

---

---

# Homocisteína: bases genéticas y sus implicaciones cardiovasculares y cognitivas como factor de riesgo

*Gilberto Vizcaíno<sup>1</sup> y Jennifer Vizcaíno<sup>2</sup>.*

<sup>1</sup>Instituto de Investigaciones Clínicas, “Dr. Américo Negrette” Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

<sup>2</sup>Laboratorio de Citogenética, Banco de Sangre del Estado Zulia, Maracaibo, Venezuela

**Palabras clave:** homocisteína; metiltetrahidrofolato reductasa; ácido fólico; riesgo cardiovascular.

**Resumen.** La controversia que ha generado la homocisteína como factor de riesgo protrombótico debido a sus implicaciones cardiovasculares, está presente en la actualidad con publicaciones que apoyan su papel como factor de riesgo independiente y otros que no confirman su causalidad. La homocisteína como agente productor de eventos trombóticos tiene su punto de partida fisiopatológico en la lesión del endotelio vascular, ello se produce cuando su concentración sanguínea se eleva por encima de 15  $\mu\text{mol/L}$ , considerándose como hiperhomocisteinemia. Una amplia gama de factores intervienen en el incremento de las concentraciones sanguíneas de la homocisteína, entre ellos, el factor genético relacionado con alteraciones enzimáticas producto de polimorfismos o mutaciones en enzimas del ciclo de la metionina-homocisteína, como la metiltetrahidrofolato reductasa y cistationina beta sintetasa. Estas pueden asociarse con deficiencia de los cofactores ácido fólico, vitamina B12 o vitamina B6, que también pueden alterar el ciclo cuando existe deficiencia nutricional. Algunos trabajos relacionan la hiperhomocisteinemia con eventos cardiovasculares y deterioro cognitivo que puede conducir a demencia senil o enfermedad de Alzheimer. Las intervenciones con multivitaminas reducen los niveles de homocisteína, pero son objeto de discrepancia en cuanto a su efecto beneficioso. En conclusión, son necesarios estudios clínicos sobre el verdadero papel de la homocisteína como factor de riesgo, siguiendo las pautas de la OMS en relación con trombofilias hereditarias. Esta organización recomienda estudios clínicos para la detección de enfermedades trombofílicas a nivel nacional, sólo después de que se hayan obtenido datos disponibles sobre la epidemiología, riesgo de trombosis y resultados de Intervención terapéutica.

---

Autor de correspondencia: Gilberto Vizcaíno. Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. Correo electrónico: gilvizcaino@gmail.com.

---

## Homocysteine: genetic bases, and its cardiovascular and cognitive implications as a risk factor

*Invest Clin 2017; 58(4): 406 - 436*

**Keywords:** homocysteine, methyltetrahydrofolate reductase, folic acid, cardiovascular risk.

**Abstract.** The controversy that has generated the homocysteine as a prothrombotic risk factor due to its cardiovascular implications is currently present in publications that support its role as an independent risk factor and others that do not confirm its causality. Homocysteine as a thrombotic event-producing agent has its physiopathological starting point in vascular endothelial injury, this occurs when its blood concentration rises above 15  $\mu\text{mol/L}$ , being considered as hyperhomocysteinemia. A wide range of factors are involved in the increase in blood levels of homocysteine, among them, the genetic origin related to enzymatic alterations, resulting from polymorphisms or mutations in methionine-homocysteine cycle enzymes, such as methyltetrahydrofolate reductase and cystathionine beta synthetase. These alterations can also be associated with nutritional deficiencies of folic acid, vitamin B12 or vitamin B6 cofactors that can alter the cycle as well. Some studies relate hyperhomocysteinemia to cardiovascular events and to cognitive impairment that may lead to senile dementia or Alzheimer's disease. Interventions with multivitamins reduce levels of homocysteine, but there are object of discrepancy about their beneficial effects. In conclusion, clinical studies on the true role of homocysteine as a risk factor could be done following the guidelines of WHO in relation to hereditary thrombophilias, with the recommendation for the detection of thrombophilic diseases at the national level, only after available data on the epidemiology, risk of thrombosis and results of therapeutic interventions have been obtained.

*Recibido: 29-03-2017 Aceptado: 28-06-2017*

### INTRODUCCIÓN

#### La trombofilia hereditaria. Un problema sin resolver

Se calcula que para el año 2010, las afecciones tromboembólicas representaban 1 de cada 4 defunciones en todo el mundo y que son la principal causa de mortalidad. Las afecciones tromboembólicas se dividen en condiciones tromboticas arteriales y venosas. La cardiopatía isquémica y el accidente cerebrovascular isquémico comprenden las trombosis arteriales principales y la trombosis venosa profunda y

el embolismo pulmonar comprenden el tromboembolismo venoso (TEV) (1).

Las trombofilias son condiciones hereditarias y/o adquiridas que predisponen a los pacientes a la trombosis. Actualmente se ha avanzado mucho en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estas patologías. Sin embargo, a pesar de este progreso, aún hay aspectos por esclarecer. En particular, es bien sabido que algunos sujetos que tienen varios factores de riesgo para TEV, nunca experimentarán un episodio trombotico mientras que otros desarrollarán eventos tromboembólicos recurrentes sin factor

de riesgo conocido. Las pruebas de trombofilia se realizan comúnmente en pacientes con trombosis venosa y sus familiares; sin embargo, tales pruebas generalmente no proporcionan información suficiente para seguimiento de estos pacientes y sus familiares. Se hace necesario, proporcionar orientación clínica para las pruebas de trombofilia en cinco situaciones clínicas: 1) en tromboembolismo venoso provocado, 2) en tromboembolismo venoso no provocado, 3) en parientes de pacientes con trombosis, 4) en parientes femeninos de pacientes con trombosis, considerando el uso de estrógenos y 5) en parientes femeninos de pacientes con trombosis que estén considerando el embarazo (2); a estas situaciones se le puede añadir cuando un evento trombótico ocurre en personas jóvenes y/o en un sitio raro o inusual.

Las principales trombofilias con implicaciones genéticas son: la deficiencia de antitrombina III, las deficiencias de proteínas C y S, el factor V Leiden, el polimorfismo de la metilentetrahidrofolato reductasa y el gen de la protrombina G20210A, en estas tres últimas, se ha calculado la prevalencia en la población normal y en los pacientes con trombosis (3); en cualquiera de ellas, la presencia de homocigocidad incrementa el riesgo trombótico (Tabla I), además de que su diagnóstico molecular va asociado a pruebas fenotípicas que se asocian con la presencia de la anomalía genética y que complementan el diagnóstico y pronóstico de la trombofilia.

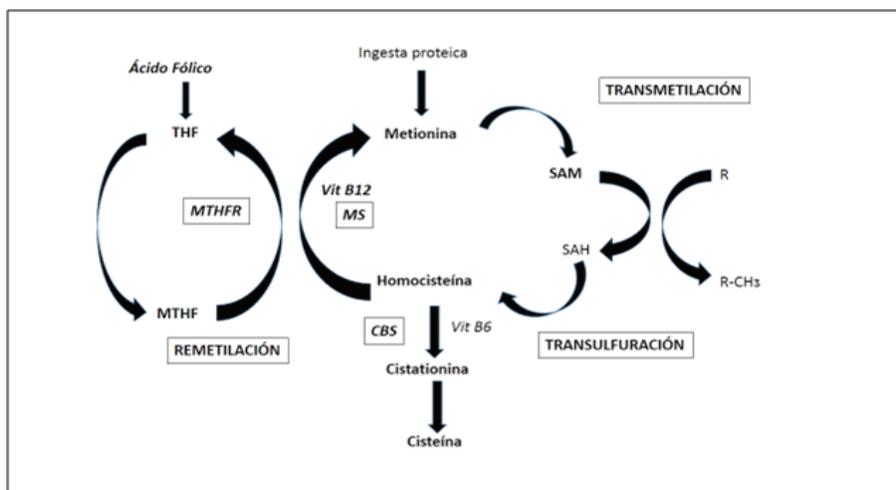
## La homocisteína como factor protrombótico

### Metabolismo de la homocisteína

La homocisteína (Hci) es un aminoácido que está relacionado con la ingesta diaria de la metionina, la cual a través de reacciones de transmetilación, remetilación y transulfuración (4), este ciclo constituye un mecanismo regulatorio para la donación de grupos metilos en el metabolismo de proteínas celulares, y depende de la presencia de cofactores vitamínicos como el ácido fólico, la vitamina B12 y la vitamina B6, fundamentales para las reacciones enzimáticas de la metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR), la metionina sintetasa (MS) y la cistationina  $\beta$  sintetasa (CBS), con productos intermedios como la S-adenosil metionina (SAM) y la S-adenosil homocisteína (SAH), importantes para el equilibrio de las reacciones de metilación de DNA, RNA, fosfolípidos, catecolaminas y otras proteínas (Fig. 1). Por lo tanto, el balance homocisteína-metionina influye en reacciones de proliferación celular, síntesis proteica, síntesis de RNA y procesos de metilación de DNA y otras sustancias a nivel celular. Si se rompe el equilibrio, y la consecuencia es el incremento de los niveles plasmáticos de homocisteína, conocido como hiperhomocisteinemia, la cual tiene influencia en anomalías en la proliferación celular, en la formación de trombos, el incremento del estrés oxidativo y en la apoptosis celular (5).

**TABLA I**  
PREVALENCIA DE TROMBOFILIAS HEREDITARIAS

Genotipo	Prevalencia en la población normal	Prevalencia en pacientes con trombosis
Factor V LEIDEN	5%	20-50% en trombofilia hereditaria
MTHFR	8-18%	10%
Protrombina G20210A	2,5%	15%



**Fig.1.** Metabolismo de la Homocisteína: El ciclo comienza con la metionina, un aminoácido esencial que reacciona con el trifosfato de adenosina en una reacción catalizada por metionina adenosil transferasa para formar el principal donante de metilo S-adenosil metionina (SAM). Las metil transferasas catalizan la reacción crucial en la que la S-adenosil metionina dona un grupo metilo a varias moléculas, incluyendo ADN, ARN y proteínas ( $R \rightarrow RCH_3$ ), y en el proceso es desmetilado a S-adenosil homocisteína (SAH). La S-adenosil homocisteína es el precursor de toda la homocisteína producida en el cuerpo, que es generada por una reacción hidrolítica catalizada por la enzima S-adenosil homocisteína hidrolasa. La homocisteína, así producida, puede ser remetilada a metionina o transulfurada a cisteína o sulfatos. La remetilación se produce a través de dos vías enzimáticas: una catalizada por la metionina sintasa (MS), que utiliza 5-metil tetrahidrofolato, formado del ácido fólico como tetrahidrofolato (THF) y la enzima metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR) como el donante de metilo y la vitamina B12 como cofactor, o una reacción catalizada por betaína-homocisteína metil transferasa (activa sólo en el hígado) Actúa como el donante de metilo. La vía de transulfuración es iniciada por la enzima cistationina beta sintasa (CBS), que requiere vitamina B6 como cofactor. Esta vía, que tiene una distribución limitada de tejidos, puede conducir a la formación de cisteína y posteriormente a la molécula antioxidante principal glutatión o puede conducir a la eliminación de la homocisteína del organismo como taurina o sulfato inorgánico.

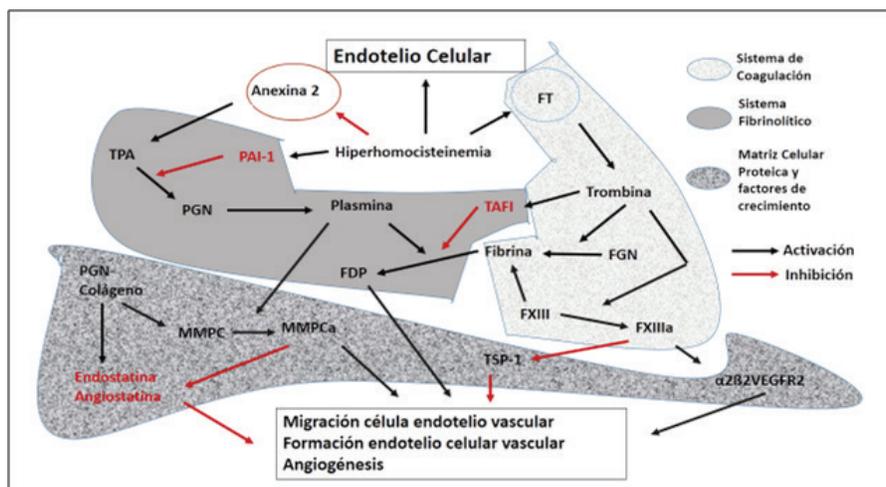
En relación con fenómenos trombóticos y angiogénesis, la hiperhomocisteinemia actúa provocando disfunción del endotelio celular, involucrándose con reacciones de activadores e inhibidores de los sistemas de coagulación, fibrinolítico, con proteínas de la matriz celular vascular y con factores de crecimiento del endotelio vascular (6) (Fig. 2).

