

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Determinación de niveles de Homocisteína plasmática en  
pacientes con hipertensión arterial que asisten a la Liga  
Guatemalteca del Corazón**

**Ana Carolina García González**

**Química Bióloga**

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

**Guatemala, agosto de 2004**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Determinación de niveles de Homocisteína plasmática en  
pacientes con hipertensión arterial que asisten a la Liga  
Guatemalteca del Corazón**

**INFORME DE TESIS**

Presentado por  
Ana Carolina García González

Previo a optar el título de  
Química Bióloga

**Guatemala, agosto de 2004**

DW  
06  
T(2242)

## **JUNTA DIRECTIVA**

Decano	M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Secretaria	Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona
Vocal I	Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo
Vocal II	Lic. Juan Francisco Pérez Sabino
Vocal III	Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez
Vocal IV	Br. Roberto José Garnica Marroquín
Vocal V	Br. Rodrigo José Vargas Rosales



## ACTO QUE DEDICO

A Dios, por ser la luz que ha guiado mi camino en todas las etapas de mi vida.

A mis padres, por ser la motivación que me inspiró a alcanzar esta meta y por ser mi apoyo incondicional.

A mis hermanos Adolfo, Irma y Leslie, por su cariño y apoyo en todos los momentos difíciles que he tenido.

A mis sobrinas, por ser la alegría de mi corazón.

A Carlos, con especial cariño por aceptarme como soy.

Y a todos mis amigos, los cuales siempre han estado al lado mío en momentos alegres y tristes: Alma, Fabiola, Flory, Ivo, Ligia y Sandra.



## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala**, lugar donde me formé profesionalmente.

**Al Laboratorio Clínico de la Liga Guatemalteca del Corazón**, por su invaluable colaboración para la realización de este trabajo, especialmente a la Licda. Ana María Taracena y al personal técnico.

**Al Laboratorio Clínico del Hospital Nuestra Señora del Pilar**, por su invaluable colaboración para la realización de este trabajo.

**A mi asesora Licda. Alba Marina Valdés de García**, por sus aportes valiosos en mi trabajo de tesis y por sus consejos para mi vida profesional.

**A mis revisores Licda. Kenia Caballeros y Lic. Martín Gil**, por su apoyo y colaboración en éste trabajo.

## INDICE

	Página
I. RESUMEN	2
II. INTRODUCCIÓN	4
III. ANTECEDENTES	6
A. Homocisteína	6
1. Generalidades	6
2. Metabolismo de la homocisteína	6
B. Homocisteína total	8
1. Constituyentes de la homocisteína total	8
2. Concentración de homocisteína total	9
3. Factores que influyen en los niveles de homocisteína	10
4. Métodos para determinar la homocisteína	13
C. Homocisteína y su relación con las enfermedades cardiovasculares	14
D. Mecanismo de daño debido a hiperhomocisteinemia	15
E. Tratamiento de la hiperhomocisteinemia	17
IV. JUSTIFICACIÓN	20
V. OBJETIVOS	21
VI. HIPÓTESIS	22
VII. MATERIALES Y METODOS	23
VIII. RESULTADOS	30
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
X. CONCLUSIONES	36
XI. RECOMENDACIONES	37
XI. REFERENCIAS	38
X. ANEXOS	46

## I. RESUMEN

Diversos estudios han sugerido que los niveles aumentados de homocisteína pueden elevar la presión arterial y así incrementar el riesgo de hipertensión. A nivel mundial la enfermedad cardiovascular es una de las principales causas de muerte, en la Liga Guatemalteca del Corazón el 35 por ciento de las enfermedades cardíacas entre los pacientes que acudieron en el año 2003, son pacientes que padecen de hipertensión arterial.

La interacción de la homocisteína con el endotelio en pacientes hipertensos puede promover trombogénesis, aterogénesis, originando episodios cardiovasculares adversos. Por lo antes mencionado el objetivo de este estudio fue la evaluación de la concentración de homocisteína en pacientes hipertensos, como un diagnóstico temprano a desarrollar dichas enfermedades.

Por ello se estableció la hipótesis de que las concentraciones de homocisteína están alteradas en pacientes con hipertensión arterial. Para la realización del estudio se seleccionaron 45 pacientes, los cuales tenían que ser pacientes hipertensos entre 30 y 60 años, a ellos se les extrajo 5 ml de sangre, se separó el suero por medio de centrifugación y estos se almacenaron a  $-20^{\circ}$  C hasta su análisis. El análisis se llevó a cabo por inmunofluorescencia polarizada utilizando el equipo IMX de ABBOTT®.

Los resultados obtenidos concuerdan con la hipótesis propuesta en que los pacientes hipertensos presentan niveles aumentados de homocisteína ya que un 76.56 por ciento de los pacientes tenían concentraciones de homocisteína por arriba de  $11.4 \mu\text{mol/L}$  ( $p < 0.01$ ). Los pacientes que presentaron homocisteinemia (concentraciones mayores de  $15 \mu\text{mol/L}$ ), fueron 51.11 por ciento lo cual indica que los pacientes hipertensos deben de medirse los valores de homocisteína como prevención a desarrollar episodios



cardiovasculares y así recurrir a un tratamiento a tiempo para disminuir estos niveles. En este estudio no se encontró que los niveles de homocisteína aumentaban con la edad en pacientes hipertensos.

## II. INTRODUCCIÓN

Las afecciones cardiovasculares representan la causa de aproximadamente la mitad del total de muertes prematuras en los habitantes de países desarrollados, con un patrón similar emergente en países en vías de desarrollo (1). La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que las enfermedades circulatorias (cardiovasculares y cerebrovasculares) están implicadas en un 30 por ciento de la mortalidad en el ámbito mundial, lo cual es aproximadamente 15 millones de muertes por año debido a estas condiciones (2). En el transcurso de los años se han identificado diversos factores para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, entre éstos se incluyen: hipercolesterolemia, hipertensión, tabaquismo, diabetes mellitus e historia familiar (3).

La elevación de los niveles de homocisteína en el plasma constituyen un factor de particular interés: recientes estudios han demostrado que aumentos moderados de los niveles de homocisteína en el plasma están relacionados con un incremento de riesgo para desencadenar enfermedades cardiovasculares (4). La homocistinuria, es una enfermedad hereditaria rara del metabolismo de los aminoácidos, en la cual hay elevadas concentraciones de homocisteína en la sangre, y éstas se han considerado durante largo tiempo como la causa de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular prematura en estos pacientes (5-8).

El mecanismo que relaciona la homocisteína con las enfermedades cardiovasculares puede ser la inducción de lesiones vasculares, aunque este mecanismo exacto todavía no se conoce completamente. La homocisteína puede producir descamación de las células endoteliales, oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, reducción de la respuesta vascular o aumento de la adhesión de los monocitos (9-12). Investigaciones previas indican que las concentraciones de homocisteína pueden relacionarse habitualmente con la hipertensión arterial. Dicha interacción puede causar un efecto negativo sobre el endotelio vascular,

promoviendo la trombogénesis y la aterogénesis, originando así episodios cardiovasculares adversos (13-15).

Para determinar si en pacientes con hipertensión arterial (>140/90 mm Hg) se encontraba elevada la concentración de homocisteína plasmática, evaluamos las concentraciones de este aminoácido en pacientes hipertensos que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón, por el método de IMX homocisteína del laboratorio ABBOTT®, el cual se basa en la tecnología de inmunoensayo de polarización de la fluorescencia (FPIA) (16). Además se realizó una encuesta a cada paciente, para excluir que algún otro factor que pudiera aumentar la concentración de la homocisteína.



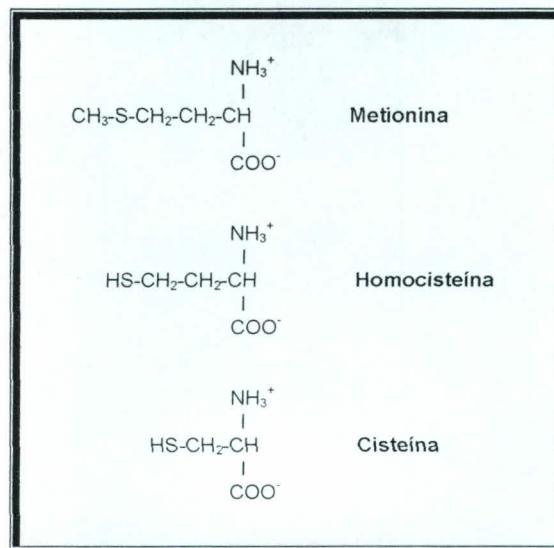
### III. ANTECEDENTES

#### A. Homocisteína

##### 1. Generalidades

La Homocisteína (Hcy) es un metabolito normal del aminoácido esencial metionina. Estructuralmente se asemeja estrechamente a la metionina y a la cisteína; los tres aminoácidos contienen azufre, los tres están relacionados metabólicamente como se muestra en la figura No. 1. Como los alimentos contienen pequeña o nula cantidad de Hcy libre, casi toda la presente en el cuerpo se deriva de la metionina de proteínas animales y de plantas (17).

**Figura 1** Aminoácidos relacionados metabólicamente en el ciclo de la Hcy (17).



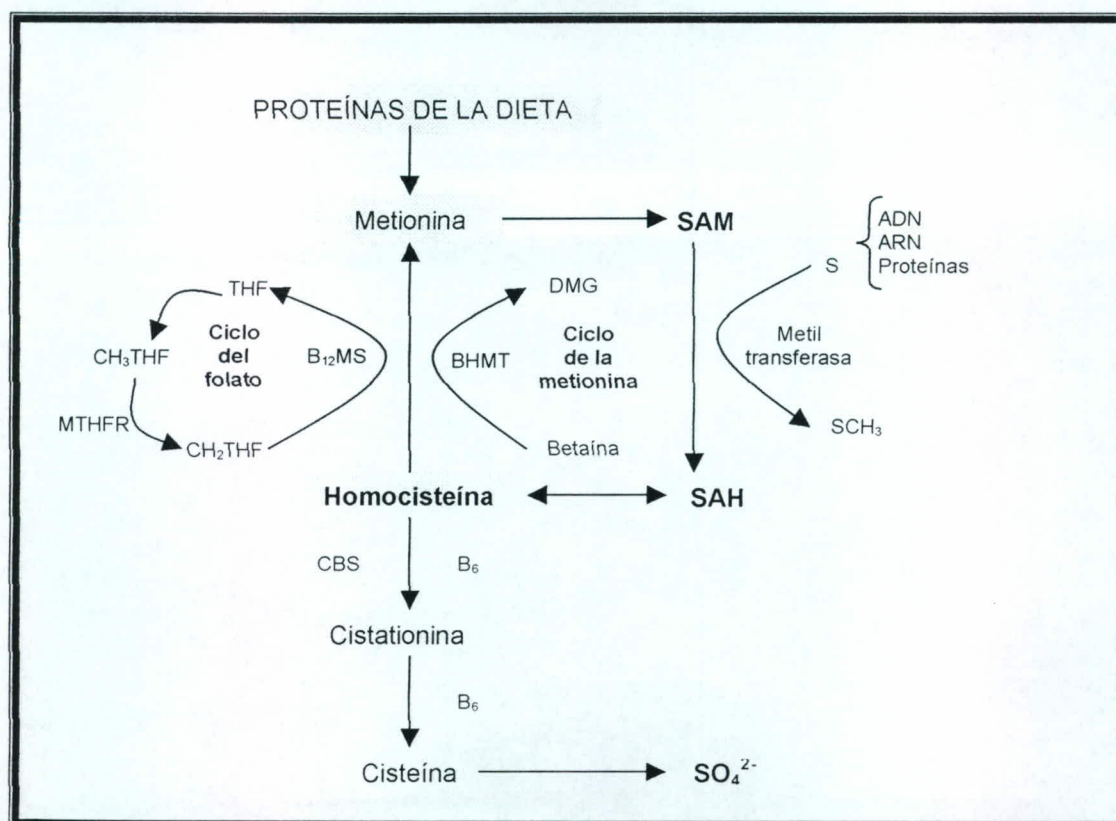
##### 2. Metabolismo de la Homocisteína

El metabolismo de la Hcy es dirigido por varios factores del complejo B. Los folatos, la vitamina B<sub>12</sub> y B<sub>6</sub> se utilizan en el ciclo de la remetilación y la vitamina B<sub>6</sub> se utiliza en la transulfuración. Las deficiencias de ácido fólico, vitamina B<sub>6</sub> ó

vitamina B<sub>12</sub> puede llevar a un metabolismo incorrecto de la Hcy y a una hiperhomocisteinemia. Además, mutaciones en los genes que codifican a la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), la metionina sintetasa (MS) y cistationina beta-sintetasa (CBS) pueden producir hiperhomocisteinemia (18).

La Hcy se genera por un ciclo a través de S-adenosilmetionina (SAM) y S-adenosilhomocisteína (SAH) (figura 2). La remetilación de la Hcy a metionina es llevada a cabo por la metionina sintetasa dependiente de vitamina B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>MS) y por la beta-homocisteína metiltransferasa (BHMT). La Hcy también se convierte a cisteína a través del ciclo de transulfuración, iniciado por la beta-sintetasa cistationina B<sub>6</sub> dependiente (CBS). El ciclo del folato genera 5-metiltetrahidrofolato (CH<sub>3</sub>THF) para la remetilación de Hcy a metionina (18).

Figura 2 Metabolismo de la Hcy (19).



## B. Homocisteína total

### 1. Constituyentes de la Homocisteína total

El plasma humano contiene ambas especies de Hcy, reducida y oxidada. La forma sulfurada o reducida es llamada Hcy y las formas oxidadas o disulfuradas son llamada homocistina. Las formas disulfuradas también existen con cisteína y con proteínas que contienen residuos reactivos de cisteína (proteínas unidas a Hcy). Las otras formas oxidadas son referidas como disulfuros mixtos (ver figura No. 3). Las formas oxidadas de Hcy usualmente comprenden del 98-99 por ciento de la Hcy total en el plasma, el cual el 80-90 por ciento es Hcy unida a proteínas, el 1 por ciento restante es la forma reducida. Por lo tanto, la Hcy total en el plasma, es una suma de todas las formas de Hcy que existen en el plasma o suero (20,21).

**Figura 3** Constituyentes de la Hcy total y sus porcentajes en el plasma (21).

<u>REDUCIDA</u>		
Homocisteína	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-SH} \end{array}$	1%
<u>OXIDADA</u>		
Homocistina	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \end{array}$	5-10%
<i>Disulfuros mixtos</i>		
Proteína-Homocisteína	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{Proteína-S} \end{array}$	80-90%
Cisteína-Homocisteína	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{-S} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	5-10%



## 2. Concentración de la Homocisteína total

El rango de la concentración en ayunas de la Hcy total en el plasma de adultos sanos es de 10  $\mu\text{mol/L}$ , con un rango de 5-15  $\mu\text{mol/L}$  (22). El rango de normalidad varía según el método utilizado, la edad y el sexo de la población evaluada. Los valores de Hcy son más elevados en el hombre que en la mujer y a su vez, son mayores en la mujer postmenopáusica que en la premenopáusica (23,24). La diferencia de valores entre los sexos podría deberse a un efecto hormonal o estar relacionada con una mayor masa muscular y los valores más elevados de creatinina en el hombre comparados con los de la mujer. La Hcy plasmática aumenta también con la edad. La causa de este incremento sería ocasionada por una disminución de los niveles de los cofactores enzimáticos, un deterioro de la función renal y/o una disminución de la actividad de la beta-sintetasa. Se han descrito a si mismo diferencias étnicas en los valores de Hcy, siendo inferiores en la raza negra que en la raza blanca o asiática. La concentración basal de Hcy puede ser normal en algunos sujetos, a pesar de tener una alteración de su metabolismo. La prueba de la sobrecarga oral a la metionina se utiliza para ponerla en evidencia (22).

Existen diversos rangos para catalogar una hiperhomocisteinemia: a) moderada, b) intermedia y c) severa, en base a la concentración en  $\mu\text{mol/L}$ , estas se presentan en la figura 4 (21,22). Se ha demostrado que el riesgo a enfermedad coronaria se ha presentado cuando hay concentraciones continuas de Hcy entre 10-15  $\mu\text{mol/L}$ . Por lo que el límite normal debería ser de 10  $\mu\text{mol/L}$  o quizás menor, esta concentración "deseable" podría lograrse con una óptima nutrición donde se incluya ácido fólico, vitamina B<sub>12</sub> y B<sub>6</sub>. En individuos que padecen de homocistinuria en la cual el metabolismo de la Hcy está alterado tienen una hiperhomocisteinemia severa, con concentraciones de Hcy aproximándose a 500  $\mu\text{mol/L}$ , en la cual se ha reportado que alrededor del 20 por ciento de esta es Hcy en forma reducida. Los individuos con enfermedad cerebrovascular, coronaria y periférica vascular presentan una hiperhomocisteinemia moderada entre 15-25

$\mu\text{mol/L}$  (1,3,4,8). También se ha reportado que en individuos donde la función renal es impar o en etapas terminales de enfermedad renal, las concentraciones de Hcy pueden llegar a ser concentraciones intermedias entre 25-50  $\mu\text{mol/L}$  (25).

**Figura 4** Hcy total plasmática: Valores de referencia (21).

Normal sin riesgo	0-11.4 $\mu\text{mol/L}$
Normal con riesgo	11.4-15 $\mu\text{mol/L}$
<b>Hiperhomocisteinemia</b>	
Moderada	15-25 $\mu\text{mol/L}$
Intermedia	25-50 $\mu\text{mol/L}$
Severa	50-500 $\mu\text{mol/L}$

### 3. Factores que influyen en los niveles de Homocisteína

Los determinantes la concentración de la Hcy plasmática son complejos que envuelven factores demográficos, genéticos y factores adquiridos como se presenta en la figura 5. Por lo que la genética, la nutrición, el estado de salud, el estilo de vida y la edad influyen en la homeostasis de la Hcy.

**Figura 5** Factores que influyen en los niveles de Hcy (21).

<b>DEMOGRAFICOS</b>	<b>ESTADOS DE SALUD</b>
Edad	Función impar de riñón
Sexo	Enfermedad renal en estado terminal
Etnia	Transplante de órganos
<b>GENETICOS</b>	Hipotiroidismo
MTHRF	<b>ESTILO DE VIDA</b>
MS	Hipertensión arterial
CBS	Fumar
<b>ADQUIRIDOS</b>	Alcohol (en exceso)
Deficiencia de vitamina B (folatos, B <sub>6</sub> y B <sub>12</sub> )	Sedentarismo
	Café (en exceso)



**a. Factores demográficos:** La concentración total de Hcy parece elevarse conforme la edad. La concentración Hcy en niños no varía según sexo, sin embargo en estudios hechos en adultos hay una diferencia entre hombres y mujeres siendo el de hombres más elevado y conforme aumenta la edad la diferencia aumenta (22). De ello se infiere que las concentraciones de Hcy son mayores en hombres que en mujeres de la misma edad, sin embargo las razones de esta diferencia aún son desconocidas. Los datos obtenidos por el Heart Study and the National Health Nutrition Examination Study (NHANES) indica que además de la edad y el sexo hay una pequeña diferencia también entre grupos étnicos (26).

**b. Factores nutricionales:** Es conocido que la deficiencia o mala absorción individual o combinada de ácido fólico, vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> puede ser causa de hiperhomocisteinemia y así incrementar el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. La fuente de Hcy en la dieta es la L-metionina, la cual puede obtenerse de frutas, vegetales que generalmente contienen de 0.9-1.2 g de metionina por 100 g del alimento. La proteína de fuente animal tiene un mayor contenido de metionina alrededor del 2.7-3.2 g por 100 g de alimento (21,27).

En la mayoría de los individuos sanos existe una correlación entre la Hcy, el folato y la vitamina B<sub>12</sub>. El metabolismo de la Hcy es regulado por las vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> además de la 5-metiltetrahidrofolato sirviendo como sustrato a la MS B<sub>12</sub>-dependiente en la remetilación de la Hcy a metionina y vitamina B<sub>6</sub> (5-fosfato piridoxal) y este a su vez como un cofactor para el CBS en la vía de la transulfuración.

**c. Factores genéticos:** Estudios realizados a inicios de la década de los noventa en pacientes con enfermedad coronaria establecieron que los factores genéticos eran importantes en la hiperhomocisteinemia. Reciente evidencia sugiere que factores genéticos, en combinación con factores adquiridos o ambientales, conllevan a un incremento de la Hcy total plasmática. Durante los



últimos años las enzimas CBS, MS y MTHFR se han clonado y se identificaron muchas mutaciones (1).

