

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

**DETERMINACIÓN DE NIVELES DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN
PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II QUE ASISTEN A LA LIGA
GUATEMALTECA CONTRA ENFERMEDADES DEL CORAZÓN**

FABIOLA IVON QUIÑÓNEZ CARBALLO

QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, JULIO 2004

INDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Generalidades de Enfermedad Cardiovascular	5
B. Diabetes Mellitus	7
C. Homocisteína	10
D. Factores que influyen en los niveles de Homocisteína sérica	17
E. Hiperhomocisteinemia	20
F. Estudios Epidemiológicos Prospectivos	25
G. Homocisteína y enfermedad cardiovascular en diabetes mellitus tipo 2	26
H. Tratamiento	28
I. Determinación de Homocisteína Plasmática	31
IV. JUSTIFICACIÓN	33
V. OBJETIVOS	34
VI. HIPÓTESIS	35
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	36
VIII. RESULTADOS	41
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
X. CONCLUSIONES	45
XI. RECOMENDACIONES	46
XII. REFERENCIAS	47
XIII. ANEXOS	51

I. RESUMEN

La enfermedad cardiovascular es entre 2 y 6 veces más prevalente en diabéticos que en no diabéticos, y existen evidencias del papel de los niveles plasmáticos de homocisteína total como factor de riesgo para su desarrollo (19).

La homocisteína es un intermediario formado a partir del metabolismo del aminoácido esencial metionina (6), cuando no es metabolizada, o remetilada adecuadamente por fallas en la cistationina betasintetasa o por deficiencias en vitaminas B6 y B12 y serina, se acumula y sobrepasa los niveles medios, puede convertirse en un factor agresivo para el endotelio, particularmente por sus efectos directos sobre el mismo y por sus propiedades trombogénicas promoviendo así el desarrollo de aterosclerosis (41).

La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, la cual esta relacionada con la secreción de insulina especialmente en pacientes diabéticos tipo II y es potencialmente modificable con sustitución vitamínica (47).

El presente trabajo se realizó para medir los niveles de homocisteína sérica en pacientes diabéticos tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón y determinar que dichos niveles están elevados en este tipo de pacientes, aumentando así el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

El estudio incluye 45 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión (ser diabético tipo II y tener mas de 5 años de haber sido diagnosticada la enfermedad) y exclusión (fumar, ingerir alcohol, tener mas de 60 años, padecer hipertensión, enfermedades tiroideas, realizar algún tipo de dieta, antecedentes familiares de diabetes y enfermedades cardiovasculares).

Para la determinación de homocisteína se extrajo 5 ml de sangre a cada paciente, inmediatamente se centrifugo para la obtención de suero, el cual fue almacenado a -20° C para su posterior análisis.

El análisis se realizó por el método de polarización de fluorescencia (FPIA), que combina la tecnología de unión competitiva de anticuerpos a las proteínas y la polarización fluorescente para la determinación cuantitativa de los anticuerpos ligados, utilizando el analizador automático IMX de la compañía ABBOTT®.

El análisis de los datos se realizó estimando la proporción de pacientes con niveles de homocisteína por arriba del límite normal y la encuesta fue analizada por medio del programa Epi Info Versión 6.0. Se determinó que el 51.11% de los diabéticos tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón presentaron niveles por arriba de 11.4 $\mu\text{mol/L}$ (Valor normal con riesgo). El estudio demostró que los niveles de homocisteína están más elevados en hombres que en mujeres, aunque no se puede dar una conclusión definitiva debido al número reducido de pacientes de sexo masculino incluidos en el estudio.

El presente trabajo confirma que los niveles de homocisteína sérica se encuentran elevados en personas diabéticas tipo II y que poseen un factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares.

Es por lo tanto aconsejable solicitar la determinación de la homocisteína plasmática, en las exploraciones de pacientes con riesgo cardiovascular, y muy especialmente en personas diabéticas tipo II. Debido a que el uso de suplementos de ácido fólico, vitamina B6 y B12 disminuyen de manera efectiva los niveles de homocisteína en plasma, por lo que la determinación de los niveles de homocisteína sérica juega un papel importante en la prevención y manejo de la enfermedad vascular aterosclerótica.

Se recomienda continuar con investigaciones, utilizando mayor número de pacientes diabéticos tipo II, para generar información que contribuya a la implementación de programas de seguimiento y control de estos pacientes, los cuales poseen un alto riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y demostrar que el tratamiento vitamínico disminuye los niveles elevados de homocisteína.

II. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen, junto con el cáncer, uno de los principales problemas de Salud Pública, los cuales son la causa de 50 millones de muertes a nivel mundial; de estas el 80 por ciento ocurren en países en vías de desarrollo (1,2). En Guatemala, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, reportó para el año 2001, 5.15 por ciento de incidencia de infartos al miocardio, la incidencia ascendió a un 6.6 por ciento en el año 2,002 (3).

Existen nueve factores bien conocidos que están relacionados con la aparición de problemas de tipo cardiovascular, tales como el fumar, sexo masculino, los factores hereditarios, la edad avanzada, la presión sanguínea elevada, la diabetes, la obesidad (especialmente cuando hay un exceso de grasa abdominal), la falta de actividad física y los niveles de colesterol elevados (4).

Otro de los factores asociados a enfermedades cardiovasculares es la elevación sérica en la concentración de homocisteína en la sangre, la cual tiene un efecto directo sobre el endotelio, lesionándolo, produciendo como consecuencia de la lesión un aumento del consumo de plaquetas con formación de trombos y aterogénesis (5). La determinación plasmática de homocisteína total se ha convertido en un estudio de gran utilidad debido a que los valores moderadamente elevados de homocisteína circulante pueden causar enfermedad vascular periférica y aterosclerosis. Entre los factores que producen aumento de Hc están las afecciones metabólicas, hereditarias, estado nutricional y el tratamiento con ciertos fármacos (6).

La hiperhomocisteinemia, está relacionada con la secreción de insulina, especialmente en pacientes diabéticos y es potencialmente modificable con sustitución vitamínica. No se ha demostrado el mecanismo preciso para el daño vascular que origina; sin embargo, la exposición de células endoteliales, aún a concentraciones mínimas de Hc, disminuye la respuesta de vasodilatación endotelial, produciendo una cascada inflamatoria y aumenta la expresión de receptores para los productos finales de la glucosilación

enzimática. Estas reacciones pueden alterar la función de enzimas, receptores, factores de crecimiento y proteínas estructurales (7,8).

En los sujetos con diabetes mellitus tipo I la mortalidad por enfermedad coronaria asciende a 35 por ciento (mientras que tal porcentaje es de apenas 7 por ciento en los individuos no diabéticos) y de igual modo, la incidencia de infarto del miocardio, calculada a 7 años, en pacientes con diabetes tipo II, sin antecedentes previos de eventos isquémicos, es muy superior a la que corresponde a sujetos sin diabetes, de la misma edad y sexo (9).

