;12.

62. Watkins D, Rosenblatt DS. Lessons in biology from patients with inherited disorders of vitamin B12 and folate metabolism. *Biochimie*. 2016;126:3-5.
63. Watkins D, Rosenblatt DS, editors. Inborn errors of cobalamin absorption and metabolism. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*; 2011: Wiley Online Library.
64. Guéant J-L, Coelho D, Nicolas J-P. La vitamine B12 et les maladies génétiques associées. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*. 2014;198(6):1141-56.
65. Ruiz-Mercado M, Vargas M, de Soto IP, Pecellín CD, Sánchez MC, Delgado MB, et al. Methionine synthase reductase deficiency (CblE): A report of two patients and a novel mutation. *Hematology*. 2016;21(3):193-7.
66. Homolova K, Zavadakova P, Doktor TK, Schroeder LD, Kozich V, Andresen BS. The deep intronic c. 903+ 469T> C mutation in the MTRR gene creates an SF2/ASF binding exonic splicing enhancer, which leads to pseudoexon activation and causes the cblE type of homocystinuria. *Human mutation*. 2010;31(4):437-44.
67. Gulati S, Baker P, Li YN, Fowler B, Kruger W, Brody LC, et al. Defects in human methionine synthase in cblG patients. *Human molecular genetics*. 1996;5(12):1859-65.
68. Leclerc D, Wilson A, Dumas R, Gafuik C, Song D, Watkins D, et al. Cloning and mapping of a cDNA for methionine synthase reductase, a flavoprotein defective in patients with homocystinuria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1998;95(6):3059-64.
69. Van den Veyver IB. Genetic effects of methylation diets. *Annu Rev Nutr*. 2002;22:255-82.
70. Bailey RL, Carmel R, Green R, Pfeiffer CM, Cogswell ME, Osterloh JD, et al. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;94(2):552-61.
71. Green R, Allen LH, Bjorke-Monsen AL, Brito A, Gueant JL, Miller JW, et al. Correction: Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17054.
72. Green R, Allen LH, Bjorke-Monsen AL, Brito A, Gueant JL, Miller JW, et al. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17040.

73. Rébeillé F, Ravanel S, Jabrin S, Douce R, Storozhenko S, Van Der Straeten D. Folates in plants: biosynthesis, distribution, and enhancement. *Physiologia Plantarum*. 2006;126(3):330-42.
74. Scott JM. Folate and vitamin B 12. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1999;58(2):441-8.
75. Hoffman R, Benz Jr EJ, Silberstein LE, Heslop H, Anastasi J, Weitz J. *Hematology: basic principles and practice*: Elsevier Health Sciences; 2013.
76. Matthews RG, Ross J, Baugh CM, Cook JD, Davis L. Interactions of pig liver serine hydroxymethyltransferase with methyltetrahydropteroylpolyglutamate inhibitors and with tetrahydropteroylpolyglutamate substrates. *Biochemistry*. 1982;21(6):1230-8.
77. Carreras CW, Santi DV. The catalytic mechanism and structure of thymidylate synthase. *Annual review of biochemistry*. 1995;64(1):721-62.
78. Bolander-Gouaille C. *Focus on Homocysteine and the Vitamins Involved in its metabolism: Involved in Its Metabolism*: Springer Science & Business Media; 2002.
79. Carson NA, Neill D. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Archives of disease in childhood*. 1962;37(195):505.
80. Demuth K, Drunat S, Paul J-L, Moatti N. *Hyperhomocystéinémie et athérosclérose*. 2000.
81. Moghadasian MH, McManus BM, Frohlich JJ. Homocyst(e)ine and coronary artery disease: clinical evidence and genetic and metabolic background. *Archives of internal medicine*. 1997;157(20):2299-308.
82. Girs N, Giet D. Le dosage de l'homocystéine intéresse-T-il le médecin généraliste? *Revue Médicale de Liège*. 2006;61(5-6):352-61.
83. Nygård O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *New England Journal of Medicine*. 1997;337(4):230-7.

