

Concentración plasmática de homocisteína en ayunas en individuos sanos de la ciudad de Medellín

Alfonso Córdoba, Luis F. Arbeláez, Serguei A. Castañeda • Medellín

El aumento moderado de la concentración de homocisteína (Hcy) en sangre es considerado un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares.

Objetivo: determinar la concentración de Hcy en individuos sanos de la ciudad de Medellín.

Material y métodos: se seleccionaron 57 individuos que decidieron voluntariamente participar. De éstos, se incluyeron 48 (30 mujeres y 18 hombres). Con un promedio de edad de 35±3,5 años, sin antecedentes de alteración metabólica, manifestación clínica de hipertensión arterial o de enfermedades cardiovasculares.

Resultados: la concentración promedio de Hcy plasmática en ayuno fue de 8,5 ± 3,7 µmoles/l (intervalo de confianza del 95% 7,45 - 9,54 µmoles/l para el grupo en general). Por género, el promedio fue de 7.6±2.7 µmoles/l en las mujeres (intervalo de confianza 95% de 6,6 - 8,6 µmoles/l) y de 10.1±4,7 µmoles/l en los hombres (intervalo de confianza 95% de 7,9 - 12,3 µmoles/l). Esta fue significativamente mayor en los hombres que en las mujeres ($p < 0.02$). El límite superior normal fue de 13,0 µmoles/l en las mujeres y de 19,5 µmoles/l en los hombres. El 8,3% presentó hiperhomocisteinemia moderada (dos hombres y dos mujeres).

Conclusión: los resultados de esta primera aproximación a la concentración de Hcy en una población colombiana sugieren que ésta difiere de la de otros países y confirma las diferencias entre hombres y mujeres. Estos datos deben ser confirmados por un estudio que involucre un mayor número de individuos y que determine su importancia como factor de riesgo en la población general y en pacientes con enfermedades cardiovasculares. (*Acta Med Colomb* 2002; 27: 194-197).

Palabras clave: homocisteína, metionina, vitaminas B₆, B₁₂ y ácido fólico, metionina sintasa, cistationina β-sintasa y hiperhomocisteinemia moderada.

Introducción

La hipótesis de que el aumento de la Hcy promueve alteración vascular se originó al constatar los frecuentes episodios de trombosis en venas y arterias de todos los calibres que sufren los pacientes hiperhomocisteinémicos homocigóticos para la deficiencia de la cistationina β-sintasa (1,2). Las oclusiones vasculares en ellos son severas y más del 50% mueren antes de los 30 años de edad (1).

A partir de estas observaciones, un número creciente de estudios clínicos y epidemiológicos demuestran que la elevación moderada de la concentración de Hcy plasmática constituye un factor de riesgo independiente de padecer enfermedades cardiovasculares (2-8). En general, estos estudios demuestran que los pacientes con diferentes tipos de enfermedades vasculares presentan con frecuencia hiperhomocisteinemia moderada (HHM) en estado de ayuno

y/o tras una sobrecarga de metionina (2, 3, 5, 6). La HHM se observa con mayor frecuencia en los pacientes con enfermedad cerebrovascular o vascular periférica seguidos por los pacientes con patología arteriocoronaria (2, 3, 5, 6).

Los mecanismos fisiopatológicos propuestos para que la Hcy desencadene estas alteraciones cardiovasculares incluyen: aumento de la proliferación de las células musculares lisas de la pared arterial, aumento de la síntesis del tejido conectivo extracelular, activación de los factores V y XII de la coagulación, aumento de la síntesis de tromboxanos

Esta investigación fue patrocinada por Comité para el Desarrollo de la Investigación (CODI), Universidad de Antioquia de Medellín.

Dr. Alfonso Córdoba Porras: Depto. de Fisiología y Bioquímica, Facultad de Medicina Universidad de Antioquia; Dr. Luis F. Arbeláez: BioCol Ltda.; SR. Serguei A. Castañeda Ospina: Estudiante de Medicina, Medellín.

A₂, inhibición de la proteína C y disminución de la producción de óxido nítrico (1,2,5,9,10), entre otros.

La HHM suele ser ocasionada por una disminución en la actividad de la enzima cistationina β-sintasa, metionina sintasa o metileno-tetrahidrofolato reductasa. Esta disminución puede ser debida a defectos hereditarios o a un déficit de vitamina B₆, B₁₂ o de ácido fólico (1, 2, 5, 11,12). Es por ello, que dependiendo del defecto, algunos individuos presentan HHM en ayuno y/o después de una sobrecarga de metionina. La alteración de una de estas determinaciones se considera un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares. Éste aumenta considerablemente cuando ambas determinaciones se encuentran alteradas (6).

