

HOMOCYSTEIN-SENKENDE KLINISKE STUDIER I NORGE. KARDIOVASKULÆRE HENDELSER OG KREFT.

Marta Ebbing, Hjerteravdelingen, Haukeland universitetssykehus

Sammenfatning av doktorgradsarbeid (1)

Mange observasjonsstudier har rapportert assosiasjoner mellom nivåer av aminosyren homocystein i blodet og risiko for kardiovaskulær sykdom (2-4). Det totale homocystein-nivået i plasma kan enkelt senkes ved peroralt inntak av de syntetiske B-vitaminene folsyre og cyanokobalamin (vitamin B12). I to store norske kliniske intervensjonsstudier, Norwegian Vitamin Trial (NORVIT) (5) og Western Norway B Vitamin Intervention Trial (WENBIT) (6) ble pasienter med iskemisk hjertesykdom randomisert til grupper som fikk folsyre pluss vitamin B12, eller ingen slik behandling, for å vurdere om de ville ha nytte av å få senket sine homocystein-nivåer med hensyn til alvorlige kliniske hendelser, slik som hjerteinfarkt, slag, kardiovaskulær død eller total død. Ved hjelp av en 2 x 2 faktoriell design ble deltakerne også randomisert til grupper som fikk vitamin B6 eller ingen vitamin B6.

Mål

Det overordnede målet med avhandlingen var å undersøke den kliniske effekten av B-vitamin-behandling hos pasienter med kjent iskemisk hjertesykdom, først ved å analysere hovedresultatet av WENBIT-studien, deretter ved å utforske resultater i den sammenslåtte kohorten av pasienter som deltok i NORVIT eller WENBIT (1).

Materiale og metoder

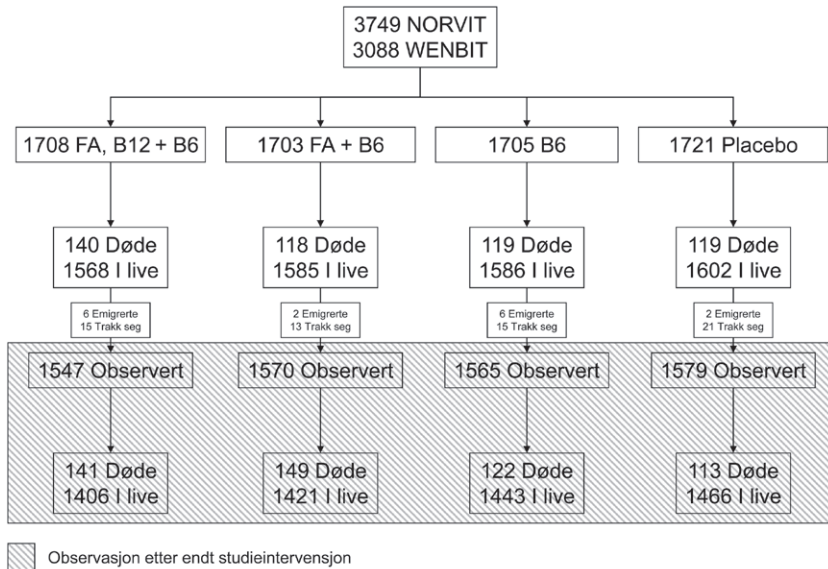
Vi brukte kliniske og laboratoriedata på 6837 pasienter med iskemisk hjertesykdom (akutt hjerteinfarkt, ustabil angina eller stabil angina), rekruttert fra 36 sykehus i Norge i perioden 1998 til 2004, til deltakelse i NORVIT eller WENBIT. De to studiene hadde liknende inklusjonskriterier, identisk studiedesign og intervensjon, liknende oppfølgingsrutiner og blodprøvehåndtering, brukte det samme laboratoriet for studiespesifikke blodprøveanalyser og hadde liknende endepunktsdefinisjoner. Data ble samlet inn ved studieoppstart og under intervensjonsperioden i de respektive studiene og ved kobling mot sentrale helseregistre for kreftforekomst og årsaksspesifikk og total død blant disse pasientene fra inklusjonstidspunktet og ut år 2007. Figur 1 viser flyten av deltakerne i NORVIT eller WENBIT.