### Implicaciones fisiopatológicas de la hiperhomocisteinemia

El perfil bioquímico único de la homocisteí-

na se caracteriza por su reactividad química que soporta una amplia gama de efectos moleculares y por una tendencia a promover la toxicidad celular inducida por el estrés oxidante, que contribuye a la lesión en el lecho vascular al provocar trombosis y proliferación celular (7) (Fig. 3).

Se ha establecido la hiperhomocisteinemia como un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular, enfermedad cerebrovascular, trastornos de tipo cognitivo-demencial y fracturas asociadas con la osteoporosis (5). Aunque el ácido fólico combinado y la terapia



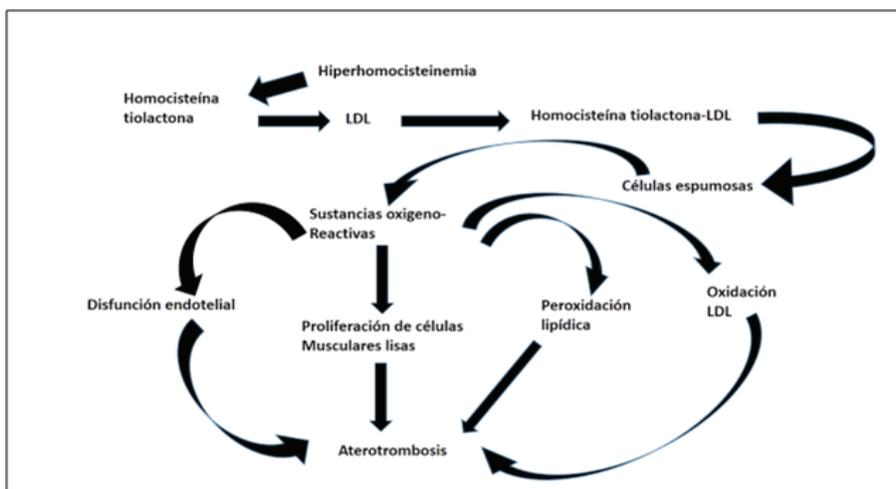
**Fig.2.** Interrelaciones entre homocisteína, trombosis y angiogénesis: La hiperhomocisteinemia estimula la liberación del factor tisular (FT), formación de trombina, trombospondina-1 y PAI-1. La homocisteína induce la expresión del factor tisular (TF) en la célula endotelial e inhibe la activación del plasminógeno (PGN) dependiente de la anexina A2 por el activador tisular del plasminógeno (TPA). Además, la homocisteína aumenta la expresión del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) para bloquear la fibrinólisis adicional. Al activar la expresión del factor tisular, la homocisteína promueve la generación local de trombina, que convierte el fibrinógeno (FGN) en fibrina, pero se inhibe la fibrinólisis al aumentar el TAFI (Trombin Activatable Fibrinolysis Inhibitor) y activa el factor XIII (FXIIIa). El FXIIIa, a su vez, no sólo estabiliza la fibrina, sino que también regula el entrecruzado de la integrina  $\alpha\beta_3$  a VEGFR2, que estimula la angiogénesis. La trombina, junto con el factor Xa (FXa), plasminógeno (PGN) y colágeno activa las metaloproteasas de la matriz celular (MMP a MMPa) para promover la migración y formación de las células endoteliales y la angiogénesis. La compensación de estos efectos angiogénicos indirectos de la trombina son sus efectos inhibidores, que incluyen la inhibición mediada por el factor XIIIa de la trombospondina-1 (TSP-1) y la generación de inhibidores de la angiogénesis endostatina y angiostatina por las MMPs.

con vitamina B reducen sustancialmente los niveles de homocisteína, los resultados de ensayos clínicos aleatorios controlados con placebo, que evalúan el efecto de la terapia con vitaminas en los resultados en estas enfermedades, generalmente han quedado por debajo de las expectativas. Loscalzo (6), publica una revisión donde señala que estos ensayos han incluido generalmente pacientes con niveles de homocisteína ligeramente elevados y no han abordado varios escenarios clínicos en los que la reducción de la homocisteína puede ser eficaz, incluida la prevención primaria de la enfermedad aterotrom-

bótica, en individuos con riesgo bajo o intermedio o aquellos con hiperhomocisteinemia grave.

### Criterios Genéticos

El metabolismo de la homocisteína posee una relación intrínseca con la actividad de la enzima metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Una mutación común de la MTHFR es la sustitución de alanina por valina (A223V) en la molécula enzimática. El polimorfismo de la MTHFR se manifiesta por variantes heterocigota (C667T) y homocigota (677TT). Estas variantes causan reducción de su actividad (30-70%), con



**Fig.3.** Hiperhomocisteinemia y aterosclerosis: La homocisteína circula en los vasos sanguíneos mayoritariamente unida a proteína pero otras formas como homocisteína libre, complejo homocisteína-homocistina y homocisteína tiolactona, esta última al parecer es la forma tóxica de la homocisteína, ella al unirse a moléculas de lipoproteína de baja densidad (LDL) forman el complejo homocisteína-tiolactona, interviniendo en la formación de células espumosas a nivel del endotelio vascular, en el interior de ellas comienzan la producción de sustancias oxígeno reactivas dando lugar a disfunción endotelial, proliferación de células musculares lisas, peroxidación lipídica y oxidación de la LDL factores que en conjunto dan lugar a la formación de la placa aterosclerótica como punto de partida para la presencia de trombosis.

aumento de las concentraciones plasmáticas de la homocisteína. La hiperhomocisteinemia se ha identificado como factor de riesgo independiente para enfermedad de los sistemas cardiovascular, cerebrovascular, vascular periférico y neurodegenerativo (8,9) y podría tener origen genético o relacionado con la deficiencia de folato. Se ha encontrado alta prevalencia del polimorfismo de la MTHFR en indígenas de Centro y Sur América y en otros grupos étnicos, asociada a incremento de la homocisteína plasmática y niveles bajos de folato y vitamina B12 (10-12).

Las variaciones que implican una alteración en el ciclo de la remetilación de la metionina pueden ser de orden genético, nutricional o ambos. La homocisteína por su relación con trombofilia hereditaria, puede influir o contribuir a la formación de trombos vasculares y formar parte de la carga mundial de enfermedades

cuya patología es la formación de un trombo en cualquier sitio del árbol circulatorio.

### **Epidemiología de la hiperhomocisteinemia y su asociación con el polimorfismo de la metiltetrahidrofolato reductasa en diferentes etnias del occidente de Venezuela**

En los trabajos realizados por Vizcaino y col. (11,12), se confirmó la presencia de una alta proporción de las variantes heterocigota y homocigota de la MTHFR en diferentes etnias del occidente venezolano. La frecuencia genética para ambas variantes (C677T y 677TT), representada en la muestra poblacional, fue de 78% en la etnia Wayuu, 68% en los Yukpas, 92% en los indígenas Barí, 75% en los inmigrantes italianos y 62% en el grupo mestizo. Salazar-Sánchez y col. (10), estudiaron una muestra de la etnia afroamericana, en la región

sur del lago de Maracaibo y hallaron solo 2,5% de variantes en la población estudiada (Tabla II).

La frecuencia alélica para el alelo T, resultó en 52% en los Wayuu, 42% en los Yukpas, 95% en los Barí, 49% en italianos y 40% en el grupo mestizo. Al aplicar el equilibrio de Harvey-Weinberg, para las diferentes poblaciones, se observó que a excepción de la etnia Barí, todas las demás estaban en equilibrio (según la prueba de  $\chi^2$ ), porque los apareamientos se producen al azar y no se encuentran sometidos a mutación, selección o migración. Las frecuencias génicas y alélicas se mantienen constantes de una generación a otra, de este modo, la ley de Harvey-Weinberg constituye una hipótesis nula, útil para fines de exploración: si las frecuencias genotípicas observadas se desvían en forma significativa de las calculadas, de acuerdo a una asunción de equilibrio como ocurre en los indígenas Barí, algo está sucediendo en la población a nivel de fuerzas evolutivas, lo cual puede ser digno de estudio, que en un principio puede

ser atribuido a una alta endogamia. De estos estudios se observa que los indígenas y mestizos con variantes anormales de la MTHFR (C677T y 677TT) tienen una alta posibilidad de presentar hiperhomocisteinemia (*Odds ratio* 11,7 para etnia Wayuu, 8,2 para etnia Yukpa y 5,2 para los mestizos) (Tabla III).

En relación con las etnias indígenas estudiadas en los trabajos de Vizcaíno y col. (11,12), se demostró que los niveles de homocisteína plasmática se incrementaban significativamente al estar en presencia de variantes homocigota y heterocigota de la MTHFR y que este aumento era mucho mayor en los homocigotos y que estos niveles se correlacionaban indirectamente con las concentraciones séricas de ácido fólico y de vitamina B12 (Tabla IV). Estos hallazgos podrían ser extrapolados a las demás poblaciones estudiadas. En relación con la hiperhomocisteinemia, ésta estuvo presente en 19% de los individuos estudiados, pero solo 5% presentaron deficiencia de ácido fólico (12), aunque todos

**TABLA II**  
POLIMORFISMO DE LA MTHFR. FRECUENCIA GENÉTICA (FG)  
Y FRECUENCIA ALÉLICA (FA) EN DIFERENTES ETNIAS

Etnia (N°)	FG			FA		HW* (p)
	CC	CT	TT	C	T	
Wayuu (60)	0,217 (13)	0,533 (32)	0,250 (15)	0,483	0,517	0,999 (NS)
Yukpa (80)	0,313 (25)	0,537 (43)	0,150 (12)	0,581	0,419	0,999 (NS)
Barí (38)	0,026 (1)	0,053 (2)	0,921 (35)	0,053	0,947	0,214 (<0,001)
Italianos (42)	0,238 (10)	0,548 (23)	0,214 (9)	0,512	0,488	0,999 (NS)
Mestizos (77)	0,363 (28)	0,467 (36)	0,169 (13)	0,597	0,403	0,999 (NS)

\* Harvey-Weinberg

**TABLA III**  
RELACIÓN (*ODDS RATIO*) ENTRE HIPERHOMOCISTEINEMIA Y VARIANTES POLIMÓRFICAS DE LA MTHFR VS NORMALES EN LAS ETNIAS ESTUDIADAS

TT + CC vs CC	Odds ratio (IC95%)	p
Wayuu	11,69 (0,64-210,2)	NS
Yukpa	8,19 (1,013-66,31)	<0,02
Italianos	0,93 (0,08-10,1)	NS
Mestizos	5,2 (1,08-24,9)	<0,03

**TABLA IV**  
RELACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO DE LA MTHFR Y NIVELES DE HOMOCISTEINA, ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B12 EN INDÍGENAS DEL OCCIDENTE DE VENEZUELA

Genotipo	Homocisteína	Ácido fólico	Vitamina B12
MTHFR	μmol/L	nmol/L	pmol/L
Homocigoto	16,61 ± 3,36*	11,14 ± 3,1**	273 ± 33***
677TT	(12)	(14)	(14)
Heterocigoto	10,96 ± 0,56	15,72 ± 2,2	327 ± 42
C677T	(43)	(50)	(50)
Normal	9,33 ± 0,51	18,81 ± 2,8	436 ± 77
677CC	(25)	(27)	(27)