Las enfermedades coronarias, y otras enfermedades vasculares, en pacientes con diabetes mellitus, son responsables del 80 por ciento de la muerte de los diabéticos.

En este estudio se evaluó la concentración de homocisteína plasmática como predictor de enfermedad coronaria en pacientes diabéticos tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón, que cumplieron con los criterios de inclusión (ser diabético tipo II y tener mas de 5 años de haber sido detectada la enfermedad) y exclusión (fumar, ingerir alcohol, tener mas de 60 años, padecer hipertensión, enfermedades tiroideas, realizar algún tipo de dieta, antecedentes familiares de diabetes y enfermedades cardiovasculares), verificándose por medio de una encuesta. El análisis sé realizó por el método de polarización de fluorescencia (FPIA), utilizando el analizador automático IMX de la compañía ABBOTT®.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades de Enfermedad Cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares constituyen, junto con el cáncer, el principal problema de Salud Pública de los países industrializados en los cuales sigue constituyendo la principal causa de muerte. El abandono del consumo de tabaco, la reducción de las cifras de colesterol plasmático y de tensión arterial junto con la actividad física, siguen siendo las principales estrategias preventivas frente a las enfermedades cardiovasculares. Sin embargo a estos factores se han ido añadiendo en los últimos años factores adicionales, algunos de ellos nutricionales que podrían jugar un importante papel en la etiopatogenia de la lesión aterosclerosa (1).

El colesterol total ha sido considerado como un factor de riesgo de la enfermedad coronaria (EC) desde que en los años 30, se demostrara la relación entre el colesterol dietético, el colesterol plasmático y las lesiones arteriales ateromatosas. La relación entre dieta y la enfermedad coronaria se había centrado en la discusión de las relaciones entre las grasas saturadas y el colesterol con la EC. Estas relaciones constituyen solamente una pequeña parte de todos los aspectos de la dieta relacionados con la EC que ya muchos investigadores sospechaban al no explicar en su totalidad las primeras, las diferencias observadas en las tasas de EC entre distintos países o en un mismo país (1,6).

Se a sugerido que la oxidación y elevación de la LDL podría ser una de las causas del proceso de arterioesclerosis; el aumento de los radicales libres, el hábito de fumar, la hipertensión arterial, alteraciones genéticas, elevación de la homocisteína, podrían ser otras (4,10).

La disfunción endotelial da lugar a respuestas compensatorias como el aumento en la adhesión de los leucocitos y plaquetas al endotelio, aumento de las actividades pro coagulantes y anticoagulantes, la formación de moléculas vasoactivas como las citoquinas y los factores de crecimiento (10).

La adhesión de los leucocitos monocelulares al endotelio representa la lesión más temprana de la aterosclerosis. Observaciones en pacientes diabéticos han demostrado que los monocitos de pacientes diabéticos se ligan más ávidamente a las células endoteliales (10).

Las enfermedades cardiovasculares además de su elevada frecuencia, son responsables de una alta mortalidad y morbilidad, condicionando en muchos de los supervivientes secuelas invalidantes de por vida. Por ello, uno de los aspectos esenciales en el abordaje de la patología vascular y objetivo sanitario de máxima importancia se basa en la prevención, lo que exige la identificación y control de los factores de riesgo (11).

Los factores de riesgo se han clasificado como modificables, potencialmente modificables y no modificables. Es importante detectar pacientes con factores no modificables ya que, aunque éstos no se puedan tratar, identifica sujetos de alto riesgo en los que la coexistencia de factores modificables exige su control enérgico, y son candidatos a otras terapéuticas preventivas (12).

Existen una serie de factores, nueve, bien conocidos que están relacionados con la aparición de problemas de tipo cardiovascular. Tales como el fumar, el ser varón, los factores hereditarios, la edad avanzada, la presión sanguínea elevada, la diabetes, la obesidad (especialmente cuando hay un exceso de grasa abdominal), la falta de actividad física, los niveles de colesterol elevados. Los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular se muestran a continuación en el cuadro 1 (4).

Cuadro 1 Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (4).

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR		
No Modificables	Modificables	Menores Modificables
Edad	Niveles plasmáticos de Colesterol (Dislipidemias)	Obesidad
Género masculino	Tabaquismo	Dieta
Predisposición genética	Presión arterial	Alcoholismo
Raza / etnia	Niveles Plasmáticos de Fibrinógeno	Actividad física

Localización geográfica	Factores psicosociales y estrés	Hiperuricemia
	Diabetes Mellitus tipo II	Ingesta de Estrógenos
	Niveles Plasmáticos de Homocisteína	Viscosidad sanguínea
		Hipertrofia ventricular izquierda

B. Diabetes Mellitus

1. Definición

El origen del nombre diabetes mellitus viene de un vocablo griego y etimológicamente significa dulzura o miel (mellitus) que pasa a través (diabetes). La pueden padecer 5 o 6 de cada 100 personas de la población. A menudo una diabetes benigna no causa ningún síntoma externo durante años (13).

2. Tipos de Diabetes mellitus

Los dos tipos principales de diabetes mellitus son el tipo I (anteriormente llamado diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) o diabetes de inicio juvenil) y la tipo II (llamada anteriormente diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) o diabetes de inicio maduro) (14).

3. Fisiopatología

Tanto en la diabetes tipo I como en la diabetes tipo II, existe un hallazgo común: las concentraciones elevadas de glucosa en sangre debidas a una insuficiencia absoluta o relativa de insulina, una hormona producida por el páncreas. La diabetes es una enfermedad de por vida y todavía no se le ha encontrado cura. Su causa es un problema producido por la forma en que el cuerpo produce o utiliza la insulina, que es una sustancia necesaria para que la glucosa se desplace desde la sangre hasta el interior de las células. El mecanismo asociado a este desorden endocrino es la producción de anticuerpos contra la hormona y anticuerpos contra receptores de la hormona. Si la glucosa no se introduce en las células, el cuerpo no puede utilizarla para producir energía. El exceso de glucosa permanece en la

sangre y luego la desechan los riñones, con lo que se presentan síntomas como la sed excesiva, la micción frecuente, el hambre, la fatiga y la pérdida de peso (14).

4. Diabetes Mellitus tipo II ó no insulino dependiente (DMNID)

Es una enfermedad crónica que aparece cuando el cuerpo crea resistencia a la insulina, una hormona que el páncreas libera como respuesta a los altos niveles de glucosa en la sangre (14).

a. Fisiopatología

Uno de los principales componentes de la diabetes tipo II es la resistencia a la insulina, a nivel de la grasa y las células musculares. Esto quiere decir que la insulina que el páncreas produce no hace contacto con las células para permitir que la glucosa entre y produzca energía, lo cual causa hiperglicemia (glucosa sanguínea alta). Para compensar, el páncreas produce más insulina. Las células sienten este torrente de insulina y se vuelven más resistentes, por lo que los niveles de glucosa suben y la mayoría de las veces también los niveles de insulina (15).

b. Factores de Riesgo

Los factores de riesgo en la diabetes tipo II son: la obesidad, el estrés fisiológico o emocional, el embarazo, ser mayor de 40 años, la historia familiar y predisposición genética (16).

