Riesgo cardiovascular y tratamiento de la hiperhomocisteinemia

Alfonso Córdoba, Beatriz E. Meneses · Medellín, Colombia

Objetivo: revisar minuciosamente las investigaciones más relevantes que asocian el aumento moderado de homocisteína (Hcy) en sangre con la enfermedad cardiovascular.

Fuentes: se realizó una búsqueda en el Medline de las investigaciones que asocian el aumento moderado de la concentración de Hcy en sangre con la enfermedad coronaria, vascular periférica y cerebrovascular, con trombosis, abortos y defectos del tubo neural entre los años 1968 y 2000.

Selección de las investigaciones: se encontraron 280 resúmenes y de estos se seleccionaron 108 cuya metodología permitía cumplir con el objetivo de esta revisión. Posteriormente se buscaron los trabajos originales sobre los cuales se fundamenta esta publicación.

Extracción de los datos: los datos consignados en esta revisión se extrajeron de estudios experimentales, de casos y controles, retrospectivos y prospectivos que permitían determinar e identificar que el aumento moderado de la concentración de Hcy en sangre en ayuna y/o después de una sobrecarga oral de metionina es un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular que afecta todos los territorios.

Resultados: las diferentes investigaciones muestran que el aumento moderado de Hcy en sangre en ayuna y/o después de una sobrecarga de metionina es una alteración frecuente en los pacientes con enfermedad vascular, en especial en la enfermedad cerebrovascular (47%) seguido por la enfermedad vascular periférica y la coronaria. Los resultados estadísticos de estos estudios relacionan el aumento moderado de Hcy con el riesgo para estas patologías. Dicho riesgo aumenta significativamente de forma gradual respecto de los controles sanos a medida que aumenta la concentración de Hcy o cuando ambas mediciones están alteradas. El tratamiento, es eficaz, inocuo y barato. La respuesta se evidencia a los pocos días de iniciado el tratamiento con ácido fólico, vitamina B₆ o vitamina B₁₂ según el tipo de hiperhomocisteinemia detectada. Es por ello, que cuando estas vitaminas disminuyen en sangre, aumenta de manera significativa el riesgo de enfermedad vascular.

Los estudios de intervención controlados que se están realizando en pacientes con enfermedad cardiovascular en países como USA, Noruega, Reino Unido y Australia, servirán para demostrar que el tratamiento con estas vitaminas, además de disminuir la concentración plasmática de Hcy, reduce el riesgo y la progresión de la enfermedad vascular.

Conclusiones: el aumento moderado de la Hcy en sangre, es un factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular que afecta a todos los territorios vasculares y es independiente de los factores de riesgo convencionales. Es por ello, que se recomienda incluir la determinación de Hcy en el listado de pruebas de rutina utilizadas en el diagnóstico de la etiología de estas patologías. (*Acta Med Colomb* 2001 ; 26:24-33)

Palabras claves: homocisteína, hiperhomocisteinemia moderada, homocistinuria clásica, enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica o coronaria, vitaminas B₆ y B₁₂ y ácido fólico, cistationina b-sintasa, metilnotetrahidrofolato reductasa.

La hiperhomocisteinemia un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular que afecta todos los territorios vasculares y tratamiento **Introducción**

La hipótesis de que la hiperhomocisteinemia (HH) promueve alteraciones vasculares se originó al constatar los frecuentes episodios de trombosis en venas y arterias de todos los calibres que padecen los pacientes con HH severa

homocigotos para la deficiencia de la cistationina b-sintasa (CbS), responsable de la homocistinuria clásica (1-4). Las

Dr. Alfonso Córdoba Porras: Departamento de Fisiología y Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; Beatriz E. Meneses Londoño: Estudiante de doctorado, Universitat Autònoma de Barcelona, Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Residente de Ginecología y Obstetricia Hospital Vall'Ebrón, Barcelona España.

oclusiones vasculares en estos pacientes son severas y más de 50% mueren antes de los 30 años de edad. El cuadro clínico de ellos, además, cursa con luxación del cristalino, afectación ósea y neurológica (1, 3, 4).

Posteriormente se informaron otros pacientes con defectos genéticos diferentes (defecto en la enzima metileno-tetrahidrofolato reductasa o en la activación de la cobalamina) que tenían en común a la homocistinuria clásica las alteraciones cardiovasculares y el marcado aumento de la concentración de Hcy en sangre (5, 6). A partir de estas observaciones, McCully relacionó el aumento de Hcy con enfermedad vascular en todos los territorios (7, 8).

Las investigaciones de las últimas dos décadas confirmaron dicha asociación y la extendieron al aumento moderado de la Hcy en sangre (hiperhomocisteinemia moderada (HHM)) (1,4, 9-24). Dichos estudios, mostraron que los pacientes con enfermedad vascular presentan con frecuencia HHM en ayuno y/o post-metionina (4, 9-12, 18-20). La HHM se observa con mayor frecuencia en los pacientes con enfermedad cerebrovascular (4, 14, 17-20, 23), seguidos por los pacientes con enfermedad vascular periférica (4, 13,17-21) y de los pacientes con patología arteriocoronaria (4, 9, 10, 13, 15, 16, 22). En consonancia con estos resultados, otras investigaciones muestran evidencia de la existencia de una asociación entre el engrosamiento de la íntima media de la arteria carótida con la concentración de Hcy plasmática (23, 25). Un estudio prospectivo reciente indica, que la HHM aún en situaciones diferentes al ayuno o después de una carga oral con metionina, está fuertemente asociada con mortalidad principalmente por enfermedad vascular. Esta asociación fue más evidente en los cinco primeros años de seguimiento (26).

Material y método

De los 280 resúmenes publicados recientemente en el Medline, 108 relacionaban el aumento moderado de Hcy en sangre con enfermedad cardiovascular prematura y con otras patologías (abortos, defectos del tubo neural, abrupción de placenta). Por ello, recopilamos y analizamos los originales de estas investigaciones, con el propósito de escribir esta revisión. Estos 108 estudios seleccionados fueron de casos y controles, de intervención y prospectivos, y fundamentalmente, aquellos que por su diseño evidenciaban una asociación estadística significativa entre el incremento moderado de Hcy en sangre y la enfermedad vascular prematura.