Los valores estan expresados como promedio ± EE. ( ) N° de casos. \*p<0,004 677TT vs 677CC y p<0,05 C677T vs 677TT para homocisteína; \*\* p<0,04 677TT vs 677CC y p=NS C677T vs 677CC para ácido fólico y \*\*\* p=NS entre los dos grupos vs normales para vit. B12.

los sujetos deficientes de folato tuvieron hiperhomocisteinemia. En este sentido, el factor genético juega aparentemente en nuestra región, un papel más importante que el estado nutricional en la presencia de hiperhomocisteinemia y, en consecuencia, de su efecto como factor de riesgo cardiovascular. Son pocos los estudios que se han realizado en Venezuela sobre asociación con el polimorfismo de la MTHFR y homocisteinemia. García y col. (13), realizaron un estudio en etnias mestiza y afrodescendiente, encontrando en los primeros 38,7% de variantes polimórficas a expensas principalmente de heterocigotos y 14,1% de hiperhomocisteinemia, en

los afrodescendientes la presencia de variantes de la MTHFR fue de 12,2% a expensas únicamente de la variante C677T. En este trabajo llama poderosamente la atención la alta deficiencia de ácido fólico lo que implica notablemente a factores nutricionales más que genéticos y por ello no se encuentra una fuerte correlación entre folato y homocisteinemia elevada. Estos trabajos guardan una gran similitud con estudios hechos en otros países como el estudio noruego Hordaland-Homocisteína (14), en este estudio se demostró que a medida que aumentaba la diferencia de las concentraciones de homocisteína, esta se asociaba significativamente con

disminución del folato plasmático y que esto era más pronunciado en las variantes homocigotas y heterocigotas (genotipos TT y CT), aunque una evidente asociación entre hiperhomocisteinemia, deficiencia de ácido fólico y enfermedad cardiovascular sería solo demostrada en una región con bajos niveles de folato en la población general, porque los hallazgos en regiones con altos niveles de consumo de folato la asociación MTHFR y enfermedad cardiovascular (ECV) hasta ahora presentan mucha discrepancia (15).

Estos hallazgos serían argumentos a favor de una interacción genética-ambiental. En este sentido, estudios sobre ECV en países en vías de desarrollo con baja ingesta de folato, serían necesarios para establecer comparaciones definitivas. Otros estudios han demostrado asociación de varios polimorfismos genéticos a través de estudios de polimorfismos simples de nucleótidos (PSN), accidente cerebrovascular isquémico (ACV) y enfermedad de grandes vasos (16). Las concentraciones preexistentes de ácido fólico modifican los niveles de homocisteína, de hecho, las políticas de fortificación de alimentos con folato para prevenir, por ejemplo, defectos del tubo neural han sido efectivas en varios países (17), sin embargo, se esperaría también que la posible asociación MTHFR 677C→T y ACV pudiera ser modificable preventivamente, aunque estudios de meta análisis sobre intervención con ácido fólico y ACV no demostraron asociación en ensayos aleatorios (15), pero una observación a estos trabajos de investigación es que habían sido hechos predominantemente en poblaciones con alto consumo de folato en la dieta diaria.

### Medición de la homocisteína plasmática

La mayoría de los estudios clínicos que implican a la homocisteína se han basado en la medición del total de homocisteína plasmática (tHci), que incluye homocisteína, disulfuros mixtos que implican homocisteína, homocisteí-

na-tiolactona, homocisteína libre y homocisteína ligada a proteínas. La homocisteína unida a proteínas (es decir, unida a disulfuro) representa entre el 70% y el 80% del total. Las concentraciones plasmáticas normales de homocisteína están comprendidas entre 5 y 15  $\mu\text{mol/L}$  en ayunas. Kang y col. (18) han clasificado la hiperhomocisteinemia como moderada (concentración de homocisteína, 15 a 30  $\mu\text{mol/L}$ ), intermedia (> 30 a 100  $\mu\text{mol/L}$ ) y severa (> 100  $\mu\text{mol/L}$ ) en las concentraciones medidas durante el ayuno.

El valor pronóstico de la prueba de sobrecarga de metionina ha sido criticado: Gallager y col.(19), demostraron que en personas con la variante termolábil de la MTHFR, hubo una débil asociación entre las concentraciones de homocisteína plasmática después de la exposición a la metionina y la enfermedad coronaria prematura (*odds ratio*, 1,7;  $p = 0,12$ ), mientras que se observó una asociación significativa entre las concentraciones plasmáticas de homocisteína, sin el efecto de la sobrecarga de la metionina, durante el ayuno y la coronariopatía prematura (*odds ratio*, 2,0;  $p < 0,04$ ). Estos autores concluyeron que esta enzima regula las concentraciones basales de homocisteína, por lo tanto, su actividad no puede ser adecuadamente evaluada por una prueba de sobrecarga de metionina.

Una pregunta obligada surge cuando se trata de asociar las concentraciones plasmáticas de homocisteína con el polimorfismo de la MTHFR, ¿Cuál es la sensibilidad y la especificidad de la prueba de la homocisteína, para descartar o no la posibilidad de la presencia de variantes genéticas de la MTHFR?

La sensibilidad implica la proporción de pacientes con la enfermedad que poseen una prueba positiva y la especificidad denota la proporción de pacientes sin la enfermedad con una prueba negativa. Cuando la sensibilidad es alta (>80%) se cumple la regla nemotécnica “SeNDES”, es decir: ante una alta Sensibilidad una prueba Negativa DEScarta el diagnóstico y

ante una alta especificidad (>80%) se cumple el acrónimo “EsPIN”: ante una alta Especificidad, una prueba Positiva es INdicativa o confirma el diagnóstico. Adicionalmente, se puede calcular el valor predictivo positivo (VP+), el cual es la proporción de pacientes con una prueba positiva que presenta la enfermedad y el valor predictivo negativo (VP-) es la proporción de pacientes con una prueba negativa que no posee la enfermedad.

Todo ello puede conducir a cuatro tipos de pacientes dentro de una prueba de laboratorio: verdaderos positivos, falsos positivos, verdaderos negativos y falsos negativos, los cuales pueden deducirse al calcular los parámetros anteriormente mencionados (20).

En este sentido, se decidió calcular la sensibilidad y especificidad en el estudio de genética de poblaciones realizado por Vizcaíno y col. (11,12), tomando como ejemplo la población indígena Yukpa (Tabla V), ya que los niveles para establecer la hiperhomocisteinemia fueron determinados para cada etnia según el promedio más dos (2) desviaciones estándar ( $\bar{X} \pm 2$  DE), por lo tanto, el “cut off” o límite superior era diferente en cada etnia, para señalar hiperhomocisteinemia.

El análisis demostró una alta sensibilidad (93,3%), por lo que una prueba con niveles normales de homocisteína, descartaría casi con seguridad la presencia de variantes de la MTHFR; adicionalmente, una moderada especificidad encontrada (37%), señala que una prueba positiva no indica necesariamente la presencia de variantes de la MTHFR. De acuerdo con este estudio, el VP(+) de solo 25,4% de los sujetos podría presentar variantes hetero u homocigota para MTHFR y con una VP(-) de 96%, se puede asegurar casi con absoluta certeza que los individuos con homocisteína normal, no presentan variantes polimórficas de la MTHFR. Para el resto de las etnias estudiadas, los valores se acercaron o estuvieron alrededor de los datos

encontrados en los indígenas Yukpa.

### **Deficiencias nutricionales que causan hiperhomocisteinemia**

Las deficiencias nutricionales de los cofactores vitamínicos (ácido fólico, vitamina B12 y vitamina B6) requeridos para el metabolismo de la homocisteína, pueden provocar la hiperhomocisteinemia. Se han observado elevadas concentraciones de homocisteína en pacientes con deficiencias nutricionales de vitamina B12 y de folato (21). Existe reportada, una correlación negativa entre las concentraciones séricas de vitamina B12, folato y vitamina B6 y homocisteína plasmática en sujetos normales. Selhub y col. (22) han sugerido que las concentraciones plasmáticas inadecuadas de una o más vitaminas del grupo B, son factores contribuyentes en aproximadamente dos tercios de todos los casos de hiperhomocisteinemia: los suplementos vitamínicos pueden normalizar altas concentraciones de homocisteína; sin embargo, queda por determinar si la normalización de las concentraciones de homocisteína mejoraría la morbilidad y la mortalidad cardiovascular.

### **La homocisteína como factor independiente de riesgo cardiovascular**

Las causas de hiperhomocisteinemia están relacionadas con patologías o alteraciones metabólicas de origen diverso, como se mencionó anteriormente, involucran a aquellas afecciones que poseen un patrón genético, nutricional y también puede estar asociada a enfermedad cardiovascular, renal, ósea, cáncer, diabetes, enfermedades neurológicas y/o deficiencia cognitiva, además de factores demográficos y de consumo como la edad, menopausia, alcohol, tabaco y café (Fig. 4).

### **Asociación entre hiperhomocisteinemia y aterosclerosis**

La evidencia experimental sugiere que la

**TABLA V**  
**SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA HOMOCISTEINA**  
**(HIPERHOMOCISTEINEMIA: > 14,40 MMOL/L) EN RELACIÓN CON LA**  
**PRESENCIA DE VARIANTES DE LA MTHFR EN INDÍGENAS YUKPA**

Variantes	Hiperhomocisteinemia		Valor Normal	Total
CT + TT	14	a b	41	55
CC	1	c d	24	25
Total	15		65	80

Sensibilidad=  $a/a+c= 93,3\%$

VP+ =  $a/a+b= 25,4\%$

Especificidad=  $d/d+b= 37\%$

VP- =  $d/d+c= 96\%$

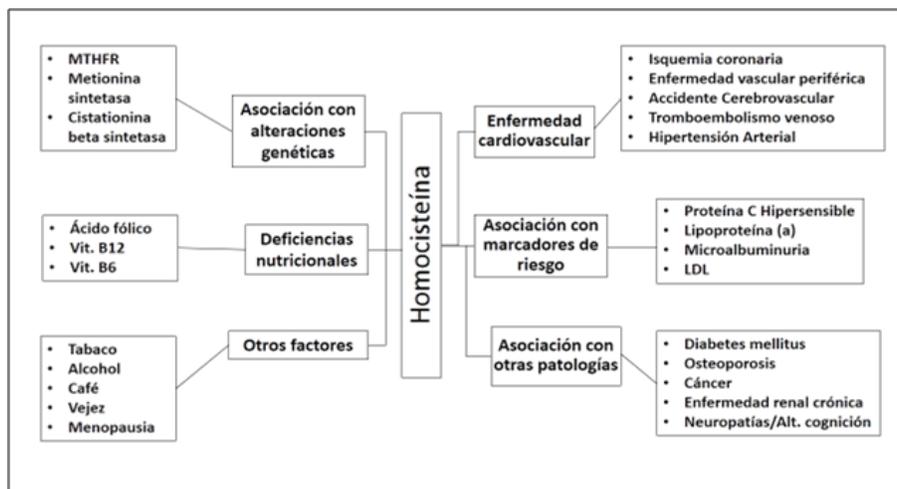
Valor Predictivo (+): 25,4% de los individuos con hiperhomocisteinemia podrían presentar variantes para la MTHFR.

Valor Predictivo (-): 96% de los individuos con homocisteína normal posiblemente no presentan variantes para MTHFR

propensión aterogénica asociada con la hiperhomocisteinemia, es consecuencia de la disfunción endotelial y la lesión es seguida de la activación plaquetaria y la formación de trombos. Los estudios en seres humanos y animales, señalan que la aterosclerosis inducida por homocisteína, se caracteriza por una acumulación plaquetaria sustancial y una formación de un trombo rico en plaquetas en áreas de lesión endotelial. Probablemente la hiperhomocisteinemia influye en un aumento de la reactividad plaquetaria según lo demuestran estudios en pacientes con enfermedad coronaria bajo tratamiento con aspirina (ASA), efecto conocido como “resistencia a la aspirina” (23), aunque no se describe alteración cuando se emplean antagonistas de ADP (24).