Factores modificables como el tabaquismo, el alcoholismo la actividad física y la dieta han ido adquiriendo una mayor importancia. El interés se ha centrado particularmente en aquellos alimentos que incrementan la resistencia y la demanda insulínica (16).

c. Incidencia

La diabetes mellitus afecta a 5 o el 10 por ciento de la población en Guatemala, y el resto del mundo. La diabetes mellitus no insulino dependiente representa el 90 por ciento de

todos los casos de diabetes mellitus. La incidencia se incrementa entre los indígenas norteamericanos, las personas de raza negra y los hispanos (15-18).

El paciente diabético se considera de alto riesgo de enfermedad cardiovascular. El riesgo se eleva independientemente de su asociación con otros factores de riesgo como hipertensión, obesidad y dislipidemia, pero con mucha frecuencia coexiste con estos y otros factores de riesgo. Las mujeres premenopáusicas con diabetes tienen la misma incidencia de enfermedad coronaria que los hombres del mismo grupo de edad (19).

El paciente diabético se considera de alto riesgo para enfermedad coronaria y cuando la desarrolla, su pronóstico es pobre (19).

Los pacientes con diabetes tipo II no insulino-dependiente tienen un mayor riesgo de enfermedad de riesgo cardiovascular que los diabéticos insulino-dependientes (20).

El riesgo relativo para sufrir enfermedad cardiovascular es de 1,8 para los varones diabéticos y de 3 para las mujeres, siendo máximo en la quinta y sexta décadas de la vida (20).

El aumento progresivo de la diabetes origina graves consecuencias para nuestra población y una pesada carga para la estructura sanitaria nacional. Esta enfermedad afecta a muchas personas a nivel mundial, los cuales están expuestos a todas las complicaciones agudas y crónicas que representan causas importantes de invalidez y mortalidad (21).

Se calcula que en Guatemala existe más de un millón de diabéticos, de los cuales más de la mitad no han sido diagnosticados; el 5 por ciento de la población tiene tendencia a desarrollar diabetes, lo cual quiere decir que de cada 20 personas 1 podría ser diabética (21).

Constantemente el médico le insiste al paciente diabético en el efectivo control de su enfermedad, lo cual logra a través del cumplimiento de las medidas dietéticas, el tratamiento estricto bien sea con insulina o hipoglicemiantes orales, y el ejercicio para un control integral de su enfermedad, existiendo en varias regiones del país centros de educación para este tipo de pacientes (21).

d. Diagnóstico

El diagnóstico de Diabetes Mellitus se realiza mediante mediciones del nivel de glucosa en sangre y orina. La glucosa en la orina se llama glucosuria. Una elevada concentración de glucosa en sangre se llama hiperglucemia (20).

El análisis de las sustancias de la orina llamadas cuerpos cetónicos puede ayudar a distinguir entre Diabetes mellitus tipo I (DMID) y Diabetes mellitus tipo II (DMNID). En la Diabetes Mellitus tipo II los cuerpos cetónicos solo se encuentran cantidades pequeñas de cuerpos cetónicos ocasionalmente (20).

La patente diagnóstica es un trípede metabólico: resistencia a la insulina, disminución funcional de las células beta y aumento de la producción hepática de glucosa (21).

La DMNID puede desarrollarse gradualmente a través de un periodo de años. Frecuentemente es descubierta por un análisis rutinario de orina o sangre. De aquí la importancia de realizar un análisis del nivel de glucosa en sangre para saber si esta enfermedad está presente o no. Para notar la clásica triada de síntomas de: aumento de sed, aumento de volumen de orina y pérdida de peso es necesaria una cantidad muy alta de glucosa en orina y sangre, y puede pasar mucho tiempo (20).

C. Homocisteína

1. Generalidades

Es un aminoácido producido por nuestro propio cuerpo, se conoce como "aminoácido no esencial", es un aminoácido producido en el metabolismo normal de la metionina y es un importante intermediario metabólico de los dos aminoácidos azufrados principales (22,23).

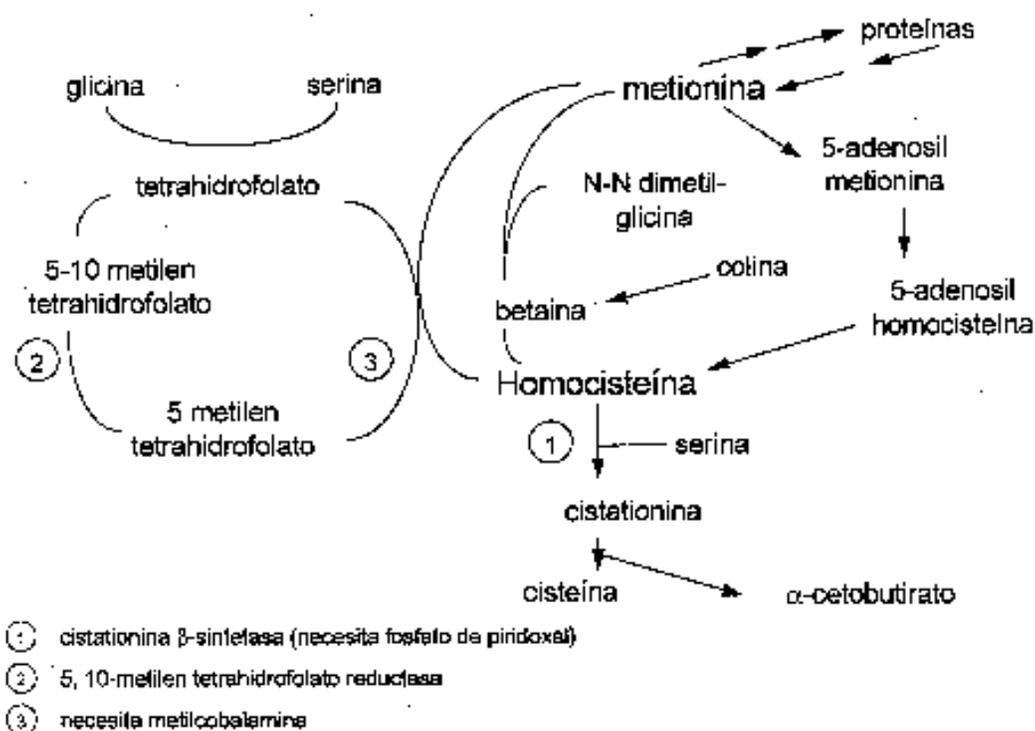
La homocisteína, posee una estructura química análoga a la del aminoácido cisteína, con la diferencia de que posee un átomo de carbono más, pero tiene la particularidad de no ser proteico, es decir, no suele formar parte de las proteínas (5).