Algunos de los efectos enzimáticos severos que afectan la metilación de la Hcy son poco comunes. La mutación de la MTHFR demuestra diferencias étnicas y está casi ausente en los individuos afro-americanos. En individuos caucásicos, la prevalencia de sujetos homocigotos es alrededor del 12 por ciento. En la forma homocigota (*in vitro*) la enzima presenta solamente una actividad normal del 30-50 por ciento. La mutación para los individuos homocigotos y en menor medida para los heterocigotos; es asociada con los incrementos moderados de los niveles de Hcy, especialmente en individuos con un reducido nivel de folato (28).

La MTHFR en presencia de NADPH convierte al 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato, éste a su vez sirve como sustrato para la metionina sintetasa B<sub>12</sub>-dependiente. La MTHFR es un enzima flavino-dependiente constituida por dos subunidades idénticas de 77 kDa Con un dominio catalítico N-terminal y un dominio regulador C-terminal. Se han reportado varios casos de deficiencia de MTHFR en las cuales los individuos tienen complicaciones neurológicas y vasculares que aparecen en la primera o segunda década de vida. Este gen a sido clonado y se han descrito 14 mutaciones que causan deficiencia de la misma. Una variante termolábil de esta enzima ha sido reportada por Kang *et al* (28-31).

Otra mutación común que afecta la MTHFR ha sido recientemente descrita, la misma aparece como una interacción entre esta mutación y el polimorfismo C677T, esta mutación produce una sustitución de alanina a valina. Para individuos heterocigotos tanto el C677T y esta mutación (20 y 25 por ciento respectivamente sobre el estudio de poblaciones) presentan características similares, como lo observado en homocigotos para la mutación C677T. La prevalencia y el impacto de mutaciones involucradas en el metabolismo de la Hcy están actualmente bajo investigación en numerosos estudios (32).

La enzima MS dependiente de la vitamina B<sub>12</sub> es encontrada en casi todas las células y tejidos. Errores de nacimiento que afectan la absorción, el transporte intracelular, el transporte sistémico de la vitamina B<sub>12</sub>, y la conversión de esta a coenzima (B<sub>12</sub>-metilo) puede producir pérdida de la actividad de MS y por lo tanto hiperhomocisteinemia. Mutaciones en el gen estructural de la MS han empezado a ser descritas. El ADN humano para la MS contiene una hebra abierta de 3798 nucleótidos, que codifican un polipéptido de 1265 aminoácidos. Sin embargo, la prevalencia de estas mutaciones y su contribución a la hiperhomocisteinemia todavía se encuentra en estudios (33-35).

En la vía de la transulfuración, que es catalizada por la CBS B<sub>6</sub>-dependiente, existen cientos de casos de deficiencia de la CBS, la cual es la forma más común de homocistinuria. El ADN humano para la CBS, contiene 2554 nucleótidos que codifican una subunidad de 551 aminoácidos con una masa molecular de 63 kDa. Un gran número de estudios para identificar los genotipos se han hecho, sin embargo han fallado en identificar el polimorfismo de la CBS que se relaciona con la enfermedad cardiovascular, por lo que se necesitan más estudios para ello (36-39).

**d. Otros factores:** Existen una serie de factores y condiciones patológicas que modifican los niveles de Hcy entre las cuales se pueden mencionar :

- i. Enfermedad renal crónica
- ii. Hipotiroidismo
- iii. Síndrome de mala absorción
- iv. Lupus eritematoso sistémico
- v. Cáncer
- vi. Interacciones con drogas: anticonvulsionantes (fenitoína, primidona), quimioterapias, inmunosupresores (metotrexate) y drogas que potencialmente interfieren con el folato, vitamina B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>.



#### 4. Métodos para la determinación de la Homocisteína

Las diversas metodologías para determinar la Hcy total en plasma o suero fueron por primera vez desarrolladas a mediados de los años ochenta. Para la determinación de Hcy primero debe de generarse Hcy libre del plasma por medio de una reducción química de los enlaces disulfuros, para ello se utilizan agentes reductores como el 2-mercaptoetanol, ditioneitol, borohidruro de sodio, n-tributilfosfina y solución de agua de tris fosfina(2-carboxietil)fosfina (40). La Hcy es entonces diferenciada de otros tioles de bajo peso molecular (cisteína, cistina y glutatión) y es separada por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase reversa y directamente determinada por detección electroquímica o utilizando un fluorocromo y separándola por HPLC para ser determinada fluorométricamente (41,42). Existe otra alternativa luego de generar la reducción en la cual la Hcy puede ser analizada por cromatografía gaseosa capilar y detectada por espectrofotometría de masas (43).

Inmunoensayos para la detección de Hcy han sido reportados recientemente, por Shipchandler y Moore, Frantzen *et al* y Pascal *et al* (16,44,45). Ambos ensayos utilizan un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra la S-adenosilhomocisteína, la cual es producida cuando la Hcy por medio de una reducción de los enlaces disulfuros, reacciona con una adenosina en presencia de S-adenosilhomocisteína hidrolasa (16,44,45).

#### C. Homocisteína y su relación con las enfermedades cardiovasculares

La homocistinuria, un defecto del metabolismo de la Hcy, fue descubierto en 1962 por Carson y Neill y Gerritsen *et al* (46,47). Esta rara enfermedad ocurre aproximadamente en 1 de cada 100,000 a 200,000 nacimientos, es causada por la deficiencia de las enzimas CBS, MTHFR ó MS, y es adquirida a través de un mecanismo autosómico recesivo. Individuos que son homocigotos para la deficiencia del enzima CBS son incapaces de catabolizar Hcy a través de la vía de



la transulfuración. La deficiencia homocigota para MTHFR ó MS evita la conversión de Hcy a metionina a través del ciclo de la metionina (28,33,36). Los patrones clínicos de la homocistinuria incluyen retraso mental, anormalidades esqueléticas y enfermedad prematura aterotrombótica. Estos individuos excretan grandes cantidades de Hcy en la orina y las concentraciones de Hcy en el plasma son de 50 a 500  $\mu\text{mol/L}$ . La rápida aparición de aterosclerosis y arteriosclerosis en estos pacientes ha sugerido que hay una estrecha relación entre la concentración de Hcy total en el plasma y la progresión de enfermedades cardiovasculares (5-8).

La relación entre la hiperhomocisteinemia y las enfermedades cardiovasculares han sido documentadas en numerosos estudios de caso-control. En 1976 antes de desarrollarse los ensayos para determinar la Hcy Wilken y Wilken reportaron elevadas concentraciones de disulfuros de cisteína-homocisteína en el plasma de individuos con enfermedad coronaria luego de 4 horas de haberle administrado metionina comparado con los individuos control, Kang *et al*, encontró que la Hcy unida a proteínas se encontraba elevada en individuos con enfermedad coronaria, Israelsson *et al*, encontró que la concentración total de Hcy plasmática se encontraba elevada en hombres que habían sufrido de un infarto al miocardio, Boushey *et al*, realizó estudios relacionando la Hcy a enfermedades cardiovasculares y estudios relacionando al folato como un determinante de la concentración de Hcy en el plasma, Graham *et al*, basado en un estudio realizado en un multicentro europeo de 750 casos y 800 controles, reportó que un incremento de la concentración de Hcy total plasmática era un factor independiente de riesgo importante como el fumar, la hipertensión y la hiperlipidemias para desarrollar enfermedades cardiovasculares (5,48-51).

#### **D. Mecanismos de daño debido a la hiperhomocisteinemia**

Existen diversas hipótesis del mecanismo de daño de la Hcy, una es que la forma reducida de la Hcy altera directamente la función de las células vasculares, ya que esta se oxida *in vivo*, por lo que los productos de ésta oxidación tales como

el peróxido de hidrógeno, el radical anión superóxido, y otras especies reactivas de oxígeno son los agentes causantes del daño directo a las células. La otra es que la Hcy actúa indirectamente a través de su oxidación y la formación de especies reactivas de oxígeno (9,11,52).

Diversos estudios en los que se han cultivado células endoteliales y del músculo liso de humanos y animales, en los cuales se utilizan concentraciones elevadas de Hcy en su forma reducida, las cuales provocan a las células endoteliales un cambio en su fenotipo de anticoagulantes a procoagulantes, modula la expresión de la enzima glutatión peroxidasa y de la óxido nítrico sintetasa (11,53,54). También se ha reportado que la Hcy es mitógena para las células del músculo liso debido a mecanismos que envuelven un sinergismo de inducción de la expresión ciclin A del RNA en el suero. Bajas concentraciones de Hcy estimulan la producción de colágeno en cultivos de células de músculo liso de conejo (55).

Por lo tanto el efecto que tiene la Hcy sobre las enfermedades cardiovasculares, según los estudios realizados son:

1. La Hcy genera superóxido y peróxido de hidrógeno, los cuales ambos están relacionados con el daño endotelial de los vasos de las arterias (9).

2. La Hcy cambia los niveles de los factores de coagulación hasta formar trombos en la sangre. Esta previene que las arterias pequeñas se dilaten, por lo que las hace más vulnerables a la obstrucción por trombos o placas (56,57).

3. La Hcy causa que las células del músculo liso que recubren la pared de la arteria formen parte del proceso aterogénico (55).

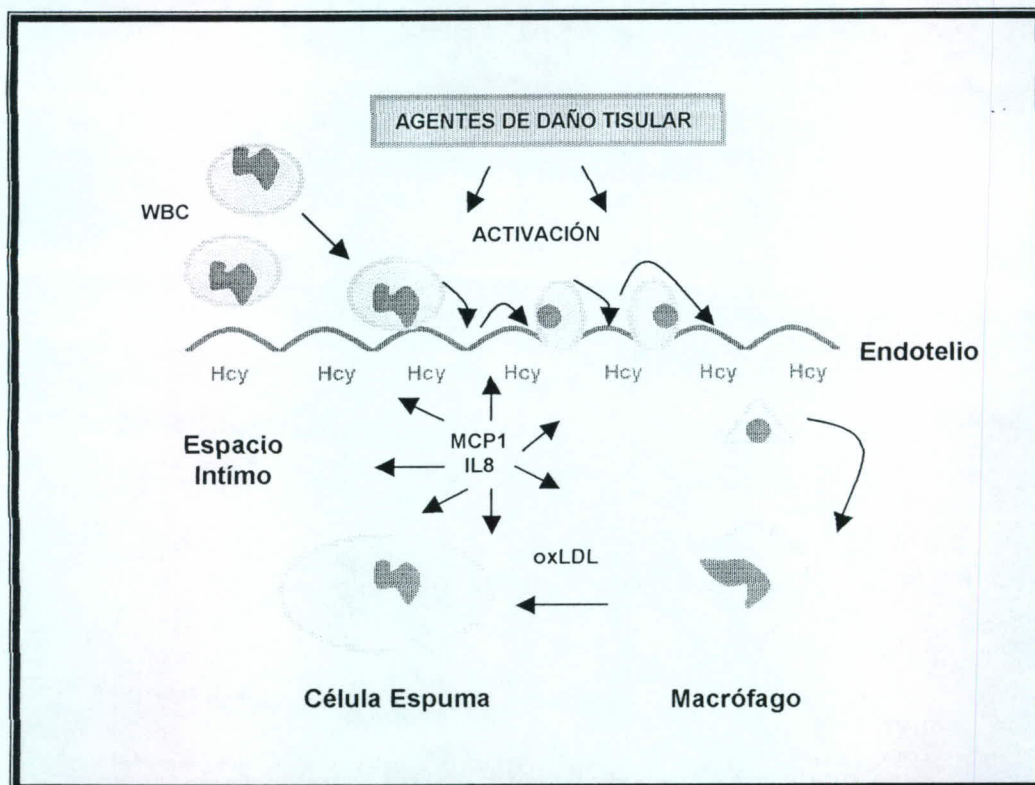
4. La Hcy causa agregación de plaquetas y formen parte del proceso de coagulación (53).



5. La Hcy causa que en células endoteliales de arterias de mandril haya muerte y formen lo que en humanos se conocen como ateromas (58).

6. Las células blancas sanguíneas (WBC) tienen contacto con las células vasculares endoteliales (CVE), cuando estas se dañan las WBC se adhieren a la superficie endotelial. La Hcy puede acelerar la progresión de la enfermedad cardiovascular estimulando la producción de quimiotaxis de WBC, por medio de atrayentes químicos (MCP1 e IL8) en el endotelio vascular. Las WBC migran al espacio íntimo vascular, allí se transforman en macrófagos y engullen lipoproteínas de baja densidad oxidadas y se convierten en células espuma, mismas que son fuente de especies reactivas de oxígeno, promoviendo la aterosclerosis (12).

**Figura 6** Un mecanismo de cómo la Hcy esta relacionada con la enfermedad cardiovascular (12).





## E. Tratamiento de la hiperhomocisteinemia

En la hiperhomocisteinemia severa vista en sujetos con homocistinuria clásica, aproximadamente el 50 por ciento de los que padecen de deficiencia de la CBS responden a la piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>). En pacientes con deficiencia congénita de la transcobalamina, que es la proteína del suero que transporta la vitamina B<sub>12</sub> a las células de todo el cuerpo, las inyecciones semanales de vitamina B<sub>12</sub> normalizan su hiperhomocisteinemia y les permite vivir vidas relativamente normales (59). Las deficiencias de MS y MTHFR son usualmente más refractarias al tratamiento, sin embargo en la mayoría de casos responden bien al tratamiento (21).

El tratamiento de la hiperhomocisteinemia moderada esta basado en la hipótesis de que el estado nutricional de los micronutrientes que se involucran en el metabolismo de la Hcy (folato, vitamina B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>) es optimo y que por suplementación alimenticia de ácido fólico, cianocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) e hidroclorehidrato de piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>), ya sea solos o en combinación pueden optimizar el metabolismo de la Hcy y bajar no solo las concentraciones basales de Hcy, sino también la hiperhomocisteinemia debida a una carga anormal de metionina. Esta hipótesis ha sido confirmada por muchos investigadores, en 1988, Brattström *et al*, demostró que 5 mg de ácido fólico al día por 14 días era una manera muy efectiva de desminuir los valores de Hcy en individuos sanos y que 40 mg de hidroclorehidrato de piridoxina ó 1 mg de cianocobalamina tenían muy poco o ningún efecto en el mismo grupo, pero luego reportó que la administración de 10 mg de ácido fólico más 240 mg de hidroclorehidrato de piridoxina al día por 4 semanas reducía la concentración de Hcy en un 53 por ciento y la carga anormal de metionina en un 39 por ciento en 20 pacientes con enfermedad oclusiva periférica (59,60). También demostró que pacientes que habían sufrido de infarto al miocardio eran capaces de disminuir su concentración de Hcy con 2.5 mg de ácido fólico diario por 6 semanas.

El ácido fólico sin duda alguna es la forma más efectiva de suplementación para reducir la concentración total de Hcy en individuos con hiperhomocisteinemia moderada (5,61). Antes de 1986, la recomendación de ingesta diaria de ácido fólico era de 400 µg, ahora esta dosis ha cambiado a 180 µg en mujeres y 200 µg para hombres (62). Las mujeres que tienen deficiencias de folatos cuando están embarazadas tiene un mayor riesgo de dar a luz a niños con defectos del tubo neural, por esta razón la Administración de alimentos y drogas (FDA) ha aprobado la adición de ácido fólico a cereales y harinas, para que las personas tengan una ingesta diaria aproximada de 100 µg de ácido fólico, sin embargo la dosis optima debe de ser de 200 µg diarios (63). Estas cantidades son seguras para la mayoría de individuos, pero en ancianos con deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>, la cianocobalamina debe combinarse con la suplementación de ácido fólico. Aproximadamente 1-2 por ciento de una dosis oral de cianocobalamina es absorbida por difusión pasiva, incluso en pacientes con anemia perniciosa. Los pacientes con fallos renales requieren una terapia más agresiva de vitamina B para lograr disminuir sus concentraciones de Hcy (25,64).



#### IV. JUSTIFICACION

La primera causa de muerte en los países desarrollados y en la gran mayoría de los que están en vías de desarrollo, son las enfermedades cardiovasculares con alrededor del 30 por ciento; para la aparición de las mismas existen una serie de factores bien conocidos, algunos de los cuales no pueden cambiarse, y otros pueden modificarse a través de terapéutica medicamentosa, disminuyendo de esa manera el riesgo de sufrir patologías cardiovasculares.

Las concentraciones séricas elevadas del aminoácido homocisteína están altamente vinculados con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y accidente cerebrovascular. Se ha indicado que los niveles altos de homocisteína también pueden contribuir a la hipertensión arterial causando un efecto negativo sobre el endotelio vascular por lo que las arterias pierdan elasticidad y se tornan rígidas. Dicha interacción puede promover la trombogénesis y la aterogénesis, originando episodios cardiovasculares adversos.

Los mecanismos que se involucran en la enfermedad cardiovascular causada por la homocisteína son: efecto tóxico directo sobre la capas de células en el interior de las arterias, efecto interferencia con los factores de coagulación, oxidación de las proteínas de baja densidad (LDL).

En la Liga Guatemalteca del Corazón, el 45 por ciento de los pacientes que son atendidos, presentan hipertensión arterial, por lo que en este grupo fue importante determinar la concentración plasmática de homocisteína, ya que altas concentraciones plasmáticas de este aminoácido aumentan las posibilidades de padecer de enfermedades cardiovasculares. La determinación de los niveles de Hcy permitió brindar al paciente un mejor monitoreo de la hipertensión y así evaluar de esta forma la terapéutica utilizada.



## V. OBJETIVOS

### A. GENERAL

1. Determinar si los pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón tienen concentraciones elevadas de homocisteína plasmática que puedan aumentar su riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares.

### B. ESPECÍFICO

1. Cuantificar los niveles de homocisteína plasmática en los pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón.
2. Estimar si los valores de homocisteína plasmática obtenidos se encuentran del rango normal o no ( $5 \mu\text{mol/L}$ -  $11.4 \mu\text{mol/L}$ ).

## VI. HIPÓTESIS

Los pacientes con hipertensión arterial entre 30 a 60 años que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón tienen valores de homocisteína mayores a 11.4  $\mu\text{mol/L}$ , lo cual es un factor de riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo

Pacientes de 30 a 60 años con hipertensión arterial que acuden a La Liga Guatemalteca del Corazón .

### B. Muestra

Cuarenta pacientes seleccionados por conveniencia, de 30 a 60 años con más de cinco años de padecer hipertensión arterial que acuden a La Liga Guatemalteca del Corazón .