Resultados

Definición y prevalencia de hiperhomocisteinemia (HH). La HH se define de manera arbitraria como el aumento de la concentración de Hcy en sangre mayor al percentil 95 o mayor al promedio + 2DS del valor de los controles sanos en ayuno o después de una sobrecarga oral de metionina. Es por ello, que en las diferentes investigaciones clínicas y epidemiológica se habla de HHM, cuando

la concentración de Hcy se encuentra entre 16 y 31 mmoles/L; intermedia, cuando la concentración de Hcy está entre 31 y 100 mmoles/L y severa, cuando es mayor de 100 mmoles/L (4-6). El intervalo de referencia varía de un laboratorio a otro o de un país a otro, debido a la metodología empleada en la medición de este analito, a factores genéticos o ambientales (nutricionales, ingesta de medicamentos o secundaria a algunas patologías). Sin embargo, un número importante de estudios considera que este intervalo oscila entre cinco y 16 mmoles/L (4-6, 13, 20). Cuando se emplea esta definición de HHM, 5% de la población sana presenta esta alteración (4-6,13,20) mientras que en el grupo de pacientes con enfermedad cardiovascular alcanza hasta 47% (27). Se estima que la asociación Hcy y el riesgo de enfermedad cardiovascular (28) o mortalidad es gradual y lineal (29). El riesgo de mortalidad aumenta 1,6 veces, por cada cinco mmoles/L que incremente la Hcy (29).

La HHM se considera factor de riesgo para la enfermedad cardiovascular independiente de la hipertensión, el tabaquismo, las dislipidemias o la diabetes (4, 9,16,18, 21, 24, 30-36). Sin embargo, varios estudios describen una correlación positiva entre las concentraciones séricas de creatinina o ácido úrico y las de Hcy (4, 19, 37-43). Estas correlaciones probablemente reflejen la existencia de un precursor común (S-adenosilhomocisteína). Otros estudios por el contrario, describen una correlación inversa entre las concentraciones de vitamina B12 o ácido fólico y las de Hcy (43-52). Por ello, el tratamiento con estas vitaminas, disminuye significativamente la concentración de Hcy en sangre (4, 43, 53, 54).

Este nuevo factor de riesgo de enfermedad cardiovascular es posible modificarlo en muchos casos mediante intervención dietética o farmacológica (4,55,56). Por este motivo, la Hcy constituye un parámetro analítico de utilización creciente en la práctica clínica en todos aquellos casos de enfermedad vascular. Por otra parte, la atención prestada en los últimos años a la Hcy y su metabolismo ha desvelado que la determinación de la concentración plasmática de Hcy puede ser de interés en otros casos. Por ejemplo, en el diagnóstico y monitorización de la respuesta al tratamiento de anemias por déficits de vitamina B12 y/o ácido fólico (57,58), que pueden debutar con sintomatología inespecífica (55,56). Recientemente se ha demostrado que es también útil para valorar el riesgo de defectos del tubo neural (59), en los casos de abortos espontáneos o repetitivos y de abrupción de placenta (60-62).

Hiperhomocisteinemia y la enfermedad cerebrovascular

Las concentraciones plasmáticas de Hcy en ayuno (1,1-1,55 veces ($p < 0,05$)) (Tabla 1a) (25, 43, 63-72) o después de una sobrecarga de metionina con frecuencia son superiores en los pacientes con enfermedad cerebrovascular (ECV) (20-47%) que en los controles (Tabla 1b) (4, 11, 12, 18, 43, 45, 69, 71, 73, 74). Siendo más frecuente la HH

Tabla 1a. Relación entre las concentraciones de homocisteína en plasma de pacientes con enfermedad cerebrovascular y en controles en ayuno.

Estudio		Pacientes (n)	Controles (n)	Pacientes/Controles*	% Pacientes† / % Controles†	p	Referencia
Brattstrom	1989	68	31	1,42	30 / 0	0,000	63
Coull	1990	41 ¹ 27 ²	31 31	1,47 1,38	30/0	0,000 0,000	64
Molgaard	1992	65	90	1,55	ND	0,001	65
Brattstrom	1992	70	66	1,33	31 / 6	0,001	66
Córdoba	1995	17	20	1,29	24 / 10	0,000	67
Evers	1997	125	60	1,21	20/5	0,010	68
Graham	1997	211	800	1,14	34,6/20	0,001	69
Vila	1998	80	48	1,38	20/2,2	0,001	70
Córdoba	1998	110	100	1,33	28,2/4	0,000	43
Kristensen	1999	80	41		11/4		71
Lupattelli	1999	91	100	1,45		0,0001	25
Van Beynum	2000	45	234	ND	18/5	0,001	72

* Relación de las concentraciones de Hcy total (mmol/L.)
† % hiperhomocisteinémicos.
¹ Infarto cerebral; ² Isquemia transitoria aguda
ND = no consta

después de la sobrecarga oral de metionina y en ocasiones las concentraciones son comparables a las observadas en los heterocigotos para la deficiencia de la CbS (4,18,45,65). Estudios recientes indican que la elevación de la Hcy en ayunas o después de una sobrecarga con metionina son un factor de riesgo para ECV aún en pacientes pediátricos (0 y 15,7 años) (72) y en adultos jóvenes con isquemia cerebrovascular (36,2±6,2 años) (71). En estos pacientes la HHM se presentó en 18% y 42 %, respectivamente, y les confiere un riesgo relativo " odds ratio" (OR) de 4,4 a los primeros y de 4,8 a los últimos. Este riesgo aumenta significativamente con el aumento de la Hcy (72).

Los resultados iniciales que relacionan ECV con HHM no evidencian una asociación con el tipo de accidente cerebral (infarto aterotrombótico, infarto embólico, infarto lacunar, infarto hemorrágico) (66). Sin embargo, en nuestra serie analizada, la HHM se presentó con más frecuencia en los pacientes con infarto embólico-cardíaco y aterotrombótico que en el lacunar (43). La relación entre HHM en ayuno y la ECV según un metaanálisis reciente

confiere un OR de 2,3 a estos pacientes. Este riesgo aumenta 1,9 veces por cada cinco mmoles que aumente la Hcy en sangre (20).

Malinow et al. después de analizar 574 adultos asintomáticos para aterosclerosis cuando relacionaron el grosor de la intima-media de la arteria carótida por ultrasonografía de alta resolución, en seis sitios diferentes con la concentración de Hcy, encontraron que en los hiperhomocisteinémicos el espesor de la intima-media estaba relacionado con la concentración de Hcy en plasma (1,21 mm en los casos vs 0,63 mm en los controles, $p < 0,0001$). En dicho estudio, los individuos con concentraciones de Hcy mayores a 10,5 mmoles/L presentaron una OR de 3,15 y ésta aumentó 35% por cada 3,2 mmoles/L que aumentará la concentración de Hcy (59). Estos resultados fueron confirmados por un estudio reciente en pacientes con aterosclerosis objetivada y cuyo espesor de la intima media de las carótidas también estaba asociado con la concentración de Hcy (≥ 2 mm vs $< 1,2$ mm de los controles) (25).

Recientemente, Perry et al. en un estudio prospectivo siguieron durante 12,8 años a 5.661 individuos, con edades entre 40 y 59 años, de género masculino, seleccionados de forma aleatoria en 18 ciudades del Reino Unido. En 107 pacientes de los 147 que padecieron ECV, la Hcy total en ayuno estaba aumentada respecto a los controles (13,7 vs 11,9 mmol/L en los casos y controles, respectivamente, $p < 0,005$). Este estudio es de particular interés porque a diferencia de los otros, confirma los hallazgos anteriores y además, establece la relación causa efecto entre HH y ECV (38). En nuestra experiencia en el Hospital de la Santa Creu y Sant Pau de la ciudad de Barcelona España, la concentra-

Tabla 1b. Frecuencia de hiperhomocisteinemia después de una sobrecarga de metionina en pacientes con enfermedad cerebrovascular y en controles.