En 1969, McCully propuso por primera vez que la homocisteína causaba aterosclerosis (25). Su hipótesis se basó en el hallazgo de la placa aterosclerótica en las autopsias de jóvenes con homocistinuria. Esta hipótesis fue posteriormente modificada para incluir una población más amplia, postulando que la hiperhomocisteinemia leve causada por deficiencias en la dieta de los cofactores vitamínicos necesarios para el metabolismo de la homocisteína (ácido fólico, vitamina B12 y vitamina B6), es un factor de

riesgo para la aterotrombosis. En los países desarrollados, estas vitaminas son parcialmente eliminadas de los alimentos durante el procesamiento (26) y las dietas típicas son ricas en el aminoácido precursor metionina (que se deriva de las proteínas animales). Estas condiciones podrían dar lugar a elevadas concentraciones de homocisteína. Dos grandes estudios prospectivos han evaluado el riesgo de enfermedad coronaria en pacientes con hiperhomocisteinemia: En el Physicians Health Study, 14.916 médicos varones sin aterosclerosis conocida, tuvieron una medición inicial de homocisteinemia y se siguieron prospectivamente durante un promedio de cinco años (27). Los hombres cuyas concentraciones de homocisteína plasmática estuvieron 12% por encima del límite superior de normalidad, presentaron un aumento de aproximadamente tres veces en el riesgo de infarto de miocardio, en comparación con aquellos con niveles más bajos, incluso después de la corrección de otros factores de riesgo. Los autores estimaron que el 7% de los 271 infartos de miocardio observados se podría atribuir a la hiperhomocisteinemia. El diseño prospectivo del estudio eliminó la posibilidad de que la aterosclerosis misma pudiera haber alterado



**Fig.4.** Relaciones de la homocisteína con diversas patologías y marcadores de riesgo.

las concentraciones de homocisteína. El estudio prospectivo de Trømso (28), informó resultados similares, y varios otros estudios prospectivos han indicado sistemáticamente que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente para la enfermedad vascular (28,29).

### Homocisteína y enfermedad cardiovascular

Algunos estudios prospectivos han mostrado asociación entre la homocisteína y enfermedad cardiovascular (27,28,30-37) (Tabla VI) y otros, incluyendo la intervención múltiple de factores de riesgo y el riesgo de aterosclerosis en comunidades (38-42), no encontraron ninguna asociación significativa (Tabla VII). La tabla VIII resume los datos de varias publicaciones sobre intervención multivitamínica (ácido fólico, vitamina B12 y/o vitamina B6) y la reducción de los niveles de homocisteína en sangre y sus probables consecuencias sobre eventos cardiovasculares (43-51).

Las razones de estos resultados contradictorios no han sido bien establecidas, atribuyéndose a que pueden estar relacionados con las diferencias en la dieta, estilo de vida y otros factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares,

más otras características que incluyen la duración del seguimiento, la manipulación y almacenamiento de muestras de sangre. No obstante, cabe destacar que los estudios prospectivos de poblaciones de pacientes en alto riesgo de eventos cardiovasculares, consistentemente reportan asociaciones positivas entre Hci, ácido fólico y morbilidad o mortalidad cardiovascular y mortalidad por todas las causas (36,37,42,44,45,50-53).

En los estudios de seguimiento de la cohorte de Framingham (54) y una cohorte de residentes de Jerusalén (55), se demostró que la tHci tiene asociaciones fuertes y significativas con la mortalidad cardiovascular y por todas las causas. Uno de los estudios más consistentes que relacionan la homocisteína como factor de riesgo independiente para ECV, es el estudio noruego Hordaland (56), en este estudio se corrobora la hipótesis de que la tHci está más fuertemente asociada con eventos vasculares agudos que con el proceso aterosclerótico de evolución lenta. En los participantes con bajo riesgo de enfermedad cardiovascular, se halló una asociación ligeramente más débil pero altamente significativa entre tHci y mortalidad por todas las causas,

**TABLA VI**  
RESUMEN DE PUBLICACIONES QUE AVALAN LA RELACIÓN HOMOCISTEÍNA (Hci) CON ENFERMEDAD CORONARIA Y/O ACCIDENTE CEREBRO VASCULAR

Autor (ref)	Nº individuos	País	Resultado (IC95%)	Comentario
Stampfer y col. (26)	14916	EEUU	RR= 3,4 (1,3-8,8)	Hci están asociada con riesgo de IM
Arnesse y col. (27)	21826	Noruega	RR=1,41 (1,16-1,71)	Hci factor de riesgo independiente para ECV
Wald y col. (29)	21520	Inglaterra	Aumento del riesgo por cada 5 umol/L	Relación causal entre Hci y ECV
Perry y col. (30)	5661	Inglaterra	ACV: O.R=1,3-2,8. 2º a 4º cuartil	Hci factor de riesgo independiente para ACV
Bots y col. (31)	7983	Holanda	OR= 2,43(1,11-5,35) para IM y 2,53(1,19-5,35) para ACV	Hci elevada riesgo para ECV en sujetos de edad
Ridker y col. (32)	28263	EEUU	RR= 2,0(1,1-3,8)	Hci aumenta riesgo para ECV en mujeres postmenopáusicas
Stehouwer y col. (33)	872	Holanda	OR= 1,81 (1,07-3,08) para IM y 4,61 (1,79-11,89) para ACV	Hci factor de riesgo predictivo para ACV y en menor grado para IM
Giles y col. (34)	4534	EEUU	OR= 2,9 (1,4-5,7)	Hci elevada probabilidad aumentada para ACV
Bostom y col. (35)	73	EEUU	HR= 3,0 (1,1-8,1) a 4,4 (1,6-12,2)	Aumento de Hci en pacientes con diálisis puede contribuir a ECV
Petri y col. (36)	337	EEUU	2,44 (1,04-5,75) para ACV	Hci factor de riesgo independiente para ACV

RR= Riesgo Relativo, OR= *Odds ratio*, HR= *Hazard ratio*. IM= infarto al miocardio, ACV= accidente cerebrovascular, ECV= Enfermedad cardiovascular.

**TABLA VII**  
RESUMEN DE PUBLICACIONES CON RESULTADOS NEGATIVOS PARA  
RELACIONAR HOMOCISTEINA (Hci) CON ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR  
Y/O ACCIDENTE CEREBROVASCULAR

Autor (ref)	N° individuos	País	Resultado (IC95%)	Comentario
Alfthan y col. (37)	7424	Finlandia	OR= 1-1,26 no significativa	Hci no guarda relación con enfermedad aterosclerótica
Ubbink y col. (38)	2290	Sur África	Diferencia promedio de Hci no significativa	Hci débil predictivo para ECV
Evans y col. (39)	712	EEUU	OR= 1,03 a 0,92 de 1° a 4° cuartil	No hay asociación entre Hci y ECV
Folsom y col. (40)	15792	EEUU	RR= 0,28 (0,1-0,7) para vit B6, no asociación con MTHFR mutación	No hay certeza que Hci sea factor de riesgo causal de ECV
Moustapha y col. (41).	176	EEUU	RR= 1,01 (1-1,01)	Asociación débil entre Hci y enf. Renal terminal.

RR= Riesgo Relativo, OR= *Odds ratio*. ECV= Enfermedad cardiovascular, MTHFR= metiltetrahidrofolato reductasa.

en este subgrupo, el estudio fue insuficiente para poder establecer significación para el aumento de la mortalidad cardiovascular del 35% por cada incremento de 5  $\mu\text{mol/L}$  de tHci. Esta estimación coincide notablemente con el 33% de aumento en la mortalidad por cardiopatía isquémica informado en una cohorte británica (31).

Aunque no se puede explicar completamente la heterogeneidad de los resultados entre los estudios prospectivos, algunos de ellos muestran una débil asociación entre Hci y ECV que puede esperarse después de la exclusión de las personas con afecciones que incrementan el riesgo cardiovascular, como la hipertensión o la diabetes. En este sentido, algunos estudios no apoyan la hipótesis de que una alta concentración de homocisteína sérica es un factor de ries-

go de eventos coronarios en una población libre de enfermedad cardíaca. Sin embargo, sí sugiere que la hiperhomocistinemia leve, predice eventos coronarios secundarios en hombres con cardiopatía, posiblemente como consecuencia de cambios ateroscleróticos (57).

#### Homocisteína y tromboembolismo venoso

Una de las evidencias que soportan el papel de la hiperhomocisteinemia y tromboembolismo venoso, es el trabajo de Den Jeiger y col. (58). En un metanálisis de 24 estudios retrospectivos (n=3289 casos) y tres estudios prospectivos (n=476 casos), examinaron la asociación de homocisteína con trombosis venosa. Además se realizó un metanálisis de 53 estudios (n=8364 casos) del genotipo MTHFR  $\rightarrow$  677TT (que in-

**TABLA VIII**  
**RESULTADOS DE INTERVENCIÓN MULTIVITAMÍNICA (ÁCIDO FÓLICO, VITAMINA B12 Y/O VITAMINA B6) SOBRE LA REDUCCIÓN DE NIVELES DE HOMOCISTEINA (Hci) EN EVENTOS CARDIOVASCULARES**

Autor (ref)	Nº individuos	País	Resultado (IC95%)	Comentario
Toole y col. Estudio VISP (42)	3680	EEUU, Canadá y Escocia	Hci inferior de 3 umol/L de diferencia: riesgo de ACV <10%, <26% de eventos para cardiopatía corona- riopatía y <16% de riesgo de muerte	La reducción moderada de Hci total después de un ACV no incapacitante no tuvo ningún efecto sobre los resultados du- rante 2 años de seguimiento.
Bønaa y col. Estudio NORVIT (43)	3749	Noruega	RR= 1,08 (0,93-1,25)	El tratamiento con multivita- minas no disminuyó el riesgo de ECV recurrente después del IM
Park y col. (44)	4643	Corea del Sur, Canadá y EEUU	HR= 0,71 (0,58 to 0,88)	La reducción de Hci con vitaminas B está relacionada con una reducción significati- va (29%) en el riesgo total de ictus
Hankey y col. Estudio VITATOPS (45)	3089	Australia	RR: 1,01 (0,69-1,48)	La suplementación diaria con ácido fólico, vitamina B6 y vitamina B12 a pacientes cog- nitivamente no afectados con ACV disminuyó la Hci, pero no tuvo efecto sobre la inci- dencia de deterioro cognitivo
Armitage y col. Estudio SEARCH (46)	12064	Inglaterra	RR: 1,04 (0,97-1,12)	Las reducciones a largo plazo de los niveles de Hci en la sangre con suplementos de ácido fólico y vitamina B12 no tuvieron efectos beneficiosos sobre los resultados vasculares
HOPE-2 investigadores (47)	5522	EEUU	RR=0,95 (0,84-1,07) para ECV y 0,75 (0,59-0,97) para ACV	Suplementos vitamínicos no reducen el riesgo para ECV, pero hay una leve reducción en eventos de ACV

RR= Riesgo Relativo, OR= Odds ratio. ECV= Enfermedad cardiovascular, MTHFR= metiltetrahidrofolato reductasa, ACV= accidente cerebrovascular.

crementa la homocisteína) para evaluar si esta asociación es causal. Se encontró que un nivel de homocisteína mayor a 5  $\mu\text{mol/L}$ , por encima de valores normales, se asoció con un riesgo de trombosis venosa de 27% (IC95%:1-59) en estudios prospectivos y un 60% (IC 95%:10-134) de mayor riesgo en los estudios retrospectivos. El genotipo 677TT se asoció con un 20% (IC95%:8-32) de mayor riesgo de trombosis venosa en comparación con el genotipo 677CC. El genotipo 677TT no tuvo ningún efecto sobre la trombosis venosa en sujetos de Norteamérica, probablemente debido a la mayor ingesta de folato y riboflavina en esta región, en contraste con los estudios no estadounidenses. Este metaanálisis de estudios prospectivos y retrospectivos demuestra una asociación modesta de homocisteína con trombosis venosa. El elevado riesgo asociado con el genotipo MTHFR 677TT proporciona cierto apoyo para la causalidad.