### C. Recursos

#### 1. Humanos

- Tesista: Br. Ana Carolina García González
- Asesores: Lic. Alba Marina Valdés de García
- Diseño estadístico: Lic. Oscar Federico Nave Herrera

#### 2. Físicos

##### a. Equipo

- ✓ Refrigeradora a 4° C
- ✓ Congelador a - 20° C
- ✓ Centrífuga
- ✓ Pipeta automática de volumen variable
- ✓ IMX system de ABBOTT®



### b. Reactivos

- ✓ Kit de reactivos IMX homocisteína de ABBOTT® (Anticuerpo monoclonal de ratón Anti-S-adenosil-L-homocisteína, Trazador fluorescente S-adenosil-L-cisteína, Buffer de S-adenosil-L-homocisteína hidrolasa de bovino y buffer con ditiotreitól como agente reductor)
- ✓ 6 calibradores de homocisteína de ABBOTT®

CALIBRADOR	CONCENTRACIÓN μmol/L
A	0
B	2.5
C	5.0
D	10.0
E	20.0
F	50.0

- ✓ 3 controles de homocisteína de ABBOTT®

CONTROL	CONCENTRACIÓN μmol/L
Control L	7.0
Control M	12.5
Control H	25.0

- ✓ Alcohol al 70%
- ✓ Agua destilada

### c. Materiales

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Cubetas desechables
- ✓ Cubetas de vidrio
- ✓ Jeringas de 5 ml
- ✓ Agujas de 21 x 1 ½
- ✓ Tips amarillos
- ✓ Tips azules
- ✓ Viales Eppendorf
- ✓ Guantes de látex
- ✓ Ligaduras
- ✓ Algodón
- ✓ Gradillas para tubos
- ✓ Gradilla para viales Eppendorf
- ✓ Papel mayordomo

### 3. Institucionales

- Laboratorio clínico de La Liga Guatemalteca del Corazón
- Laboratorio clínico del Hospital Nuestra Señora del Pilar
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- Biblioteca de la Universidad del Valle de Guatemala
- Biblioteca de la Universidad Francisco Marroquín
- Biblioteca del Ministerio de Salud y Asistencia Social
- Biblioteca del Instituto Nutricional de Centro América y Panamá
- Biblioteca de la Organización Panamericana de la Salud



## D. Metodología

### 1. Toma de muestra

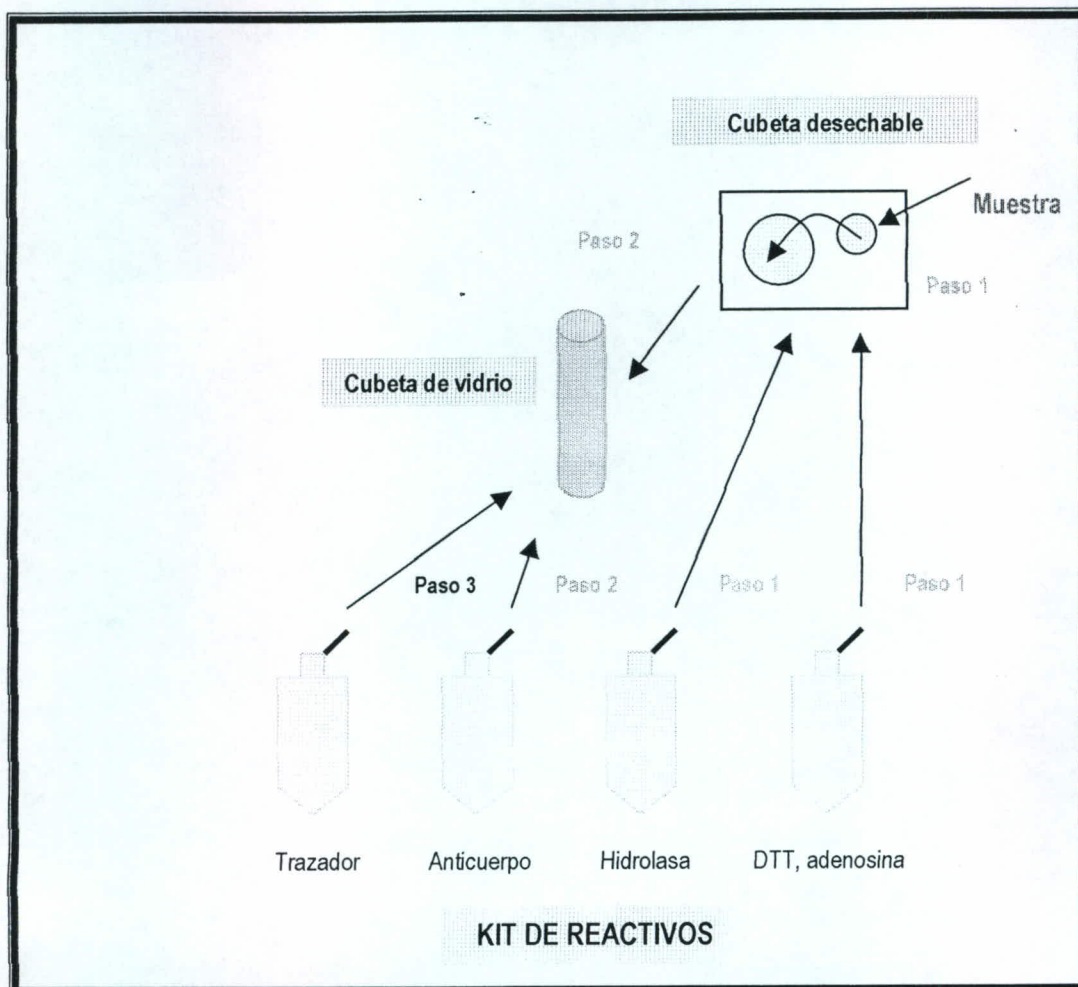
- Se solicitó por escrito a cada paciente su autorización para participar al estudio (Anexo 1).
- Se realizó una encuesta para evaluar si existían otros factores que puedan aumentar la concentración de homocisteína (Anexo 2).
- Se identificó adecuadamente los tubos con el nombre del paciente y con número correlativo, al igual que cartas de consentimiento y encuestas.
- Se extrajeron 5 ml de sangre venosa a cada paciente con 14 horas de ayuno.
- Se dejó coagular la sangre por 30 minutos.
- Se centrifugó por 5 minutos a 3000 rpm.
- Se separó el suero inmediatamente con una pipeta y se guardó en viales Eppendorf.
- Se congelaron las muestras a  $-20^{\circ}$  C para su posterior análisis.

### 2. Principio de la prueba

El método de IMX homocisteína del laboratorio ABBOTT®, se basa en la tecnología de inmunoensayo de polarización de la fluorescencia (FPIA). A las muestras de suero se les añade buffer que contiene ditiotreitól como agente reductor para deducir la homocisteína libre, se incuba la enzima S-adenosil-L-homocisteína hidrolasa (SAH) y exceso de adenosina y se forma S-adenosil-homocisteína, esta es incubada con el anticuerpo monoclonal de ratón anti-S-adenosil-L-homocisteína y se utiliza el marcador trazado con fluorescencia S-adenosil-L-cisteína, el cual compite por los sitios de unión de las moléculas de los anticuerpos monoclonales, se hace pasar un haz de luz polarizada a través de las muestras. El grado de despolarización es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpo unido al trazador, la intensidad de la luz polarizada fluorescente se

mide con un sistema óptico y los resultados se leen automáticamente y se imprimen. Se presenta el siguiente esquema en la figura 7.

**Figura 7** Formato del ensayo IMX Hcy: Paso 1 Reducción y tratamiento con enzima (30 minutos). Paso 2 adición de anticuerpo (10 minutos). Paso 3 adición de trazador (10 minutos) (16).



### 3. Procesamiento de las muestras

- Se llevaron los reactivos a temperatura ambiente (18-26° C).
- Se descongelaron las muestras hasta temperatura ambiente (18-26° C).

- Se montaron los reactivos en el equipo IMX system de ABBOTT®, previamente lavado con agua destilada.
- Se pipeteó 200  $\mu$ L de cada calibrador (A, B, C, D, E y F) y se colocaron en las cubetas desechables del carrusel.
- Se programó el equipo IMX system ABBOTT® , utilizando el dispositivo de pruebas metabólicas y se corrieron los calibradores.
- Se obtuvieron los resultados de cada calibrador por medio de un microprocesador que calcula la polarización en unidades mP de cada calibrador y con estos resultados se construyó una curva de calibración en seis puntos (0, 2.5, 5.0 10.0, 20.0 y 50.0  $\mu$ mol/L)
- El microprocesador almacenó la curva y ésta fue utilizada para calcular los valores de las muestras que fueron analizadas en las posteriores corridas.
- Se pipeteó 200  $\mu$ L de cada control (L, M y H) y se colocaron en las cubetas desechables del carrusel.
- Se pipeteó 200  $\mu$ L de cada muestra y se colocaron en las cubetas desechables del carrusel.
- Se programó el equipo IMX system ABBOTT® , utilizando el dispositivo de pruebas metabólicas y se corrieron las muestras.
- Se obtuvieron los resultados automáticamente y se imprimieron los mismos (20 muestras  $\approx$  en 60 min).

## E. Diseño experimental

### 1. Tipo de estudio

Transversal, descriptivo.

### 2. Tipo de muestreo

No probabilístico por cuota.



### 3. Análisis estadístico

Variable binomial, frecuencia o proporción.

### 4. Análisis de datos

a. Se estimó la proporción de casos en que los niveles plasmáticos de homocisteína estén por arriba del rango normal con un intervalo de confianza (IC) de 95 por ciento.

b. Con los resultados de las muestras, se probó la hipótesis:

$$H_a: \mu > 11.4 \mu\text{mol/L}$$

Utilizando la distribución normal de (z) para un nivel  $\alpha = 0.05$ .

c. Los resultados de la encuesta se analizaron por frecuencia, utilizando el programa EPI-INFO 6.0.

## VIII. RESULTADOS

Las muestras de plasma analizadas de los 45 pacientes, cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión que se plantearon para la investigación (pacientes de 30 a 60 años con hipertensión arterial). Para llevar a cabo el experimento además de contar con los criterios antes mencionados, se les llenó una ficha con talla, peso y edad ver tabla 1 y 2.

**Tabla 1** Niveles de Hcy en mujeres hipertensas (datos del estudio)

No.	Sexo	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
1	F	60	146	1,53	27,40
2	F	31	165	1,59	23,17
4	F	34	158	1,64	17,31
5	F	32	132	1,48	13,52
6	F	56	116	1,56	9,07
7	F	57	129	1,60	8,11
8	F	31	102	1,56	5,91
9	F	43	135	1,63	11,89
10	F	41	146	1,57	11,29
11	F	58	168	1,59	10,44
12	F	47	153	1,50	15,54
13	F	48	125	1,46	6,74
14	F	40	131	1,60	31,10
18	F	57	112	1,52	15,70
19	F	40	143	1,59	14,02
21	F	58	115	1,57	16,90
24	F	53	172	1,66	16,36
25	F	54	131	1,61	19,61
27	F	43	165	1,62	23,15
28	F	57	174	1,63	20,31
29	F	54	121	1,57	10,80
32	F	60	162	1,52	9,31
33	F	57	158	1,60	11,33
34	F	44	155	1,56	8,32
35	F	47	160	1,49	15,90
37	F	53	172	1,60	8,24
39	F	53	165	1,60	15,22
41	F	44	169	1,64	17,77
42	F	55	141	1,55	13,57
43	F	53	147	1,62	11,07
44	F	48	156	1,58	11,65
45	F	52	142	1,64	18,54

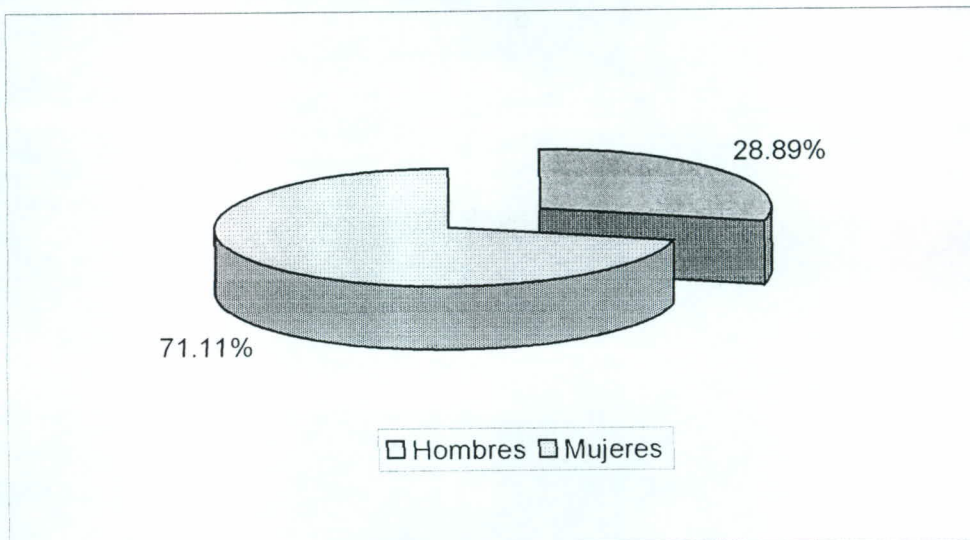
Fuente: Datos experimentales 32/45

**Tabla 2** Niveles de Hcy en hombres hipertensos (datos del estudio)

No.	Sexo	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
3	M	43	162	1,63	17,49
15	M	45	175	1,70	32,47
16	M	32	166	1,74	12,53
17	M	56	192	1,71	10,77
20	M	53	130	1,58	24,58
22	M	53	167	1,65	15,39
23	M	43	178	1,72	25,20
26	M	60	176	1,66	19,12
30	M	59	185	1,73	8,46
31	M	53	181	1,78	16,83
36	M	45	170	1,68	16,93
38	M	43	180	1,70	11,12
40	M	36	186	1,80	12,93

Fuente: Datos experimentales 13/45

La distribución en cuanto a sexo fue de 13 hombres (28.89 por ciento) y de 32 mujeres (71.11 por ciento), la siguiente gráfica lo demuestra.

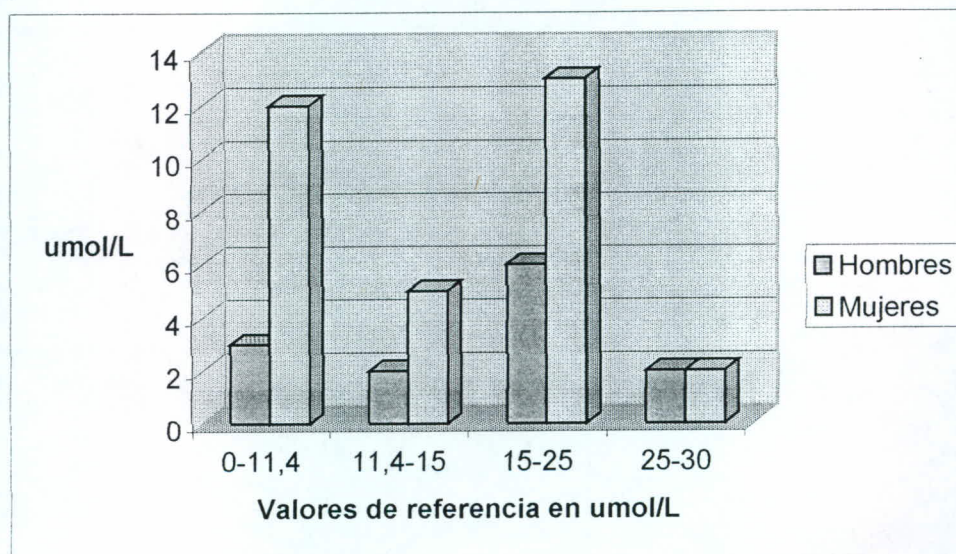
**Gráfica 1** Distribución de pacientes en cuanto al sexo

Fuente: Datos experimentales



La gráfica 2, muestra los valores obtenidos de la determinación de homocisteína en los pacientes hipertensos que participaron en el estudio según el sexo. Además se clasifican según los valores de referencia que incluyen, normal sin riesgo, normal con riesgo, hiperhomocisteinemia leve, hiperhomocisteinemia moderada y para la hiperhomocisteinemia severa no se graficó ya que no existieron valores.

**Grafica 2** Distribución de pacientes en cuanto a valores de referencia



Fuente: Datos experimentales

Dentro del rango de 0-11.4  $\mu\text{mol/L}$  lo cual es normal sin riesgo se ubicaron 15 pacientes (33.34 por ciento) de los cuales 12 fueron mujeres y 3 hombres. En el rango de normal con riesgo de 11.4-15  $\mu\text{mol/L}$  se ubicaron 7 pacientes (15.56 por ciento) de los cuales 5 fueron mujeres y 2 hombres. En el rango de hiperhomocisteinemia moderada se encontraron 19 pacientes (42.22 por ciento) siendo 13 mujeres y 6 hombres. Por último dentro del rango de hiperhomocisteinemia moderada están 4 pacientes (8.88 por ciento), divididos entre ambos sexos.

De las 45 muestras de pacientes hipertensos analizadas, los valores de la media de homocisteína fueron  $15.40 \pm 9.17 \mu\text{mol/L}$ , siendo mayor la media en hombres con un  $16.83 \pm 6.79 \mu\text{mol/L}$  que en mujeres en donde la media fue de  $13.80 \pm 5.92 \mu\text{mol/L}$ .

El valor de la media en cuanto a peso para todos los pacientes analizados fue de  $153.64 \pm 22.37 \text{ lb}$ . En mujeres la media fue de  $145.81 \pm 19.94 \text{ lb}$ , con un valor mínimo de  $102.0 \text{ lb}$  y un valor máximo de  $174.0 \text{ lb}$ . En hombres la media fue de  $172.92 \pm 15.52 \text{ lb}$  con un valor mínimo de  $130.0 \text{ lb}$  y un valor máximo de  $190.0 \text{ lb}$ .

Para la variable talla, la media para todos los pacientes analizados fue de  $1.60 \pm 0.08 \text{ mt}$ . En mujeres la media fue de  $1.58 \pm 0.05 \text{ mt}$ , con un valor mínimo de  $1.46 \text{ mt}$  y un valor máximo de  $1.66 \text{ mt}$ . En hombres la media fue de  $1.70 \pm 0.06 \text{ mt}$ , con un valor mínimo de  $1.58 \text{ mt}$  y un valor máximo de  $1.80 \text{ mt}$ .

En cuanto a la edad la media para todos los pacientes analizados fue de  $48.47 \pm 8.63 \text{ años}$ . En mujeres la media fue de  $48.75 \pm 8.77 \text{ años}$ , con un valor mínimo de  $31 \text{ años}$  y un valor máximo de  $60 \text{ años}$ . En hombres la media fue de  $47.77 \pm 8.64 \text{ años}$ , con un valor mínimo de  $32 \text{ años}$  y un valor máximo de  $60 \text{ años}$ .



## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio se realizó en 45 pacientes hipertensos con presión arterial mayor a 140 / 90, comprendidos entre 30 y 60 años de edad, se encontró que un 66.67 por ciento de los pacientes tenían concentraciones de homocisteína por arriba del valor normal sin riesgo de 11.4  $\mu\text{mol/L}$ , los cuales se distribuían de la siguiente manera, dentro del rango de normal con riesgo 15.56 por ciento de los pacientes (7/45), en homocisteinemia leve 42.22 por ciento de los pacientes (19/45) y en hiperhomocisteinemia severa 8.89 por ciento de los pacientes (4/45). Lo cual evidencia que 30 de 45 pacientes están en peligro de padecer problemas cardiovasculares debidos a las concentraciones de homocisteína aunado a la hipertensión arterial.

En cuanto al sexo, los valores los valores de homocisteína tienden a ser mayores en individuos del sexo masculino que el femenino, ya que la media para hombres fue de un  $16.83 \pm 6.79 \mu\text{mol/L}$  y en las mujeres fue de  $13.80 \pm 5.92 \mu\text{mol/L}$ .

La homocisteinemia se clasificó de tres formas, leve, moderada y severa (21). En la leve se ubicaron 19 pacientes de los cuales el 68.42 por ciento fueron mujeres y el 31.48 fueron hombres, este dato denota que fueron más mujeres pero se debe a que el numero de mujeres fue mayor que el de hombres. En este rango se ubica el 46.15 por ciento del total de hombres y el 40.63 por ciento del total de mujeres.

En el rango de hiperhomocisteinemia intermedia no se repitieron los mismos patrones, encontrándose 4 pacientes de los cuales el 50 por ciento eran hombres y el otro 50 por ciento mujeres. Sin embargo en este rango se ubica el 15.38 por ciento del total de hombres y el 6.25 por ciento de mujeres, por lo que



se vuelve a comprobar que los niveles de homocisteína se encuentran aumentados en mayor proporción en hombres que en mujeres.

Para el rango de hiperhomocisteinemia severa no se ubico a ningún paciente, ya que en este rango únicamente se encuentran pacientes con severos problemas renales o hipotiroidismo, los cuales por medio de la entrevista fueron excluidos de la investigación.

En cuanto a la edad, según la literatura conforme está aumenta también aumenta la concentración de homocisteína, por ello se trató por medio de los criterios de exclusión evitar a pacientes de edad avanzada y se tomaron hasta 60 años. Si existe correlación entre los niveles de homocisteína y la edad, no se pudo establecer la misma, debido a que pacientes de 30 años tenían concentraciones de homocisteína en el rango de hiperhomocisteinemia moderada y pacientes de 60 años mostraron concentraciones de homocisteína en el rango normal sin riesgo.

De acuerdo a la literatura, los pacientes con concentraciones de homocisteína por arriba de  $11.4 \mu\text{mol/L}$  están normales (21), pero en este estudio se presentan otros factores como la hipertensión lo que indica podrían desarrollar enfermedad cardiovascular posteriormente. Los pacientes con niveles de homocisteína por arriba de  $15.0 \mu\text{mol/L}$ , son considerados como pacientes con hiperhomocisteinemia. La homocisteína es tóxica para el endotelio, es procoagulante e incrementa la producción de colágeno y disminuye la disponibilidad de óxido nítrico, por lo que los resultados obtenidos tienen significancia, además se observa que con el factor de padecer hipertensión arterial esto se asocia independientemente con tasa elevadas de mortalidad debidas a trastornos cardiovasculares severos como infarto al miocardio y trombosis cerebral.