2. Metabolismo de la Homocisteína

La homocisteína plasmática se encuentra mayoritariamente unida a proteínas plasmáticas (80 por ciento aprox.), y en menor grado formando dímeros con ella misma y con la cisteína (10 por ciento aprox. en cada dímero), o bien libre en forma reducida (1-2 por ciento) (5).

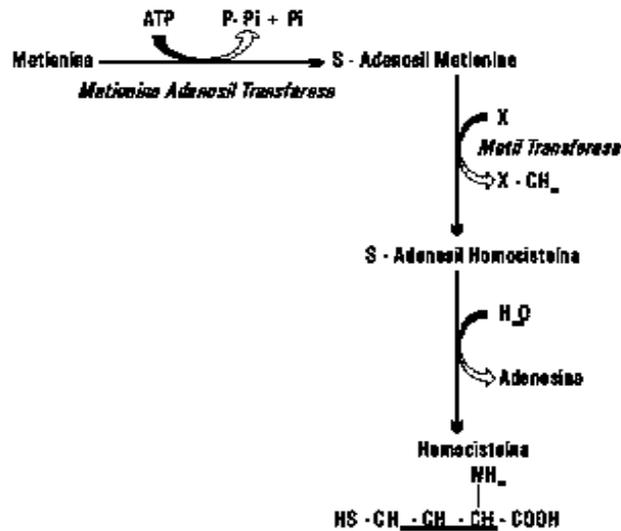
Estructuralmente, se asemeja a la Metionina y a la Cisteína; ya que los tres aminoácidos contienen azufre (17). Por lo cual están relacionados metabólicamente entre sí, ver figura 1 (6).

Figura 1. Metabolismo de metionina, homocisteína y cisteína



Como los alimentos contienen pequeña o nula cantidad de Homocisteína libre, casi toda la presente en el cuerpo se deriva de Metionina de proteínas animales y de plantas (6). La metionina, luego de ser activada, cede su grupo metilo en una reacción catalizada por una metiltransferasa, y da lugar a la S-adenosilhomocisteína, la cual se desembaraza por hidrólisis de la adenosina, y se obtiene homocisteína libre ver figura 2 (8).

Figura 2 Formación de homocisteína a partir de metionina (8).



La homocisteína es metabolizada fundamentalmente a través de 2 posibles vías: la remetilación y la transulfuración (8,24).

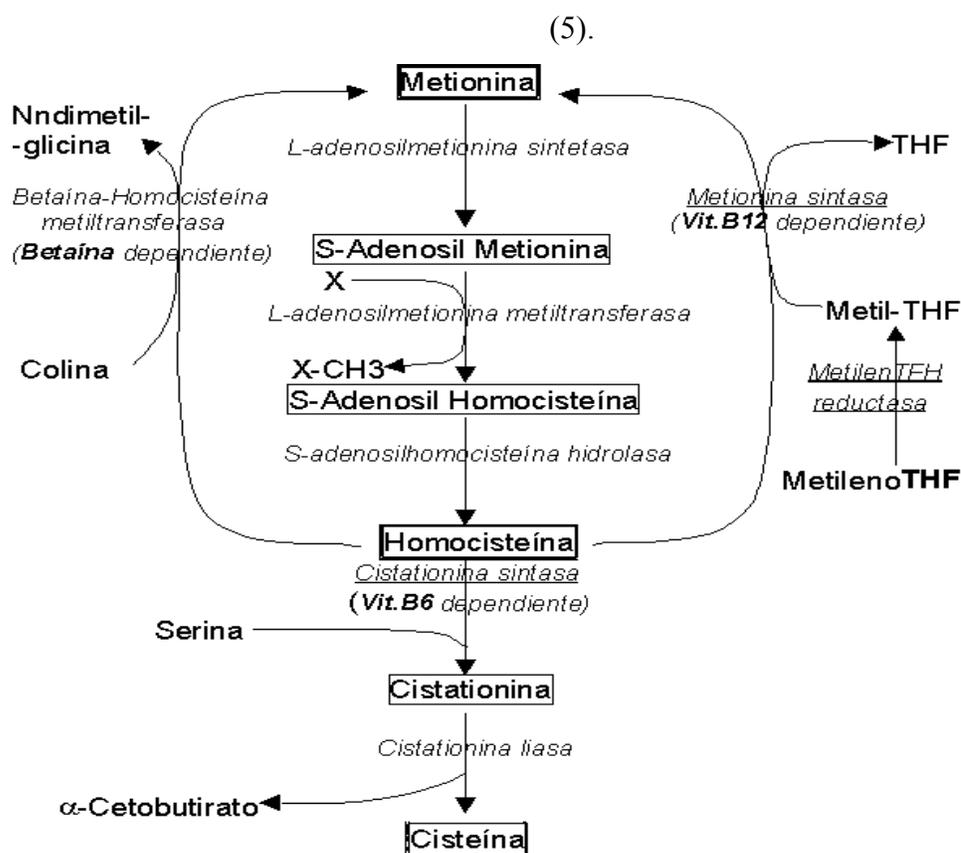
a. En la ruta de la transulfuración, la homocisteína se transforma a cisteína mediante dos reacciones dependientes de la vitamina B6. La primera de estas reacciones es catalizada por la cistationina beta-sintetasa y en ella, la homocisteína se condensa con una molécula de serina para formar cistationina. En condiciones fisiológicas esta reacción es irreversible. En la segunda reacción, la cistationina gamma-liasa cataliza la formación de cisteína y alfa-oxobutirato a partir de la cistationina. La vía de transulfuración representa la alternativa en el caso de que la metionina esté en relativo exceso en el organismo y no se requiera su recuperación, y permite la síntesis del aminoácido cisteína ver figura 3 (8,24).

b. En la ruta de la remetilación se permite la recuperación de metionina. Se trata de una reacción catalizada por la homocisteína metiltransferasa (también denominada metionina sintetasa) y representa un punto metabólico con peculiaridades que le confieren singular importancia:

- Posee características de ciclo metabólico con la participación de varios cofactores y enzimas.