Otros estudios de casos y controles mostraron también que la hiperhomocisteinemia leve o moderada (causada por la interacción de factores ambientales con anomalías genéticas leves del metabolismo de Hci), se asocia con un mayor riesgo de TEV; sin embargo, aún es incierto si el tratamiento con vitaminas también disminuye el riesgo de TEV en estos pacientes (59). Otro efecto ya conocido es la asociación de MTHFR-hiperhomocisteinemia con otros factores hereditarios de riesgo cardiovascular como Factor V Leiden y la protrombina G20210A. El estudio EDITH (60), encontró un *odds ratio* de 4,0 (1,5-11,0) y 6,0 (1,3-27,0) respectivamente, para el efecto de la combinación de estos factores, lo que sugiere una mejor estimación del riesgo relacionado con la doble exposición, que podría ayudar a optimizar la prevención del tromboembolismo venoso, aunque persisten resultados controversiales que niegan esta asociación (61).

### Homocisteína y accidente cerebrovascular

Los resultados de varios estudios (62-64), sugieren que el efecto de la variante MTHFR 677C→T sobre la concentración de homocisteína podría ser modificado por las concentraciones de ácido fólico, asumiendo que altas concentraciones de folato se asocian con un reducido efecto del polimorfismo de ésta variante sobre las concentraciones de homocisteína. Esta sugerencia podría estar relacionada con la evidencia de que bajas concentraciones de folato están asociadas a un incremento de ACV (65) y esto tendría que ver con la interacción genética-ambiental porque el ácido fólico juega un papel importante en el metabolismo de la homocisteína.

Un estudio hecho en Turquía (66), encontró que la hiperhomocisteinemia ( $> 15,90$  micromol/L) fue más frecuente en pacientes con ACV aterosclerótico de grandes vasos y ACV cardioembólico ( $p = 0,0435$  y  $p = 0,007$ , respectivamente); sin embargo, se encontró que era un factor de riesgo solo en pacientes con ACV cardioembólico ( $p = 0,023$ ; *odds ratio* (OR): 5,745). Además, en los pacientes con ACV de vasos grandes, la hiperhomocisteinemia se correlacionó positivamente con el nivel de lipoproteína (a) ( $r = 0,227$ ,  $p = 0,035$ ). El estudio concluye que la hiperhomocisteinemia es común en pacientes con ACV aterosclerótico de grandes vasos y ACV cardioembólico. Más importante aún, la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente solo para el ACV cardioembólico en la población turca.

Por otra parte, las bajas concentraciones de folato y vitamina B12 asociadas a hiperhomocisteinemia en ACV, pueden conducir a un déficit cognitivo. Jiang y col. (67), estudiaron retrospectivamente 82 pacientes con déficit cognitivo vascular no demencial (DCVND) y concluyeron que los altos niveles de tHci en los pacientes con DCVND pueden estar correlacionados con un deterioro de la función cognitiva.

El estudio HOPE-2 (48), demostró que el

tratamiento con vitaminas provocó una reducción de los niveles plasmáticos de homocisteína, pero no una reducción significativa de los desenlaces por enfermedad cardiovascular. Adicionalmente, este ensayo mostró una reducción marginalmente significativa en la frecuencia de ACV (una reducción de 3  $\mu\text{mol/L}$  en la homocisteína sérica podría disminuir el riesgo de enfermedad coronaria en 18% y 24% en ACV después de un seguimiento de más de 7 años) entre pacientes del grupo vitaminas en comparación con placebo.

En el estudio VITATOPS (Vitamins To Prevent Stroke) (68), los resultados publicados basados en el efecto de la terapia con vitamina B en la población total estudiada proporcionan una estimación limitada del “efecto real” una vez que se alcanza la reducción de homocisteína como objetivo. Los beneficios marginales a favor de la terapia con vitamina B también se diluyeron mediante el uso de dosis más bajas de vitamina B12 (0,5 mg). Los individuos ancianos requieren dosis más altas de B12, como 1000 g/día, para lograr una absorción adecuada. Está en discusión las diferencias entre el infarto de miocardio y el accidente cerebrovascular y se enfatiza que los accidentes cerebrovasculares son mucho más propensos a ser embólicos, y que la trombosis es más importante en la patogénesis del accidente cerebrovascular. La homocisteína elevada cuadruplica el riesgo de accidente cerebrovascular en la fibrilación auricular, pero no se ha establecido el papel de la homocisteína y su terapia reductora en diferentes subtipos de ACV (por ejemplo, cardioembólico, enfermedad aterosclerótica de vasos grandes, etc.).

En conclusión, hay un incremento de la evidencia de que la hiperhomocisteinemia moderada puede ser un factor de riesgo independiente para enfermedad aterosclerótica y aterotrombosis en vasos coronarios, cerebrales y estructuras vasculares periféricas (69,70).

### **Homocisteína como factor asociado a marcadores de riesgo cardiovascular**

Estudios epidemiológicos realizados a lo largo de 30 años han demostrado que las concentraciones aumentadas de homocisteína están asociadas con la enfermedad vascular, este vínculo es independiente de otros factores de riesgo y es consistente en muchos estudios. Se ha acumulado evidencia de que este enlace es también biológicamente plausible porque la homocisteína promueve la lesión oxidante al endotelio vascular (71), altera la regulación vasomotora dependiente del endotelio y también puede alterar las propiedades coagulantes de la sangre, aunque estudios de generación de trombina, en tiempo real, indican claramente que concentraciones de Hci  $>18 \mu\text{M}$  no modifican el potencial endógeno de la Trombina (ETP) (72). Como ya se mencionó, los niveles plasmáticos de homocisteína pueden reducirse mediante suplementos dietéticos de ácido fólico y vitaminas B, se ha examinado el papel causal para la homocisteína en la promoción de eventos vasculares (73) y el impacto de estas vitaminas en pacientes de alto riesgo cardiovascular.

Al considerar la utilidad clínica para cualquier marcador de riesgo de enfermedad cardiovascular, se debe considerar en primer lugar la existencia de un ensayo estandarizado y reproducible; si existe una serie coherente de estudios epidemiológicos prospectivos, que indiquen que las elevaciones basales del nuevo marcador predicen un riesgo futuro y si la evaluación del nuevo marcador se agrega al valor predictivo de otros factores de riesgo en plasma (73). En este orden, se han identificado varios marcadores de riesgo “no tradicionales”, tales como lipoproteínas (lipoproteína [a]), de disfunción endotelial (homocisteína), hemostasia (fibrinógeno) e inflamación (proteína C reactiva de alta sensibilidad) a un riesgo excesivo de enfermedad cardiovascular. Estos factores deben ayudar al clínico a identificar mejor a las personas en ries-

go de enfermedad aterosclerótica prematura y/o a mejorar el valor predictivo de los factores de riesgo establecidos para la aterosclerosis (74). En este sentido, se ha observado que el riesgo cardiovascular aumentó marcadamente en sujetos que tenían concentraciones elevadas de Hci y Proteína C reactiva (PCR) y en aquellos que tenían concentraciones elevadas de Hci y colesterol-LDL (75). Otro estudio relaciona la microalbuminuria con hiperhomocisteinemia solo en el sexo masculino en ausencia de diabetes e hipertensión y riesgo cardiovascular (76).

Por otra parte, se han relacionado además de la edad, la circunferencia abdominal y relación cintura/cadera con la homocisteína y la proteína C reactiva como factores predictivos de engrosamiento de la íntima en arterias carótidas (77). Además, la evidencia científica demuestra la posibilidad de mejorar la estratificación del riesgo cardiovascular a través de la evaluación simultánea de biomarcadores múltiples. En particular, estos hallazgos demuestran la necesidad de evaluar la combinación de PCR de alta sensibilidad y homocisteína prospectivamente como predictores de ECV (78).

### **Relación entre homocisteína con otras enfermedades crónicas no transmisibles**

Las enfermedades crónicas no transmisibles, como las cardiopatías, los accidentes cerebrovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes, son la principal causa de mortalidad en el mundo. La duplicación de la esperanza de vida y la cuadruplicación de la población mundial durante el siglo XX se han asociado con una transición de las enfermedades infecciosas a las no transmisibles como la principal causa de muerte y discapacidad en todo el mundo (1).

Una comparación entre pacientes hipertensos con homocisteína elevada e hipertensos con homocisteína normal mostró una asociación después de la estratificación de los factores de

riesgo, con la elevación gradual de la morbilidad por ACV relacionada con el aumento de la glucosa en ayunas, la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD). En el análisis de regresión logística multivariable, sólo la PAS más alta, la PAD, el nivel de glucosa en ayunas, la homocisteína y la historia de diabetes mellitus fueron los predictores independientes de la morbilidad por ACV (79). La hiperhomocisteinemia plasmática se asoció con enfermedad renal crónica (ERC) en una muestra comunitaria de ancianos australianos. Esta asociación parece ser independiente de la diabetes mellitus y la hipertensión (80).

En relación con diabetes, existen evidencias que asocian significativamente la homocisteína con eventos coronarios en individuos con diabetes tipo 2, independientemente de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales (80-84), aunque otros estudios niegan esta relación (85).

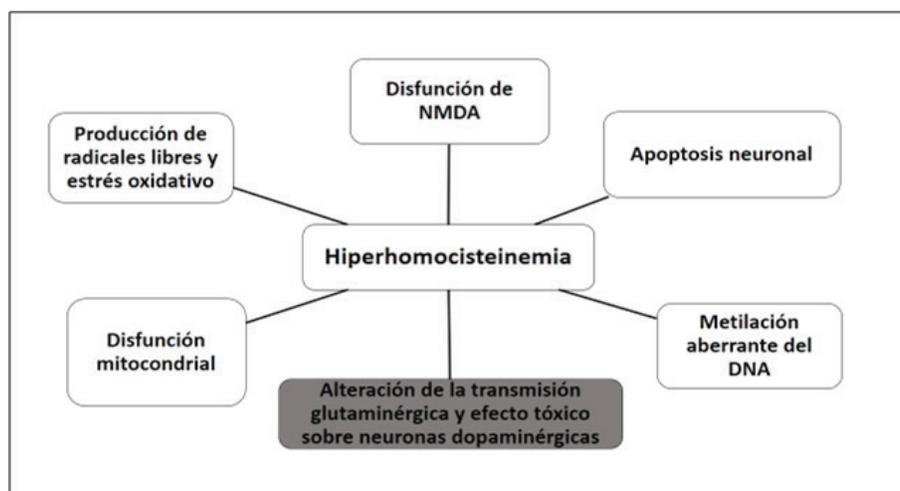
### **Homocisteína y facultades cognitivas**

Aunque la homocisteína (Hci) ha sido ampliamente implicada en la etiología de diversos trastornos de la salud, especialmente las enfermedades cardiovasculares, la evidencia abrumadora indica que la Hci también está involucrada en la fisiopatología de los trastornos neurológicos y de la salud mental. Existen varios mecanismos que vinculan a la Hci con los fundamentos biológicos de los trastornos neurovasculares y cerebrales. Se ha encontrado que la Hci interactúa con los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), iniciando el estrés oxidativo, induce la apoptosis, provoca la disfunción mitocondrial y conduce al daño vascular (Fig. 5). Los niveles elevados de Hci también pueden contribuir al deterioro cognitivo que se observa ampliamente entre los pacientes con trastornos afectivos y esquizofrenia y la suplementación de vitaminas B y ácido fólico ha demostrado ser eficaz en la reducción de los niveles de Hci y mejoría del deterioro cognitivo (86).

La función cognitiva, y sus dominios, componentes de memoria, velocidad y función ejecutiva, disminuyen gradualmente a lo largo de la vida en la mayoría de las personas, la tasa de disminución de la función cognitiva con el aumento de la edad es más rápida en algunas personas, lo que resulta en síndromes clínicos de “deterioro cognitivo leve” y demencia (incluida la enfermedad de Alzheimer)(87). Con la mejoría en la esperanza de vida, el número de casos con deterioro cognitivo leve y demencia, es probable que aumente en todo el mundo. Estudios observacionales han demostrado que la hiperhomocisteinemia plasmática es un factor de riesgo potencialmente modificable para el “envejecimiento cognitivo” (88-95). La hipótesis de que la homocisteína puede tener influencia en la enfermedad de Alzheimer, se sugirió en respuesta a las observaciones de estudios retrospectivos donde los casos con diagnóstico clínico o histológicamente confirmado de enfermedad de Alzheimer, tenían mayores concentraciones de homocisteína en comparación con la edad y con controles pareados por edad y sexo (94,95). Posteriormente, los estudios prospectivos en personas mayores sanas, informaron que

los individuos con concentraciones de homocisteína >de 14  $\mu\text{mol/L}$ , tuvieron un riesgo 2 veces mayor de enfermedad de Alzheimer después de ajustar los factores de riesgo conocidos (93-95). Por otra parte, también se ha implicado a la hiperhomocisteinemia en el deterioro cognitivo leve (DCL o MCI, siglas en inglés) el cual es un estado de deterioro cognitivo mayor al esperado para la edad y el nivel educativo de un individuo, pero no llega a demencia (94). Los individuos con DCL tienen un mayor riesgo de desarrollar Alzheimer en los próximos años (96,97). Esto es particularmente cierto en el subgrupo DCL con pérdida de memoria como un síndrome predominante, una condición denominada DCL amnésica (98). Los estudios sugieren que las personas con DCL tienden a progresar a la EA a una tasa de 10 a 15% por año (99-101) y muchos investigadores consideran el DCL podría ser una forma temprana o prodrómica de la EA. Por otra parte, otros estudios han encontrado que disminuyendo las concentraciones de homocisteína mejora la función cognitiva con DCL y EA (102).