Kliniske utfall ble analysert for grupper gitt peroral folsyre 0,8 mg pluss vitamin B12 0,4 mg daglig versus ingen folsyre/vitamin B12, og for grupper gitt peroral vitamin B6 40 mg daglig versus ingen vitamin B6. Overlevelseskurver ble konstruert ved hjelp av Kaplan-Meier-metoden, og estimater av hasardraten med konfidensintervaller ble funnet ved hjelp av Cox-regresjon.

Resultater

Intervensjonen med folsyre pluss vitamin B12 senket totalt homocysteininnhold i plasma betydelig i begge studiepopulasjonene (5,6). I WENBIT-studiepopulasjonen, hvorav de fleste pasientene hadde stabil



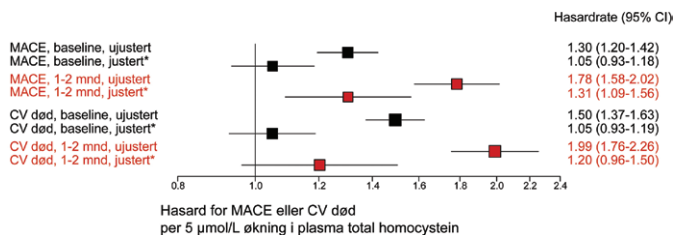


Figur 1. Flyt diagram over deltakerne i NORVIT-WENBIT. Forkortelser: FA, folsyre; B12, vitamin B12; B6, vitamin B6.

angina ved inklsujon, var behandlingen ikke forbundet med forekomst av alvorlige kardiovaskulære hendelser eller totalmortalitet under intervensjonsperioden som varte i median 38 måneder (6). Ved gransking av resultatene i den sammenslåtte NORVIT-WENBIT-studiepopulasjonen var homocystein-senkningen ikke forbundet med forekomst av alvorlige kardiovaskulære hendelser, verken totalt eller for undergrupper av hendelser (hjerteinfarkt, hjerneslag eller kardiovaskulær død) i løpet av intervensjonsperioden som varte i median 39 måneder. Den homocystein-senkende behandlingen var heller ikke forbundet med kardiovaskulær dødelighet på lengre sikt, etter total oppfølgingstid av den sammenslåtte studiepopulasjonen på median 78 måneder (7).

Baseline karakteristika for NORVIT-WENBIT-pasienter med eller uten hyperhomocysteinemi (plasma total homocystein $\geq 15\mu\text{mol/L}$) er vist i tabell 1. Blant dem med hyperhomocysteinemi ved studiestart

var behandling med folsyre pluss vitamin B12 assosiert med økt risiko for kardiovaskulære hendelser under intervensjonen og økt kardiovaskulær dødelighet etter total oppfølgingstid på 78 måneder. Utforskende analyser i NORVIT-WENBIT viste for øvrig at startnivået av total homocystein i plasma ikke var uavhengig assosiert med alvorlige kardiovaskulære hendelser, mens homocystein målt etter 1-2 måneders behandling med folsyre pluss vitamin B12 var en sterk prediktor for slike hendelser under intervensjonsperioden, se Figur 2 (7).



Figur 2. Plasma total homocystein målt ved baseline og etter 1-2 måneders behandling med folsyre pluss vitamin B12, som prediktor for kardiovaskulære hendelser etter siste homocystein måling. Forkortelser: MACE, alvorlige kardiovaskulære hendelser (hjerteinfarkt, hjerneslag eller kardiovaskulær død); CV død, kardiovaskulær død. Forklaring: *Justert for alder, kjønn, kreatinin, hypertensjon, fedme, diabetes, røyking, tidligere hjerteinfarkt, tidligere perkutan koronar intervensjon, tidligere aortokoronar bypass operasjon, tidligere karotisstenose/transitorisk iskemisk attack/hjerneslag, og for klinisk tilstand ved studiestart (stabil angina eller akutt koronarsyndrom).