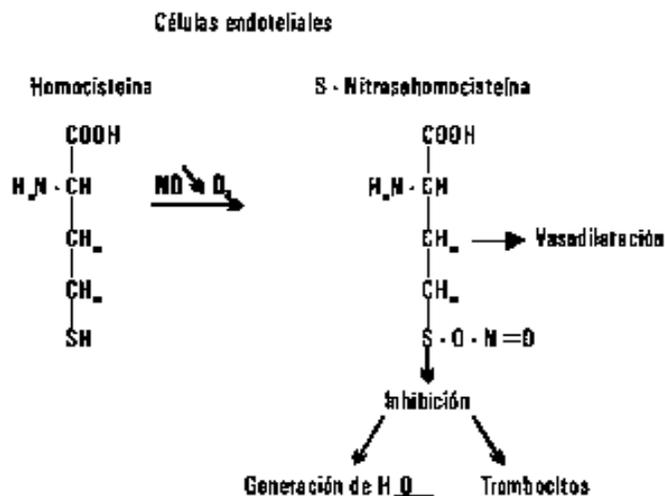
- Se produce una interesante interrelación entre cofactores derivados de vitaminas del complejo B, la vitamina B₁₂, que en forma de metilcobalamina es el donante directo del grupo metilo a la homocisteína; la folacina, que en forma de N⁵-metiltetrahidrofolato sirve de fuente del grupo metilo para la formación de la metilcobalamina; y la vitamina B₆, en la forma de fosfato de piridoxal (PLP), como cofactor en el proceso de regeneración del N⁵-metiltetrahidrofolato, ver figura 3 (8,25).

Figura 3. Metabolismo de homocisteína



Aparte de estos destinos metabólicos descritos, resulta de interés una vía específica en células endoteliales que implica al óxido nítrico. Este interesante mensajero químico en presencia de oxígeno reacciona con el grupo sulfhidrilo de la homocisteína y forma la S-nitroso homocisteína, y así se bloquean las posibles reacciones de ese grupo (Figura 4)(24).

Figura 4 Reacción del óxido nítrico (NO) en presencia de oxígeno (24).



El grupo tiol le confiere a este metabolito la posibilidad de múltiples interacciones y por tanto diversos destinos. Por oxidación 2 moléculas de homocisteína se condensan mediante la formación de un puente disulfuro, y se obtiene así la homocisteína (6).

La formación de puentes disulfuro puede ocurrir con otros metabolitos que posean grupo tiol, esto pasa fundamentalmente con la cisteína, y se obtienen disulfuros mixtos de homocisteína con cisteína libre o con restos de cisteína de péptidos y proteínas. A esta última variante se le conoce como *homocisteína ligada a proteína*, la forma predominante de la homocisteína circulante (8,24).

3. Mecanismo de regulación de la Homocisteína

La concentración plasmática de metionina determina la ruta de transulfuración o transmetilación que debe seguir la homocisteína. Cuando la metionina se encuentra aumentada se ponen en marcha dos mecanismos de adaptación que estimulan la transulfuración. Uno, de acción inmediata, que aumenta el flujo de la transulfuración, la concentración de la S-adenosilmetionina, y disminuye la tasa de remetilación. El aumento de la S-adenosilmetionina a su vez, regula la transulfuración y la transmetilación de la homocisteína. Cuando aumenta su concentración tisular, se activa la cistationina beta-sintetasa y aumenta el flujo de la transulfuración. Paralelamente, se inhibe la enzima

metileno tetrahidrofolato reductasa y disminuye la tasa de remetilación hepática de la homocisteína. Por tanto, a corto plazo, aumenta la síntesis de cistationina y disminuye la formación de 5-metiltetrahidrofolato. A largo plazo, disminuye la síntesis de las enzimas que participan en la remetilación y se incrementa la de cistationina beta-sintetasa. Cuando disminuye la concentración de metionina en la sangre, la concentración de los metabolitos y la actividad de las enzimas cambia en dirección opuesta. Este mecanismo de regulación asegura una conservación eficiente de metionina a través de la remetilación (24,25).

La síntesis endógena de metionina y de S-adenosilmetionina está regulada por las necesidades metabólicas de las células, y paralelamente permite mantener las concentraciones de homocisteína en un intervalo no tóxico (24).

Se utilizan los términos *homocisteína plasmática* y *homocisteinemia*, el cual se entiende por tal al conjunto o concentración en plasma de homocisteína libre, homocisteína, disulfuros mixtos con cisteína, homocisteína ligada a proteína y tiolactona de homocisteína. Coincidimos con *Jacobsen* en que esta forma de designar a las múltiples variantes de la homocisteína circulante es arcaica e incorrecta desde el punto de vista gramatical e incluso práctico, por tanto lo correcto sería utilizar el término *homocisteína total plasmática* u *homocisteinemia* (25). Cuando se habla de homocisteína plasmática total se refiere a las tres formas (26).

Las concentraciones de homocisteína "total" en ayunas, según diferentes autores de distintos países, que se consideran de referencia oscilan entre 5 y 16 $\mu\text{mol/l}$ (27).

Se ha establecido una correlación entre la homocisteína total y la edad, y que los niveles plasmáticos aumentan en poblaciones de mayor edad con y sin enfermedad cardiovascular (28).

Aunque aún no puede hablarse de valores de referencia estandarizados sí hay consenso en aceptar, según los estudios realizados en países altamente desarrollados, una media para adultos de concentración plasmática de homocisteína total en ayunas de casi 10

$\mu\text{mol/L}$, con un rango de 5 a 15 $\mu\text{mol/L}$. Los valores tienden a ser mayores en el sexo masculino y se elevan con la edad en ambos sexos (Cuadro 2)(29).

Cuadro 2. Niveles Plasmáticos de Homocisteína total (29).

NORMAL	Promedio = 10 μM - Rango entre 3.5 y 16 μM . Hombres > Mujeres Pre-menopáusicas. Mujeres Post-menopáusicas = Hombres. Aumenta con la edad.
---------------	---

No obstante, *Jacobsen* plantea que se hablaría de "valores deseables" que serían menores que 10 $\mu\text{mol/L}$ (30).

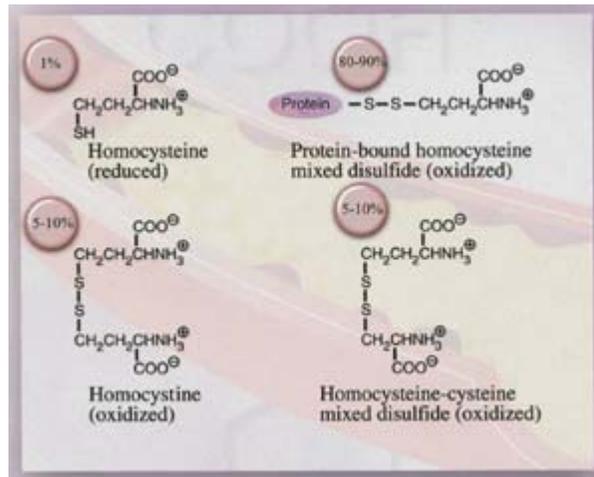
En la mayoría de los estudios clínicos relacionados con este metabolito se determina la concentración plasmática de homocisteína total, o sea, del referido *pool*, del cual casi 70 a 90 por ciento corresponde a la ligada a proteína, de 5 a 10 por ciento a la homocistina, de 5 a 10 por ciento a homocisteína-cisteína, y sólo alrededor de 1 por ciento a la homocisteína reducida libre. La no ligada a proteína es filtrada en los glomérulos renales, la mayor parte es reabsorbida en los túbulos renales, por lo que sólo muy pequeñas cantidades se excretan por la orina (8).