La HHM es un factor de riesgo de enfermedad vascular, que es posible modificar en muchos casos mediante intervención dietética o farmacológica. Por este motivo la Hcy constituye un parámetro analítico de utilización creciente en la práctica clínica, especialmente en pacientes con enfermedades cardiovasculares. La determinación de Hcy puede ser de interés en otros casos. Por ejemplo, en el diagnóstico y la monitorización de la respuesta al tratamiento de anemias por déficit de vitamina B₁₂ y/o ácido fólico, que pueden debutar con una sintomatología inespecífica (13, 14); o en la valoración del riesgo de padecer defectos del tubo neural o aborto espontáneo, especialmente en aquellos casos en que éstos son repetitivos (15-17).

Estos hallazgos, junto con otros datos, sugieren que el incremento moderado de los niveles de Hcy en plasma predispone a la arteriosclerosis o a trombosis de arterias y venas. Sin embargo, la HHM no ha sido estudiada en Colombia y no existen estudios relacionados con la concentración plasmática de Hcy en individuos sanos. Por ello nos propusimos realizar una primera aproximación mediante este estudio piloto.

Material y métodos

Controles

Se seleccionaron 57 individuos sanos residentes en la ciudad de Medellín que voluntariamente decidieron participar. De éstos se incluyeron en el estudio 48; 30 mujeres y 18 hombres. Con promedio de edad de 35±3,5 años, sin antecedentes de alteración metabólica, manifestación clínica de hipertensión arterial o de enfermedades cardiovasculares. Se excluyeron seis participantes. Dos de ellos por presentar enfermedad hepática, otro por enfermedad renal, dos con historia de diabetes e hipertensión y otro por alcoholismo. También se excluyeron tres participantes que estaban ingiriendo suplementos vitamínicos que contenían vitaminas B₆, B₁₂ o ácido fólico. Los participantes fueron entrevistados por personal entrenado. En dichas entrevistas se tuvo en cuenta los hábitos del estilo de vida (tabaquismo, actividad física, dieta, consumo de alcohol o de medicamentos y en el caso de las mujeres el uso de anticonceptivos orales). Debido a que en nuestro país a diferencia de otros, no existen datos relacionados con este parámetro clínico,

decidimos realizar una primera aproximación mediante un estudio piloto que sirviera de base para investigaciones posteriores.

Análisis realizado

Tras un ayuno de doce horas y mediante punción de la vena antecubital se extrajeron 5 ml de sangre en un tubo con citrato 0,5 M para la determinación de la Hcy (18). Posteriormente, se centrifugó y el plasma se almacenó a -80°C hasta la realización del análisis.

Determinación de la homocisteína total

Se realizó mediante inmunoensayo de fluorescencia polarizada desarrollado por Axis Biochemical ASA de Oslo, Noruega y Bio-Rad Hercules, California, comercializado y distribuido por Abbott Laboratorios IMx System (Abbott Part III) en un analizador IMx (19).

Análisis estadístico

La concentración de Hcy se expresó como el promedio ± una desviación estándar. La comparación estadística de los promedios entre hombres y mujeres se realizó mediante la prueba t-Student. Se consideró un individuo con HHM, cuando la concentración de Hcy en ayuno fue superior al promedio + 2 desviaciones estándar (límite superior) (2-7). Las diferencias estadísticas fueron significativas cuando $p < 0,05$.

Resultados

La concentración promedio de Hcy plasmática en ayuno fue de $8,5 \pm 3,7$ μmoles/l (intervalo de confianza 95% de 7,45-9,5 μmoles/l). Su distribución en la población fue paramétrica (Test Kolmogorov-Smirnov $\rho > 0,87$). (Figura 1). Por género, el promedio fue de $7,6 \pm 2,7$ μmoles/l en las mujeres (intervalo de confianza 95% de 6,6 - 8,6 μmoles/l) y de $10,1 \pm 4,7$ μmoles/l en los hombres (intervalo de confianza 95% de 7,9 - 12,3 μmoles/l). La concentración de Hcy fue significativamente mayor en los hombres ($p < 0,020$). En las mujeres el límite superior normal fue de 13,0 μmoles/l en tanto que para los hombres de 19,5 μmoles/l. La concentración de Hcy en el 8,3% de los controles fue superior a sus respectivos límites (dos mujeres y dos hombres).