Tabell 1. Baseline karakteristika og medikasjon hos NORVIT-WENBIT pasienter med eller uten hyperhomocysteinemi

| Karakteristika | Homocystein ≥ 15 (n = 1179) | | Homocystein < 15 (n = 5635) | | P verdi |
|---|-------------------------------------|-------------|----------------------------------|------------|------------|
| Inkludert i NORVIT, antall (%) | 883 | (74,9) | 2850 | (50,6) | <0,001 |
| Inkludert i WENBIT, antall (%) | 296 | (25,1) | 2785 | (49,4) | <0,001 |
| Alder, gjennomsnitt (SD), år | 67,4 | (11,5) | 61,3 | $\pm 10,5$ | <0,001 |
| Menn, antall, (%) | 915 | (77,6) | 4293 | (76,2) | 0,30 |
| Kroppsmasseindeks, gjennomsnitt (SD) ^a | 26,1 | (3,7) | 26,7 | $\pm 3,8$ | 0,99 |
| Systolisk blodtrykk, gjennomsnitt (SD), mm Hg | 132 | (22) | 132 | ± 22 | 0,70 |
| Diastolisk blodtrykk, gjennomsnitt (SD), mm Hg | 75 | (14) | 76 | ± 13 | <0,001 |
| Total kolesterol, gjennomsnitt (SD), mmol/L | 5,6 | (1,4) | 5,4 | $\pm 1,2$ | 0,001 |
| Kreatinin, median (25-75 prosentiler), $\mu\text{mol/L}$ | 97 | (84-114) | 87 | (78-97) | <0,001 |
| Total plasma homocystein, median (25-75 prosentiler), $\mu\text{mol/L}$ | 17,7 | (16,1-20,6) | 10,4 | (8,8-12,1) | <0,001 |
| Folat, median (25-75 prosentiler), $\mu\text{mol/L}$ | 6,5 | (4,9-8,9) | 9,3 | (6,9-13,5) | <0,001 |
| Kobalamin, median (25-75 prosentiler), pmol/L | 306 | (239-391) | 360 | (280-452) | <0,001 |
| PLP, median (25-75 prosentiler), nmol/L | 27 | (19-38) | 34 | (24-48) | <0,001 |
| MTHFR 677 genotype, antall/totalt antall (%) | | | | | |
| CC | 487/1135 | (42,9) | 2806/5397 | (52,0) | <0,001 |
| CT | 460/1135 | (40,5) | 2244/5397 | (41,6) | 0,51 |
| TT | 188/1135 | (16,6) | 347/5397 | (6,4) | <0,001 |
| Vitamintilskudd bruk, antall (%) ^b | 265 | (22,5) | 1310 | (23,2) | 0,57 |
| Risiko faktorer, antall/totalt antall (%) | | | | | |
| Hypertensjon | 495/1167 | (42,4) | 1987/5606 | (35,4) | <0,001 |
| Fedme ^c | 176/1173 | (15,0) | 960/5631 | (17,0) | 0,09 |
| Diabetes mellitus ^d | 129/1171 | (11,0) | 590/5614 | (10,5) | 0,61 |
| Røyking | | | | | |
| Aldri røyker, antall/totalt antall (%) | 328/1174 | (27,9) | 1603/5626 | (28,5) | 0,70 |
| Eks røyker, antall/totalt antall (%) | 328/1174 | (27,9) | 1875/5626 | (33,3) | <0,001 |
| Røyker, antall/totalt antall (%) | 518/1174 | (44,1) | 2148/5626 | (38,2) | <0,001 |
| Tidligere kardiovaskulær sykdom, antall/totalt antall (%) | | | | | |
| Hjerteinfarkt | 373/1163 | (32,1) | 1527/5602 | (27,3) | 0,001 |
| Perkutan koronar intervensjon | 106/1178 | (9,0) | 708/5635 | (12,6) | 0,001 |
| Aortokoronar bypass operasjon | 103/1179 | (8,7) | 489/5635 | (8,7) | 0,95 |
| Karotisstenose, TIA eller slag | 98/1172 | (8,4) | 250/5610 | (4,5) | <0,001 |
| Tidligere gjennomgått kreft, antall (%) ^f | 69 | (5,9) | 228 | (4,0) | 0,006 |
| Tilstand ved inklusjon, antall (%) | | | | | |
| Akutt hjerteinfarkt | 912 | (77,4) | 3142 | (55,8) | <0,001 |
| Ustabil angina | 14 | (1,2) | 123 | (2,2) | 0,03 |
| Stabil angina | 244 | (20,7) | 2335 | (41,7) | <0,001 |
| Aortastenose | 9 | (0,8) | 35 | (0,6) | 0,58 |
| Medikasjon, antall/totalt antall (%) | | | | | |
| Acetylsalisylsyre | 932/1094 | (85,2) | 4926/5462 | (90,2) | <0,001 |
| Warfarin | 139/1086 | (12,8) | 415/5455 | (7,6) | <0,001 |
| Lipid-senkende medikament | 819/1091 | (75,1) | 4725/5453 | (85,2) | <0,001 |
| Beta-blokkere | 940/1094 | (85,9) | 4634/5461 | (84,9) | 0,37 |
| Kalsium antagonist | 180/1086 | (16,6) | 812/5447 | (14,9) | 0,16 |
| ACE-hemmere/AT-II antagonist | 469/1089 | (43,1) | 1746/5447 | (32,1) | <0,001 |
| Diuretika | 330/1088 | (30,3) | 787/5450 | (14,4) | <0,001 |