La homocisteína en la circulación general y en los tejidos, por su grupo tiol tiende a formar puentes disulfuro, tanto entre sus moléculas como con las de otros compuestos de grupo -SH. De modo que puede considerarse a la homocisteína y los disulfuros que ella forma como pares redox: forma reducida-homocisteína, formas oxidadas-disulfuros (homocistina, homocisteína-cisteína) (31,32).

Cuando la homocisteína se transporta fuera de las células en circulación, reacciona con otros compuestos que contienen grupos sulfhidrilo (-SH) ó disulfuro (-S-S -). Como resultado de estas reacciones casi toda la homocisteína en circulación se convierte a una forma disulfuro (oxidada). Menos del 1 por ciento de la homocisteína plasmática total se encuentra en su forma -SH libre. Las formas disulfuro incluyen al dímero simétrico de homocisteína y disulfuros mezclados con cisteína y proteínas plasmáticas conteniendo

cisteína. De hecho, más del 70 por ciento de la homocisteína circulante es acarreada por proteínas plasmáticas como mezcla de disulfuros, como se observa en la figura 5 (6).

Figura 5. Formas circulantes de Homocisteína que constituyen el total en plasma. (6).



D. Factores que influyen en la concentración de la homocisteína sérica

1. Genéticos

a. Cistationina sintetasa (CBS)

i. Homocigotos:

- elevados niveles plasmáticos de homocisteína (x50-100 los niveles normales) y elevados niveles urinarios (x20-100 los niveles normales).
- en 1/333000 de nacimientos (pero con importantes variedades poblacionales).
- anomalías esqueléticas y oculares (luxación de cristalino): falta de Cys
- fenómenos tromboembólicos y ateroscleróticos, se presenta retardo mental de leve a moderado.

ii. Heterocigotos

- elevación plasmática de homocisteína, de moderada a moderadamente elevada, la actividad residual depende de la heterogenicidad de la afección genética (<50%) y condiciona la respuesta a la vitamina B₆.
- b. Metionina sintasa
- a. Elevación moderada de niveles plasmáticos de homocisteína, son menos severas y más controlables.
- c. Metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR)
- i.* Homocigotos:
- homocisteinemia elevada, pero no tanto como en homocigotos de CBS.
 - alteraciones neurológicas más tempranas que en homocigotos de CBS.
 - mortalidad por trombosis similar a la de homocigotos de CBS, 10 veces menos frecuente que en homocigotos de CBS, responde mal al tratamiento y es necesario asociar vitaminas.
- ii.* Heterocigotos:
- elevación moderada de niveles plasmáticos de Hc, menos severas y más controlables.
- d. Variante termolábil a 46 ° C
- i.* variante menos activa, identificable por su termoinactivación a 46°C, afecta al 10-15 por ciento de la población. Los homocigotos poseen mas o menos el 50 por ciento de actividad normal, genera hiperhomocisteinemias moderadas, ó no buena respuesta al tratamiento con ácido fólico (33,34).

2. Adquiridas

a. Nutricionales

La deficiencia de folato induce homocisteinemia en el 98 por ciento de los casos. La deficiencia de la Vitamina B12. Induce homocisteinemia en el 98.4 por ciento de los casos, la cual es significativamente mayor que la encontrada en los heterocigotos por deficiencia de cistationina beta-sintetasa. Deficiencia de la Vitamina B6, afecta significativamente la velocidad de las reacciones que transforman la Homocisteína en cisteína al disminuir la cantidad de las enzimas cistationina beta-sintetasa y cistationina gamma –liasa e induce un aumento de las concentraciones de homocisteína en sangre tras una sobrecarga oral de metionina en humanos y ratas (33).

b. Demográficos

La concentración de homocisteína parece elevarse conforme la edad, 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. De ello se infiere que los niveles de homocisteína son mayores en hombres que en mujeres de la misma edad sin embargo las razones de esta diferencia aún son desconocidas (34,35).

c. Otros

En los pacientes con fallo renal crónico o recién transplantados aumenta el nivel de homocisteína plasmática, probablemente por una disminución en la excreción renal o del catabolismo de la homocisteína. Existe una correlación negativa significativa entre el aclaramiento de creatinina y las concentraciones de homocisteína en plasma ($r = 0.40$; $p < 0.01$). Probablemente, la homocisteína juegue un papel importante en la marcada susceptibilidad a desarrollar enfermedad vascular prematura de estos pacientes (36).

El Hipotiroidismo, Síndromes de mala absorción, hipertensión arterial, tabaquismo, alcoholismo, sedentarismo, interacción de drogas como: anticonvulsivos (Fenitoina, primidona) y Quimioterapias, inmunosupresores (metotrexate), antagonistas de folato: metotrexato y antagonistas de la vitamina B12 como por ejemplo el óxido nítrico empleado como anestésico oxidan el cobalto de la cobalamina, bloquea el transporte de

grupos metilos por la cobalamina, inactiva irreversiblemente la enzima 5-metiltetrahidrofolato-homocisteína S-metiltransferasa e induce homocisteína, son otros factores que influyen en la concentración de Hc plasmática (33-37).

Los niveles de la homocisteína usualmente son más bajos en los trastornos de las vías de metilación que en la deficiencia de la cistationina--b-sintetasa (38).

La hiperhomocisteinemia anormal postcarga ocurre en el 1-2 por ciento de la población general (39).

Los heterocigotos para variantes de la 5,10-metiltetrahidrofolato reductasa pueden ser o bien normohomocisteinémicos o hiperhomocisteinémicos, según el tipo de enzima defectuosa y de las mediciones de laboratorio de la prueba en ayunas o poscargas (40).

E. Hiperhomocisteinemia

La prevalencia de hiperhomocisteinemia en la población general es del 5 al 7 por ciento. Una falla de la vía de remetilación debido a hipovitaminosis conduciría a una hiperhomocisteinemia de ayuno, mientras que una falla de la vía de transulfuración sería responsable de la hiperhomocisteinemia secundaria a una carga dietética de metionina (32).

La definición de hiperhomocisteinemia se basa en puntos de corte arbitrarios (por ej. el percentil 90) en poblaciones sin déficits de vitaminas, lo que generalmente es **15 $\mu\text{mol/l}$** (34).

Kang (35), la clasifica en cinco niveles de severidad. El aumento de 5 $\mu\text{mol/l}$ de homocisteinemia por encima de su rango normal, equivale en riesgo vascular a un aumento de 20 mg/dl por encima de la colesterolemia normal tal como se observa en el cuadro 3.

Cuadro 3. Niveles de Homocisteína (35).