84. Ueland PM, Refsum H, Beresford SA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *The American journal of clinical nutrition*. 2000;72(2):324-32.
85. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *Jama*. 1995;274(13):1049-57.
86. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed)*. 2002;325(7374):1202.
87. Clarke R, Bennett DA, Parish S, Verhoef P, Dotsch-Klerk M, Lathrop M, et al. Homocysteine and coronary heart disease: meta-analysis of MTHFR case-control studies, avoiding publication bias. *PLoS Med*. 2012;9(2):e1001177.
88. Humphrey LL, Fu R, Rogers K, Freeman M, Helfand M. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc*. 2008;83(11):1203-12.
89. Yap S, Boers GH, Wilcken B, Wilcken DE, Brenton DP, Lee PJ, et al. Vascular outcome in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency treated chronically: a multicenter observational study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(12):2080-5.
90. Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM. Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B12, and vitamin B6 on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled trial. *Jama*. 2002;288(8):973-9.
91. Lange H, Suryapranata H, De Luca G, Borner C, Dille J, Kallmayer K, et al. Folate therapy and in-stent restenosis after coronary stenting. *The New England journal of medicine*. 2004;350(26):2673-81.
92. Enneman AW, Swart KM, van Wijngaarden JP, van Dijk SC, Ham AC, Brouwer-Brolsma EM, et al. Effect of Vitamin B12 and Folic Acid Supplementation on Bone Mineral Density and Quantitative Ultrasound Parameters in Older People with an Elevated Plasma Homocysteine Level: B-PROOF, a Randomized Controlled Trial. *Calcif Tissue Int*. 2015;96(5):401-9.

93. Huo Y, Li J, Qin X, Huang Y, Wang X, Gottesman RF, et al. Efficacy of folic acid therapy in primary prevention of stroke among adults with hypertension in China: the CSPPT randomized clinical trial. *Jama*. 2015;313(13):1325-35.
94. Li F, Hao Y, Zu X, Liu J. Prevention of cerebrovascular events by high-dose Folic Acid Supplement in Elderly Female Patients with Hypertensive Emergency and Hyperhomocysteinemia: P39. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2015;63.
95. Study of the Effectiveness of Additional Reductions in C, Homocysteine Collaborative G, Armitage JM, Bowman L, Clarke RJ, Wallendszus K, et al. Effects of homocysteine-lowering with folic acid plus vitamin B12 vs placebo on mortality and major morbidity in myocardial infarction survivors: a randomized trial. *Jama*. 2010;303(24):2486-94.
96. Cavalieri M, Schmidt R, Chen C, Mok V, de Freitas GR, Song S, et al. B vitamins and magnetic resonance imaging-detected ischemic brain lesions in patients with recent transient ischemic attack or stroke: the VITamins TO Prevent Stroke (VITATOPS) MRI-substudy. *Stroke*. 2012;43(12):3266-70.
97. Andreeva VA, Latache C, Hercberg S, Briancon S, Galan P, Kesse-Guyot E. B vitamin and/or n-3 fatty acid supplementation and health-related quality of life: ancillary findings from the SU.FOL.OM3 randomized trial. *PLoS One*. 2014;9(1):e84844.
98. Hodis HN, Mack WJ, Dustin L, Mahrer PR, Azen SP, Detrano R, et al. High-dose B vitamin supplementation and progression of subclinical atherosclerosis: a randomized controlled trial. *Stroke*. 2009;40(3):730-6.
99. Albert CM, Cook NR, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E, et al. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. *Jama*. 2008;299(17):2027-36.
100. Bleie O, Strand E, Ueland PM, Vollset SE, Refsum H, Igland J, et al. Coronary blood flow in patients with stable coronary artery disease treated long term with folic acid and vitamin B12. *Coron Artery Dis*. 2011;22(4):270-8.

101. Bonna KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *The New England journal of medicine*. 2006;354(15):1578-88.
102. Liem AH, van Boven AJ, Veeger NJ, Withagen AJ, Robles de Medina RM, Tijssen JG, et al. Efficacy of folic acid when added to statin therapy in patients with hypercholesterolemia following acute myocardial infarction: a randomised pilot trial. *International journal of cardiology*. 2004;93(2-3):175-9.
103. Liem A, Reynierse-Buitenwerf GH, Zwinderman AH, Jukema JW, van Veldhuisen DJ. Secondary prevention with folic acid: effects on clinical outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41(12):2105-13.
104. Baker F, Picton D, Blackwood S, Hunt J, Erskine M, Dyas M, et al., editors. Blinded comparison of folic acid and placebo in patients with ischemic heart disease: an outcome trial. *Circulation*; 2002: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS 530 WALNUT ST, PHILADELPHIA, PA 19106-3621 USA.
105. Lonn E, Held C, Arnold JM, Probstfield J, McQueen M, Micks M, et al. Rationale, design and baseline characteristics of a large, simple, randomized trial of combined folic acid and vitamins B6 and B12 in high-risk patients: the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE)-2 trial. *Can J Cardiol*. 2006;22(1):47-53.
106. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, et al. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *Jama*. 2004;291(5):565-75.
107. Martí-Carvajal AJ, Sola I, Lathyris D, Dayer M. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017(8).
108. Clarke R, Halsey J, Lewington S, Lonn E, Armitage J, Manson JE, et al. Effects of lowering homocysteine levels with B vitamins on cardiovascular disease, cancer, and cause-specific mortality: Meta-analysis of 8 randomized trials involving 37 485 individuals. *Arch Intern Med*. 2010;170(18):1622-31.