Estudio	Pacientes (n)	Controles (n)	% Pacientes† / % Controles†	Referencia
Brattstrom 1984	18	17	28/0	73
Boers 1985	25	40	28/0	74
Brattstrom 1990	35	46	34/2	18
Clarke 1991	38	27	42/0	45
Dudman 1993	51	56	23/0	11
Franken 1994	290	63	20/0	12
Graham 1997	211	800	41,2/20	69
Córdoba 1998	110	76	42/0	43
Kristensen 1999	80	41	30/4	71

† hiperhomocisteinémicos.

Tabla 2a. Relación entre las concentraciones de homocisteína en plasma de pacientes con EVP y controles en ayuno.

Estudio	Pacientes (n)	Controles (n)	Pacientes/Controles*	% Pacientes† % Controles†	p	Referencia
Malinow 1989	47‡	29	1,60	47 / 0	0,005	21
Brattstrom 1990	37	46	1,70	32 / 4	0,001	18
Taylor 1991	214	103	1,42	ND	0,050	76
Mogaard 1992	78	98	1,21	23 / 5	0,000	65
Bergmark 1993	58	58	ND	28 / 5	0,001	77
Valentine 1996	50	45	1,10	58/60	0,050	78
Deloughey 1996	156 ¹ 91 ²	133 133	1,58 1,64	ND ND	0,005 0,005	79
Graham 1997	156	800	1,20	40,4/20	0,001	69

‡ Incluyó a 35/47 pacientes que además presentaron accidente vascular cerebral
 * Relación de las concentraciones de Hcy de pacientes (p) y de controles (c)
 † % hiperhomocisteinémicos.
¹ Hombres; ² mujeres. ND = no demostrado.

ción plasmática de Hcy y la prevalencia de HHM en los pacientes con ECV fueron 1,33 y siete veces mayor que en el grupo control (43).

Hiperhomocisteinemia y enfermedad vascular periférica

La importancia de la HH en la enfermedad vascular periférica (EVP) ha sido objetivo de varias investigaciones, algunas de las cuales se muestran en la Tabla 2a, en ellas se observa que las concentraciones de Hcy en ayuno en los pacientes con EVP son superiores a la de los controles (1,21 y 1,70 veces) (18, 21, 65, 69, 76-79) y con frecuencia entre el 20 y el 37% de estos presentan niveles anormalmente aumentados de Hcy tras una sobrecarga de metionina (Tabla 2b) (11, 12, 18, 45, 69, 74, 77, 80).

En pacientes con EVP confirmada mediante angiografía, y sin hipertensión esencial, diabetes mellitus o hiperlipidemia, se encontró que la concentración de Hcy libre después de una sobrecarga de metionina estaba aumentada en 28% de estos respecto al grupo control (45, 74, 80). En otros estudios se encontró aumentada la Hcy total tanto en ayuno (18, 21, 65) como tras una sobrecarga oral de metionina (45, 74, 80). Esta última medida se correlacionó con la extensión de la EVP en los miembros inferiores ($r = 0,25$; $p < 0,003$) (80) y con la progresión de la enfermedad ($p < 0,002$) (76).

Selhub et al. en un estudio de corte transversal de 1.041 individuos de la ciudad de Framingham, encontraron que la severidad de la estenosis de las arterias carótidas extracraneales estimadas por ultrasonografía estaba en relación directa con la concentración de Hcy circulante e inversa con la ingesta de ácido fólico y de vitaminas B₆ o B₁₂. La OR para estenosis mayor del 25% fue de 2,0 para los sujetos con niveles de Hcy mayor de 14 mmol/L, cuando fueron comparados con los individuos con Hcy menor de 9,0 mmol/L ($p < 0,001$) (23). Este estudio por tanto demuestra que la HH está asociada a la alteración vascular en un estadio preclínico y por tanto, apoya el concepto de

Tabla 2b. Frecuencia de respuesta anormal a la sobrecarga de metionina en pacientes con EVP y en controles.

Estudio	Pacientes (n)	Controles (n)	% Pacientes† % Controles†	Referencia
Boers 1985	25	40	28/0	74
Brattstrom 1990	37	46	37/2	18
Clarke 1991	25	27	28/0	45
Bergmark 1993	58	58	17/5	77
Dudman 1993	18	56	17/0	11
Franken 1994	131	63	33/0	12
Aronson 1994	80	16	19/0	80
Graham 1997	156	800	40,4/20	69

† % hiperhomocisteinémicos.

que la HH es causa y no una consecuencia de enfermedad vascular.

En resumen, los estudios que analizan la relación de la enfermedad vascular periférica y Hcy indican que es muy frecuente encontrar mayores concentraciones de Hcy libre o total en ayuno o tras una sobrecarga de metionina en los pacientes con EVP que en los controles. De manera independiente, la HH podría contribuir a la lesión aterosclerótica periférica entre el 28 y el 50% en estos pacientes. El riesgo de EVP en los pacientes con HH en ayuno es 6,8 veces superior respecto a los controles (4).

Hiperhomocisteinemia y enfermedad coronaria

Los resultados de un número importante de estudios clínicos indican que los pacientes con enfermedad coronaria (EC) objetivada presentan una concentración de Hcy en ayuno que es entre 1,13 y 1,32 veces mayor que la observada en los controles ($p < 0,05$) (Tabla 3a) (10, 34, 81-87).

En los pacientes con estenosis entre 50 y 70% en una o más de las arterias coronarias, se encontró aumentado significativamente el heterodímero Hcy-cisteína (88), la homocisteína ($p < 0,0001$) (22), la Hcy ligada a las proteínas ($p < 0,0005$) (84) o la Hcy total ($p < 0,001$) (10) respecto a los controles. Entre 10 y 30% de los pacientes con esta patología presentan hiperhomocisteinemia tras una sobre-

Tabla 3a. Relación entre las concentraciones de homocisteína en plasma de pacientes con enfermedad coronaria y controles en ayuno.

Estudio	Pacientes (n)	Controles (n)	Pacientes/Controles*	% Pacientes† %Controles†	p	Referencia
Kang 1986	241	202	1,29	10/4	0,001	84
Israelson 1988	21	36	1,21	24/6	0,050	81
Malinow 1990	64	92	1,20	15/5	0,050	34
Genest 1991	176	255	1,27	28/0	0,001	10
Wu 1994	170	168	1,32	18/4,2	0,000	82
Hopkins 1995	162	155	1,30	ND	0,000	83
Robinson 1995	304	231	1,26	49/0	0,010	85
Loehrer 1996	70	45	1,39	17/0	0,001	86
Graham 1997	383	800	1,47	36/20	0,001	69
Donner 1998	95	34	1,15	10,5/0	0,050	87

*concentración de Hcy total.
 † % hiperhomocisteinémicos.
 ND = no demostrado.
 ‡p < 0,05

Tabla 3b. Frecuencia de respuesta anormal a la sobrecarga de metionina en pacientes con enfermedad coronaria y en controles.