Discusión

Los estudios clínicos, experimentales y epidemiológicos de las dos últimas décadas, coinciden en señalar que el aumento moderado de Hcy en sangre es un factor de riesgo independiente para enfermedades cardiovasculares (6, 20, 21). Algunos estudios prospectivos sugieren una relación causa-efecto entre la HHM y las enfermedades cardiovasculares (4, 21, 22). Ello ha hecho que día tras días, aumente el interés en los diferentes países por incluir la determinación de Hcy en sangre dentro de las pruebas de rutina empleadas en el estudio de la etiología y la preven-

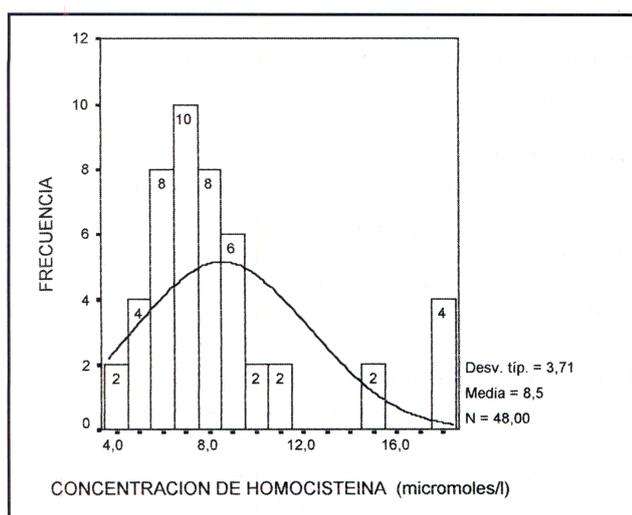


Figura 1. Perfil de distribución de la concentración de homocisteína en ayunas en una población sana de la ciudad de Medellín.

ción de estas patologías (23). El criterio generalmente empleado para el diagnóstico de HHM se basa en utilizar como valor discriminante el promedio + 2 desviaciones estándar de la concentración plasmática de Hcy de los individuos sanos analizados en ayuno (2-7,24). De acuerdo con este criterio, los límites de la normalidad en los diferentes países oscilan entre 12,3 μ moles/l (4, 20, 22, 25, 26) y 30,1 μ moles/l (27).

En nuestra primera aproximación al conocimiento de la concentración de Hcy en plasma en Colombia, en controles sanos de la ciudad de Medellín, los resultados sugieren, que en promedio, la concentración en ayuno fue de $8,5 \pm 3,7$ μ moles/l y el límite superior para la concentración de Hcy en ayuno que puede ser considerado como normal en nuestro estudio, sin tener en cuenta la edad y el género es de 15,9 μ moles/l. Tanto el promedio como el límite superior son comparables a los informados para otros países. Sin embargo, nuestro límite superior difiere del de otros estudios, en parte por la metodología empleada en cada laboratorio, por factores genéticos o nutricionales (20, 26).

La concentración de Hcy fue significativamente mayor en los hombres que en las mujeres de edad similar. Este hallazgo confirma lo informado por otros estudios respecto a las diferencias en la concentración de Hcy entre hombres y mujeres (26, 28-32). Estas diferencias son debidas en parte al efecto positivo que ejercen los estrógenos sobre el metabolismo de Hcy (33, 34). A pesar que la concentración de Hcy aumenta con la edad (5, 29, 30, 32, 34, 35), estas diferencias no obstante, no pueden ser atribuidas a la edad, debido a que no existió diferencias estadísticas entre hombres y mujeres. Por lo tanto, se hace necesario establecer estos intervalos según el género y la edad.

Teniendo en cuenta los límites superiores en la concentración encontrados en nuestro estudio según el género, la HHM estaba presente en 8,3% de los controles. Esta fre-

cuencia es ligeramente mayor a la descrita en otras poblaciones (0-5%) (4, 7, 24, 29, 31, 36) pero, inferior a las informadas en otras (10 - 20%) (6, 37-41).

Los resultados de esta primera aproximación al conocimiento de la concentración de Hcy en una población colombiana sugieren que ésta difiere de la de otros países y confirma las diferencias entre hombres y mujeres. Estos datos deben ser confirmados por un estudio que involucre un mayor número de individuos, agrupados en función de la edad, el género, la concentración de sus determinantes vitamínicos la B₆, B₁₂ y el ácido fólico y que estudie su importancia como factor de riesgo en la población general y en pacientes con enfermedades cardiovasculares.

Summary

Moderate raise in homocysteine (Hcy) in the blood is considered a risk factor for cardiovascular diseases.

Objective. To establish the Hcy concentration in a healthy population of Medellín.