## X. CONCLUSIONES

1. En los pacientes con hipertensión arterial que participaron en el estudio, se comprobó estadísticamente que presentan niveles de concentración de homocisteína elevadas.
2. El valor promedio de homocisteína en pacientes hipertensos fue de  $15.40 \pm 9.17 \mu\text{mol/L}$ .
3. Se encontró que un 66.67 por ciento de los paciente estaban por arriba del rango de normal los cuales se distribuyeron de la siguiente manera: dentro del rango de normal con riesgo 15.56 por ciento de los pacientes (7/45), en homocisteinemia leve 42.22 por ciento de los pacientes (19/45) y en hiperhomocisteinemia severa 8.89 por ciento de los pacientes (4/45).
4. El valor promedio de homocisteína fue mayor en hombres con un  $16.83 \pm 6.79 \mu\text{mol/L}$  que en mujeres en donde la media fue de  $13.80 \pm 5.92 \mu\text{mol/L}$ .
5. No se comprobó la correlación entre los niveles de homocisteína y la edad en pacientes con hipertensión arterial.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Se aconseja determinar de rutina los niveles de homocisteína plasmática, en pacientes con hipertensión arterial, para de esta manera prevenir la aparición de trastornos cardíacos severos.
2. Realizar un estudio para establecer si existe la asociación entre la concentración de la homocisteína plasmática y una dieta balanceada con ingesta de vitamina B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>12</sub>, ya que la deficiencia de estas vitaminas también puede aumentar las concentraciones de homocisteína.
3. Realizar estudios con otros grupos de pacientes con factores de riesgo tales como: fumadores, pacientes con hipertiroidismo, pacientes con insuficiencia renal, menopausia y cáncer, para así establecer la asociación de estos con los niveles de homocisteína plasmática.
4. Se recomienda analizar los niveles de homocisteína en todo paciente con antecedentes o factores de riesgo a padecer enfermedad cardiovascular.



## IX. REFERENCIAS

1. Clarke R, *et al.* **Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease.** N Eng J Med 1991; 324:1129-1136.
2. Organización Mundial de la Salud. **Epidemiología y prevención de las enfermedades cardiovasculares en los ancianos.** Ginebra: España, 1995. IV+82 p. (p. 1-23).
3. American Heart Association. **"Homocysteine new risk factor for coronary heart disease, says Dutch team"**. 1997. 5 de octubre del 2002 <<http://www.americanheart.org>>.
4. Eikelboom J, *et al.* **Homocysteine and cardiovascular disease: A critical review of the epidemiologic evidence.** Ann Intern Med. 1999; 131:363-375.
5. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. **A quantitative assesment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes.** JAMA 1995; 274:1049-1057.
6. Arnesen E, *et al.* **Serum total homocysteine an coronaru Herat disease.** Int J Epidemiol 1995; 24:704-709.
7. Graham IM, *et al.* **Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European concerted action project.** JAMA 1997; 277:1775-1781.
8. Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE. **The controversy over homocysteine and cardiovascular risk.** Am J Clin Nutr 2000; 72:324-332.

9. Starkebaum G, Harlan JM. **Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine.** J Clin Invest 1986; 77:1370-1376.
10. Heinecke JW, Lawamuura M, Suzuki L, Chait A. **Oxidation of low density lipoprotein by thiols: superoxide-dependent and independent mechanisms.** J Lipid Res 1993; 34:2051-2061.
11. Stamler JS, *et al.* **Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen.** J Clin Invest 1993; 91:308-318.
12. Kottke-Marchant K, Green R, Jacobsen DW, Dicorleto P. **Sub-cytotoxic homocysteine increases monocyte adhesion to human aortic endothelial cells.** Blood 1990; 76:511.
13. Unhee L, Cascano PA. **Homocysteine and blood pressure in the tirad national health and nutrition examination survey 1988-1994.** Am J Epidemiology 2002; 156:1105-1113.
14. Lip GY, *et al.* **Estudio piloto sobre las concentraciones de homocisteína en la hipertensión arterial esencial: relaciones con el factor de von Willebrand, que es un índice de la lesión endotelial.** AJH (Ed. Esp) 2001; 3:539-544.
15. Chambers JC, *et al.* **Investigation of relationship between reduced, oxidized, and protein-bound homocysteine and vascular endothelial function in healthy human subject.** Circulation research 2001; 89:187.

16. Shipchandler MT, Moore EG. **Rapid, fully automated measurement of plasma homocyst(e)ine with the Abbott IMx analyzer.** Clin Chem 1995; 41:991-994.
17. Horton M. **Bioquímica.** México: Prentice-Hall, 1993. 22-36 p. (p.14-2)
18. Mudd SH. **Vascular disease and homocysteine metabolism.** N Engl J Med 1985; 313:751-753.
19. Kaplan LA, Pesce AJ. **Clinical Chemistry.** 3<sup>a</sup> ed. St. Louis, Missouri: Mosby, 1996. 1211p. (p. 1007)
20. Ueland PM. **Homocysteine species as components of plasma redox thiol status.** Clin Chem 1995; 41:340-342.
21. Jacobsen DW. **Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease.** Clin Chem 1998; 44:1833-1841.
22. Ueland PM, *et al.* **Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications.** Clin Chem 1993;39:1764-1779.
23. Boers GH, *et al.* **Unique efficiency of methionine metabolism in premenopausal woman may protect against vascular disease in the reproductive years.** J Clin Invest 1983; 72:1971-1976.
24. Wouters MGAJ, Moorrees M, van der Mooren MJ. **Plasma homocysteine and menopausal status.** Eur J Clin Invest 1995; 25:801-805.
25. Bostom AG, Lathrop L. **Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: prevalence, etiology, and potencial relationship to arterioesclerotic autcomes.** Kidney Int 1997; 52:10-20.



26. Jacques PF, *et al.* **Serum homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III).** *Am J Clin Nutr* 1994.
27. Ubbink JB, Vermaak WJH, van der Merwe A, Becker PJ. **Vitamin B<sub>12</sub>, vitamin B<sub>6</sub>, and folate nutritional status in men with hiperhomocysteinemia.** *Am J Clin Nutr* 1996; 57:47-53.
28. Goyette P, Frosst P, Rosenblatt DS, Rozen R. **Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype-phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency.** *Am J Hum Genet* 1995; 56:1052-1059.
29. Kang SS, *et al.* **Thermolabile methyltetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease.** *Am J Hum Genet* 1991; 48:536-545.
30. Kang SS, *et al.* **Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease.** *Metabolism* 1988; 37:611-613.
31. Kang SS, *et al.* **Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase.** *Am J Hum Genet* 1988; 43:414-421.
32. De Franchis R, *et al.* **Elevated total plasma homocysteine and 677C-T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene in thrombotic vascular disease.** *Am J Hum Genet* 1996; 59:262-264.
33. Li YN, *et al.* **Cloning, mapping, and RNA analysis of the human methionine synthase gene.** *Hum Mol Genet* 1996; 5:1851-1858.

34. Leclerc D, *et al.* **Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the *cb/G* complementation group of folate/cobalamin disorders.** *Hum Mol Genet* 1996; 5:1867-1874.
35. Chen LH, *et al.* **Human methionine synthase-cDNA cloning, gene localization and expression.** *J Biol Chem* 1997; 272:3628-3634.
36. Kraus JP, *et al.* **Human cystathionine  $\beta$ -synthase cDNA: sequence, alternative splicing and expression in cultured cells.** *Hum Mol Genet* 1993; 2:1633-1638.
37. Kozich V, Kraus JP. **Screening for mutations by expressing patient cDNA segments in *E. coli*. homocystinuria due to cystathionine  $\beta$ -synthase deficiency.** *Hum Mutat* 1992:113-123.
38. De Franchis R, Kozich V, McInnes RR, Kraus JP. **Identical genotypes in siblings with different homocystinuric phenotypes: identification of three mutations in cystathionine  $\beta$ -synthase using an improved bacterial expression system.** *Hum Mol Genet* 1994; 3:1103-1108.
39. Kruger WD, Cox DR. **A yeast assay for functional detection of mutations in the human cystathionine b-synthase gene.** *Hum Mol Genet* 1995; 4:1155-1161.
40. Gilfix BM, Blank DW, Rosenblatt DS. **Novel reductant for determination of total plasma homocysteine.** *Clin Chem* 1997; 43:687-688.
41. Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R. **Determination of plasma homocysteine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection.** *Anal Biochem* 1989; 178:208-214.



42. Smolin LA, Sneider JA. **Measurement of total plasma cysteamine using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection.** Anal Biochem 1988; 168:374-379.
43. Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH. **Quantitation of total homocysteine, total cysteine, and methionine in normal serum and urine using capillary gas chromatography-mass spectrometry.** Anal Biochem 1987; 162:185-196.
44. Frantzen F, Faaren AL, Alfheim I, Nordhei AK. **Enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum.** Clin Chem 1998; 44:311-316.
45. Pernet P, Lasnier E, Vaubourdolle M. **Evaluation of the AxSYM homocystene assay and comparison with the IMx homocysteine assay.** Clin Chem 2000; 46:1440-1441.
46. Carson NAJ, Neill DW. **Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland.** Arch Dis Child 1962; 37:505-513.
47. Gerritsen T, Vaughn JG, Waisman HA. **The identification of homocystine in the urine.** Biochem Biophys Res Commun 1962; 9:493-496.
48. Ford ES, *et al.* **Homocyst(e)ine and cardiovascular disease a systemic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies.** Int J Epidemiol 2002; 31:59-70.
49. Wilcken DEL, Wilcken B. **The pathogenesis of coronary artery disease: a possible role for methionine metabolism.** J Clin Investig 1976; 57:1079-1082.



50. Kang SS, *et al.* **Protein-bound homocysteine: a possible risk factor for coronary artery disease.** J Clin Investig 1986; 77:1482-1486.
51. Israelsson B, Brattström L, Hultberg BL. **Homocysteine and myocardial infarction.** Atherosclerosis 1988; 71:227-233.
52. Mansoor MA, Svardal AM, Schneede J, Ueland PM. **Dynamic relation between reduced, oxidized, and protein-bound homocysteine and other thiol components in plasma during methionine loading in healthy men.** Clin Chem 1992; 38:1316-1321.
53. D'Angelo A, Selhub J. **Homocysteine and thrombotic disease.** Blood 1997; 90:1-11.
54. Upchurch GR, *et al.* **Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase.** J Biol Chem 1997; 272:17012-17017.
55. Tsai JC, *et al.* **Promotion of vascular smooth muscle growth by homocysteine: a link to atherosclerosis.** Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91:6369-6373.
56. Wu KS, *et al.* **Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans.** Circulation 1997; 96:2542-2544.
57. Sasaki T, *et al.* **Association of plasma homocysteine concentration with atherosclerotic carotic plaques and lacunar infarction.** Stroke 2002; 33:1493-1496.
58. Harker LA, *et al.* **Homocystinuria:vascular injury and arterial thrombosis.** N Engl J Med 1974; 291:537-543.

59. Cooper BA, Rosenblatt DS. **Inherited defects of vitamin B<sub>12</sub> metabolism.** *Annu Rev Nutr* 1987; 7:291-320.
60. Brattström L, Israelsson B, Jeppsson JO, Hultberg BL. **Folic acid—an innocuous means to reduce plasma homocysteine.** *Scand J Clin Lab Investig* 1988; 48:215-221.
61. Rydlewicz A, *et al.* **The effect of folic acid supplementation on plasma homocysteine in an elderly population.** *QJ Med* 2002; 95:27-35.
62. Malinow MR, *et al.* **"Homocyst(e)ine, Diet, and Cardiovascular Diseases", A Statement for Healthcare Professionals From the Nutrition Committee, American Heart Association.** 1999. 5 de octubre del 2002. <http://www.americanheart.org>.
63. Food and Drug Administration. **Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. Final rule.** *Fed Regist* 1996; 61:8781-8807.
64. Heart Information Network. **"The homocysteine saga: B6, B12, and folate", Heart Information Network.** 1998. 5 octubre del 2002 <http://www.heartinfo.org>.

## X. ANEXOS

### Anexo 1 Carta de Consentimiento

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO

**PROYECTO:** *“Determinación de los niveles de homocisteína plasmática como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares en pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón”*

**IDENTIFICACIÓN:** Este estudio será realizado por la estudiante de la carrera de Química Biológica Br. Ana Carolina García González. Usted está siendo invitado a participar como voluntario dentro del estudio antes mencionado.

**PROCEDIMIENTO:** Durante el estudio será encuestado acerca de datos personales y de su salud, los cuales serán de carácter confidencial, además se le extraerán 5 ml de sangre para practicarle las pruebas necesarias para el estudio.

**RIESGO:** No existe riesgo necesario específico relacionado con su participación en el estudio.

**BENEFICIO:** Si usted participa en este estudio, recibirá información de los datos obtenidos.

**CONFIDENCIALIDAD:** Su participación será mantenida en la confidencialidad de acuerdo a la práctica médica estándar. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio. La información del estudio será codificada y guardada en archivos. Solo el personal autorizado tendrá acceso a los archivos, cuando sea necesario.

**CONSIDERACIONES FINANCIERAS:** Su participación en este estudio no implicará ningún gasto para usted. No se le dará compensación económica directa por participar en el estudio.

**PREGUNTAS:** Si tiene alguna pregunta acerca del estudio, puede contactarse con Ana Carolina García al Tel. 368-3108.

**PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:** Su participación en este estudio es voluntaria. Puede decidir no ser parte del mismo o salirse en cualquier momento.

#### CONSENTIMIENTO

1. Yo reconozco que mi participación en el estudio es voluntaria.
2. Doy permiso a los investigadores para usar la información recolectada en la encuesta, así como de extraerme la muestra de sangre.

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ Firma del paciente: \_\_\_\_\_

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



## Anexo 2 Encuesta

No. de Muestra: \_\_\_\_\_

No. de Expediente: \_\_\_\_\_

**ENCUESTA**

PROYECTO: "Determinación de los niveles de homocisteína plasmática como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares en pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón"

**DATOS PERSONALES**

1. Nombre: \_\_\_\_\_
2. Edad: \_\_\_\_\_ 3. Peso: \_\_\_\_\_ 4. Talla: \_\_\_\_\_
6. Sexo: F

**DATOS FACTORES QUE AFECTAN**

1. Ingiere más de 5 onzas de alcohol diariamente Si  No
2. Fuma más de 5 cigarrillos al día Si  No
3. Es diabético Si  No
4. Ha padecido de enfermedad renal Si  No
5. Ha tenido problemas con la tiroides Si  No
6. Padece de presión alta Si  No
7. Tratamiento actual para la hipertensión:

**DATOS ADICIONALES DE LABORATORIO**

Homocisteína:

Otros:

## ANEXO 3 Niveles de Hcy en los 45 pacientes hipertensos (datos estadísticos)

No.	Sexo	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
1	F	60	146	1,53	27,40
2	F	31	165	1,59	23,17
3	M	43	162	1,63	17,49
4	F	34	158	1,64	17,31
5	F	32	132	1,48	13,52
6	F	56	116	1,56	9,07
7	F	57	129	1,60	8,11
8	F	31	102	1,56	5,91
9	F	43	135	1,63	11,89
10	F	41	146	1,57	11,29
11	F	58	168	1,59	10,44
12	F	47	153	1,50	15,54
13	F	48	125	1,46	6,74
14	F	40	131	1,60	31,10
15	M	45	175	1,70	32,47
16	M	32	166	1,74	12,53
17	M	56	192	1,71	10,77
18	F	57	112	1,52	15,70
19	F	40	143	1,59	14,02
20	M	53	130	1,58	24,58
21	F	58	115	1,57	16,90
22	M	53	167	1,65	15,39
23	M	43	178	1,72	25,20
24	F	53	172	1,66	16,36
25	F	54	131	1,61	19,61
26	M	60	176	1,66	19,12
27	F	43	165	1,62	23,15
28	F	57	174	1,63	20,31
29	F	54	121	1,57	10,80
30	M	59	185	1,73	8,46
31	M	53	181	1,78	16,83
32	F	60	162	1,52	9,31
33	F	57	158	1,60	11,33
34	F	44	155	1,56	8,32
35	F	47	160	1,49	15,90
36	M	45	170	1,68	16,93
37	F	53	172	1,60	8,24
38	M	43	180	1,70	11,12
39	F	53	165	1,60	15,22
40	M	36	186	1,80	12,93
41	F	44	169	1,64	17,77
42	F	55	141	1,55	13,57
43	F	53	147	1,62	11,07
44	F	48	156	1,58	11,65
45	F	52	142	1,64	18,54

Fuente: Datos experimentales 45/45

#### Anexo 4 Datos estadísticos en los 45 pacientes

Formula Estadística	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
Media	48,47	153,64	1,61	15,40
Mediana	52	158	1,6	15,22
Moda	53	165	1,6	No aplica
Desviación estándar	8,65	22,37	0,08	6,22
Varianza	74,8	500,23	0,01	38,68
Valor máximo	60	192	1,8	32,47
Valor mínimo	31	102	1,46	5,91
Intervalo de confianza	0,92	2,25	0,01	0,63

Fuente: Datos experimentales 45/45



## Anexo 5 Datos estadísticos en mujeres

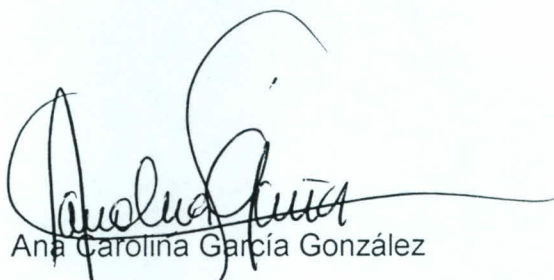
Fomula Estadística	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
Media	48,75	145,81	1,58	14,66
Mediana	52,50	146,50	1,59	13,80
Moda	57,00	165,00	1,60	No aplica
Desviación estándar	8,77	19,94	0,05	5,92
Varianza	76,97	397,64	0,00	35,10
Valor máximo	60,00	174,00	1,66	31,10
Valor mínimo	31,00	102,00	1,46	5,91
Intervalo de confianza	1,33	2,80	0,01	0,83

Fuente: Datos experimentales 32/4

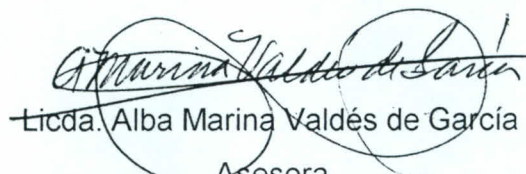
### Anexo 6 Datos estadísticos en hombres

Formula Estadística	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
Media	47,77	172,92	1,70	17,22
Mediana	45	176	1,70	16,83
Moda	43	No aplica	1,70	No aplica
Desviación estándar	8,64	15,52	0,06	6,79
Varianza	74,69	240,74	0,004	46,14
Valor máximo	60	192	1,8	32,47
Valor mínimo	32	130	1,58	8,46
Intervalo de confianza	1,61	2,90	1,77	1,27


Fuente: Datos experimentales 13/45



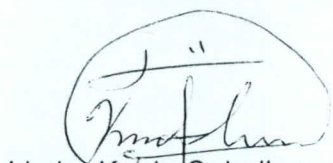
Ana Carolina García González  
Autora



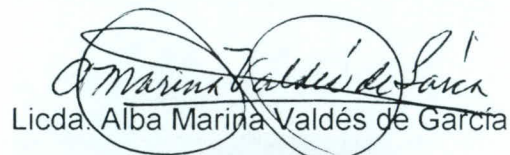
Licda. Alba Marina Valdés de García  
Asesora



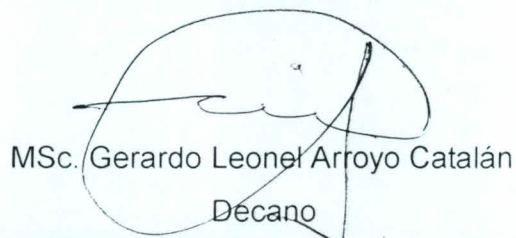
Lic. Martín Gil Carrera  
Revisor



Licda. Kenia Caballeros  
Revisor



Licda. Alba Marina Valdés de García  
Directora



MSc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán  
Decano



**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Determinación de niveles de Homocisteína plasmática en  
pacientes con hipertensión arterial que asisten a la Liga  
Guatemalteca del Corazón**

**Ana Carolina García González**

**Química Bióloga**

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
Biblioteca Central

**Guatemala, agosto de 2004**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**Determinación de niveles de Homocisteína plasmática en  
pacientes con hipertensión arterial que asisten a la Liga  
Guatemalteca del Corazón**

**INFORME DE TESIS**

Presentado por  
Ana Carolina García González

Previo a optar el título de  
Química Bióloga

**Guatemala, agosto de 2004**

DW  
06  
T(2242)

## **JUNTA DIRECTIVA**

Decano	M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Secretaria	Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona
Vocal I	Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo
Vocal II	Lic. Juan Francisco Pérez Sabino
Vocal III	Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez
Vocal IV	Br. Roberto José Garnica Marroquín
Vocal V	Br. Rodrigo José Vargas Rosales



## ACTO QUE DEDICO

**A Dios**, por ser la luz que ha guiado mi camino en todas las etapas de mi vida.

**A mis padres**, por ser la motivación que me inspiró a alcanzar esta meta y por ser mi apoyo incondicional.

**A mis hermanos Adolfo, Irma y Leslie**, por su cariño y apoyo en todos los momentos difíciles que he tenido.

**A mis sobrinas**, por ser la alegría de mi corazón.

**A Carlos**, con especial cariño por aceptarme como soy.

**Y a todos mis amigos**, los cuales siempre han estado al lado mío en momentos alegres y tristes: Alma, Fabiola, Flory, Ivo, Ligia y Sandra.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala**, lugar donde me formé profesionalmente.