Estudio	Pacientes (n)	Controles (n)	% Pacientes† %controles†	Referencia
Wilcken 1976	25	22	28/5	88
Wilcken 1983	20	20	10/0	22
Israelsson 1988	21	36	14/3	81
Clarke 1991	60	27	30/0	45
Dudman 1993	62	56	21/0	11
Murphy 1994	80	22	14/0	89
Reis [‡] 1995	98	98	20,4/8,2	90
Graham 1997	383	800	35,3/20	69

† hiperhomocisteinémicos.
 ‡No se especifica el porcentaje de HHbasal.

carga oral de metionina (10,45) (Tabla 3b) (11, 22, 45, 69, 81, 88-90) y en 14% de los casos, está determinada por la herencia (10).

La mayoría de las investigaciones que relacionan Hcy y enfermedad coronaria son transversales o de casos y controles, por lo cual no resuelven el interrogante sobre si las concentraciones plasmáticas de Hcy están influenciadas por la enfermedad coronaria. En un estudio prospectivo, en donde se siguió a un grupo de 14.916 médicos sin antecedentes de enfermedad cardiovascular, durante más de cinco años, se encontró (9) que en los 271 individuos que desarrollaron infarto de miocardio, la concentración de Hcy total en ayuno antes del infarto fue superior a la del grupo no infarto (11,1±4,0 µmol/L grupo con infarto vs 10,5±2,8 µmol/L en grupo no infarto; p < 0,05). La HH estaba presente en 11% de los pacientes que sufrieron el infarto y en el 4,8 % del grupo no infarto. Estos resultados descartan la posibilidad de que las concentraciones de Hcy, estuviesen determinadas por el infarto de miocardio y por tanto apoyan la relación causa efecto entre la HH y la enfermedad coronaria.

Igualmente son interesantes los resultados de otro estudio prospectivo realizado durante nueve años de seguimiento, en el cual se analizó la relación entre la concentra-

ción plasmática de Hcy y la mortalidad en 587 pacientes con enfermedad coronaria confirmada por angiografía. En dicho estudio se encontró que la Hcy era un predictor importante de mortalidad sobre todo durante los primeros cinco años (29). Este valor predictivo, aumentó gradualmente con el incremento de la concentración de Hcy, así: fue de 3,3 cuando la concentraciones de Hcy está entre 9 y 14 µmol/L, y aumentaba significativamente a 6,3 cuando la Hcy estaba entre 15 y 19,9 µmol/L y a 9,9 cuando la concentración de Hcy era ≥ a 20 µmol/L (p < 0,001). La importancia del valor predictivo no varió cuando se incluyó en el análisis la fracción de eyección ventricular izquierda, el número de arterias con estenosis, la concentración de creatinina y el colesterol total (29). El aumento gradual de Hcy también se asocia en estos pacientes (9,28,42,91,92,) y en los que padecen insuficiencia renal (93) con el número de eventos cardiovasculares.

Diversos estudios sugieren que la HH en los pacientes con enfermedad coronaria es debida a defectos en las enzimas CbS en 30% (56) y en 23% de los casos a defectos en la enzima MTHFR (4). La variante termolábil de la enzima MTHFR es un factor de riesgo de enfermedad coronaria (4) y se observa en 17% de los pacientes con esta enfermedad.

Los resultados de un metaanálisis confieren una "odds ratio" de 1,8 para la enfermedad coronaria a los individuos con HH. Cuando la concentración de Hcy incrementa 5 µmol/L respecto a los controles, la "odds ratio" aumenta en 1,7 de la misma forma que lo harían 518 µmol/L de colesterol (20).

Hiperhomocisteinemia y trombosis venosa

Los resultados de las investigaciones realizadas en pacientes con trombosis venosa profunda y con trombosis venosa recurrente demuestran que la HH está presente en 18% de estas patologías (33,90, 94-101) (Tabla 4) y es más frecuente en las mujeres que en los hombres e incrementa

Tabla 4. Frecuencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con trombosis venosa y en controles en ayuno y después de una sobrecarga de metionina.

Estudio		Pacientes* Controls (n)	Edad	Extracción de la sangre †	% Basal (p/c)‡	% Postmetionina (p/c)‡	Referencia
Brattstrom	1991	42 / 42	36 ± 8,3	3-36 meses	9,5 / 7,1	14,0 / 5,0	90
Bienvenu ²	1993	50/49	17-57	no informan	36/0	NR	94
Falcon	1994	80 / 51	18-49	3-72 meses	8,8 / 0,0	18,4 / 1,9	33
den Heijer	1995	185 / 220	20-90	12-360 meses	25,0 / 9,5	24,0 / 10,0	95
Fermo ²	1995	58/60	33±12	3 meses	12,1/0	19/0	96
den Heijer	1996	269 / 269	16-70	no informan	10,0 / 5,0	NR	97
Martinelli	1997	117/108 ¹ 36/108	15-61 18-56	no informan 2 meses	14/7 6/7	NR NR	98
Kluijmans	1998	269/269	16-70	no informan	10/5	NR	99
Gonzalez ³	1998	64/68	49,6	6 meses	17,2/4,4		100
Lagman	2000	70/210	22-97	NR	23/5		101

* = Diagnóstico realizado por: Flebografía, cintografía pulmonar, angiografía o compresión venosa.
 † = Después del último episodio de trombosis (meses). ¹Trombosis venosa miembros superiores;
²Trombosis venosa y arterial; ³este % incluye los hiperhomocisteinémicos en ayuno y post-metionina; NR = no realizada.
 ‡p/c = % de pacientes y controles hiperhomocisteinémicos.

con la edad (97). En un número importante de pacientes con trombosis e HHM, la historia familiar sugiere una base hereditaria de esta alteración metabólica (33). La presencia de HH aumenta el riesgo de trombosis venosa entre dos y tres veces (95) independientemente de la deficiencia de la proteína C, S o antitrombina o de la ingesta de anticonceptivos orales (95). En los pacientes en los que coexiste la forma homocigota para la deficiencia de la CbS y el factor V Leiden suelen presentar episodios tromboembólicos con mayor frecuencia que aquellos que sólo presentan una de estas alteraciones (4).