Materials and methods. 57 volunteers were selected. Of them, 48 were included (30 women and 18 men). With average age of $35 \pm 3,5$ years, without antecedents a metabolic alterations, clinic manifestation of hypertension or cardiovascular disease.

Results. Plasmatic Hcy fasting concentration average was $8,5 \pm 3,7$ mmol/l (95% confidence interval 7,45 - 9,54 mmol/l). By gender, the average was $7,6 \pm 2,7$ mmol/l in women (95% confidence interval 6.6 - 8.6 mmol/l) and $10,1 \pm 4,7$ mmol/l in men (95% confidence interval 7.9 - 12.3 mmol/l). This was meaningfully higher in men than in women ($p > 0.02$). The normal upper limit in women was 13,0 mmol/l in men, it was 19,5 mmol/l. 8,3% showed moderate hyperhomocysteinemia (two men, two women).

Conclusion. The results in this first approach to the Hcy concentration in a Colombian population suggests that it differs from another countries interval and confirms the difference between men and women. These data must be validated by a study involving a higher number of participants which confirms its importance as a risk factor in the general population and in patients with cardiovascular diseases.

Key words: homocysteine, methionine, vitamins B₆, B₁₂ and folic acid, methionine synthase and moderate hyperhomocysteinemia.

Agradecimientos

A los controles por la colaboración prestada durante esta investigación.

Referencias

1. Mudd SH, Levy HL, Skovy F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beadet AL, Sly WS, Valle D, eds. The Metabolic Molecular Bases of Inherited Diseases. New York, NY: McGraw-Hill Inc, 1995: 1279-1327.
2. Córdoba Porras A, Blanco Vaca F, González Sastre F. Hiperhomocisteinemia, un nuevo marcador de riesgo vascular: territorios vasculares afectados, papel en la patogenésis de la aterosclerosis y la trombosis y tratamiento. *Medicina Clínica (Barc)* 1997;109:715-725.