ACE, angiotensin-converting enzyme; AT-II, angiotensin II reseptor; MTHFR, metylen-tetrahydrofolat reduktase; PLP, pyridoxal 5' fosfat; TIA, transitorisk iskemisk attack.

^aKroppsmasseindeks ble kalkulert som vekt i kg dividert på høyde i meter opphøyet i annen. ^bDaglig eller ofte bruk av vitamin tilskudd før inklusjonen. ^cKroppsmasseindeks ≥ 30 . ^dInkluderte diabetes mellitus type 1 eller 2.

^eHadde sluttet å røyke > 1 mnd før inklusjonen. ^fInkluderte enhver kreft unntatt non-melanom hud kreft.

I den sammenslåtte NORVIT-WENBIT-studiepopulasjonen var folsyre pluss vitamin B12-behandling assosiert med 21 % øket kreftforekomst, 38 % øket kreftdødelighet og 18 % øket totaldødelighet etter total oppfølgingstid på median 78 måneder (8). Disse funnene var konsistente i begge de opprinnelige studiene hos pasienter med alder under eller over medianverdien, hos begge kjønn, hos aldri-røykere og eks- eller røykere, og hos pasienter med utgangsnivå av serum-folat under eller over medianverdien. Imidlertid var hasardraten for folsyre pluss vitamin B12-behandling versus ingen slik behandling høyere hos pasienter med TT-genotypen enn hos dem med CC- eller CT-genotypen av metylen-tetrahydrofolat reduktase 677C→T polymorfismen (8). Denne polymorfismen har betydning for intracellulær omsetning av folat og for total plasma-homocystein-nivå (9).

Vitamin B6-behandling førte til en 10-dobling av plasmanivåene av pyridoxal-5-fosfat i begge studiepopulasjonene, men var ikke assosiert med de kliniske resultatene under oppfølging i WENBIT (6), med noen av de kliniske resultatene under intervensjonsperioden eller etter forlenget observasjonstid av den sammenslåtte NORVIT-WENBIT-studiepopulasjonen (7,8).