Por el contrario, en dos de los estudios realizados (90,102) en pacientes con trombosis venosa objetivada mediante flebografía no se observó diferencias significativas en las concentraciones de Hcy antes o tras una sobrecarga de metionina entre pacientes y controles. Probablemente estos resultados estén influidos por el reducido número de pacientes analizados. Sin embargo, un reciente metaanálisis que incluyó nueve estudios demostró que la HHM es un factor de riesgo importante para tromboembolismo venoso (OR 2,95), este riesgo es mayor en los pacientes menores de 60 años (OR 4,13). El estudio de Langman y col. Confirmó los resultados de este metaanálisis y sugirió que el aumento de la Hcy en sangre es un factor clínicamente significativo en el desarrollo del tromboembolismo venoso (101), probablemente mediante mecanismos que incluyen, disfunción endotelial, proliferación de las células musculares lisas y cambios hemostáticos que favorecen el estado protrombótico (103-105).

La hiperhomocisteinemia un factor de riesgo de aborto

Aún cuando los mecanismos por los cuales la Hcy ejerce sus efectos no están bien definidos, la consideración de la HH como factor de riesgo de abortos espontáneos se basa

(como se mencionó anteriormente) en los efectos de ésta sobre la pared arterial y el proceso de la coagulación. Los resultados de los ensayos clínicos indican que un porcentaje de mujeres que experimentan abortos espontáneos, abrupcio de placenta, preeclampsia o que tienen hijos con defectos del tubo neural presentan HH basal o después una sobrecarga de metionina, tal como muestra la Tabla 5. (59-62, 106-108). Debido a esto, el Servicio de Salud de los Estados Unidos de América, recomendó desde 1992 que las mujeres embarazadas deben consumir aproximadamente 400 mcg de ácido fólico por día.

La HH también se correlaciona con muerte perinatal (4). Las gestantes con homocistinuria clásica no tratada presentan pérdidas fetales en 50% de los casos (1,4).

Tratamiento de la hiperhomocisteinemia moderada en la enfermedad vascular prematura

El tratamiento de la HH se fundamenta en la importancia que tienen las vitaminas B₆ y B₁₂ y el ácido fólico en el metabolismo de la Hcy y la experiencia acumulada en el tratamiento de la homocistinuria con estas vitaminas (1,4).

Tabla 5. Frecuencia de hiperhomocisteinemia en mujeres que presentan abortos repetitivos o hijos con defectos del tubo neural.

Estudios	Casos (n) Controles (n)	Casos Controles	% Casos % Controles	Referencias
Wouters 1993	102/41	1,35	21/0	87
Dekker ¹ 1995	79/41	ND	17,7/0	88
Steege ² 1992	24/15	1,85	33,3	90
Steege ³ 199	16/15	1,76	31,3/0	91
Steege ³ 1994	41/50	1,16	22/4	92
Mills ³ 1995	81/323	1,1	ND	93
Quere 1998	100/100	2,3	12/0	94

Hiperhomocisteinemia post-metionina: ¹preeclampsia; ²abrupcio de placenta
³Defectos del tubo neural.
 ND: no demostrada.

En el tratamiento de la homocistinuria se emplean megadosis de vitamina B₆. El efecto de ésta se atribuye a la estimulo que ejerce sobre la enzima CbS (1,4-6). La respuesta es proporcional a la actividad residual de la enzima. Aproximadamente 50 % de los pacientes homocistinúricos clásicos, responden a este tratamiento y a los que no responden, se les añaden suplementos de ácido fólico, betaína, colina o vitamina B₁₂ o una combinación de estos, con el fin de estimular el funcionamiento de la vía de la transmetilación de la Hcy (1,4).

El tiempo necesario para disminuir significativamente la Hcy en sangre varía de un individuo a otro, la estrategia terapéutica empleada y la dieta. En general después de la segunda semana de tratamiento hay una disminución importante de la concentración de Hcy (1,4).

A pesar de que los estudios mencionados anteriormente indican que la HHM es un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular precoz, falta por conocer los resultados de los estudios de prevención primaria y secundaria que se están realizando en la actualidad. La normalización de la concentración plasmática de Hcy se logra con ácido fólico, vitamina B₆ y/o vitamina B₁₂ pero, no existe todavía un consenso definitivo para precisar con cuál o cuáles de estas vitaminas se debe iniciar el tratamiento, la dosis a emplear, por cuánto tiempo se debe administrar y cada cuánto se debe monitorizar las concentraciones plasmáticas de Hcy una vez instaurado el tratamiento.

El tratamiento de la HHM en ayuno como la que se observa en los individuos con enfermedad vascular prematura o con insuficiencia renal o en los homocigotos para la variante termolábil de la enzima MTHFR (4) se inicia con ácido fólico (1-5 mg/día) durante tres meses, al cabo de los cuales debe realizarse una nueva determinación de Hcy. El efecto del ácido fólico es evidente aún en individuos sanos con niveles séricos de ácido fólico y de Hcy dentro del rango normal (1,4). Cuando no existe una respuesta positiva, se recomienda combinar ácido fólico y vitamina B₆ (100-300 mg/día) o ácido fólico y betaína (dos dosis de 3 gr/día) (4). Se recomienda asociar al tratamiento con ácido fólico la vitamina B₁₂ para evitar que enmascare un déficit de vitamina B₁₂ (4). Esta complicación se obvia, midiendo la vitamina B₁₂ antes de iniciar el tratamiento con ácido fólico.

La administración de vitamina B₁₂ normaliza la concentración plasmática de Hcy en los individuos con esta deficiencia pero, a diferencia del ácido fólico no tiene efectos sobre las concentraciones de Hcy en los individuos sanos con niveles de Hcy y vitamina B₁₂ dentro del rango de la normalidad (4).

El tratamiento de la HHM detectada en los pacientes con enfermedad vascular después de una sobrecarga oral de metionina, con vitamina B₆ mejora la respuesta a la sobrecarga oral de metionina mediante un realce de la transulfuración (1, 4-6). La respuesta al tratamiento de la HH basal como la detectada después de una sobrecarga con

metionina en nuestra experiencia, en ambos casos, las concentraciones de Hcy disminuyeron en promedio un 40% y al cabo de seis meses, estaba dentro del rango normal según nuestros valores de referencia (6, 100, 109). En aquellos individuos con ambas determinaciones alteradas, se recomienda el empleo de ácido fólico y vitamina B₆ simultáneamente.

Conclusiones

La HHM está presente en una proporción importante de pacientes con enfermedad cardiovascular prematura (20-47%), en especial en pacientes con enfermedad cerebrovascular. Es un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular (HHM en ayunas, después de una sobrecarga o en situaciones diferentes a éstas) independiente del tabaquismo, la hipercolesterolemia, la obesidad, la HTA, etc. Se recomienda que este metabolito sea analizado en pacientes con enfermedad cardiovascular prematura, en sus familiares, en los fumadores, en diabéticos, en hipertensos y en pacientes con insuficiencia renal. El efecto tóxico del aumento de la concentración de Hcy en sangre es gradual y está en relación directa con la concentración de ésta.