**Al Laboratorio Clínico de la Liga Guatemalteca del Corazón**, por su invaluable colaboración para la realización de este trabajo, especialmente a la Licda. Ana María Taracena y al personal técnico.

**Al Laboratorio Clínico del Hospital Nuestra Señora del Pilar**, por su invaluable colaboración para la realización de este trabajo.

**A mi asesora Licda. Alba Marina Valdés de García**, por sus aportes valiosos en mi trabajo de tesis y por sus consejos para mi vida profesional.

**A mis revisores Licda. Kenia Caballeros y Lic. Martín Gil**, por su apoyo y colaboración en éste trabajo.

## INDICE

	Página
I. RESUMEN	2
II. INTRODUCCIÓN	4
III. ANTECEDENTES	6
A. Homocisteína	6
1. Generalidades	6
2. Metabolismo de la homocisteína	6
B. Homocisteína total	8
1. Constituyentes de la homocisteína total	8
2. Concentración de homocisteína total	9
3. Factores que influyen en los niveles de homocisteína	10
4. Métodos para determinar la homocisteína	13
C. Homocisteína y su relación con las enfermedades cardiovasculares	14
D. Mecanismo de daño debido a hiperhomocisteinemia	15
E. Tratamiento de la hiperhomocisteinemia	17
IV. JUSTIFICACIÓN	20
V. OBJETIVOS	21
VI. HIPÓTESIS	22
VII. MATERIALES Y METODOS	23
VIII. RESULTADOS	30
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
X. CONCLUSIONES	36
XI. RECOMENDACIONES	37
XI. REFERENCIAS	38
X. ANEXOS	46



## I. RESUMEN

Diversos estudios han sugerido que los niveles aumentados de homocisteína pueden elevar la presión arterial y así incrementar el riesgo de hipertensión. A nivel mundial la enfermedad cardiovascular es una de las principales causas de muerte, en la Liga Guatemalteca del Corazón el 35 por ciento de las enfermedades cardíacas entre los pacientes que acudieron en el año 2003, son pacientes que padecen de hipertensión arterial.

La interacción de la homocisteína con el endotelio en pacientes hipertensos puede promover trombogénesis, aterogénesis, originando episodios cardiovasculares adversos. Por lo antes mencionado el objetivo de este estudio fue la evaluación de la concentración de homocisteína en pacientes hipertensos, como un diagnóstico temprano a desarrollar dichas enfermedades.

Por ello se estableció la hipótesis de que las concentraciones de homocisteína están alteradas en pacientes con hipertensión arterial. Para la realización del estudio se seleccionaron 45 pacientes, los cuales tenían que ser pacientes hipertensos entre 30 y 60 años, a ellos se les extrajo 5 ml de sangre, se separó el suero por medio de centrifugación y estos se almacenaron a  $-20^{\circ}$  C hasta su análisis. El análisis se llevó a cabo por inmunofluorescencia polarizada utilizando el equipo IMX de ABBOTT®.

Los resultados obtenidos concuerdan con la hipótesis propuesta en que los pacientes hipertensos presentan niveles aumentados de homocisteína ya que un 76.56 por ciento de los pacientes tenían concentraciones de homocisteína por arriba de  $11.4 \mu\text{mol/L}$  ( $p < 0.01$ ). Los pacientes que presentaron homocisteinemia (concentraciones mayores de  $15 \mu\text{mol/L}$ ), fueron 51.11 por ciento lo cual indica que los pacientes hipertensos deben de medirse los valores de homocisteína como prevención a desarrollar episodios

cardiovasculares y así recurrir a un tratamiento a tiempo para disminuir estos niveles. En este estudio no se encontró que los niveles de homocisteína aumentaban con la edad en pacientes hipertensos.



## II. INTRODUCCIÓN

Las afecciones cardiovasculares representan la causa de aproximadamente la mitad del total de muertes prematuras en los habitantes de países desarrollados, con un patrón similar emergente en países en vías de desarrollo (1). La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que las enfermedades circulatorias (cardiovasculares y cerebrovasculares) están implicadas en un 30 por ciento de la mortalidad en el ámbito mundial, lo cual es aproximadamente 15 millones de muertes por año debido a estas condiciones (2). En el transcurso de los años se han identificado diversos factores para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, entre éstos se incluyen: hipercolesterolemia, hipertensión, tabaquismo, diabetes mellitus e historia familiar (3).

La elevación de los niveles de homocisteína en el plasma constituyen un factor de particular interés: recientes estudios han demostrado que aumentos moderados de los niveles de homocisteína en el plasma están relacionados con un incremento de riesgo para desencadenar enfermedades cardiovasculares (4). La homocistinuria, es una enfermedad hereditaria rara del metabolismo de los aminoácidos, en la cual hay elevadas concentraciones de homocisteína en la sangre, y éstas se han considerado durante largo tiempo como la causa de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular prematura en estos pacientes (5-8).

El mecanismo que relaciona la homocisteína con las enfermedades cardiovasculares puede ser la inducción de lesiones vasculares, aunque este mecanismo exacto todavía no se conoce completamente. La homocisteína puede producir descamación de las células endoteliales, oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, reducción de la respuesta vascular o aumento de la adhesión de los monocitos (9-12). Investigaciones previas indican que las concentraciones de homocisteína pueden relacionarse habitualmente con la hipertensión arterial. Dicha interacción puede causar un efecto negativo sobre el endotelio vascular,



promoviendo la trombogénesis y la aterogénesis, originando así episodios cardiovasculares adversos (13-15).

Para determinar si en pacientes con hipertensión arterial (>140/90 mm Hg) se encontraba elevada la concentración de homocisteína plasmática, evaluamos las concentraciones de este aminoácido en pacientes hipertensos que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón, por el método de IMX homocisteína del laboratorio ABBOTT®, el cual se basa en la tecnología de inmunoensayo de polarización de la fluorescencia (FPIA) (16). Además se realizó una encuesta a cada paciente, para excluir que algún otro factor que pudiera aumentar la concentración de la homocisteína.

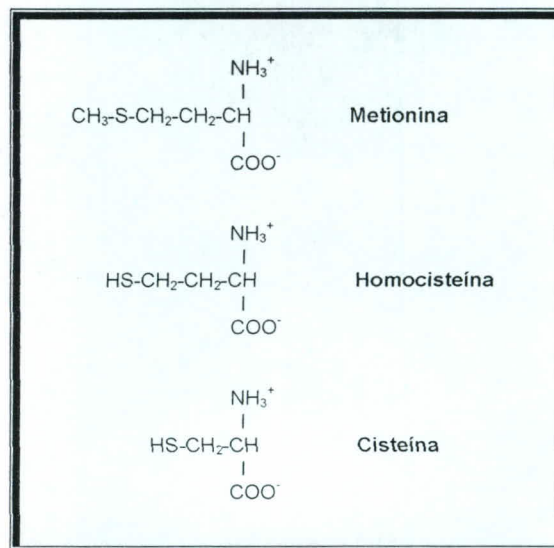
### III. ANTECEDENTES

#### A. Homocisteína

##### 1. Generalidades

La Homocisteína (Hcy) es un metabolito normal del aminoácido esencial metionina. Estructuralmente se asemeja estrechamente a la metionina y a la cisteína; los tres aminoácidos contienen azufre, los tres están relacionados metabólicamente como se muestra en la figura No. 1. Como los alimentos contienen pequeña o nula cantidad de Hcy libre, casi toda la presente en el cuerpo se deriva de la metionina de proteínas animales y de plantas (17).

**Figura 1** Aminoácidos relacionados metabólicamente en el ciclo de la Hcy (17).



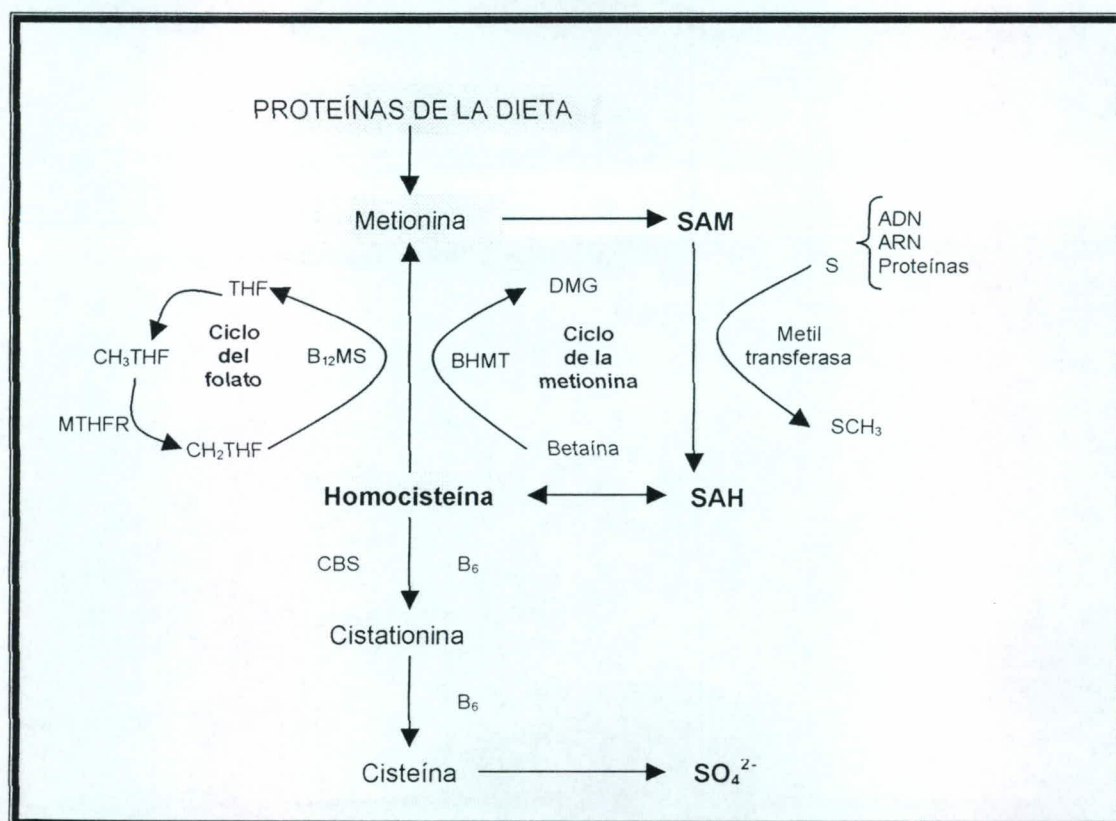
##### 2. Metabolismo de la Homocisteína

El metabolismo de la Hcy es dirigido por varios factores del complejo B. Los folatos, la vitamina B<sub>12</sub> y B<sub>6</sub> se utilizan en el ciclo de la remetilación y la vitamina B<sub>6</sub> se utiliza en la transulfuración. Las deficiencias de ácido fólico, vitamina B<sub>6</sub> ó

vitamina B<sub>12</sub> puede llevar a un metabolismo incorrecto de la Hcy y a una hiperhomocisteinemia. Además, mutaciones en los genes que codifican a la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), la metionina sintetasa (MS) y cistationina beta-sintetasa (CBS) pueden producir hiperhomocisteinemia (18).

La Hcy se genera por un ciclo a través de S-adenosilmetionina (SAM) y S-adenosilhomocisteína (SAH) (figura 2). La remetilación de la Hcy a metionina es llevada a cabo por la metionina sintetasa dependiente de vitamina B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>MS) y por la beta-homocisteína metiltransferasa (BHMT). La Hcy también se convierte a cisteína a través del ciclo de transulfuración, iniciado por la beta-sintetasa cistationina B<sub>6</sub> dependiente (CBS). El ciclo del folato genera 5-metiltetrahidrofolato (CH<sub>3</sub>THF) para la remetilación de Hcy a metionina (18).

Figura 2 Metabolismo de la Hcy (19).





## B. Homocisteína total

### 1. Constituyentes de la Homocisteína total

El plasma humano contiene ambas especies de Hcy, reducida y oxidada. La forma sulfurada o reducida es llamada Hcy y las formas oxidadas o disulfuradas son llamada homocistina. Las formas disulfuradas también existen con cisteína y con proteínas que contienen residuos reactivos de cisteína (proteínas unidas a Hcy). Las otras formas oxidadas son referidas como disulfuros mixtos (ver figura No. 3). Las formas oxidadas de Hcy usualmente comprenden del 98-99 por ciento de la Hcy total en el plasma, el cual el 80-90 por ciento es Hcy unida a proteínas, el 1 por ciento restante es la forma reducida. Por lo tanto, la Hcy total en el plasma, es una suma de todas las formas de Hcy que existen en el plasma o suero (20,21).

**Figura 3** Constituyentes de la Hcy total y sus porcentajes en el plasma (21).

<u>REDUCIDA</u>		
Homocisteína	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-SH} \end{array}$	1%
<u>OXIDADA</u>		
Homocistina	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \end{array}$	5-10%
<i>Disulfuros mixtos</i>		
Proteína-Homocisteína	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{Proteína-S} \end{array}$	80-90%
Cisteína-Homocisteína	$\begin{array}{c} \text{NH}_3^+ \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{CH}_2\text{-S} \\   \\ \text{OOCCHCH}_2\text{-S} \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	5-10%

## 2. Concentración de la Homocisteína total

El rango de la concentración en ayunas de la Hcy total en el plasma de adultos sanos es de 10  $\mu\text{mol/L}$ , con un rango de 5-15  $\mu\text{mol/L}$  (22). El rango de normalidad varía según el método utilizado, la edad y el sexo de la población evaluada. Los valores de Hcy son más elevados en el hombre que en la mujer y a su vez, son mayores en la mujer postmenopáusica que en la premenopáusica (23,24). La diferencia de valores entre los sexos podría deberse a un efecto hormonal o estar relacionada con una mayor masa muscular y los valores más elevados de creatinina en el hombre comparados con los de la mujer. La Hcy plasmática aumenta también con la edad. La causa de este incremento sería ocasionada por una disminución de los niveles de los cofactores enzimáticos, un deterioro de la función renal y/o una disminución de la actividad de la beta-sintetasa. Se han descrito a si mismo diferencias étnicas en los valores de Hcy, siendo inferiores en la raza negra que en la raza blanca o asiática. La concentración basal de Hcy puede ser normal en algunos sujetos, a pesar de tener una alteración de su metabolismo. La prueba de la sobrecarga oral a la metionina se utiliza para ponerla en evidencia (22).

Existen diversos rangos para catalogar una hiperhomocisteinemia: a) moderada, b) intermedia y c) severa, en base a la concentración en  $\mu\text{mol/L}$ , estas se presentan en la figura 4 (21,22). Se ha demostrado que el riesgo a enfermedad coronaria se ha presentado cuando hay concentraciones continuas de Hcy entre 10-15  $\mu\text{mol/L}$ . Por lo que el límite normal debería ser de 10  $\mu\text{mol/L}$  o quizás menor, esta concentración "deseable" podría lograrse con una óptima nutrición donde se incluya ácido fólico, vitamina B<sub>12</sub> y B<sub>6</sub>. En individuos que padecen de homocistinuria en la cual el metabolismo de la Hcy está alterado tienen una hiperhomocisteinemia severa, con concentraciones de Hcy aproximándose a 500  $\mu\text{mol/L}$ , en la cual se ha reportado que alrededor del 20 por ciento de esta es Hcy en forma reducida. Los individuos con enfermedad cerebrovascular, coronaria y periférica vascular presentan una hiperhomocisteinemia moderada entre 15-25



$\mu\text{mol/L}$  (1,3,4,8). También se ha reportado que en individuos donde la función renal es impar o en etapas terminales de enfermedad renal, las concentraciones de Hcy pueden llegar a ser concentraciones intermedias entre 25-50  $\mu\text{mol/L}$  (25).

**Figura 4** Hcy total plasmática: Valores de referencia (21).

Normal sin riesgo	0-11.4 $\mu\text{mol/L}$
Normal con riesgo	11.4-15 $\mu\text{mol/L}$
<b>Hiperhomocisteinemia</b>	
Moderada	15-25 $\mu\text{mol/L}$
Intermedia	25-50 $\mu\text{mol/L}$
Severa	50-500 $\mu\text{mol/L}$

### 3. Factores que influyen en los niveles de Homocisteína

Los determinantes la concentración de la Hcy plasmática son complejos que envuelven factores demográficos, genéticos y factores adquiridos como se presenta en la figura 5. Por lo que la genética, la nutrición, el estado de salud, el estilo de vida y la edad influyen en la homeostasis de la Hcy.

**Figura 5** Factores que influyen en los niveles de Hcy (21).

<b>DEMOGRAFICOS</b>	<b>ESTADOS DE SALUD</b>
Edad	Función impar de riñón
Sexo	Enfermedad renal en estado terminal
Etnia	Transplante de órganos
<b>GENETICOS</b>	Hipotiroidismo
MTHRF	<b>ESTILO DE VIDA</b>
MS	Hipertensión arterial
CBS	Fumar
<b>ADQUIRIDOS</b>	Alcohol (en exceso)
Deficiencia de vitamina B (folatos, B <sub>6</sub> y B <sub>12</sub> )	Sedentarismo
	Café (en exceso)



**a. Factores demográficos:** La concentración total de Hcy parece elevarse conforme la edad. La concentración Hcy en niños no varía según sexo, sin embargo en estudios hechos en adultos hay una diferencia entre hombres y mujeres siendo el de hombres más elevado y conforme aumenta la edad la diferencia aumenta (22). De ello se infiere que las concentraciones de Hcy son mayores en hombres que en mujeres de la misma edad, sin embargo las razones de esta diferencia aún son desconocidas. Los datos obtenidos por el Heart Study and the National Health Nutrition Examination Study (NHANES) indica que además de la edad y el sexo hay una pequeña diferencia también entre grupos étnicos (26).

**b. Factores nutricionales:** Es conocido que la deficiencia o mala absorción individual o combinada de ácido fólico, vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> puede ser causa de hiperhomocisteinemia y así incrementar el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares. La fuente de Hcy en la dieta es la L-metionina, la cual puede obtenerse de frutas, vegetales que generalmente contienen de 0.9-1.2 g de metionina por 100 g del alimento. La proteína de fuente animal tiene un mayor contenido de metionina alrededor del 2.7-3.2 g por 100 g de alimento (21,27).

En la mayoría de los individuos sanos existe una correlación entre la Hcy, el folato y la vitamina B<sub>12</sub>. El metabolismo de la Hcy es regulado por las vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> además de la 5-metiltetrahydrofolato sirviendo como sustrato a la MS B<sub>12</sub>-dependiente en la remetilación de la Hcy a metionina y vitamina B<sub>6</sub> (5-fosfato piridoxal) y este a su vez como un cofactor para el CBS en la vía de la transulfuración.

**c. Factores genéticos:** Estudios realizados a inicios de la década de los noventa en pacientes con enfermedad coronaria establecieron que los factores genéticos eran importantes en la hiperhomocisteinemia. Reciente evidencia sugiere que factores genéticos, en combinación con factores adquiridos o ambientales, conllevan a un incremento de la Hcy total plasmática. Durante los

últimos años las enzimas CBS, MS y MTHFR se han clonado y se identificaron muchas mutaciones (1).