Normal sin riesgo	0-11.4 $\mu\text{mol/L}$
Normal con riesgo	11.4-15 $\mu\text{mol/L}$
Hiperhomocisteinemia Leve	15-30 $\mu\text{mol/L}$
Hiperhomocisteinemia Moderada	30-100 $\mu\text{mol/L}$
Hiperhomocisteinemia Severa	>100 $\mu\text{mol/L}$

Tal como otras medidas fisiológicas por ejemplo presión arterial y colesterol serico, la Homocisteína es una variable continua sin un umbral efectivo claro. Con niveles <10.3 $\mu\text{mol/L}$ como referencia da un aumento a 1.2, con niveles de homocisteína de 10.3-12.49 $\mu\text{mol/L}$, a 2.6 con niveles de 12.5-15.39 $\mu\text{mol/L}$ y aumento a 4.7 si los niveles eran 15.4 $\mu\text{mol/L}$ (26).

Se ha observado en diversos estudios caso-control, que personas con niveles moderadamente elevados de homocisteína total (< 30 $\mu\text{mol/L}$) poseen mayor prevalencia de accidentes aterotromboembólicos, con respecto a individuos con niveles normales (35).

La hiperhomocisteinemia severa conduce a la homocisteinuria (niveles de homocisteína mayores a 100 $\mu\text{mol/l}$) (35,36).

En la clínica diaria, se encuentran niveles elevados de homocisteína en el 1-2 por ciento en la población general. Una mayor prevalencia está asociada con enfermedades vasculares. Los ensayos realizados en 730 pacientes con enfermedades cardiovasculares, demostraron que la hiperhomocisteinemia estuvo presente en el 25-33 por ciento en pacientes con enfermedad arterial periférica, 20-28 por ciento en los que padecían enfermedad cerebrovascular y en el 15 en pacientes con arteriopatía coronaria (36).

Las concentraciones de homocisteína aumentan en las mujeres posmenopáusicas, en la insuficiencia renal, en la diabetes mellitus tipo II, en personas con creatinina sérica elevada. Frecuentemente se observa hiperhomocisteinemia marcada en la enfermedad renal en estadio terminal, con signos clínicos de nefropatía (36).

1. Causas de Hiperhomocisteinemia

La hiperhomocisteinemia puede producirse a partir de los siguientes mecanismos fisiopatológicos:

- a. Por una deficiencia enzimática en alguno de los pasos de su metabolismo. El más prevalente es la presencia de una variante termolábil de la 5-metiltetrahidrofolato reductasa (enzima del ciclo del folato).
- b. Por una deficiencia en una o varias de las vitaminas hidrosolubles que participan en su metabolismo: folato, B6 y/o B12.
- c. La piridoxina (vitamina B6) y la vitamina B12 también son importantes cofactores en el metabolismo de metionina, y la deficiencia de cualquiera de estas vitaminas puede conducir a la acumulación de homocisteína .
- d. Disminución del metabolismo renal y eliminación urinaria de los metabolitos de la homocisteína.
- e. Ingesta excesiva de proteína dietaria.
- f. Defectos hereditarios o adquiridos en las vías metabólicas de la homocisteína (36).

Los niveles de la homocisteína usualmente son más bajos en los trastornos de las vías de metilación que en la deficiencia de la cistationina--b-sintetasa. Los homocigotas por deficiencia de la cistanionina-b-sintetasa desarrollan enfermedad vascular prematura severa y presentan elevada incidencia de eventos tromboembólicos como accidentes cerebrovasculares, arteriopatía periférica oclusiva e infartos de miocardio en adultos jóvenes (40).

La hiperhomocisteinemia anormal postcarga ocurre en el 1-2 por ciento de la población general (40).

Los heterocigotos para variantes de la 5,10-metiltetrahidrofolato reductasa pueden ser o bien normohomocisteinémicos o hiperhomocisteinémicos, según el tipo de enzima defectuosa y de las mediciones de laboratorio de la prueba en ayunas o poscargas (40).

2. Hiperhomocisteinemia y daño cardiovascular

Aunque la relación entre aterosclerosis y altas concentraciones circulantes de homocisteína había sido postulada a mediados de los años sesenta, apenas si hasta hace poco comenzó a considerarse a dicho aminoácido, intermediario del metabolismo de la metionina, como un factor de riesgo cardiovascular significativo. Estudios epidemiológicos independientes han encontrado que cifras séricas de homocisteína por encima de 14 $\mu\text{mol/L}$ se asocian a un incremento de 2.2 en el riesgo de padecer enfermedad aterosclerótica; es más, en los pacientes con enfermedad coronaria, la mortalidad es mayor entre aquellos que tienen niveles de homocisteína iguales o mayores a 15 $\mu\text{mol/L}$ (41).

Existen numerosas evidencias que demuestran que los pacientes con enfermedades cardiovasculares aproximadamente ven duplicada su mortalidad por cada aumento anormal de 5 $\mu\text{mol/l}$ en sus niveles de homocisteína (23).

Distintos estudios "*in vivo*" e "*in vitro*", permiten postular diversos mecanismos de acción por los cuales la hiperhomocisteinemia es causante de patología aterotromboembólica :

La homocisteína tiene un efecto directo sobre las capas celulares en el interior de las arterias (disfunción endotelial). Estudios realizados "*in vitro*" sugieren que la homocisteína actúa directamente sobre el endotelio, lesionándolo, produciendo como consecuencia de la lesión un aumento del consumo de plaquetas con formación de trombos y aterogénesis. El mecanismo propuesto para la producción del daño endotelial sería el siguiente: el grupo sulfhidrilo de la homocisteína forma al oxidarse un anión superóxido y peróxido de hidrógeno, moléculas que serían las responsables del daño directo en las células. Al mismo tiempo la generación de los radicales libres incrementa la oxidación de lipoproteínas de baja densidad, y consecuentemente su captación por parte de los macrófagos de la pared vascular (42). La hiperhomocisteinemia produce lesión endotelial por estrés oxidativo, ya sea por disminución de la producción de óxido nítrico o por inhibición de los procesos de regeneración celular (5).

La homocisteína puede causar daño vascular a través de un mecanismo oxidativo. El cual se da por un aumento de especies reactivas del oxígeno que interfieren con la disponibilidad del óxido nítrico. La validez de esta hipótesis radica en que la pobre

respuesta a la acetilcolina, uno de los mensajeros que activan a la óxido nítrico sintetasa, se revierte con la vitamina C. La vitamina C es un importante antioxidante que neutraliza al radical libre anión superóxido. Este radical libre interacciona con el óxido nítrico formando peroxinitrito que es un producto tóxico (28). Altos niveles de homocisteína dificulta la dilatación de las pequeñas arterias haciéndolas por lo tanto más vulnerables a que se obstruyan por la acción de coágulos. Provoca la multiplicación de las células del músculo liso que da soporte a las arterias, patología que forma parte del proceso aterogénico (43).