El tratamiento con ácido fólico y vitamina B₆ y B₁₂ reduce considerablemente la Hcy en sangre. El efecto del ácido fólico es evidente aún en los individuos con cifras de Hcy dentro del rango de normalidad.

Cuando la HH coexiste con otro factor de riesgo trombogénico (factor V Leiden, disminución de antitrombina III, proteína C y S etc.) aumenta significativamente la probabilidad de eventos tromboticos.

Aunque no todos los estudios epidemiológicos confirman la relación causa efecto entre la Hcy y la aterosclerosis, ésta cada vez cobra más vigencia y los resultados de los estudios de casos y controles así lo confirman y no pueden ser ignorados. Los ensayos aleatorios de intervención secundaria que se están realizando en diferentes países ayudarán a dilucidar la relación causa efecto entre la Hcy y la patogénesis de la aterosclerosis, y si el tratamiento con estas vitaminas, disminuye y previene el riesgo de eventos vasculares. Estos resultados tendrán un impacto muy relevante en las políticas de salud pública.

Summary

Objective: to review the most relevant investigations which associate the moderate increase of Homocysteine (Hcy) in the blood with the presence of cardiovascular disease.

Sources of information: Medline search between 1968 and 2000 on publications which associate a moderate increase of Hcy levels in the blood with: coronary disease, peripheral and cerebrovascular disease with thrombosis, abortion, and/or neural tube defects.

Research selection: search revealed 280 abstracts, from these 108 were selected as their methodology allowed to comply with the objective of this review. Subsequently,

the original works on which this review is based were gathered.

Data research: the consigned data of this review were obtained from experimental, and case / control studies.. Those which allowed us to determine and to identify that a moderate increase of fasting Hcy levels in blood, and/or after a methionine oral loading was considered as a risk factor for cardiovascular disease affecting all territories were analyzed. Both retrospective and prospective studies were included

Results: the different studies show that a moderate increase of fasting Hcy levels in blood, and/or after a methionine oral loading is a frequent finding in patients suffering from cardiovascular disease, especially those with cerebrovascular disease (47%) followed by peripheral vascular and coronary disease.

This risk significantly increases, in a gradual way, in respect to healthy controls as the Hcy concentration increases. The treatment of this biochemical alteration is effective, harmless and inexpensive. The response is evident after a few days of treatment with either folic acid, vitamin B6 or vitamin B12, according to the kind of hyperhomocysteinemia detected. It is for this reason that when these vitamins diminish in the blood, the cardiovascular disease risk increases .

The controlled intervention studies that are being carried out at the present time on patients suffering from cardiovascular disease in different countries, may serve to demonstrate that the treatment with these vitamins (in addition to reduce the Hcy plasmatic concentration), also reduce the risk for cardiovascular disease and its progression.

Conclusions: the moderate increase of Hcy in blood appears to be a risk factor for cardiovascular disease which affects all vascular territories and at the same time it is independent from conventional risk factors. Because of this, it may be recommended to include blood Hcy determination among the screening tests used for the evaluation of cardiovascular disease.

Key words: *Homocysteine, Hyperhomocysteinemia, Cistathionine b-sintase, methylenetetrahidrofolate reductase, cerebrovascular disease, peripheral vascular or coronary disease,*

Referencias

- Mudd SH, Levy HL, Skovoy 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.
- McKusick VA. Homocystinuria. In heritable disorders of connective tissue, 4th ed. St. Louis: CV Mosby, 1972: 224-281.
- Carey MC, Donovan DE, Fitzgerald O, McAuley FD. Homocystinuria: a clinical and pathological study of nine subjects in six families. *Am J Med* 1968;**45**:7-25.
- Córdoba Porras A, Blanco Vaca F, Gonzalez Sastre F. Hiperhomocisteinemia, un nuevo marcador de riesgo vascular: territorios vasculares afectados, papel en la patogenésis de la arteriosclerosis y la trombosis y tratamiento. *Medicina Clínica. (Bare)* 1997;**109**:715-725.
- Córdoba Porras A, Blanco Vaca F, González Sastre F. Bases moleculares de hiperhomocisteinemia. *Química Clínica* 1998;**17**:5-18.
- Córdoba Porras A, Ceballos JB, Meneses BE. Causas moleculares de la hiperhomocisteinemia. *Acta Med Colomb* 2000;**25**:122-133.
- McCully KS, Wilson RB. Homocystinuria theory of arteriosclerosis. *Atherosclerosis* 1975 ;**22**:215-227.
- McCully KS. Homocysteine theory of arteriosclerosis. Development and current status. In: Gotto, Jr A.M. and paoletti R. (eds), *Atherosclerosis reviews*, vol. 11 Raven press, New York, 1983: 157-246.
- Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, et al. A prospective study of plasma homocysteine and risk of miocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992;**268**:877-881.
- Genest JJ, McNamara JR, Upson B, Ordovas JM, Schaefer EJ, Malinow MR. Prevalence of familial hyperhomocystein(e)mia in men with premature coronary artery disease. *Arterioscler Thromb* 1991 ;**11**:1129-1136.
- Dudman NPB, Wilcken DEL, Wang J, Lynch JF, Macey D, Lundberg P. Disordered methionine-homocysteine metabolism in premature vascular disease. Its occurrence, cofactor therapy, and enzymology. *Arterioscler Thromb* 1993;**13**:1253-1260.
- Franken DG, Boers GHJ, Blom HJ, Trijbels MJM, Kloppenborg PWC. Treatment of mild hyperhomocysteinemia in vascular disease patients. *Arterioscler Thromb* 1994;**14**:465-470.
- 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.
- Brattstrom L, Lindgren A. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for stroke. *Neurol Res* 1992;**14**:81-84.
- von Eckardstein A, Malinow MR, Upson B, Heinrich J, Schulte H, Schönfeld R, et al. Effects of age, lipoproteins, and hemostatic parameters on the role of homocyst(e)inemia as a cardiovascular risk factor in men. *Arterioscler Thromb* 1994;**14**:460-464.
- 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.
- 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.
- Brattstrom L, Israelson B, Norrving 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.
- Brattstrom LE, Israelsson B, Hultberg B. Plasma homocysteine and metionine tolerance in early-onset vascular disease. *Haemostasis* 1989;**19**(suppl 1):35-44.
- Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. A Quantitative Assessment of Plasma Homocysteine as a Risk Factor for Vascular Disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;**274**:1049-1057.
- Malinow MR, Kang SS, Taylor LM, Wong PWK, Coull B, Inahara T. Prevalence of hyperhomocystein(e)mia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1989;**79**:1180-1188.
- Wilcken DEL, Reddy SG, Gupta VJ. Homocysteinemia, ischemic heart disease, and the carrier state for homocystinuria. *Metabolism* 1983;**32**:363-370.
- Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PWF, Belanger AJ. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *New Engl J Med.* 1995;**332**:286-291.
- Brattstrom L, Lindgren A, Israelsson B, Malinow MR, Norrving 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.
- Lupattelli G, Ruffini E, Locati EH, Lombardini R, Ciuffetti G, Siepi D, Mannarino E. Hyperhomocysteinemia is Associated with caritid atherosclerosis. *The Journal of Vascular Disease Angiology.* 1999;**50**:823-830.
- Kark DJ, Selhub J, Adler B, Gotin J, Abramson JH, Friedman G and Rosenberg IH. Nonfasting plasma total homocysteine level and mortality in middle-age ang elderly men and women in Jerusalem. *Anls Internal Medicine* 1999; **131**:321-330.
- Malinow MR, Duell PB, Hess DL, Anderson PH, Kruger WD, Phillipson BE, et al. Reduction of plasma homocysteine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *The New Engl J Med* 1998;**338**:1009-1015.
- 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.
- Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease . *The New Engl J Med* 1997;**337**:230-236.