Algunos de los efectos enzimáticos severos que afectan la metilación de la Hcy son poco comunes. La mutación de la MTHFR demuestra diferencias étnicas y está casi ausente en los individuos afro-americanos. En individuos caucásicos, la prevalencia de sujetos homocigotos es alrededor del 12 por ciento. En la forma homocigota (*in vitro*) la enzima presenta solamente una actividad normal del 30-50 por ciento. La mutación para los individuos homocigotos y en menor medida para los heterocigotos; es asociada con los incrementos moderados de los niveles de Hcy, especialmente en individuos con un reducido nivel de folato (28).

La MTHFR en presencia de NADPH convierte al 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato, éste a su vez sirve como sustrato para la metionina sintetasa B<sub>12</sub>-dependiente. La MTHFR es un enzima flavino-dependiente constituida por dos subunidades idénticas de 77 kDa Con un dominio catalítico N-terminal y un dominio regulador C-terminal. Se han reportado varios casos de deficiencia de MTHFR en las cuales los individuos tienen complicaciones neurológicas y vasculares que aparecen en la primera o segunda década de vida. Este gen a sido clonado y se han descrito 14 mutaciones que causan deficiencia de la misma. Una variante termolábil de esta enzima ha sido reportada por Kang *et al* (28-31).

Otra mutación común que afecta la MTHFR ha sido recientemente descrita, la misma aparece como una interacción entre esta mutación y el polimorfismo C677T, esta mutación produce una sustitución de alanina a valina. Para individuos heterocigotos tanto el C677T y esta mutación (20 y 25 por ciento respectivamente sobre el estudio de poblaciones) presentan características similares, como lo observado en homocigotos para la mutación C677T. La prevalencia y el impacto de mutaciones involucradas en el metabolismo de la Hcy están actualmente bajo investigación en numerosos estudios (32).



La enzima MS dependiente de la vitamina B<sub>12</sub> es encontrada en casi todas las células y tejidos. Errores de nacimiento que afectan la absorción, el transporte intracelular, el transporte sistémico de la vitamina B<sub>12</sub>, y la conversión de esta a coenzima (B<sub>12</sub>-metilo) puede producir pérdida de la actividad de MS y por lo tanto hiperhomocisteinemia. Mutaciones en el gen estructural de la MS han empezado a ser descritas. El ADN humano para la MS contiene una hebra abierta de 3798 nucleótidos, que codifican un polipéptido de 1265 aminoácidos. Sin embargo, la prevalencia de estas mutaciones y su contribución a la hiperhomocisteinemia todavía se encuentra en estudios (33-35).

En la vía de la transulfuración, que es catalizada por la CBS B<sub>6</sub>-dependiente, existen cientos de casos de deficiencia de la CBS, la cual es la forma más común de homocistinuria. El ADN humano para la CBS, contiene 2554 nucleótidos que codifican una subunidad de 551 aminoácidos con una masa molecular de 63 kDa. Un gran número de estudios para identificar los genotipos se han hecho, sin embargo han fallado en identificar el polimorfismo de la CBS que se relaciona con la enfermedad cardiovascular, por lo que se necesitan más estudios para ello (36-39).

**d. Otros factores:** Existen una serie de factores y condiciones patológicas que modifican los niveles de Hcy entre las cuales se pueden mencionar :

- i. Enfermedad renal crónica
- ii. Hipotiroidismo
- iii. Síndrome de mala absorción
- iv. Lupus eritematoso sistémico
- v. Cáncer
- vi. Interacciones con drogas: anticonvulsivos (fenitoína, primidona), quimioterapias, inmunosupresores (metotrexate) y drogas que potencialmente interfieren con el folato, vitamina B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>.



#### 4. Métodos para la determinación de la Homocisteína

Las diversas metodologías para determinar la Hcy total en plasma o suero fueron por primera vez desarrolladas a mediados de los años ochenta. Para la determinación de Hcy primero debe de generarse Hcy libre del plasma por medio de una reducción química de los enlaces disulfuros, para ello se utilizan agentes reductores como el 2-mercaptoetanol, ditioneitol, borohidruro de sodio, n-tributilfosfina y solución de agua de tris fosfina(2-carboxietil)fosfina (40). La Hcy es entonces diferenciada de otros tioles de bajo peso molecular (cisteína, cistionina y glutatión) y es separada por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de fase reversa y directamente determinada por detección electroquímica o utilizando un fluorocromo y separándola por HPLC para ser determinada fluorométricamente (41,42). Existe otra alternativa luego de generar la reducción en la cual la Hcy puede ser analizada por cromatografía gaseosa capilar y detectada por espectrofotometría de masas (43).

Inmunoensayos para la detección de Hcy han sido reportados recientemente, por Shipchandler y Moore, Frantzen *et al* y Pascal *et al* (16,44,45). Ambos ensayos utilizan un anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra la S-adenosilhomocisteína, la cual es producida cuando la Hcy por medio de una reducción de los enlaces disulfuros, reacciona con una adenosina en presencia de S-adenosilhomocisteína hidrolasa (16,44,45).

#### C. Homocisteína y su relación con las enfermedades cardiovasculares

La homocistinuria, un defecto del metabolismo de la Hcy, fue descubierto en 1962 por Carson y Neill y Gerritsen *et al* (46,47). Esta rara enfermedad ocurre aproximadamente en 1 de cada 100,000 a 200,000 nacimientos, es causada por la deficiencia de las enzimas CBS, MTHFR ó MS, y es adquirida a través de un mecanismo autosómico recesivo. Individuos que son homocigotos para la deficiencia del enzima CBS son incapaces de catabolizar Hcy a través de la vía de

la transulfuración. La deficiencia homocigota para MTHFR ó MS evita la conversión de Hcy a metionina a través del ciclo de la metionina (28,33,36). Los patrones clínicos de la homocistinuria incluyen retraso mental, anomalías esqueléticas y enfermedad prematura aterotrombótica. Estos individuos excretan grandes cantidades de Hcy en la orina y las concentraciones de Hcy en el plasma son de 50 a 500  $\mu\text{mol/L}$ . La rápida aparición de aterosclerosis y arteriosclerosis en estos pacientes ha sugerido que hay una estrecha relación entre la concentración de Hcy total en el plasma y la progresión de enfermedades cardiovasculares (5-8).

La relación entre la hiperhomocisteinemia y las enfermedades cardiovasculares han sido documentadas en numerosos estudios de caso-control. En 1976 antes de desarrollarse los ensayos para determinar la Hcy Wilken y Wilken reportaron elevadas concentraciones de disulfuros de cisteína-homocisteína en el plasma de individuos con enfermedad coronaria luego de 4 horas de haberle administrado metionina comparado con los individuos control, Kang *et al*, encontró que la Hcy unida a proteínas se encontraba elevada en individuos con enfermedad coronaria, Israelsson *et al*, encontró que la concentración total de Hcy plasmática se encontraba elevada en hombres que habían sufrido de un infarto al miocardio, Boushey *et al*, realizó estudios relacionando la Hcy a enfermedades cardiovasculares y estudios relacionando al folato como un determinante de la concentración de Hcy en el plasma, Graham *et al*, basado en un estudio realizado en un multicentro europeo de 750 casos y 800 controles, reportó que un incremento de la concentración de Hcy total plasmática era un factor independiente de riesgo importante como el fumar, la hipertensión y la hiperlipidemias para desarrollar enfermedades cardiovasculares (5,48-51).

#### **D. Mecanismos de daño debido a la hiperhomocisteinemia**

Existen diversas hipótesis del mecanismo de daño de la Hcy, una es que la forma reducida de la Hcy altera directamente la función de las células vasculares, ya que esta se oxida *in vivo*, por lo que los productos de ésta oxidación tales como



el peróxido de hidrógeno, el radical anión superóxido, y otras especies reactivas de oxígeno son los agentes causantes del daño directo a las células. La otra es que la Hcy actúa indirectamente a través de su oxidación y la formación de especies reactivas de oxígeno (9,11,52).

Diversos estudios en los que se han cultivado células endoteliales y del músculo liso de humanos y animales, en los cuales se utilizan concentraciones elevadas de Hcy en su forma reducida, las cuales provocan a las células endoteliales un cambio en su fenotipo de anticoagulantes a procoagulantes, modula la expresión de la enzima glutatión peroxidasa y de la óxido nítrico sintetasa (11,53,54). También se ha reportado que la Hcy es mitógena para las células del músculo liso debido a mecanismos que envuelven un sinergismo de inducción de la expresión ciclin A del RNA en el suero. Bajas concentraciones de Hcy estimulan la producción de colágeno en cultivos de células de músculo liso de conejo (55).

Por lo tanto el efecto que tiene la Hcy sobre las enfermedades cardiovasculares, según los estudios realizados son:

1. La Hcy genera superóxido y peróxido de hidrógeno, los cuales ambos están relacionados con el daño endotelial de los vasos de las arterias (9).

2. La Hcy cambia los niveles de los factores de coagulación hasta formar trombos en la sangre. Esta previene que las arterias pequeñas se dilaten, por lo que las hace más vulnerables a la obstrucción por trombos o placas (56,57).

3. La Hcy causa que las células del músculo liso que recubren la pared de la arteria formen parte del proceso aterogénico (55).

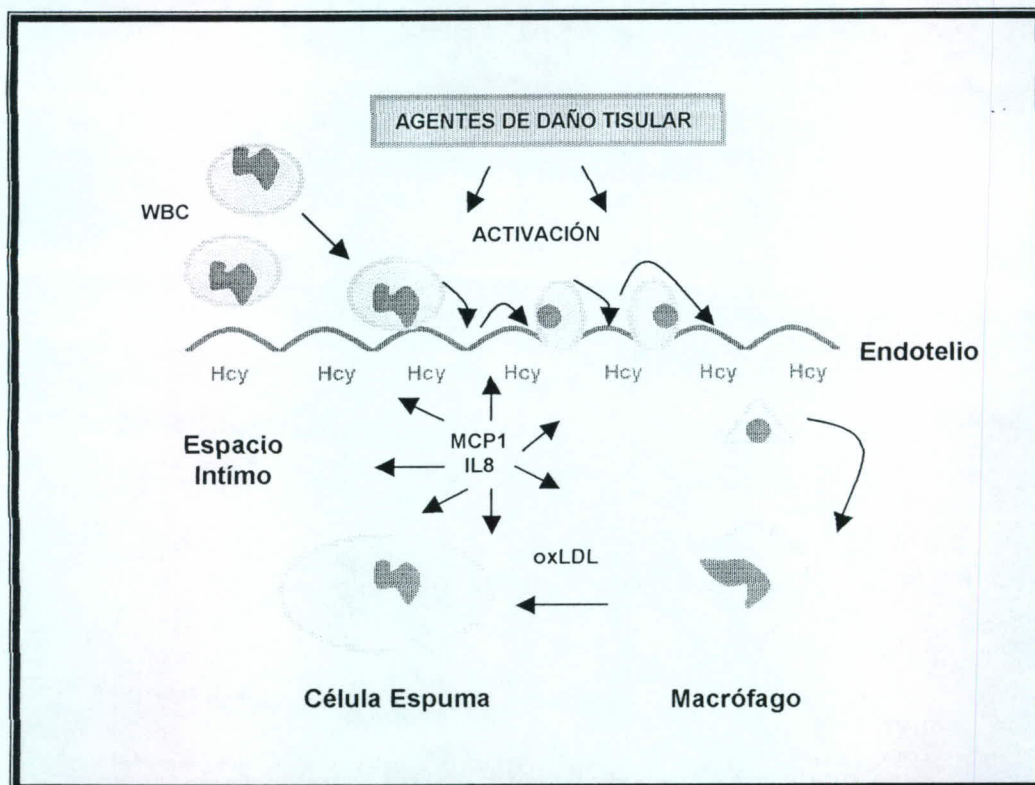
4. La Hcy causa agregación de plaquetas y formen parte del proceso de coagulación (53).



5. La Hcy causa que en células endoteliales de arterias de mandril haya muerte y formen lo que en humanos se conocen como ateromas (58).

6. Las células blancas sanguíneas (WBC) tienen contacto con las células vasculares endoteliales (CVE), cuando estas se dañan las WBC se adhieren a la superficie endotelial. La Hcy puede acelerar la progresión de la enfermedad cardiovascular estimulando la producción de quimiotaxis de WBC, por medio de atrayentes químicos (MCP1 e IL8) en el endotelio vascular. Las WBC migran al espacio íntimo vascular, allí se transforman en macrófagos y engullen lipoproteínas de baja densidad oxidadas y se convierten en células espuma, mismas que son fuente de especies reactivas de oxígeno, promoviendo la aterosclerosis (12).

**Figura 6** Un mecanismo de cómo la Hcy esta relacionada con la enfermedad cardiovascular (12).



## E. Tratamiento de la hiperhomocisteinemia

En la hiperhomocisteinemia severa vista en sujetos con homocistinuria clásica, aproximadamente el 50 por ciento de los que padecen de deficiencia de la CBS responden a la piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>). En pacientes con deficiencia congénita de la transcobalamina, que es la proteína del suero que transporta la vitamina B<sub>12</sub> a las células de todo el cuerpo, las inyecciones semanales de vitamina B<sub>12</sub> normalizan su hiperhomocisteinemia y les permite vivir vidas relativamente normales (59). Las deficiencias de MS y MTHFR son usualmente más refractarias al tratamiento, sin embargo en la mayoría de casos responden bien al tratamiento (21).

El tratamiento de la hiperhomocisteinemia moderada esta basado en la hipótesis de que el estado nutricional de los micronutrientes que se involucran en el metabolismo de la Hcy (folato, vitamina B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>) es optimo y que por suplementación alimenticia de ácido fólico, cianocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) e hidroclorehidrato de piridoxina (vitamina B<sub>6</sub>), ya sea solos o en combinación pueden optimizar el metabolismo de la Hcy y bajar no solo las concentraciones basales de Hcy, sino también la hiperhomocisteinemia debida a una carga anormal de metionina. Esta hipótesis ha sido confirmada por muchos investigadores, en 1988, Brattström *et al*, demostró que 5 mg de ácido fólico al día por 14 días era una manera muy efectiva de disminuir los valores de Hcy en individuos sanos y que 40 mg de hidroclorehidrato de piridoxina ó 1 mg de cianocobalamina tenían muy poco o ningún efecto en el mismo grupo, pero luego reportó que la administración de 10 mg de ácido fólico más 240 mg de hidroclorehidrato de piridoxina al día por 4 semanas reducía la concentración de Hcy en un 53 por ciento y la carga anormal de metionina en un 39 por ciento en 20 pacientes con enfermedad oclusiva periférica (59,60). También demostró que pacientes que habían sufrido de infarto al miocardio eran capaces de disminuir su concentración de Hcy con 2.5 mg de ácido fólico diario por 6 semanas.



El ácido fólico sin duda alguna es la forma más efectiva de suplementación para reducir la concentración total de Hcy en individuos con hiperhomocisteinemia moderada (5,61). Antes de 1986, la recomendación de ingesta diaria de ácido fólico era de 400 µg, ahora esta dosis ha cambiado a 180 µg en mujeres y 200 µg para hombres (62). Las mujeres que tienen deficiencias de folatos cuando están embarazadas tiene un mayor riesgo de dar a luz a niños con defectos del tubo neural, por esta razón la Administración de alimentos y drogas (FDA) ha aprobado la adición de ácido fólico a cereales y harinas, para que las personas tengan una ingesta diaria aproximada de 100 µg de ácido fólico, sin embargo la dosis optima debe de ser de 200 µg diarios (63). Estas cantidades son seguras para la mayoría de individuos, pero en ancianos con deficiencia de vitamina B<sub>12</sub>, la cianocobalamina debe combinarse con la suplementación de ácido fólico. Aproximadamente 1-2 por ciento de una dosis oral de cianocobalamina es absorbida por difusión pasiva, incluso en pacientes con anemia perniciosa. Los pacientes con fallos renales requieren una terapia más agresiva de vitamina B para lograr disminuir sus concentraciones de Hcy (25,64).



#### IV. JUSTIFICACION

La primera causa de muerte en los países desarrollados y en la gran mayoría de los que están en vías de desarrollo, son las enfermedades cardiovasculares con alrededor del 30 por ciento; para la aparición de las mismas existen una serie de factores bien conocidos, algunos de los cuales no pueden cambiarse, y otros pueden modificarse a través de terapéutica medicamentosa, disminuyendo de esa manera el riesgo de sufrir patologías cardiovasculares.

Las concentraciones séricas elevadas del aminoácido homocisteína están altamente vinculados con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y accidente cerebrovascular. Se ha indicado que los niveles altos de homocisteína también pueden contribuir a la hipertensión arterial causando un efecto negativo sobre el endotelio vascular por lo que las arterias pierdan elasticidad y se tornan rígidas. Dicha interacción puede promover la trombogénesis y la aterogénesis, originando episodios cardiovasculares adversos.

Los mecanismos que se involucran en la enfermedad cardiovascular causada por la homocisteína son: efecto tóxico directo sobre la capas de células en el interior de las arterias, efecto interferencia con los factores de coagulación, oxidación de las proteínas de baja densidad (LDL).

En la Liga Guatemalteca del Corazón, el 45 por ciento de los pacientes que son atendidos, presentan hipertensión arterial, por lo que en este grupo fue importante determinar la concentración plasmática de homocisteína, ya que altas concentraciones plasmáticas de este aminoácido aumentan las posibilidades de padecer de enfermedades cardiovasculares. La determinación de los niveles de Hcy permitió brindar al paciente un mejor monitoreo de la hipertensión y así evaluar de esta forma la terapéutica utilizada.

## V. OBJETIVOS

### A. GENERAL

1. Determinar si los pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón tienen concentraciones elevadas de homocisteína plasmática que puedan aumentar su riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares.

### B. ESPECÍFICO

1. Cuantificar los niveles de homocisteína plasmática en los pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón.
2. Estimar si los valores de homocisteína plasmática obtenidos se encuentran del rango normal o no ( $5 \mu\text{mol/L}$ -  $11.4 \mu\text{mol/L}$ ).

## VI. HIPÓTESIS

Los pacientes con hipertensión arterial entre 30 a 60 años que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón tienen valores de homocisteína mayores a 11.4  $\mu\text{mol/L}$ , lo cual es un factor de riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares.



## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo

Pacientes de 30 a 60 años con hipertensión arterial que acuden a La Liga Guatemalteca del Corazón .

### B. Muestra

Cuarenta pacientes seleccionados por conveniencia, de 30 a 60 años con más de cinco años de padecer hipertensión arterial que acuden a La Liga Guatemalteca del Corazón .