La relación entre la homocisteína total (tHci) y el riesgo de demencia sigue siendo con-



**Fig.5.** Efectos fisiopatológicos de la hiperhomocisteinemia sobre procesos neuronales (ver explicación en el texto).

trovertida, ya que la asociación varía entre distintas poblaciones, medio ambiente y subtipos de demencia. Chacón y col. (103), estudiaron una población venezolana que tiene alta prevalencia de tHci elevada y demencia y, probaron la hipótesis que la hiperhomocisteinemia se asocia con un mayor riesgo de demencia, con un riesgo mayor para la demencia vascular (VaD) que para la enfermedad de Alzheimer (AD) y una historia de accidente cerebrovascular puede explicar en parte esta asociación. En este estudio, 210 participantes ( $\geq 55$  años) del Estudio de Envejecimiento de Maracaibo se sometieron a evaluaciones neurológicas, neuropsiquiátricas y cardiovasculares estandarizadas. La hiperhomocisteinemia se asoció significativamente con la demencia, principalmente de tipo vascular. Cuando se tomaron en cuenta antecedentes de accidente cerebrovascular y otros factores de confusión, la hiperhomocisteinemia siguió siendo un factor de riesgo significativo en sujetos mayores ( $> 66$  años), pero no en sujetos más jóvenes (55-66 años). Los estudios en curso de esta población, pueden proporcionar la penetración en el mecanismo por el cual la hiperhomocisteinemia aumenta riesgo para la demencia.

Otros hallazgos están de acuerdo con los datos que muestran disfunción hipocampal en DCL (104). La relación entre los niveles de colesterol y la función cognitiva depende de los niveles de homocisteína, lo que sugiere un papel interactivo entre el colesterol y la homocisteína, sobre la función cognitiva en la población de edad avanzada con posibles mecanismos subyacentes a la interacción lípido-homocisteína (105). La relación entre homocisteína y deterioro cognitivo también ha sido estudiada por Teunissen y col. (106), durante un seguimiento de seis años, aplicando pruebas de Velocidad cognitiva (prueba de codificación de dígitos de letra), atención y procesamiento de la información (prueba Stroop) y aprendizaje verbal y memoria (prueba de aprendizaje de palabras); a

una población normal entre 30 y 80 años. Las concentraciones séricas de homocisteína, se correlacionaron negativamente con el rendimiento cognitivo durante todo el período de seguimiento de seis años, mientras que una relación entre la vitamina B12 o el ácido fólico y la cognición era casi ausente.

## DISCUSIÓN

La presente revisión muestra que los estudios de defectos genéticos y datos epidemiológicos que vinculan altos niveles de homocisteína sanguínea con enfermedad vascular son consistentes; describiéndose mecanismos biológicos plausibles y persuasivos además de una intervención segura, barata y eficaz (suplementos de folato) disponibles. El suplemento también podría incluir la vitamina B12 oral en dosis que evitarían la falta de factor intrínseco, para evitar enmascarar la anemia perniciosa. En este sentido, se debe seguir una progresión lógica similar antes de que se pueda hacer una recomendación de política de salud pública para la detección y la intervención generalizada en la hiperhomocisteinemia. Sin embargo, debido a que el peso de la evidencia es sustancial y la intervención parece ser benigna, puede ser posible hacer amplias recomendaciones preliminares basadas en ensayos de prevención secundaria o progresión de la enfermedad (por ejemplo, engrosamiento de la pared de la arteria carótida), en lugar de esperar ensayos grandes, costosos y prolongados de prevención primaria. Mientras tanto, sería prudente asegurar una dieta adecuada (107).

Múltiples estudios prospectivos y de casos y controles señalados aquí, han demostrado que una concentración de homocisteína plasmática moderadamente elevada, es un factor de riesgo independiente para la enfermedad vascular aterotrombótica. Las concentraciones de homocisteína son consistentemente más altas en pacientes con enfermedad arterial periférica,

cerebrovascular y coronaria que en aquellos sin estas enfermedades. La homocisteína promueve la aterotrombogénesis por una variedad de mecanismos; sin embargo, aún no está claro si la homocisteína en sí misma o un metabolito o cofactor relacionado, es el principal responsable de los efectos aterotrombogénicos de la hiperhomocisteinemia in vivo. La suplementación con ácido fólico disminuye o incluso normaliza las concentraciones plasmáticas de homocisteína en la mayoría de los casos, pero no reduce la tasa de eventos cardiovasculares. No obstante, se necesitan ensayos clínicos prospectivos aleatorios, para determinar el efecto de la suplementación vitamínica sobre la morbilidad y la mortalidad cardiovascular (108) en países o regiones donde no exista alto consumo de ácido fólico y una mayor exploración de las relaciones entre los intermediarios en esta vía metabólica y su asociación con mediadores aterotrombóticos. Mientras tanto, se deben considerar enfoques alternativos para reducir las concentraciones de homocisteína, tal vez con nuevos métodos para mejorar la conversión de homocisteína en cisteína en el hígado o mejorar la excreción urinaria del aminoácido (108).

Los resultados de un gran número de estudios realizados plantean dos cuestiones que merecen consideración: En primer lugar, ¿el fracaso de la terapia reductora de la homocisteína, para reducir las tasas de eventos cardiovasculares, sugiere que la hipótesis de la homocisteína es incorrecta? Y si es así, ¿es la homocisteína un derivado de otra especie relacionada metabólicamente y que es el verdadero culpable aterogénico?, las respuestas afirmativas a estas preguntas son consistentes con la abundante evidencia in vitro e in vivo de que la homocisteína es un determinante aterogénico que promueve el estrés oxidante, la inflamación, la trombosis, la disfunción endotelial y la proliferación celular (109).

En segundo lugar, si la homocisteína es un

determinante aterogénico ¿Por qué los resultados de los ensayos con la terapia de multivitaminicos, no han sido positivos en la reducción de eventos cardiovasculares? Un mecanismo posible es que, a través de su papel en la síntesis de timidina, el ácido fólico promueve la proliferación celular, por lo tanto puede hacer lo mismo en la placa aterosclerótica. Este mecanismo se ha ofrecido como una explicación de las tasas de empeoramiento de la reestenosis intra-stent, en un estudio reciente de pacientes que se habían sometido a angioplastia y se trataron con ácido fólico, vitamina B12 y vitamina B6 (110). Otra posible explicación se basa en la relación de la homocisteína con el ciclo de metilación: Las altas concentraciones de homocisteína conducen a concentraciones aumentadas de S-adenosilhomocisteína (SAH) y el ácido fólico y la vitamina B12 promueven la remetilación de la homocisteína a metionina que luego se transforma en adenosilmetionina (SAM). Esta última es la única fuente de grupos metilo para todas las reacciones de metilación en la célula (111), como resultado de su influencia en las concentraciones de estos derivados, las altas concentraciones de homocisteína se asocian con un potencial de metilación reducido, mientras que el ácido fólico y la vitamina B12 aumentan este potencial. La metilación de regiones ricas en CpG (regiones cortas de ADN en las que la frecuencia de la secuencia CG es mayor que en otras regiones) en regiones promotoras de ADN, es un mecanismo epigenético para modular la expresión génica. En primer lugar, reconocido como un medio de silenciar genes durante el desarrollo y de inhibir la carcinogénesis, la metilación del ADN también parece desempeñar un papel en la aterogénesis. La aterogénesis implica hipermetilación local e hipometilación de genes y recientemente se ha demostrado que las lipoproteínas aterogénicas, promueven la hipermetilación del ADN en macrófagos humanos cultivados (112, 113). Por lo tanto, el uso

de ácido fólico y vitamina B12 en el contexto de hiperhomocisteinemia leve, puede alterar el potencial de metilación en células vasculares, lo que resulta en un cambio en el fenotipo celular que promueve el desarrollo de la placa.

Una metilación importante que puede promover la aterogénesis, independientemente de los cambios en la expresión génica, es la metilación de la L-arginina para convertirse en dimetilarginina asimétrica (114). Este último, un producto metabólico de los residuos de proteína, inhibe la actividad de la óxido nítrico sintetasa y se asocia con un mayor riesgo de enfermedad vascular. Una vez más, se podría predecir que, al aumentar el potencial de metilación, el tratamiento con ácido fólico y vitamina B12 podría aumentar, o por lo menos no cambiar considerablemente, la concentración de dimetilarginina asimétrica.

En resumen, los niveles elevados de homocisteína total (tHci), se asocian con una plétora de manifestaciones clínicas, desde la concepción hasta el final de la de la vida. Sin embargo, quedan preguntas pendientes. ¿Es la homocisteína per se, responsable de los efectos? Si es así, ¿es posible definir un rango de niveles seguros que pueda ser usado como base para asesorar a las personas sobre cómo deben obtener o retener los niveles “seguros” de tHci? En general, los estudios epidemiológicos, incluido el estudio Hordaland (14), evidencian de forma convincente, que los niveles elevados de tHci están asociados con mayor riesgo de enfermedad. La mayoría de estos estudios sugieren que se observa una asociación significativa cuando los niveles de tHci están por encima de 12 a 15  $\mu\text{mol/L}$ ; sin embargo, los hallazgos en los estudios más amplios sugieren que la relación entre tHci y la enfermedad vasculares usualmente concentración dependiente, con un aumento gradual del riesgo, a un rango por encima de lo normal para tHci. Algunos datos experimentales sugieren que es biológicamente plausible, que

la homocisteína pueda causar daño y alterar las funciones celulares y fisiológicas normales.

La intervención con ácido fólico reduce el riesgo de los defectos del tubo neural, pero si este efecto es causado por una disminución de tHci, sigue siendo una cuestión abierta. En relación a estudios de otras condiciones relacionadas con la homocisteína, como el embarazo y sus complicaciones, ECV, osteoporosis, desórdenes psiquiátricos y trastornos cognitivos, los ensayos de intervención con vitaminas relacionadas con el metabolismo de la Hci, han sido escasos, incompletos y conflictivos. Sin embargo, basados en el referido estudio Hordaland (14), es posible concluir que hay importantes y a veces muy fuertes relaciones entre altos niveles de Hci y enfermedad y entre niveles bajos de Hci y salud. Incluso un aumento de la Hci puede no ser una causa directa de enfermedad, pero puede ser un marcador pronóstico de trastornos crónicos graves y muerte.

Los niveles elevados de Hci son considerados como debidos a un estilo de vida deficiente y un cambio en el estilo de vida hacia una mejor nutrición y el ejercicio físico puede cambiar los niveles de Hci. Por lo tanto, para aquellos con un aumento de Hci, el mejor enfoque es informarles de los riesgos y recomendar un estilo de vida saludable, para lograr niveles más bajos y lo que es más importante, promover un estado de salud óptimo independientemente de si la homocisteína es una causa o un marcador de enfermedad.

### **Recomendaciones de la organización mundial de la salud (OMS) y de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasis (ISTH), en relación con la trombofilia (115)**

Los informes recientes apoyan la hipótesis de que la trombofilia es un trastorno de genes múltiples y que su penetración es mayor entre los portadores de múltiples defectos genéticos y dada su asociación al número de factores de

riesgo presentes en un individuo, es necesario intensificar los esfuerzos para identificar los factores de riesgo genéticos que hasta ahora han escapado a la detección, para que puedan ser incluidos en el diagnóstico y procedimientos de selección genética para trombofilia.