30. Genest JJ, McNamara DN, Salem JR, Wilson PWF, Scafer EJ, Malinow MR. Plasma homocysteine levels in men with premature coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1990; **16**: 1114-1119.
31. Murphy-Chutorian DR, Wexman MP, Grieco AJ. Methionine intolerance: a possible risk factor for coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1985; **6**:725-730.
32. Andersson A, Brattström L, Israelsson A, Hultberg B. The effect of excess daily methionine intake on plasma homocysteine after a methionine loading test in humans. *Clin Chim Acta* 1990; **192**:69-76.
33. Falcon CR, Cattaneo M, Panzeri D, Martinelli I, Mannucci PM. High prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with juvenile venous thrombosis. *Arterioscler-Thrombosis* 1994; **14**:1080-1083.
34. Malinow MR, Sexton G, Averbuch M, Grossman M, Wilson D, Upson B. Homocyst(e)inemia in daily practice: levels in coronary artery disease. *Coronary Artery Disease* 1990; **1**: 215-220.
35. Murphy-Chutorian D, Alderman EL. The case that hyperhomocysteinemia is a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1994; **73**:705-707.
36. Mereaue-Richard C, Muller JP, Faivre E, Ardouin P, Rousseaux J. Total plasma homocysteine determination in subjects with premature cerebral vascular disease. *Clin Chem* 1991; **37**:126-126.
37. Ueland PM, Refsum H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med* 1989; **114**:473-501.
38. Brattström LE, Tengborn L, Israelsson B, Hultberg B. Plasma homocysteine in venous thromboembolism. *Haemostasia* 1991; **21**:51-57. 173.
39. Molgaard J, Malinow MR, Lassvik C, Holm A-C, Upson B, Olsson AG. Hyperhomocyst(e)inemia. *J Intern Med* 1992; **231**:273-279.
40. Berg K, Malinow MR, Kierulf P, Upson B. Population variation and genetic of plasma homocyst(e)ine (H(e)) level. *Clin Genet* 1992; **41**:315-321.
41. Pancharuniti N, Lewis ChA, Sauberlich HE, Perkins LL, Go RCP, Alvarez JO, Macaluso M, Acton RT, Copeland RB, A Lucien Cousins AL, Gore TB, Cornwell PE, Roseman J. Plasma homocyst(e)ine, folate, and vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1994; **59**:940-948.
42. 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.
43. 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, julio 1998.
44. 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.
45. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; **324**:1149-1155.
46. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; **270**:2693-2698.
47. Brattstrom L, Lindgren A, Israelsson B, Andersson A, Hultberg B. Homocysteine and cysteine. *J Intern Med* 1994; **236**:633-641.
48. Kang SS, Wong PWK, Norusis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987; **36**:458-462.
49. 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.
50. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PWF, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr* 1994; **60**:2-11.
51. Andersson A, Brattström L, Israelsson B, Isaksson A, Hamfelt A, Hultberg B. Plasma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender, and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1992; **22**:79-87.
52. 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.
53. Brattström LE, Israelsson B, Jeppsson JO, Hultberg B. Folic acid an innocuous means to reduce plasma homocysteine. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; **48**:215-221.
54. Ubbink JB, Vermaak WJH, van der Merwe A, Becker PJ, Delport R, Potgieter HC. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *J Nutr* 1994; **124**:1927-1933.
55. 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.
56. 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.
57. Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency. I. Usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990; **34**:90-98.
58. 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.
59. Steegers-Theunissen RPM, Boers GHJ, Trijbels FJM, Finkelstein JD, Bloom HJ, Thomas CMG, et al. Maternal hyperhomocysteinemia: a risk factor neural-tube defects?. *Metabolism* 1994; **43**: 1475-1480.
60. 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.
61. 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.
62. Mills JL, Mcpartlin JM, Kirke PN, Lee YJ, Conley MR, Weir DG, Scott JM. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. *Lancet* 1995; **345**:149-151.
63. Brattström LE, Israelsson B, Hultberg B. Plasma homocysteine and methionine tolerance in early-onset vascular disease. *Haemostasis* 1989; **19**(suppl 1):35-44.
64. Coull BM, Malinow MR, Beamer N, Sexton G, Nordt F, Pat de Garmo ANP. Elevated Plasma homocyst(e)ine concentration as a possible independent risk factor for stroke. *Stroke* 1990; **21**: 572-576.
65. Molgaard J, Malinow MR, Lassvik C, Holm A-C, Upson B, Olsson AG. Hyperhomocyst(e)inemia. *J Intern Med* 1992; **231**:273-279.
66. Brattström L, Lindgren A, Israelsson B, Malinow MR, Norrving 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.
67. Córdoba A, Castellvi A, Rodés M, Arboix A, Iranzo A, S, Piles Marti JL, Ota C, Ordóñez J, Gonzalez F, Blanco F. Incidencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con accidente vascular precoz. VIII congreso Nacional de la Sociedad Española de Arteriosclerosis Clínica e Investigación en Arteriosclerosis 1995; **7**(supl 1):50.
68. Evers S, Koch HG, Grottemeyer KH, Lange B, Deufel T, Ringelstein EB. Features, symptoms, and neurophysiological findings in stroke associated with hyperhomocysteinemia. *Arch Neurol* 1997; **54**:1276-1282.
69. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM, Palma Reis RJ, Boers GH, Sheahan RG, Israelsson B, Uiterwaal CS, Meleady R, McMaster D, Verhoef P, Witteman J, Rubba P, Bellet H, Wautrecht JC, de Valk HW, Sales Luis AC, Parrot Rouland FM, Tan KS, Higgins I, Garcon D, Andria G. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; **277**:1775-1781.
70. Vila N, Deulofeu R, Chamorro A, Piera C. Plasma homocysteine levels in patients with ischemic cerebral infarction. *Med Clin (Barc)* 1998 May 9; **110**:605-608.
71. Bo Kristensen, Malm J, Nilsson TK, Hultdin J, Bo Carlber, Dahlen G, Olsson T. Hyperhomocysteinemia and hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. *Stroke* 1999; **30**:974-980.
72. Van Beynum IM, Smeitink JAM, den Heijer M, Pothoff MTWBP, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia a risk factor for ischemic stroke in children. *Circulation* 1999; **99**:2070-2072.
73. Brattstrom LE, Haerdebo JE, Hultberg BL. Moderate hyperhomocysteinemia- a possible risk factor for atherosclerotic cerebrovascular disease. *Stroke* 1984; **15**:1012-1016.
74. Boers GHJ, Smals AGH, Trijbels FJM, Fowler B, Bakkeren JAJM, Schoonderwaldt HC, Kleijer JW, Kloppenborg PWC. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Engl J Med* 1985; **313**:709-715.
75. Malinow MR, Nieto FJ, Szklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocyst(e)ine in asymptomatic adults. *Circulation* 1993; **87**:1107-1113.
76. Taylor LM, Defrang RD, Harris EJ, Porter JM. The association of elevated plasma homocyst(e)ine with progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vas Surg* 1991; **13**:128-136.