### C. Recursos

#### 1. Humanos

- Tesista: Br. Ana Carolina García González
- Asesores: Lic. Alba Marina Valdés de García
- Diseño estadístico: Lic. Oscar Federico Nave Herrera

#### 2. Físicos

##### a. Equipo

- ✓ Refrigeradora a 4° C
- ✓ Congelador a - 20° C
- ✓ Centrífuga
- ✓ Pipeta automática de volumen variable
- ✓ IMX system de ABBOTT®

### b. Reactivos

- ✓ Kit de reactivos IMX homocisteína de ABBOTT® (Anticuerpo monoclonal de ratón Anti-S-adenosil-L-homocisteína, Trazador fluorescente S-adenosil-L-cisteína, Buffer de S-adenosil-L-homocisteína hidrolasa de bovino y buffer con ditiotritol como agente reductor)
- ✓ 6 calibradores de homocisteína de ABBOTT®

CALIBRADOR	CONCENTRACIÓN μmol/L
A	0
B	2.5
C	5.0
D	10.0
E	20.0
F	50.0

- ✓ 3 controles de homocisteína de ABBOTT®

CONTROL	CONCENTRACIÓN μmol/L
Control L	7.0
Control M	12.5
Control H	25.0

- ✓ Alcohol al 70%
- ✓ Agua destilada

### c. Materiales

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Cubetas desechables
- ✓ Cubetas de vidrio
- ✓ Jeringas de 5 ml
- ✓ Agujas de 21 x 1 ½
- ✓ Tips amarillos
- ✓ Tips azules
- ✓ Viales Eppendorf
- ✓ Guantes de látex
- ✓ Ligaduras
- ✓ Algodón
- ✓ Gradillas para tubos
- ✓ Gradilla para viales Eppendorf
- ✓ Papel mayordomo

### 3. Institucionales

- Laboratorio clínico de La Liga Guatemalteca del Corazón
- Laboratorio clínico del Hospital Nuestra Señora del Pilar
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- Biblioteca de la Universidad del Valle de Guatemala
- Biblioteca de la Universidad Francisco Marroquín
- Biblioteca del Ministerio de Salud y Asistencia Social
- Biblioteca del Instituto Nutricional de Centro América y Panamá
- Biblioteca de la Organización Panamericana de la Salud



## D. Metodología

### 1. Toma de muestra

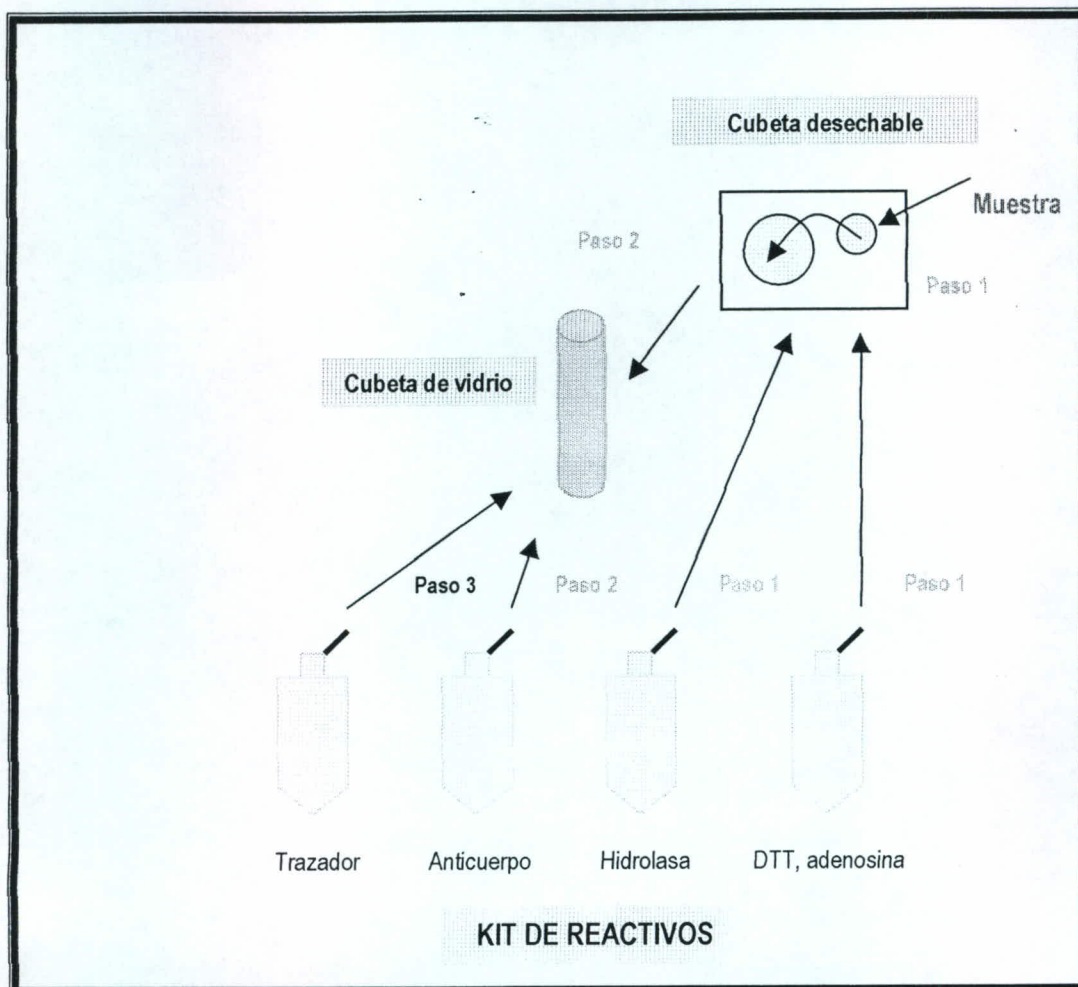
- Se solicitó por escrito a cada paciente su autorización para participar al estudio (Anexo 1).
- Se realizó una encuesta para evaluar si existían otros factores que puedan aumentar la concentración de homocisteína (Anexo 2).
- Se identificó adecuadamente los tubos con el nombre del paciente y con número correlativo, al igual que cartas de consentimiento y encuestas.
- Se extrajeron 5 ml de sangre venosa a cada paciente con 14 horas de ayuno.
- Se dejó coagular la sangre por 30 minutos.
- Se centrifugó por 5 minutos a 3000 rpm.
- Se separó el suero inmediatamente con una pipeta y se guardó en viales Eppendorf.
- Se congelaron las muestras a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis.

### 2. Principio de la prueba

El método de IMX homocisteína del laboratorio ABBOTT®, se basa en la tecnología de inmunoensayo de polarización de la fluorescencia (FPIA). A las muestras de suero se les añade buffer que contiene ditioneol como agente reductor para deducir la homocisteína libre, se incuba la enzima S-adenosil-L-homocisteína hidrolasa (SAH) y exceso de adenosina y se forma S-adenosil-homocisteína, esta es incubada con el anticuerpo monoclonal de ratón anti-S-adenosil-L-homocisteína y se utiliza el marcador trazado con fluorescencia S-adenosil-L-cisteína, el cual compite por los sitios de unión de las moléculas de los anticuerpos monoclonales, se hace pasar un haz de luz polarizada a través de las muestras. El grado de despolarización es inversamente proporcional a la cantidad de anticuerpo unido al trazador, la intensidad de la luz polarizada fluorescente se

mide con un sistema óptico y los resultados se leen automáticamente y se imprimen. Se presenta el siguiente esquema en la figura 7.

**Figura 7** Formato del ensayo IMX Hcy: Paso 1 Reducción y tratamiento con enzima (30 minutos). Paso 2 adición de anticuerpo (10 minutos). Paso 3 adición de trazador (10 minutos) (16).



### 3. Procesamiento de las muestras

- Se llevaron los reactivos a temperatura ambiente (18-26° C).
- Se descongelaron las muestras hasta temperatura ambiente (18-26° C).

- Se montaron los reactivos en el equipo IMX system de ABBOTT®, previamente lavado con agua destilada.
- Se pipeteó 200  $\mu$ L de cada calibrador (A, B, C, D, E y F) y se colocaron en las cubetas desechables del carrusel.
- Se programó el equipo IMX system ABBOTT® , utilizando el dispositivo de pruebas metabólicas y se corrieron los calibradores.
- Se obtuvieron los resultados de cada calibrador por medio de un microprocesador que calcula la polarización en unidades mP de cada calibrador y con estos resultados se construyó una curva de calibración en seis puntos (0, 2.5, 5.0 10.0, 20.0 y 50.0  $\mu$ mol/L)
- El microprocesador almacenó la curva y ésta fue utilizada para calcular los valores de las muestras que fueron analizadas en las posteriores corridas.
- Se pipeteó 200  $\mu$ L de cada control (L, M y H) y se colocaron en las cubetas desechables del carrusel.
- Se pipeteó 200  $\mu$ L de cada muestra y se colocaron en las cubetas desechables del carrusel.
- Se programó el equipo IMX system ABBOTT® , utilizando el dispositivo de pruebas metabólicas y se corrieron las muestras.
- Se obtuvieron los resultados automáticamente y se imprimieron los mismos (20 muestras  $\approx$  en 60 min).

## E. Diseño experimental

### 1. Tipo de estudio

Transversal, descriptivo.

### 2. Tipo de muestreo

No probabilístico por cuota.



### 3. Análisis estadístico

Variable binomial, frecuencia o proporción.

### 4. Análisis de datos

a. Se estimó la proporción de casos en que los niveles plasmáticos de homocisteína estén por arriba del rango normal con un intervalo de confianza (IC) de 95 por ciento.

b. Con los resultados de las muestras, se probó la hipótesis:

$$H_a: \mu > 11.4 \mu\text{mol/L}$$

Utilizando la distribución normal de (z) para un nivel  $\alpha = 0.05$ .

c. Los resultados de la encuesta se analizaron por frecuencia, utilizando el programa EPI-INFO 6.0.

## VIII. RESULTADOS

Las muestras de plasma analizadas de los 45 pacientes, cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión que se plantearon para la investigación (pacientes de 30 a 60 años con hipertensión arterial). Para llevar a cabo el experimento además de contar con los criterios antes mencionados, se les llenó una ficha con talla, peso y edad ver tabla 1 y 2.

**Tabla 1** Niveles de Hcy en mujeres hipertensas (datos del estudio)

No.	Sexo	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
1	F	60	146	1,53	27,40
2	F	31	165	1,59	23,17
4	F	34	158	1,64	17,31
5	F	32	132	1,48	13,52
6	F	56	116	1,56	9,07
7	F	57	129	1,60	8,11
8	F	31	102	1,56	5,91
9	F	43	135	1,63	11,89
10	F	41	146	1,57	11,29
11	F	58	168	1,59	10,44
12	F	47	153	1,50	15,54
13	F	48	125	1,46	6,74
14	F	40	131	1,60	31,10
18	F	57	112	1,52	15,70
19	F	40	143	1,59	14,02
21	F	58	115	1,57	16,90
24	F	53	172	1,66	16,36
25	F	54	131	1,61	19,61
27	F	43	165	1,62	23,15
28	F	57	174	1,63	20,31
29	F	54	121	1,57	10,80
32	F	60	162	1,52	9,31
33	F	57	158	1,60	11,33
34	F	44	155	1,56	8,32
35	F	47	160	1,49	15,90
37	F	53	172	1,60	8,24
39	F	53	165	1,60	15,22
41	F	44	169	1,64	17,77
42	F	55	141	1,55	13,57
43	F	53	147	1,62	11,07
44	F	48	156	1,58	11,65
45	F	52	142	1,64	18,54

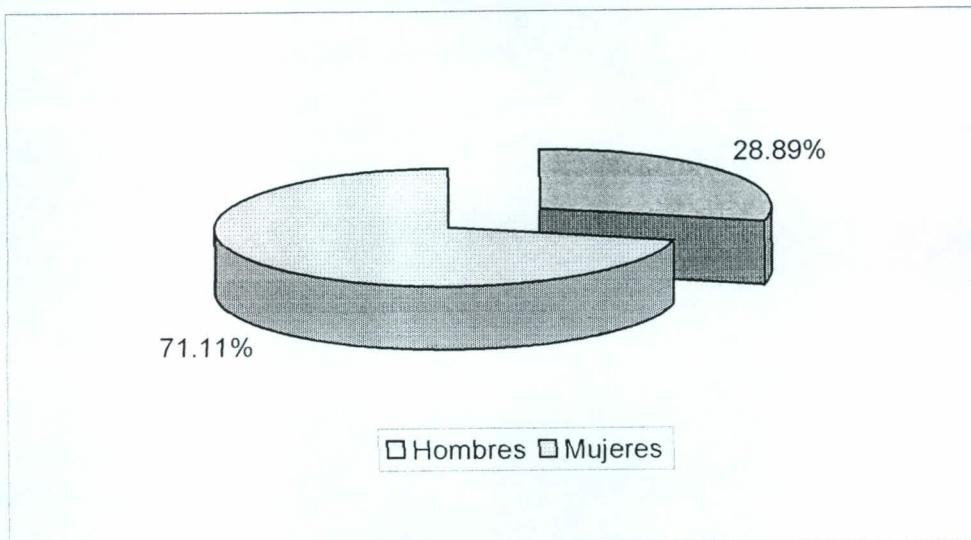
Fuente: Datos experimentales 32/45

**Tabla 2** Niveles de Hcy en hombres hipertensos (datos del estudio)

No.	Sexo	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
3	M	43	162	1,63	17,49
15	M	45	175	1,70	32,47
16	M	32	166	1,74	12,53
17	M	56	192	1,71	10,77
20	M	53	130	1,58	24,58
22	M	53	167	1,65	15,39
23	M	43	178	1,72	25,20
26	M	60	176	1,66	19,12
30	M	59	185	1,73	8,46
31	M	53	181	1,78	16,83
36	M	45	170	1,68	16,93
38	M	43	180	1,70	11,12
40	M	36	186	1,80	12,93

Fuente: Datos experimentales 13/45

La distribución en cuanto a sexo fue de 13 hombres (28.89 por ciento) y de 32 mujeres (71.11 por ciento), la siguiente gráfica lo demuestra.

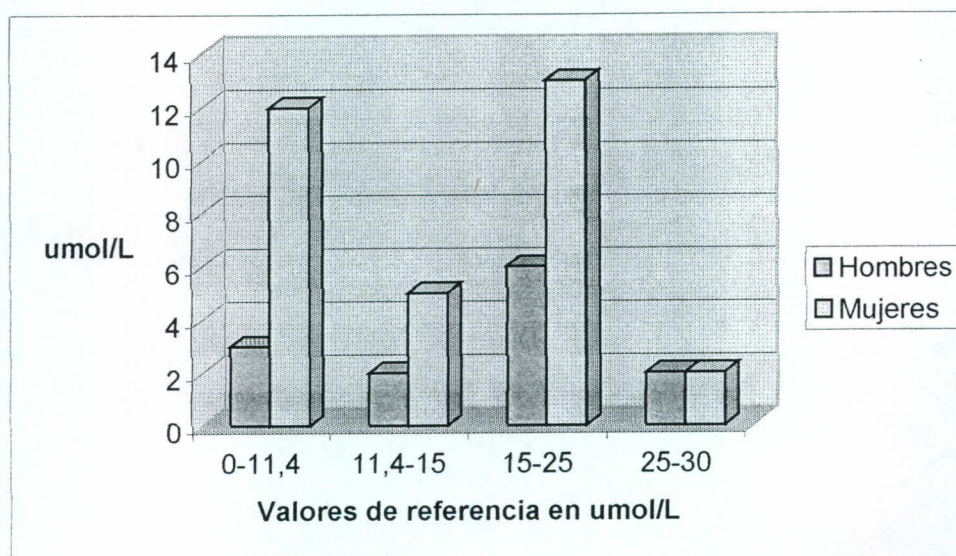
**Gráfica 1** Distribución de pacientes en cuanto al sexo

Fuente: Datos experimentales



La gráfica 2, muestra los valores obtenidos de la determinación de homocisteína en los pacientes hipertensos que participaron en el estudio según el sexo. Además se clasifican según los valores de referencia que incluyen, normal sin riesgo, normal con riesgo, hiperhomocisteinemia leve, hiperhomocisteinemia moderada y para la hiperhomocisteinemia severa no se graficó ya que no existieron valores.

**Grafica 2** Distribución de pacientes en cuanto a valores de referencia



Fuente: Datos experimentales

Dentro del rango de 0-11.4  $\mu\text{mol/L}$  lo cual es normal sin riesgo se ubicaron 15 pacientes (33.34 por ciento) de los cuales 12 fueron mujeres y 3 hombres. En el rango de normal con riesgo de 11.4-15  $\mu\text{mol/L}$  se ubicaron 7 pacientes (15.56 por ciento) de los cuales 5 fueron mujeres y 2 hombres. En el rango de hiperhomocisteinemia moderada se encontraron 19 pacientes (42.22 por ciento) siendo 13 mujeres y 6 hombres. Por último dentro del rango de hiperhomocisteinemia moderada están 4 pacientes (8.88 por ciento), divididos entre ambos sexos.

De las 45 muestras de pacientes hipertensos analizadas, los valores de la media de homocisteína fueron  $15.40 \pm 9.17 \mu\text{mol/L}$ , siendo mayor la media en hombres con un  $16.83 \pm 6.79 \mu\text{mol/L}$  que en mujeres en donde la media fue de  $13.80 \pm 5.92 \mu\text{mol/L}$ .

El valor de la media en cuanto a peso para todos los pacientes analizados fue de  $153.64 \pm 22.37 \text{ lb}$ . En mujeres la media fue de  $145.81 \pm 19.94 \text{ lb}$ , con un valor mínimo de  $102.0 \text{ lb}$  y un valor máximo de  $174.0 \text{ lb}$ . En hombres la media fue de  $172.92 \pm 15.52 \text{ lb}$  con un valor mínimo de  $130.0 \text{ lb}$  y un valor máximo de  $190.0 \text{ lb}$ .

Para la variable talla, la media para todos los pacientes analizados fue de  $1.60 \pm 0.08 \text{ mt}$ . En mujeres la media fue de  $1.58 \pm 0.05 \text{ mt}$ , con un valor mínimo de  $1.46 \text{ mt}$  y un valor máximo de  $1.66 \text{ mt}$ . En hombres la media fue de  $1.70 \pm 0.06 \text{ mt}$ , con un valor mínimo de  $1.58 \text{ mt}$  y un valor máximo de  $1.80 \text{ mt}$ .

En cuanto a la edad la media para todos los pacientes analizados fue de  $48.47 \pm 8.63 \text{ años}$ . En mujeres la media fue de  $48.75 \pm 8.77 \text{ años}$ , con un valor mínimo de  $31 \text{ años}$  y un valor máximo de  $60 \text{ años}$ . En hombres la media fue de  $47.77 \pm 8.64 \text{ años}$ , con un valor mínimo de  $32 \text{ años}$  y un valor máximo de  $60 \text{ años}$ .



## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio se realizó en 45 pacientes hipertensos con presión arterial mayor a 140 / 90, comprendidos entre 30 y 60 años de edad, se encontró que un 66.67 por ciento de los pacientes tenían concentraciones de homocisteína por arriba del valor normal sin riesgo de 11.4  $\mu\text{mol/L}$ , los cuales se distribuían de la siguiente manera, dentro del rango de normal con riesgo 15.56 por ciento de los pacientes (7/45), en homocisteinemia leve 42.22 por ciento de los pacientes (19/45) y en hiperhomocisteinemia severa 8.89 por ciento de los pacientes (4/45). Lo cual evidencia que 30 de 45 pacientes están en peligro de padecer problemas cardiovasculares debidos a las concentraciones de homocisteína aunado a la hipertensión arterial.

En cuanto al sexo, los valores los valores de homocisteína tienden a ser mayores en individuos del sexo masculino que el femenino, ya que la media para hombres fue de un  $16.83 \pm 6.79 \mu\text{mol/L}$  y en las mujeres fue de  $13.80 \pm 5.92 \mu\text{mol/L}$ .

La homocisteinemia se clasificó de tres formas, leve, moderada y severa (21). En la leve se ubicaron 19 pacientes de los cuales el 68.42 por ciento fueron mujeres y el 31.48 fueron hombres, este dato denota que fueron más mujeres pero se debe a que el numero de mujeres fue mayor que el de hombres. En este rango se ubica el 46.15 por ciento del total de hombres y el 40.63 por ciento del total de mujeres.

En el rango de hiperhomocisteinemia intermedia no se repitieron los mismos patrones, encontrándose 4 pacientes de los cuales el 50 por ciento eran hombres y el otro 50 por ciento mujeres. Sin embargo en este rango se ubica el 15.38 por ciento del total de hombres y el 6.25 por ciento de mujeres, por lo que



se vuelve a comprobar que los niveles de homocisteína se encuentran aumentados en mayor proporción en hombres que en mujeres.

Para el rango de hiperhomocisteinemia severa no se ubico a ningún paciente, ya que en este rango únicamente se encuentran pacientes con severos problemas renales o hipotiroidismo, los cuales por medio de la entrevista fueron excluidos de la investigación.

En cuanto a la edad, según la literatura conforme está aumenta también aumenta la concentración de homocisteína, por ello se trató por medio de los criterios de exclusión evitar a pacientes de edad avanzada y se tomaron hasta 60 años. Si existe correlación entre los niveles de homocisteína y la edad, no se pudo establecer la misma, debido a que pacientes de 30 años tenían concentraciones de homocisteína en el rango de hiperhomocisteinemia moderada y pacientes de 60 años mostraron concentraciones de homocisteína en el rango normal sin riesgo.

De acuerdo a la literatura, los pacientes con concentraciones de homocisteína por arriba de  $11.4 \mu\text{mol/L}$  están normales (21), pero en este estudio se presentan otros factores como la hipertensión lo que indica podrían desarrollar enfermedad cardiovascular posteriormente. Los pacientes con niveles de homocisteína por arriba de  $15.0 \mu\text{mol/L}$ , son considerados como pacientes con hiperhomocisteinemia. La homocisteína es tóxica para el endotelio, es procoagulante e incrementa la producción de colágeno y disminuye la disponibilidad de óxido nítrico, por lo que los resultados obtenidos tienen significancia, además se observa que con el factor de padecer hipertensión arterial esto se asocia independientemente con tasa elevadas de mortalidad debidas a trastornos cardiovasculares severos como infarto al miocardio y trombosis cerebral.