Es necesario elaborar directrices para el uso de pruebas de laboratorio específicas para los procedimientos de identificación de individuos con riesgo genético para trombosis venosa. La colaboración internacional e Investigaciones con protocolo estandarizado son necesarios.

Recomendaciones para la detección de enfermedades trombofílicas hereditarias a nivel nacional sólo se pueden realizar después de que se hayan obtenido datos sobre la epidemiología, riesgo de trombosis y resultados de Intervención terapéutica.

En países en desarrollo, donde los trastornos tromboticos en general parecen tener una baja prevalencia, los pacientes con tromboembolismo venoso deben ser estudiados con el fin de determinar la prevalencia de trombofilia hereditaria. Los estudios familiares deben ser realizados en todos los pacientes en quienes esté bien documentado un defecto genético.

### CONCLUSIÓN

En conclusión, los datos sobre el riesgo trombotico en pacientes y familiares asintomáticos con trombofilia, deben recopilarse para determinar si el riesgo es diferente en países desarrollados y en países en vías de desarrollo y esto aplicaría para la homocisteína como factor protrombotico y su asociación con el polimorfismo de la metiltetrahidrofolato reductasa con sus implicaciones genéticas, nutricionales, cardio-cerebrovasculares, cognitivas y de metabolismo óseo.

### REFERENCIAS

1. **Raskob GE, Angchaisuksiri P, Blanco AN, Büller H, Gallus A, Hunt BJ, Hylek EM, Kakkar TL, Konstantinides SV, McCumber M, Ozaki Y, Wendelboe A, Weitz JI.** Thrombosis: a major contributor to global disease burden. *Semin Thromb Hemost* 2014; 40: 724-735.
2. **Stevens SM, Woller SC, Bauer KA, Kasthuri R, Cushman M, Streiff M, Lim W, Douketis JD.** Guidance for the evaluation and treatment of hereditary and acquired thrombophilia. *J Thromb Thrombolysis* 2016;41:154-64.
3. **De Stefano V, Rossi E, Paciaroni K, Leone G.** Screening for inherited thrombophilia: indications and therapeutic implications. *Haematologica* 2002; 87:1095-1108.
4. **Chambers JC, Skooner J.** Homocysteine: a novel risk factor for coronary heart disease in UK Indian Asians. *Heart* 2001;86:121-122.
5. **Maron BA, Loscalzo J.** The treatment of hyperhomocysteinemia. *Annu Rev Med* 2009;60:39.54.
6. **Loscalzo J.** Homocysteine-mediated thrombosis and angiostasis in vascular pathobiology. *J Clin Invest* 2009;119:3203-3205.
7. **Welch GN, Loscalzo J.** Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1042-1050.
8. **Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, Graham I.** Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Eng J Med* 1991;324:1149-1155.
9. **Veeranna V1, Zalawadiya SK, Niraj A, Pradhan J, Ference B, Burack RC, Jacob S, Afonso L.** Homocysteine and reclassification of cardiovascular disease risk. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1025-1033.

10. **Salazar-Sanchez L, Schuster W, Vizcaino G, Perez-Requejo JL, Jimenez G, Grimm R, Herrmann FH.** The prevalence of three molecular risk factors (G20210A, C677T, Factor V Leiden) in various ethnic groups in Costa Rica and Venezuela. *Thromb Haemost* 1999; 82 (suppl): 275.
11. **Vizcaíno G, Diez-Ewald M, Herrmann FH, Schuster G, Pérez-Requejo JL.** Relationships between homocysteine, folate and vitamin B12 levels with the methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, in indians from western Venezuela. *Thromb Haemost* 2001;85:186-187.
12. **Vizcaíno G, Diez-Ewald M, Herrmann FH, Schuster G, Torres-Guerra E, Arteaga-Vizcaíno M.** La homocisteinemia y su relación con el polimorfismo de la metilentetrahidrofoloreductasa en varios grupos étnicos del occidente de Venezuela. *Invest Clin* 2005; 46:347-355.
13. **García A, López F, Niño C, Fernandez AZ, Ramos MI, Valero J, Tablante A, Arcaya J, Corrales D, De AgrelaM, López A, Apitz-Castro R.** Prevalence of folate deficiency and hyperhomocysteinemia in a developing country: results from a large population study in Venezuela. *Acta Científ Ven* 2006;57 (1): 15-21.
14. **Refsum H, Nurk E, A. Smith D, Ueland PM, Gjesdal CG, Bjelland I, Tverdal A, Tell GS, Nygaard O, Vollset SE.** The Hordaland Homocysteine Study: a community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with disease. *J Nutr* 2006;136:1731S-1740S.
15. **Wang X, Qin X, Demirtas H.** Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet* 2007;369:1876-1882.
16. **Cotlarciuc I, Malik R, Holliday EG, Ahmadi KR, Paré G, Psaty BM.** Effect of genetic variants associated with plasma homocysteine levels on stroke risk. *Stroke* 2014; 45:1920-1924.
17. **Eichholzer M, Tönz O, Zimmermann R.** Folic acid: a public-health challenge. *Lancet* 2006;367:1352-1361.
18. **Kang SS, Wong PW, Malinow MR.** Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992;12:279-298.
19. **Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, Tan KS, McMaster D, Rozen R, Evans A, Graham IM, Whitehead AS.** Homocysteine and risk of premature coronary disease: evidence for a common gene mutation. *Circulation* 1996;94:2154-2158.
20. **Vizcaíno G.** Medicina Basada en la Evidencia y Análisis de Diseños de Investigación Clínica 2002, Editorial EDILUZ, Noviembre 2002, p 86-93.
21. **Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J.** Elevation of total homocysteine in the serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest* 1988;81:466-474.
22. **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;270:2693-2698.
23. **Karolczak K, Kamysz W, Karafova A, Drzewoski J, Watala C.** Homocysteine is a novel risk factor for suboptimal response of blood platelets to acetylsalicylic acid in coronary artery disease: a randomized multicenter study. *Pharmacol Res* 2013;74:7-22.
24. **Verdoia M1, Schaffer A, Pergolini P, Rolla R, Barbieri L, Bellomo G, Sinigaglia F, Marino P, Suryapranata H, De Luca G; Novara Atherosclerosis Study Group (NAS).** Homocysteine levels influence pla-

- telet reactivity in coronary artery disease patients treated with acetylsalicylic acid. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2015;66:35-40.
25. **McCully KS.** Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-128.
  26. **Schroeder HA.** Losses of vitamins and trace minerals resulting from processing and preservation of foods. *Am J Clin Nutr* 1971;24:562-573.
  27. **Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, Tishler PV, Hennekens CH.** A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992;268:877-881.
  28. **Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE.** Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int J Epidemiol* 1995;24:704-709.
  29. **Taylor LM Jr, DeFrang RD, Harris EJ Jr, Porter JM.** The association of elevated plasma homocyst(e)ine with progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1991;13:128-136.
  30. **Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM.** Homocysteine and ischemic heart disease. Results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch Intern Med* 1998;158:862-867.
  31. **Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG.** Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995;346:1395-1398.
  32. **Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, Hoes AW, Hofman A, Witteman JC, Koudstaal PJ, Grobbee DE.** Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: the Rotterdam Study. *Arch Intern Med* 1999;159:38-44.
  33. **Ridker PM, Manson JE, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH.** Homocysteine and risk of cardiovascular disease among post-menopausal women. *JAMA* 1999;281:1817-1819.
  34. **Stehouwer CDA, Weijenberg MP, van den Berg M, Jakobs C, Feskens EJM, Kromhout D.** Serum homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men: a 10-year follow-up. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1895-1901.
  35. **Giles WH, Croft JB, Greenlund KJ, Ford ES, Kittner SJ.** Total homocyst(e)ine concentration and the likelihood of non-fatal stroke: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Stroke* 1998;29:2473-2477.
  36. **Bostom AG, Shemin D, Verhoef P, Nadeau MR, Jacques PF, Selhub J, Dworkin L, Rosenberg IH.** Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2554-2558.
  37. **Petri M, Roubenoff R, Dallal GE, Nadeau MR, Selhub J, Rosenberg IH.** Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1996;348:1120-1124.
  38. **Alfthan G, Pekkanen J, Jauhiainen M, Pitkaniemi J, Karvonen M, Tuomilehto J, Salonen JT, Ehnholm C.** Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994;106:9-19.
  39. **Ubbink JB, Fehily AM, Pickering J, Elwood PC, Vermaak WJH.** Homocysteine and ischaemic heart disease in

- the Caerphilly cohort. *Atherosclerosis* 1998;140:349-356.
40. **Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, Cutler JA, Kuller LH, for the MRFIT Research Group.** Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *ArteriosclerThromb Vasc Biol* 1997;17:1947-1953.
  41. **Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, Hess DL, Davis CE.** Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 1998;98:204-210.
  42. **Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW, Robinson K, Dennis VW.** Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998;97:138-141.
  43. **Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, Sides EG, Wang CH, Stampfer M.** 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;291:565-575.
  44. **Bønaa KH, Njølstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, Wang H, Nordrehaug JE, Arnesen E, Rasmussen K; NORVIT Trial Investigators.** Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006;354:1578-1588.
  45. **Park JH, Saposnik G, Ovbiagele B, Markovic D, Towfighi A.** Effect of B-vitamins on stroke risk among individuals with vascular disease who are not on antiplatelets: A meta-analysis. *Int J Stroke* 2016;11:206-211.
  46. **Hankey GJ, Ford AH, Yi Q, Eikelboom JW, Lees KR, Chen C, Xavier D, Navarro JC, Ranawaka UK, Uddin W, Ricci S, Gommans J, Schmidt R, Almeida OP, van Bockxmeer FM, VITATOPS Trial Study Group.** Effect of B vitamins and lowering homocysteine on cognitive impairment in patients with previous stroke or transient ischemic attack: a prespecified secondary analysis of a randomized, placebo-controlled trial and meta-analysis. *Stroke* 2013;44:2232-2239.
  47. **Armitage JM, Bowman L, Clarke RJ, Wallendszus K, Bulbulia R, Rahimi K, Haynes R, Parish S, Sleight P, Peto R, Collins R.** 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 23;303:2486-2494.
  48. **Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, McQueen MJ and The Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE)2 Investigators.** Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006;354:1567-1577.
  49. **Clarke R, Halsey J, Lewington S, Lonn E, Armitage J, Manson JE, Bønaa KH, Spence JD, Nygård O, Jamison R, Gaziano JM, Guarino P, Bennett D, Mir F, Peto R, Collins R; B-Vitamin Treatment Trialists' Collaboration.** 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;170:1622-1631.
  50. **Miller ER 3rd, Juraschek S, Pas-**

- tor-Barriuso R, Bazzano LA, Appel LJ, Guallar E. Meta-analysis of folic acid supplementation trials on risk of cardiovascular disease and risk interaction with baseline homocysteine levels. *Am J Cardiol* 2010;106:517-527.
51. Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, Karakitsiou DE, Simancas-Racines D. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev* 2015 15;1:CD006612. doi: 10.1002/14651858.CD006612.
  52. 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;337:230-236.
  53. Taylor LMJ, Moneta GL, Sexton GJ, Schuff RA, Porter JM. Prospective blinded study of the relationship between plasma homocysteine and progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1999;29:8-19.
  54. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhub J, D'Agostino RB, Wolf PA, Jacques PF, Wilson PW. Non-fasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. *Arch Intern Med* 1999;159:1077-1080.
  55. Kark JD, Selhub J, Adler B, Gofin J, Abramson JH, Friedman G, Rosenberg IH. Nonfasting plasma total homocysteine level and mortality in middle-aged and elderly men and women in Jerusalem. *Ann Intern Med* 1999;131:321-330.
  56. Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, Nygård O, Nordrehaug JE, Tell GS, Ueland PM. Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am J Clin Nutr* 2001;74:130-136.
  57. Knekt P, Reunanen A, Alfthan G, Heliövaara M, Rissanen H, Marniemi J, Aromaa A. ¿Hyperhomocystinemia: a risk factor or a consequence of coronary heart disease? *Arch Intern Med* 2001;161:1589-1594.
  58. Den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemost* 2005;3:292-299.
  59. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia and venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2006; 32(7): 716-723.
  60. Oger E, Lacut K, Le Gal G, Couturaud F, Abalain JH, Mercier B, Mottier D; EDITH (Etude des Déterminants/Interaction de la THrombose veineuse) Collaborative Study Group. Interrelation of hyperhomocysteinemia and inherited risk factors for venous thromboembolism. Results from the E.D.I.TH. study: a hospital-based case-control study. *Thromb Res* 2007;120(2):207-214.
  61. De Stefano V, Casorelli I, Rossi E, Zappacosta B, Leone G. Interaction between hyperhomocysteinemia and inherited thrombophilic factors in venous thromboembolism. *Semin Thromb Hemost* 2000;26(3):305-311.
  62. Hustad S, Midttun O, Schneede J, Vollset SE, Grotmol T, Ueland PM. The methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T polymorphism as a modulator of a B vitamin network with major effects on homocysteine metabolism. *Am J Hum Genet* 2007;80:846-855.
  63. Chiuve SE, Giovannucci EL, Hankinson SE. Alcohol intake and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism modify the relation of folate intake to plasma homocysteine. *Am J Clin Nutr* 2005;82:155-162.
  64. de Bree A, Verschuren WM, Bjor-