77. Bergmark C, Manssör MA, Swedenborg J, de Faire U, Svardal AM, Ueland PM. Hyperhomocysteinemia in patients operated for lower extremity ischaemia below the age of 50: effect of smoking and extent of disease. *Eur J Vasc Surg* 1993;7:391-396.
78. Valentine RJ, Kaplan HS, Green R, Jacobsen DW, Myers SI, Clagett GP. Lipoprotein (a), homocysteine, and hypercoagulable states in young men with premature peripheral atherosclerosis: a prospective, controlled analysis. *J Vasc Surg* 1996;23:53-63.
79. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, McWilliams J, Henner WD, Taylor LLM, et al. Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease. *Circulation* 1996;94:3074-3078.
80. Aronson DC, Onkenhout W, Raben AMTJ, Oudenhoven FIJ. Impaired homocysteine metabolism: a risk factor in young adults with atherosclerotic arterial occlusive disease of the leg. *British J of Surgery* 1994;81:1114-1118.
81. Israelsson B, Brattström LE, Hultberg BL. Homocysteine and myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1988;71:227-233.
82. Wu LL, Wu J, Hunt SC, James BC, Vicent GM, Williams RR, Hopkins PN. Plasma homocysteine as a risk factor for early familial coronary artery disease. *Clin Chem* 1994;40:552-561.
83. Hopkins PN, Wu LL, Wu J, Hunt SC, James BC, Vicent GM, et al. Higher plasma homocyst(e)line and increased susceptibility to adverse effects of low folate in early familial coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1314-1320.
84. 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.
85. 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.
86. Loehrer FMT, Angst ChP, Haefeli WE, Jordan PP, Ritz R, Fowler B. Low whole-blood S-adenosylmethionine and correlation between 5-methyltetrahydrofolate and homocysteine in coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:727-733.
87. Donner MG, Klein GK, Mathes PB, Schwandt P, Richter WO. Plasma total homocysteine levels in patients with early-onset coronary heart disease and a low cardiovascular risk profile. *Metabolism* 1998;47:273-279.
88. Wilcken DEL, Wilcken B. The pathogenesis of coronary arteria disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976;57:1079-1082.
89. Murphy-Chutorian D, Alderman EL. The case that hyperhomocysteinemia is a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1994;73:705-707.
90. Brattstrom L, Tengborn L, Israelsson B, Hultberg B. Plasma homocysteine in venous thromboembolism. *Haemostasis* 1991;21:51-57.
91. Alfthan G, Pekkanen J, Jauhiainen M. Relation of serum homocysteine and lipoprotein (a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994;106:9-19.
92. Verhoef P, Hennekens CH, Malonow MR, Kok FJ, Willett WC, Stampfer MJ. A prospective study of plasma homocysteine and risk of ischemic stroke. *Stroke* 1994;25:1924-1930.
93. Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: Prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997; 52:10
94. Bienvenu T, Ankri A, Chadeaux B, Montalescot G, Kamoun P. Elevated total plasma homocysteine, a risk factor for thrombosis. Relation to coagulation and fibrinolytic parameters. *Thrombosis Research* 1993 ;70:123-129.
95. den Heijer M, Blom HJ, Gerrits WBJ, Rosendaal FR, Haak HL, Wijermans PW, Bos GM. Is hyperhomocysteinemia a risk factor for recurrent venous thrombosis?. *The Lancet* 1995;345:882-885.
96. Fermo I, Viganò D'Angelo S, Paroni R, Mazzola G, Calori G, D'Angelo A. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med* 1995;123:747-753.
97. den Heijer M, Koster T, Blom HJ, Bos GM, Briet E, Reitsma PH, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:759-762.
98. Martinelli I, Cattaneo M, Panzeri D, Taioli E, Mannucci PM. Risk factors for deep venous thrombosis of the upper extremities. *Ann Intern Med* 1997;126:707-711.
99. Kluijtmans LA, den Heijer M, Reitsma PH, Heil SG, Blom HJ, Rosendaal FR. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase and factor V Leiden in the risk of deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1998;79:254-258.
100. 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.
101. Langman LJ, Ray JG, Evrovski J, Yeo E, Cole DEC. Hyperhomocysteinemia and the increased risk of venous thromboembolism. More evidence from a case-control study. *Arch Intern Med* 2000;160:961-964.
102. Amundsen T, Ueland PM, Waage A. Plasma homocysteine levels in patients with deep venous thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1321-1323.
103. Tsai JCH, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CH-M, Haber E, Schlegel R, Lee M-E. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine. A link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad sci USA* 1994;91:6369-6373.
104. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Koorner JS. Acute hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Lancet* 1998;351:36-37.
105. Rees M, Rodgers GM. Homocysteine association of a metabolic disorder with vascular disease and thrombosis. *Thromb Res* 1993;71:337-359.
106. Dekker G, de Vries JI, Doelitzsch PM, Huijgens PC, von Blomberg BM, Jakobs C, van Geijn HP. Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-1048.
107. Steegers-Theunissen RPM, Boers GHJ, Trijbels FJM, Eskes TKAB. Neural-tube defects and derangement of homocysteine metabolism. *New Engl J Med* 1991;324:199-200.
108. Quere I, Bellet H, Hoffet M, Janbon C, Mares P, Gris JC. A woman with five consecutive fetal deaths: case report and retrospective analysis of hyperhomocysteinemia prevalence in 100 consecutive women with recurrent miscarriages. *Fertil Steril* 1998;69:152-154.
109. Cordoba A, Meneses Londoño BE, González Sastre F, Blanco Vaca F. Efecto del tratamiento con vitamina B6 y B12 y ácido fólico sobre la concentración de homocisteinemia en pacientes con enfermedad cerebrovascular. II Congreso Latinoamericano de errores innatos del metabolismo y pesquisa neonatal. Santiago de Chile, 24-27 de octubre de 1999. P 108.