## X. CONCLUSIONES

1. En los pacientes con hipertensión arterial que participaron en el estudio, se comprobó estadísticamente que presentan niveles de concentración de homocisteína elevadas.
2. El valor promedio de homocisteína en pacientes hipertensos fue de  $15.40 \pm 9.17 \mu\text{mol/L}$ .
3. Se encontró que un 66.67 por ciento de los paciente estaban por arriba del rango de normal los cuales se distribuyeron de la siguiente manera: dentro del rango de normal con riesgo 15.56 por ciento de los pacientes (7/45), en homocisteinemia leve 42.22 por ciento de los pacientes (19/45) y en hiperhomocisteinemia severa 8.89 por ciento de los pacientes (4/45).
4. El valor promedio de homocisteína fue mayor en hombres con un  $16.83 \pm 6.79 \mu\text{mol/L}$  que en mujeres en donde la media fue de  $13.80 \pm 5.92 \mu\text{mol/L}$ .
5. No se comprobó la correlación entre los niveles de homocisteína y la edad en pacientes con hipertensión arterial.

## XI. RECOMENDACIONES

1. Se aconseja determinar de rutina los niveles de homocisteína plasmática, en pacientes con hipertensión arterial, para de esta manera prevenir la aparición de trastornos cardíacos severos.
2. Realizar un estudio para establecer si existe la asociación entre la concentración de la homocisteína plasmática y una dieta balanceada con ingesta de vitamina B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>12</sub>, ya que la deficiencia de estas vitaminas también puede aumentar las concentraciones de homocisteína.
3. Realizar estudios con otros grupos de pacientes con factores de riesgo tales como: fumadores, pacientes con hipertiroidismo, pacientes con insuficiencia renal, menopausia y cáncer, para así establecer la asociación de estos con los niveles de homocisteína plasmática.
4. Se recomienda analizar los niveles de homocisteína en todo paciente con antecedentes o factores de riesgo a padecer enfermedad cardiovascular.



## IX. REFERENCIAS

1. Clarke R, *et al.* **Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease.** N Eng J Med 1991; 324:1129-1136.
2. Organización Mundial de la Salud. **Epidemiología y prevención de las enfermedades cardiovasculares en los ancianos.** Ginebra: España, 1995. IV+82 p. (p. 1-23).
3. American Heart Association. **"Homocysteine new risk factor for coronary heart disease, says Dutch team"**. 1997. 5 de octubre del 2002 <<http://www.americanheart.org>>.
4. Eikelboom J, *et al.* **Homocysteine and cardiovascular disease: A critical review of the epidemiologic evidence.** Ann Intern Med. 1999; 131:363-375.
5. Boushey CJ, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG. **A quantitative assesment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes.** JAMA 1995; 274:1049-1057.
6. Arnesen E, *et al.* **Serum total homocysteine an coronaru Herat disease.** Int J Epidemiol 1995; 24:704-709.
7. Graham IM, *et al.* **Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European concerted action project.** JAMA 1997; 277:1775-1781.
8. Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE. **The controversy over homocysteine and cardiovascular risk.** Am J Clin Nutr 2000; 72:324-332.

9. Starkebaum G, Harlan JM. **Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine.** J Clin Invest 1986; 77:1370-1376.
10. Heinecke JW, Lawamuura M, Suzuki L, Chait A. **Oxidation of low density lipoprotein by thiols: superoxide-dependent and independent mechanisms.** J Lipid Res 1993; 34:2051-2061.
11. Stamler JS, *et al.* **Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen.** J Clin Invest 1993; 91:308-318.
12. Kottke-Marchant K, Green R, Jacobsen DW, Dicorleto P. **Sub-cytotoxic homocysteine increases monocyte adhesion to human aortic endothelial cells.** Blood 1990; 76:511.
13. Unhee L, Cascano PA. **Homocysteine and blood pressure in the tirad national health and nutrition examination survey 1988-1994.** Am J Epidemiology 2002; 156:1105-1113.
14. Lip GY, *et al.* **Estudio piloto sobre las concentraciones de homocisteína en la hipertensión arterial esencial: relaciones con el factor de von Willebrand, que es un índice de la lesión endotelial.** AJH (Ed. Esp) 2001; 3:539-544.
15. Chambers JC, *et al.* **Investigation of relationship between reduced, oxidized, and protein-bound homocysteine and vascular endothelial function in healthy human subject.** Circulation research 2001; 89:187.

16. Shipchandler MT, Moore EG. **Rapid, fully automated measurement of plasma homocyst(e)ine with the Abbott IMx analyzer.** Clin Chem 1995; 41:991-994.
17. Horton M. **Bioquímica.** México: Prentice-Hall, 1993. 22-36 p. (p.14-2)
18. Mudd SH. **Vascular disease and homocysteine metabolism.** N Engl J Med 1985; 313:751-753.
19. Kaplan LA, Pesce AJ. **Clinical Chemistry.** 3<sup>a</sup> ed. St. Louis, Missouri: Mosby, 1996. 1211p. (p. 1007)
20. Ueland PM. **Homocysteine species as components of plasma redox thiol status.** Clin Chem 1995; 41:340-342.
21. Jacobsen DW. **Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease.** Clin Chem 1998; 44:1833-1841.
22. Ueland PM, *et al.* **Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications.** Clin Chem 1993;39:1764-1779.
23. Boers GH, *et al.* **Unique efficiency of methionine metabolism in premenopausal woman may protect against vascular disease in the reproductive years.** J Clin Invest 1983; 72:1971-1976.
24. Wouters MGAJ, Moorrees M, van der Mooren MJ. **Plasma homocysteine and menopausal status.** Eur J Clin Invest 1995; 25:801-805.
25. Bostom AG, Lathrop L. **Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: prevalence, etiology, and potencial relationship to arterioesclerotic autcomes.** Kidney Int 1997; 52:10-20.



26. Jacques PF, *et al.* **Serum homocysteine concentrations in adolescent and adult Americans: results from the third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III).** *Am J Clin Nutr* 1994.
27. Ubbink JB, Vermaak WJH, van der Merwe A, Becker PJ. **Vitamin B<sub>12</sub>, vitamin B<sub>6</sub>, and folate nutritional status in men with hiperhomocysteinemia.** *Am J Clin Nutr* 1996; 57:47-53.
28. Goyette P, Frosst P, Rosenblatt DS, Rozen R. **Seven novel mutations in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype-phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase deficiency.** *Am J Hum Genet* 1995; 56:1052-1059.
29. Kang SS, *et al.* **Thermolabile methyltetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease.** *Am J Hum Genet* 1991; 48:536-545.
30. Kang SS, *et al.* **Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease.** *Metabolism* 1988; 37:611-613.
31. Kang SS, *et al.* **Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase.** *Am J Hum Genet* 1988; 43:414-421.
32. De Franchis R, *et al.* **Elevated total plasma homocysteine and 677C-T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene in thrombotic vascular disease.** *Am J Hum Genet* 1996; 59:262-264.
33. Li YN, *et al.* **Cloning, mapping, and RNA analysis of the human methionine synthase gene.** *Hum Mol Genet* 1996; 5:1851-1858.

34. Leclerc D, *et al.* **Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the *cb/G* complementation group of folate/cobalamin disorders.** Hum Mol Genet 1996; 5:1867-1874.
35. Chen LH, *et al.* **Human methionine synthase-cDNA cloning, gene localization and expression.** J Biol Chem 1997; 272:3628-3634.
36. Kraus JP, *et al.* **Human cystathionine  $\beta$ -synthase cDNA: sequence, alternative splicing and expression in cultured cells.** Hum Mol Genet 1993; 2:1633-1638.
37. Kozich V, Kraus JP. **Screening for mutations by expressing patient cDNA segments in *E. coli*. homocystinuria due to cystathionine  $\beta$ -synthase deficiency.** Hum Mutat 1992:113-123.
38. De Franchis R, Kozich V, McInnes RR, Kraus JP. **Identical genotypes in siblings with different homocystinuric phenotypes: identification of three mutations in cystathionine  $\beta$ -synthase using an improved bacterial expression system.** Hum Mol Genet 1994; 3:1103-1108.
39. Kruger WD, Cox DR. **A yeast assay for functional detection of mutations in the human cystathionine b-synthase gene.** Hum Mol Genet 1995; 4:1155-1161.
40. Gilfix BM, Blank DW, Rosenblatt DS. **Novel reductant for determination of total plasma homocysteine.** Clin Chem 1997; 43:687-688.
41. Jacobsen DW, Gatautis VJ, Green R. **Determination of plasma homocysteine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection.** Anal Biochem 1989; 178:208-214.



42. Smolin LA, Sneider JA. **Measurement of total plasma cysteamine using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection.** Anal Biochem 1988; 168:374-379.
43. Stabler SP, Marcell PD, Podell ER, Allen RH. **Quantitation of total homocysteine, total cysteine, and methionine in normal serum and urine using capillary gas chromatography-mass spectrometry.** Anal Biochem 1987; 162:185-196.
44. Frantzen F, Faaren AL, Alfheim I, Nordhei AK. **Enzyme conversion immunoassay for determining total homocysteine in plasma or serum.** Clin Chem 1998; 44:311-316.
45. Pernet P, Lasnier E, Vaubourdolle M. **Evaluation of the AxSYM homocystene assay and comparison with the IMx homocysteine assay.** Clin Chem 2000; 46:1440-1441.
46. Carson NAJ, Neill DW. **Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland.** Arch Dis Child 1962; 37:505-513.
47. Gerritsen T, Vaughn JG, Waisman HA. **The identification of homocystine in the urine.** Biochem Biophys Res Commun 1962; 9:493-496.
48. Ford ES, *et al.* **Homocyst(e)ine and cardiovascular disease a systemic review of the evidence with special emphasis on case-control studies and nested case-control studies.** Int J Epidemiol 2002; 31:59-70.
49. Wilcken DEL, Wilcken B. **The pathogenesis of coronary artery disease: a possible role for methionine metabolism.** J Clin Investig 1976; 57:1079-1082.



50. Kang SS, *et al.* **Protein-bound homocysteine: a possible risk factor for coronary artery disease.** J Clin Investig 1986; 77:1482-1486.
51. Israelsson B, Brattström L, Hultberg BL. **Homocysteine and myocardial infarction.** Atherosclerosis 1988; 71:227-233.
52. Mansoor MA, Svardal AM, Schneede J, Ueland PM. **Dynamic relation between reduced, oxidized, and protein-bound homocysteine and other thiol components in plasma during methionine loading in healthy men.** Clin Chem 1992; 38:1316-1321.
53. D'Angelo A, Selhub J. **Homocysteine and thrombotic disease.** Blood 1997; 90:1-11.
54. Upchurch GR, *et al.* **Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase.** J Biol Chem 1997; 272:17012-17017.
55. Tsai JC, *et al.* **Promotion of vascular smooth muscle growth by homocysteine: a link to atherosclerosis.** Proc Natl Acad Sci U S A 1994; 91:6369-6373.
56. Wu KS, *et al.* **Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans.** Circulation 1997; 96:2542-2544.
57. Sasaki T, *et al.* **Association of plasma homocysteine concentration with atherosclerotic carotic plaques and lacunar infarction.** Stroke 2002; 33:1493-1496.
58. Harker LA, *et al.* **Homocystinuria:vascular injury and arterial thrombosis.** N Engl J Med 1974; 291:537-543.

59. Cooper BA, Rosenblatt DS. **Inherited defects of vitamin B<sub>12</sub> metabolism.** *Annu Rev Nutr* 1987; 7:291-320.
60. Brattström L, Israelsson B, Jeppsson JO, Hultberg BL. **Folic acid—an innocuous means to reduce plasma homocysteine.** *Scand J Clin Lab Investig* 1988; 48:215-221.
61. Rydlewicz A, *et al.* **The effect of folic acid supplementation on plasma homocysteine in an elderly population.** *QJ Med* 2002; 95:27-35.
62. Malinow MR, *et al.* **"Homocyst(e)ine, Diet, and Cardiovascular Diseases", A Statement for Healthcare Professionals From the Nutrition Committee, American Heart Association.** 1999. 5 de octubre del 2002. <http://www.americanheart.org>.
63. Food and Drug Administration. **Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. Final rule.** *Fed Regist* 1996; 61:8781-8807.
64. Heart Information Network. **"The homocysteine saga: B6, B12, and folate", Heart Information Network.** 1998. 5 octubre del 2002 <http://www.heartinfo.org>.

## X. ANEXOS

### Anexo 1 Carta de Consentimiento

#### CARTA DE CONSENTIMIENTO

**PROYECTO:** *“Determinación de los niveles de homocisteína plasmática como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares en pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón”*

**IDENTIFICACIÓN:** Este estudio será realizado por la estudiante de la carrera de Química Biológica Br. Ana Carolina García González. Usted está siendo invitado a participar como voluntario dentro del estudio antes mencionado.

**PROCEDIMIENTO:** Durante el estudio será encuestado acerca de datos personales y de su salud, los cuales serán de carácter confidencial, además se le extraerán 5 ml de sangre para practicarle las pruebas necesarias para el estudio.

**RIESGO:** No existe riesgo necesario específico relacionado con su participación en el estudio.

**BENEFICIO:** Si usted participa en este estudio, recibirá información de los datos obtenidos.

**CONFIDENCIALIDAD:** Su participación será mantenida en la confidencialidad de acuerdo a la práctica médica estándar. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio. La información del estudio será codificada y guardada en archivos. Solo el personal autorizado tendrá acceso a los archivos, cuando sea necesario.

**CONSIDERACIONES FINANCIERAS:** Su participación en este estudio no implicará ningún gasto para usted. No se le dará compensación económica directa por participar en el estudio.

**PREGUNTAS:** Si tiene alguna pregunta acerca del estudio, puede contactarse con Ana Carolina García al Tel. 368-3108.

**PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:** Su participación en este estudio es voluntaria. Puede decidir no ser parte del mismo o salirse en cualquier momento.

#### CONSENTIMIENTO

1. Yo reconozco que mi participación en el estudio es voluntaria.
2. Doy permiso a los investigadores para usar la información recolectada en la encuesta, así como de extraerme la muestra de sangre.

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ Firma del paciente: \_\_\_\_\_

Firma del investigador: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_



## Anexo 2 Encuesta

No. de Muestra: \_\_\_\_\_

No. de Expediente: \_\_\_\_\_

**ENCUESTA**

PROYECTO: "Determinación de los niveles de homocisteína plasmática como factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares en pacientes con hipertensión arterial que asisten a La Liga Guatemalteca del Corazón"

**DATOS PERSONALES**

1. Nombre: \_\_\_\_\_
2. Edad: \_\_\_\_\_ 3. Peso: \_\_\_\_\_ 4. Talla: \_\_\_\_\_
6. Sexo: F

**DATOS FACTORES QUE AFECTAN**

1. Ingiere más de 5 onzas de alcohol diariamente Si  No
2. Fuma más de 5 cigarrillos al día Si  No
3. Es diabético Si  No
4. Ha padecido de enfermedad renal Si  No
5. Ha tenido problemas con la tiroides Si  No
6. Padece de presión alta Si  No
7. Tratamiento actual para la hipertensión:

**DATOS ADICIONALES DE LABORATORIO**

Homocisteína:

Otros:

## ANEXO 3 Niveles de Hcy en los 45 pacientes hipertensos (datos estadísticos)

No.	Sexo	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
1	F	60	146	1,53	27,40
2	F	31	165	1,59	23,17
3	M	43	162	1,63	17,49
4	F	34	158	1,64	17,31
5	F	32	132	1,48	13,52
6	F	56	116	1,56	9,07
7	F	57	129	1,60	8,11
8	F	31	102	1,56	5,91
9	F	43	135	1,63	11,89
10	F	41	146	1,57	11,29
11	F	58	168	1,59	10,44
12	F	47	153	1,50	15,54
13	F	48	125	1,46	6,74
14	F	40	131	1,60	31,10
15	M	45	175	1,70	32,47
16	M	32	166	1,74	12,53
17	M	56	192	1,71	10,77
18	F	57	112	1,52	15,70
19	F	40	143	1,59	14,02
20	M	53	130	1,58	24,58
21	F	58	115	1,57	16,90
22	M	53	167	1,65	15,39
23	M	43	178	1,72	25,20
24	F	53	172	1,66	16,36
25	F	54	131	1,61	19,61
26	M	60	176	1,66	19,12
27	F	43	165	1,62	23,15
28	F	57	174	1,63	20,31
29	F	54	121	1,57	10,80
30	M	59	185	1,73	8,46
31	M	53	181	1,78	16,83
32	F	60	162	1,52	9,31
33	F	57	158	1,60	11,33
34	F	44	155	1,56	8,32
35	F	47	160	1,49	15,90
36	M	45	170	1,68	16,93
37	F	53	172	1,60	8,24
38	M	43	180	1,70	11,12
39	F	53	165	1,60	15,22
40	M	36	186	1,80	12,93
41	F	44	169	1,64	17,77
42	F	55	141	1,55	13,57
43	F	53	147	1,62	11,07
44	F	48	156	1,58	11,65
45	F	52	142	1,64	18,54

Fuente: Datos experimentales 45/45

#### Anexo 4 Datos estadísticos en los 45 pacientes

Formula Estadística	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
Media	48,47	153,64	1,61	15,40
Mediana	52	158	1,6	15,22
Moda	53	165	1,6	No aplica
Desviación estándar	8,65	22,37	0,08	6,22
Varianza	74,8	500,23	0,01	38,68
Valor máximo	60	192	1,8	32,47
Valor mínimo	31	102	1,46	5,91
Intervalo de confianza	0,92	2,25	0,01	0,63

Fuente: Datos experimentales 45/45



## Anexo 5 Datos estadísticos en mujeres

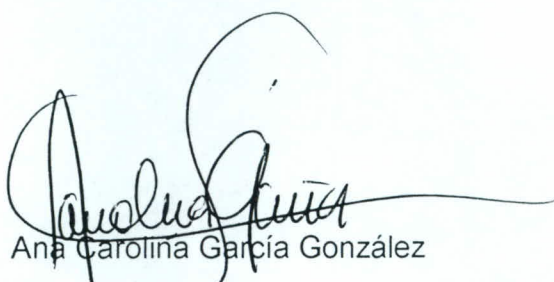
Fomula Estadística	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
Media	48,75	145,81	1,58	14,66
Mediana	52,50	146,50	1,59	13,80
Moda	57,00	165,00	1,60	No aplica
Desviación estándar	8,77	19,94	0,05	5,92
Varianza	76,97	397,64	0,00	35,10
Valor máximo	60,00	174,00	1,66	31,10
Valor mínimo	31,00	102,00	1,46	5,91
Intervalo de confianza	1,33	2,80	0,01	0,83

Fuente: Datos experimentales 32/4

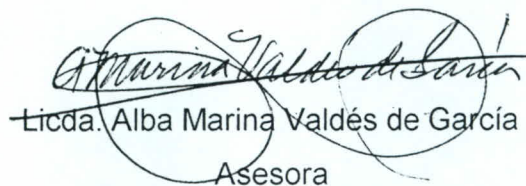
### Anexo 6 Datos estadísticos en hombres

Formula Estadística	Edad (años)	Peso (libras)	Talla (metros)	Homocisteína (umol/L)
Media	47,77	172,92	1,70	17,22
Mediana	45	176	1,70	16,83
Moda	43	No aplica	1,70	No aplica
Desviación estándar	8,64	15,52	0,06	6,79
Varianza	74,69	240,74	0,004	46,14
Valor máximo	60	192	1,8	32,47
Valor mínimo	32	130	1,58	8,46
Intervalo de confianza	1,61	2,90	1,77	1,27


Fuente: Datos experimentales 13/45



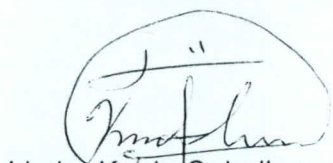
Ana Carolina García González  
Autora



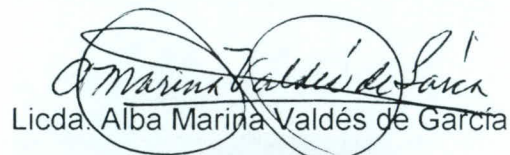
Licda. Alba Marina Valdés de García  
Asesora



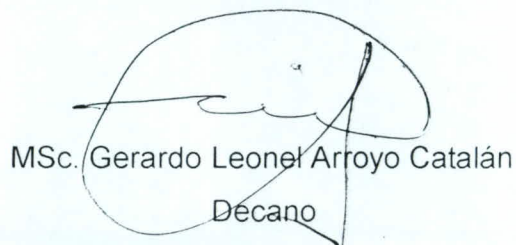
Lic. Martín Gil Carrera  
Revisor



Licda. Kenia Caballeros  
Revisor



Licda. Alba Marina Valdés de García  
Directora



MSc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán  
Decano