- ke-Monsen 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. *Am J Clin Nutr* 2003;77:687-693.
65. He K, Merchant A, Rimm EB. Folate, vitamin B6, and B12 intakes in relation to risk of stroke among men. *Stroke* 2004;35:169-174.
66. Tascilar N, Ekem S, Aciman E, Ankarali H, Mungan G, Ozen B, Unal A. Hyperhomocysteinemia as an independent risk factor for cardioembolic stroke in the Turkish population. *Tohoku J Exp Med* 2009;218:293-300.
67. Jiang B, Chen Y, Yao G, Yao C, Zhao H, Jia X, Zhang Y, Ge J, Qiu E, Ding C. Effects of differences in serum total homocysteine, folate, and vitamin B12 on cognitive impairment in stroke patients. *BMC Neurology* 2014;14:217. <http://www.biomedcentral.com/1471-2377/14/217>.
68. Saposnik G. The Role of Vitamin B. A journey from observational studies in stroke prevention to clinical trials and critique for stroke. the VITAMINS TO Prevent Stroke (VITATOPS). *Stroke* 2011;42:838-842.
69. Kelly PJ, Rosand J, Kistler JP, Shih VE, Silveira S, Plomaritoglou A, Furie KL. Homocysteine, MTHFR 677C→T polymorphism, and risk of ischemic stroke: results of a meta-analysis. *Neurology* 2002;59:529-536.
70. Boysen G, Brander T, Christensen H, Gideon R, Truelsen T. Homocysteine and risk of recurrent stroke. *Stroke* 2003;34:1258-1261.
71. Maxwell SR. Coronary artery disease--free radical damage, antioxidant protection and the role of homocysteine. *Basic Res Cardiol* 2000;95 Suppl 1:165-171.
72. Bos GM, Rijkers DT, Willems HP, den Heijer M, Béguin S, Gerrits WB, Hemker HC. The elevated risk for venous thrombosis in persons with hyperhomocysteinemia is not reflected by the endogenous thrombin potential. *Thromb Haemost* 1999 81:467-468.
73. Ridker PM. Evaluating novel cardiovascular risk factors: can we better predict heart attacks? *Ann Intern Med* 1999 1;130(11):933-937.
74. Acevedo M, Tagle R, Simpfendorfer C. Non-traditional risk factors for atherosclerosis. *Rev Med Chile* 2001;129:1212-1221.
75. Herrmann W, Obeid R, Hübner U, Jouma M, Geisel J. Homocysteine in relation to C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol in assessment of cardiovascular risk. *Cell Mol Biol* 2004;50:895-901.
76. Sabanayagam C, Shankar A. Association between plasma homocysteine and microalbuminuria in persons without hypertension, diabetes mellitus, and cardiovascular disease. *Clin Exp Nephrol* 2011;15:92-99.
77. El-Gendi SS, Bakeet MY, El-Hamed EA, Ibrahim FK, Ahmed R. The value of lipoprotein (a), homocysteine, and Doppler of carotid and femoral arteries in assessment of atherosclerosis in asymptomatic cardiovascular risk patients. *J Cardiol* 2008;52:202-211.
78. Cummings DM, King DE, Mainous AG, Geesey ME. Combining serum biomarkers: the association of C-reactive protein, insulin sensitivity, and homocysteine with cardiovascular disease history in the general US population. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2006;13:180-185.
79. Pang H, Han B, Fu Q, Zong Z. Association of high homocysteine levels with the risk stratification in hypertensive patients at risk of stroke. *Clin Ther* 2016;38:1184-

- 1192.
80. **Shankar A, Wang JJ, Chua B, Rochtchina E, Flood V, Mitchell P.** Positive association between plasma homocysteine level and chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2008;31:55-62.
  81. **Becker A1, Kostense PJ, Bos G, Heine RJ, Dekker JM, Nijpels G, Bouter LM, Stehouwer CD.** Hyperhomocysteinemia is associated with coronary events in type 2 diabetes. *J Intern Med* 2003;253:293-300.
  82. **Hoogeveen EK, Kostense PJ, Beks PJ, Mackaay AJ, Jakobs C, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD.** Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of cardiovascular disease, especially in non-insulin-dependent diabetes mellitus: a population based study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:133-138.
  83. **Stehouwer CD, Gall MA, Hougaard P, Jakobs C, Parving HH.** Plasma homocysteine concentration predicts mortality in non-insulin-dependent diabetic patients with and without albuminuria. *Kidney Int* 1999;55:308-314.
  84. **Kark JD, Selhub J, Bostom A, Adler B, Rosenberg IH.** Plasma homocysteine and all-cause mortality in diabetes. *Lancet* 1999;353:1936:721-728.
  85. **Schaffer A, Verdoia M, Barbieri L, Cassetti E, Suryapranata H, De Luca G.** Impact of diabetes on homocysteine levels and its relationship with coronary artery disease: a single-centre cohort study. *Ann Nutr Metab* 2016;68:180-188.
  86. **Moustafa AA, Hewedi DH, Eissa AM, Frydecka D, Misiak B.** Homocysteine levels in schizophrenia and affective disorders-focus on cognition. *Front Behav Neurosci.* 2014; 8: 343. Published online 2014. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00343 PMID: PMC4186289.
  87. **Mayeux R.** Early Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2010;362:2194-2201.
  88. **Clarke R, Smith AD, Jobst K, Sutton L, Refsum H, Ueland PM.** Plasma homocysteine, folate and vitamin B-12 as risk factors for confirmed Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1998;55:1449-1455.
  89. **Clarke R.** B-vitamins and prevention of dementia. *Proc Nutr Soc* 2008;67:75-81.
  90. **Clarke R, Birks J, Nexo E, Ueland PM, Schneede PM, Scott J, Molloy A, Frost C, Evans JM.** Low vitamin B12 status and risk of cognitive decline in older people. *Am J Clin Nutr* 2007;86:1384-1391.
  91. **Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques P, D'Agostino RB, Wilson PW, Wolf PA.** Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346:476-483.
  92. **Kivipelto M, Annerbo S, Hultin J, Backman L, Viitanen M, Fratiglioni L, Lökk J.** Homocysteine and transcobalamin and the risk of dementia and Alzheimer's disease: a prospective study. *Eur J Neurol* 2009;16:808-813.
  93. **Clarke R, Bennett D, Parish S, Lewington S, Skeaff M, Eussen SJ.** Effects of homocysteine lowering with B vitamins on cognitive aging: meta-analysis of 11 trials with cognitive data on 22,000 individuals. *Am J Clin Nutr* 2014;100:657-666.
  94. **Gauthier S, Reisberg B, Zaudig M, Petersen RC, Ritchie K.** Mild cognitive impairment. *Lancet* 2006;367:1262-1270.
  95. **Flicker C, Ferris SH, Reisberg B.** Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology* 1991;41:1006-1009.
  96. **Morris JC, Storandt M, Miller JP, McKeel DW, Price JL.** Mild cognitive impairment represents early-stage Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2001;58: 397-405.
  97. **Petersen RC, Doody R, Kurz A, Mohs RC, Morris JC.** Current concepts in

- mild cognitive impairment. *Arch Neurol* 2001;58:1985-1992.
98. **Bowen J, Teri L, Kukull W, McCormick W, McCurry SM.** Progression to dementia in patients with isolated memory loss. *Lancet* 1997;349: 763-765.
99. **Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG.** Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 1999;56:303-308.
100. **Petersen RC, Stevens JC, Ganguli M, Tangalos EG, Cummings JL.** Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 2001;56:1133-1142.
101. **Smith AD, Smith SM, de Jager CA, Whitbread P, Johnston C.** Homocysteine-lowering by B vitamins slows the rate of accelerated brain atrophy in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *PLoS One* 2010; 5: e12244 (on line).
102. **de Jager CA, Oulhaj A, Jacoby R, Refsum H, Smith AD.** Cognitive and clinical outcomes of homocysteine-lowering B-vitamin treatment in mild cognitive impairment: a randomized controlled trial. *Int J Geriatr Psychiatry* 2011;27: 592-600.
103. **Chacón IJ, Molero AE, Pino-Ramírez G, Luchsinger JA, Lee JH, Maestre GE.** Risk of dementia associated with elevated plasma homocysteine in a Latin American population. *Int J Alzheimer Dis* 2009; 2009: 632489, Published online 2009 Aug 23. doi: 10.4061/2009/632489 PMID: PMC2925085.
104. **Moustafa AA, Hewedi DH, Eissa AM, Myers CE, Sadek HA.** The relationship between associative learning, transfer generalization, and homocysteine levels in mild cognitive impairment. *PLoS One* 2012; 7:e46496) (on line).
105. **Cheng Y, Jin Y, Unverzagt FW, Su L, Yang L, Ma F.** The relationship between cholesterol and cognitive function is homocysteine-dependent. *Clin Interv Aging* 2014;9:1823-1829.
106. **Teunissen CE, Blom AH, Van Boxtel MP, Bosma H, de Bruijn C, Jolles J, Wauters BA, Steinbusch HW, de Vente J.** Homocysteine: a marker for cognitive performance? A longitudinal follow-up study. *J Nutr Health Aging* 2003;7:153-159.
107. **Meir J, Stampfer, Malinow R.** Can lowering homocysteine levels reduce cardiovascular risk? *N Engl J Med* 1995;332:328-329.
108. **Holmes MV, Newcombe P, Hubacek JA, Sofat R, Ricketts SL, Cooper J.** Effect modification by population dietary folate on the association between MTHFR genotype, homocysteine, and stroke risk: a meta-analysis of genetic studies and randomized trial. *Lancet*. 2011;378: 584-594.
109. **Loscalzo J.** Homocysteine trials - clear outcomes for complex reason. *N Engl J Med* 2006;354:1629-1630.
110. **Lange H, Suryapranata H, De Luca G, Börner C, Dille J, Kallmayer K, Pasalary MN, Scherer E, Dambrink JH.** Folate therapy and in-stent restenosis after coronary stenting. *N Engl J Med* 2004;350:2673-2681.
111. **Loscalzo J.** Adverse effects of supplemental L-arginine in atherosclerosis: consequences of methylation stress in a complex catabolism? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:3-5.
112. **Zaina S, Lindholm MW, Lund G.** Nutrition and aberrant DNA methylation patterns in atherosclerosis: more than just hyperhomocysteinemia? *J Nutr* 2005;135:85-87.
113. **Lund G, Andersson L, Lauria M, Lindholm M, Fraga MF, Villar-Garea A,**

- Ballestar E, Esteller M, Zaina S.** DNA methylation polymorphisms precede any histological sign of atherosclerosis in mice lacking apolipoprotein E. *J Biol Chem* 2004;279:29147-29154.
- 114. Boger RH, Bode-Boger SM, Sydow K, Heistad DD, Lentz SR.** Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in monkeys with hyperhomocyst(e)inemia or hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1557-1564.
- 115. Society on Thrombosis and Haemostasis meeting.** Memorandum from a joint WHO/International. *Bull World Health Org* 1997;75:177-189.