109. Huang T, Chen Y, Yang B, Yang J, Wahlqvist ML, Li D. Meta-analysis of B vitamin supplementation on plasma homocysteine, cardiovascular and all-cause mortality. *Clinical nutrition* (Edinburgh, Scotland). 2012;31(4):448-54.
110. Huo Y, Qin X, Wang J, Sun N, Zeng Q, Xu X, et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: new insight from a meta-analysis. *Int J Clin Pract*. 2012;66(6):544-51.
111. Ji Y, Tan S, Xu Y, Chandra A, Shi C, Song B, et al. Vitamin B supplementation, homocysteine levels, and the risk of cerebrovascular disease: a meta-analysis. *Neurology*. 2013;81(15):1298-307.
112. Wang X, Qin X, Demirtas H, Li J, Mao G, Huo Y, et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *The Lancet*. 2007;369(9576):1876-82.
113. Eikelboom JW, Lonn E, Genest Jr J, Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Annals of internal medicine*. 1999;131(5):363-75.

VU

NANCY, le **16 juillet 2020**

Le Président de Thèse

Professeur Jean-Louis GUEANT

NANCY, le **25 août 2020**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur Marc BRAUN

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/ **11265C**

NANCY, le **25 août 2020**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,

Professeur Pierre MUTZENHARDT

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Background: The association of moderate hyperhomocysteinemia (HHcy) (15–30 $\mu\text{mol/L}$) with cardiovascular diseases (CVD) in most observational studies has been challenged by the lack of benefit of vitamin supplementation to lowering homocysteine. Consequently, the results of interventional studies have confused the debate regarding the management of patients with intermediate/severe HHcy.

Objective: To evaluate the influence of intermediate (30–100 $\mu\text{mol/L}$) and severe (> 100 $\mu\text{mol/L}$) HHcy related to vitamin deficiencies and/or inherited disorders on CVD outcomes.

Design: We carried out a retrospective cross-sectional study on consecutive patients who underwent a homocysteine assay in a French University Regional Hospital Center. Patients with CVD outcomes were assessed for vitamin B12, folate, Hcy, methylmalonic acid, and next-generation clinical exome sequencing.

Results: We report 165 patients hospitalized for thromboembolic and other cardiovascular manifestations among 1006 patients consecutively recruited. Among them, 84% (138/165) had Hcy >30 $\mu\text{mol/L}$ and 27% Hcy >50 $\mu\text{mol/L}$ (44/165). HHcy was related to a deficiency in vitamin B12 and/or folate in nearly 55% (87/165), mutations in one or more genes of one-carbon and/or vitamin B12 metabolisms in 11% (19/165), and renal failure in 26% (44/165) of the studied patients. HHcy was the single vascular risk retrieved in almost 9% (15/165) of patients. 60% (101/165) of patients received a supplementation to treat HHcy, with a significant decrease in median Hcy from 41 to 17 $\mu\text{mol/L}$. No recurrence of thromboembolic manifestations was observed after treatment of patients with HHcy as single risk, after nearly 4-years follow-up.

Conclusion: The high frequency of intermediate/severe HHcy differs from the moderate HHcy reported in previous observational studies of patients with pre-existing CVD. Our study points out the importance of diagnosing and treating nutritional deficiencies and inherited disorders to reverse intermediate/severe HHcy associated with CV outcomes.

TITRE EN ANGLAIS : Cardiovascular Manifestations of Intermediate and Major Hyperhomocysteinemia Due to Vitamin B12 and Folate deficiency and/or Inherited Disorders of One-Carbon Metabolism: A 3.5-years Retrospective Cross-sectional Study of Consecutive Patients.

THESE : MÉDECINE SPÉCIALITÉ – ANNÉE 2020

MOTS-CLÉS : Homocysteine; cardiovascular disease risk; intermediate to severe hyperhomocysteinemia; thromboembolic manifestations; next-generation clinical exome sequencing; Reference Centre for Inborn Errors of Metabolism.

INTITULE ET ADRESSE :

UNIVERSITE DE LORRAINE
FACULTE DE MEDECINE DE NANCY
9, AVENUE DE LA FORET DE HAYE
54505 VANDOEUVRE LES NANCY CEDEX