Diskusjon og konklusjoner

Våre funn med hensyn til kardiovaskulære hendelser er konsistent med den manglende effekten av homocystein-senkende B-vitamin-behandling som er påvist i store randomiserte kontrollerte kliniske intervensjonsstudier til dags dato (17. september 2010) (10-15). Den økte risikoen for kardiovaskulære hendelser som ble funnet blant pasienter med høye startnivåer av homocystein som fikk homocystein-senkende behandling med folsyre pluss vitamin B12, er i strid med hva som ville forventes hvis homocystein har en kausal rolle i progresjonen av kardiovaskulær sykdom. Våre data kan dessuten indikere at kardiovaskulær risiko knyttet til total plasma-homocystein-nivå er begrenset til den homocystein-fraksjonen som ikke lar seg påvirke av B-vitaminer. Det skulle således ikke være noen grunn til å senke homocystein med B-vitaminer for pasienter med etablert kardiovaskulær sykdom.

Den økte kreftforekomsten og kreftdødeligheten som ble funnet blant pasientene som hadde fått folsyre pluss vitamin B12 i median 39 måneder, kan forklares av det såkalte akselerasjonsfenomenet (16,17). Dette innebærer at folsyrebehandlingen kunne ha akselerert veksten av kreft som var etablert eller som oppstod under intervensjonen, noe som førte til økt antall krefttilfeller i løpet av den totale, forlengete observasjonstiden. Ettersom de fleste andre fullførte homocystein-senkende B-vitamin-intervensjonsstudier ikke støtter våre funn, trenger disse resultatene bekreftelse i andre populasjoner.

Avhandlingen finnes tilgjengelig på Bergen Open Research Archive, <http://hdl.handle.net/1956/4263>

Prosjektet ble finansiert ved stipend fra Extrastiftelsen Helse og Rehabilitering samt midler fra Universitetet i Bergen og Hjereteavdelingen ved Haukeland Universitetssjukehus

Referanser

1. Ebbing M. Homocysteine-lowering clinical trials in Norway. Cardiovascular and cancer outcomes in the Western Norway B-Vitamin Intervention Trial and the Norwegian Vitamin Trial. [Medicine thesis]. University of Bergen; 2010.
2. 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;274:1049-57.
3. Arnesen E, Refsum H, Bønaa KH, Ueland PM, Førde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995;24:704-9.
4. Nygård O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;337:230-6.
5. Bønaa KH, Njølstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;354:1578-88.
6. Ebbing M, Bleie Ø, Ueland PM, Nordrehaug JE, Nilsen DW, Vollset SE, et al. Mortality and cardiovascular events in patients treated with homocysteine-lowering B vitamins after coronary angiography: a randomized controlled trial. *JAMA* 2008;300:795-804.
7. Ebbing M, Bønaa KH, Arnesen E, Ueland PM, Nordrehaug JE, Rasmussen K, et al.

- Combined analyses and extended follow-up of two randomized controlled homocysteine-lowering B-vitamin trials. *J Intern Med* 2010;268:367-83.
8. Ebbing M, Børnaa KH, Nygård O, Arnesen E, Ueland PM, Nordrehaug JE, et al. Cancer incidence and mortality after treatment with folic acid and vitamin B12. *JAMA* 2009;302:2119-26.
 9. Christensen K, Rozen R. Genetic variation: Effect on folate metabolism and health. In: Bailey LB, editor. *Folate in health and disease*. 2 ed. Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group, LLC; 2010. p. 75-110.
 10. 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;291:565-75.
 11. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006;354:1567-77.
 12. Jamison RL, Hartigan P, Kaufman JS, Goldfarb DS, Warren SR, Guarino PD, et al. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007;298:1163-70.
 13. 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;299:2027-36.
 14. Armitage JM, Bowman L, Clarke RJ, Walendzusz K, Bulbulia R, Rahimi 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;303:2486-94.
 15. VITATOPS Trial Study Group. B vitamins in patients with recent transient ischaemic attack or stroke in the VITamins TO Prevent Stroke (VITATOPS) trial: a randomised, double-blind, parallel, placebo-controlled trial. *Lancet neurology* 2010;9:855-65.
 16. Ulrich CM, Potter JD. Folate and cancer—timing is everything. *JAMA* 2007;297:2408-9.
 17. Smith AD, Kim YI, Refsum H. Is folic acid good for everyone? *Am J Clin Nutr* 2008;87:517-33. ■