3. Boushey CJ, Shirley AA, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *JAMA* 1995; **274**: 1049-1057.
4. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, Tishler PV, Hennekens CH. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; **268**: 877-881.
5. Ueland PM, Refsum H, Brattstrom L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. In: Francis RBF, ed. *Atherosclerotic Cardiovascular Disease, Hemostasis, and Endothelial function*. New York: Marcel Dekker, 1992: 183-236.
6. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Boers GH, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; **277**:1775-1781.
7. González Y, Souto JC, Matheo J, Córdoba PA, Blanco-Vaca F, Fontcuberta J. Moderate hyperhomocysteinemia is a high prevalent defect in Spanish patients with venous thromboembolic disease. *Haematologica* 1998; **83**: 1126-1127.
8. Coull BM, Malinow MR, Beamer N, Sexton G, Nordt F, Garmo P. Elevated plasma homocysteine concentration as a possible independent risk factor for stroke. *Stroke* 1990; **21**:572-576.
9. Rodgers GM, Kane WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 1986; **77**:1909-1916.
10. Rodgers GM, Conn MT. Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. *Blood* 1990; **75**:895-901.
11. Fenton AW, Rosenberg LE. Inherited disorders of cobalamin transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York, NY: McGraw-Hill Inc. 1995:3129-3149.
12. Rosenblatt DS. Inherited disorders of folate transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York, NY: McGraw-Hill Inc; 1995: 3111-3128.
13. 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.
14. Lindenbaum J, Heaton EB, Savage DC, Brust JC, Garrett TJ, Podell ER. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N Engl J Med* 1988; **318**:1720-1728.
15. Wouters MG, Boers GH, Bloom HJ, Trijbels FJ, Thomas CM, Borm GF. Hyperhomocysteinemia: a risk factor in women with unexplained recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril* 1993; **60**:820-825.
16. Steegers-Theunissen RPM, Boers GHJ, Bloom HJ, Trijbels FJM, Eskes TKAB. Hyperhomocysteinemia and recurrent spontaneous abortion or abruptio placentae. *N Engl J Med* 1992; **339**:1122-1123.
17. Steegers-Theunissen RPM, Boers GHJ, Trijbels FJM, Finkelstein JD, Bloom HJ, Thomas CMG. Maternal hyperhomocysteinemia: a risk factor neural-tube defects? *Metabolism* 1994; **43**:1475-1480.
18. Willems JPP, Bos GMJ, Gerrits WBJ, den Heijer M, Vloet S and Blom HJ. Acidic citrate stabilizes blood samples for assay of total homocysteine. *Clinical Chemistry* 1998; **44**:342-343.
19. Abbott Laboratories, Abbott Park, Ill; Bio-Rad, Hercules, Calif. *Laboratory Medicine* 1998; **29**:410-417.
20. Brattstrom L, Lindgren A, Israelsson B, Malinow MR, Norrvig B, Upson B, et al. Hyperhomocysteinemia in stroke: prevalence, cause, and relationships to type of stroke and stroke risk factors. *Eur J Clin Invest* 1992; **22**:214-221.
21. 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.
22. Taylor LM, Defrang RD, Harris EJ, Porter JM. The association of elevated plasma homocysteine with progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vas Surg* 1991; **13**:128-136.
23. Tsai MY. Laboratory assessment of mild hyperhomocysteinemia as an independent risk factor for occlusive vascular diseases [editorial; comment]. *Clin Chem* 1996; **42**:492-493. Abbott Laboratories, Abbott Park, Ill; Bio-Rad, Hercules, Calif. *Laboratory Medicine* 1998; **29**:410-417.
24. Brattstrom L, Israelsson B, Norrvig B, Bergqvist D, Thorne J, Hultberg B. Impaired homocysteine metabolism in early-onset cerebral and peripheral occlusive arterial disease-effects of pyridoxine and folic acid treatment. *Atherosclerosis* 1990; **81**:51-60.
25. Bostom AG, Jacques PF, Nadeau MR, Williams RR, Ellison RC, Selhub J. Post-methionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total plasma homocysteine: initial results from the NHLBI family heart study. *Atherosclerosis* 1995; **116**:147-151.
26. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; **39**:1764-1779.
27. Wang J, Dudman NPB, Wilcken DEL, Lynch JF. Homocysteine catabolism: levels of 3 enzymes in cultured human vascular endothelium and their relevance to vascular disease. *Atherosclerosis* 1992; **97**:97-106.
28. Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma. *Clin Chem* 1994; **40**:873-881
29. Kang S, Wong PWK, Cook HY, Norusis M, Messer JV. Protein-bound homocysteine. A possible risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1986; **77**:1482-486.
30. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland PM, Kvale G. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland homocysteine Study. *JAMA* 1995; **274**:1526-533.
31. Wu LL, Wu J, Hunt SC, James BC, Vincent GM, Williams RR, Hopkins PN. Plasma homocysteine as a risk factor for early familial coronary artery disease. *Clin Chem* 1994; **40**:552-561.
32. Rasmussen K, Moller J, Lyngbak M, Pedersen AM, Dybkjaer L. Age- and gender-specific reference intervals for total homocysteine and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem* 1996; **42**:630-636.
33. Boers GHJ, Smals AG, Trijbels JMF, Leermarkers AI, Kloppenborg PW. Unique efficiency of methionine metabolism in premenopausal women may protect against vascular disease in the reproductive years. *J Clin Invest* 1983; **72**:1971-1976.
34. Wouters MG, Moorrees MT, van der Mooren MJ, Blom HJ, Boers GH, Schellekens LA, Thomas CM, Eskes TK. Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1995; **25**:801-805.
35. Sartorio R, Carrozzo R, Corbo L, Andria G. Protein-bound plasma homocysteine and identification of heterozygotes for cystathionine-synthase deficiency. *J Inherited Metab Dis* 1986; **9**:25-29.
36. Córdoba Porras A. Hiperhomocisteinemia en pacientes con accidente vascular cerebral: prevalencia, determinantes y asociaciones de interés clínico-biológico, papel del polimorfismo de la enzima metileno-tetrahidrofolato reductasa y tratamiento. Tesis. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España 1998.
37. Genest JJ, McNamara JR, Upson B, Ordovas JM, Schaefer EJ, Malinow MR. Prevalence of familial hyperhomocysteinemia in men with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1991; **1**:1129-1136.
38. Ubbink JB, Vermaak HWJ, Bennett JM, Becker PJ, van Staden DA, Bissbort S. The prevalence of homocysteinemia and hypercholesterolemia in angiographically defined coronary heart disease. *Klin Wochenschr* 1991; **69**:527-534.
39. Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, van lente F, Gupta A, Kottke-Marchant K, Savon S, Selhub J, Nissen SE, Kutner M, Topol EJ, Jacobsen DW. Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate: Common and independent reversible risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1995; **92**:2825-2830.
40. Verhoef P, Kok FJ, Kruysen DACM, Schouten EG, Witteman JCM, et al. Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; **17**:989-995.
41. Bozic M, Stegnar M, Fermo I, Ritonja A, Peternel P, Stare J, D'Angelo A. Mild hyperhomocysteinemia and fibrinolytic factors in patients with history of venous thromboembolism. *Thromb Res* 2000; **100**:271-278.