La hiperhomocisteinemia podría causar arterioesclerosis y trombosis mediante la inhibición de la polimerización de la elastina y desintegración de la elástica interna, degradación del glicocálix vascular y de la membrana basal debido a una acumulación de proteoglicanosaminoglicanos; disminución de la producción de sustancias vasorrelajantes y antiagregantes del endotelio, tales como el óxido nítrico, y inhibición de la proteína C (44,45). Las células blancas sanguíneas (WBC) como monocitos y neutrófilos que normalmente fluyen a través de los vasos sanguíneos tienen contacto al azar con las células vasculares endoteliales (CVE). Cuando se dañan las CVE, las WBC se adhieren a la superficie endotelial. La homocisteína puede acelerar la progresión de enfermedad vascular estimulando producción de quimioatrayentes de monocitos y neutrófilos – MCP1 e IL8- en el endotelio vascular. La secreción se enfoca al fondo de la célula, estableciendo un gradiente de concentración para quimiotaxis. Una vez unidos, los monocitos migran entre las CVE en el espacio íntimo vascular. Aquí se transforman en macrófagos, engullen lipoproteínas de baja densidad oxidadas y se convierten en células “espuma”, mismas que son fuente de especies oxígeno reactivas que juegan un rol particular en otra secuencia de eventos, promoviendo arterioesclerosis (6).

Otros estudios sugieren que la homocisteína puede alterar la célula endotelial disminuyendo el factor de relajación (EDRF) y además disminuir la producción de DNA, promoviendo también un crecimiento de las células musculares lisas (32). Los estudios sobre el efecto de los niveles elevados de homocisteína en la función y en la sobrevivencia plaquetaria resultan controvertidos. Recientemente se han comunicado anomalías del metabolismo del ácido araquidónico con una mayor síntesis plaquetaria de tromboxano A₂, tanto *in vitro* como *in vivo*. Este incremento podría reflejar una activación plaquetaria que

contribuiría a la aparición de episodios tromboembólicos en estos pacientes. Por otra parte, la relación entre hiperhomocisteinemia y alteraciones en los niveles de los factores de la coagulación fue evaluada en pocos estudios. Algunos autores han descrito una disminución en el nivel del factor VII y de la antitrombina III en pacientes con homocistinuria. No se hallaron en estos pacientes signos clínicos ni de laboratorio de función hepática alterada que explicasen estas anormalidades. El tratamiento con piridoxina y ácido fólico normalizó los niveles de antitrombina III (25).

La hiperhomocisteinemia es una de las situaciones fisiopatológicas que pueden comprometer la integridad del endotelio vascular. La alteración de dicha integridad afectará a distintos procesos patogénicos como: disminución sobre el control del tono vasomotor, el favorecimiento de la agregación plaquetaria, exposición del colágeno de la media vascular, aumento de secreción del factor Von Willebrand por parte de las plaquetas y el endotelio lesionado, inhibición de la retroalimentación de dicha agregación por parte del endotelio (vía NO, PGI₂ y TXA₂), favorecimiento de la formación de microcoágulos, debido a la secreción de factor tisular por parte de los fibroblastos de la adventicia (activación de la vía extrínseca-factor VII), exposición del colágeno de la media producida por la activación de la vía intrínseca-factor XII, favorecimiento de la formación de placas de ateroma, por la proliferación de células musculares de la media (por factor mitógeno secretado en la agregación plaquetaria), y formación de células espumosas (43-45).

F. Estudios epidemiológicos prospectivos

Solo una parte de la población general, ha conseguido relacionar el aumento en los niveles de homocisteína con riesgo de patología cardiovascular, aunque la homocisteína determinada fue basal, sin sobrecarga. Prácticamente todos los estudios consiguieron demostrar en pacientes con factores de riesgo cardiovascular o enfermedad vascular establecida, un aumento de morbi-mortalidad paralelo a la elevación de los niveles de homocisteína (5).

La homocisteína en mujeres en estado gestacional, provoca abortos de repetición en un 20-30 por ciento, por problemas trombóticos, defectos de tubo neural (deficiencia de THF, también origina hiperhomocisteinemia) (5,6).

En Lupus Eritimatoso el 15 por ciento de pacientes jóvenes (de un total de 337) con hiperhomocisteinemia basal, padecieron accidentes cardiovasculares (5).

En *Diabetes Mellitus* existe una relación positiva con resistencia a la insulina, con microalbuminuria (comienzos de nefropatía diabética), y un mayor riesgo de padecer ECV (sobre todo en DMNID). En estudios con pacientes con Insuficiencia renal y trasplantes también se encontró una relación positiva con ECV en trasplantes renales y con ECV en trasplantes cardiacos (5). También esta asociado con enfermedad de Alzheimer, no con la aparición, si no con la evolución (6).

G. Homocisteína y enfermedad cardiovascular en diabetes mellitus tipo II

La asociación entre *Diabetes Mellitus* y el riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular es bien conocida desde hace varios años y está relacionada con una mayor progresión de la aterosclerosis (45).

En los sujetos con diabetes mellitus tipo II la mortalidad por enfermedad coronaria asciende a 35 por ciento (mientras que tal porcentaje es de apenas 7 por ciento en los individuos no diabéticos) (45).

Este fenómeno se debe a que tanto la hiperglicemia, como la resistencia a la insulina, favorecen el desarrollo de disfunción endotelial y la progresión de la aterogénesis. Varias experiencias han confirmado que el incremento de las concentraciones circulantes de glucosa induce la glucosilación no enzimática de las LBD, favoreciendo su migración hacia el subendotelio y su posterior peroxidación, que en conjunto da como resultado una aterogénesis acelerada (46).

Así mismo, la hiperglicemia ocasiona disfunción endotelial, disminuye la producción de óxido nítrico, el cual no sólo es un potente agente vasodilatador, sino que inhibe la adhesión de monocitos y neutrófilos al endotelio, interfiere la proliferación del músculo liso, inhibe la agregación plaquetaria y disminuye la permeabilidad del endotelio a las lipoproteínas (47).

Además, puesto que la insulina estimula la actividad de la enzima sintetasa del óxido nítrico, cuando existe resistencia a dicha hormona, hay una producción insuficiente de óxido nítrico (48).

Valores elevados de homocisteína pueden acelerar la progresión de enfermedad vascular estimulando producción de quimioatrayentes de monocitos y neutrófilos – MCP1 e IL8- en el endotelio vascular (48).

La enfermedad cardiovascular en el diabético incluye compromiso de las arterias coronarias, enfermedad cerebro vascular y vascular periférica. Los factores tradicionales de riesgo, incluyen hipercolesterolemia e hipertensión, hiperhomocisteinemia, tabaquismo, historia familiar de enfermedad coronaria prematura y micro o macro albuminuria (4,48).

La hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo para enfermedad vascular, la cual está relacionada con la secreción de insulina, especialmente en pacientes diabéticos y es potencialmente modificable con sustitución vitamínica (47).

No se ha demostrado el mecanismo preciso para el daño vascular que origina la homocisteína; sin embargo, la exposición de células endoteliales, aun a concentraciones mínimas de homocisteína, disminuye la respuesta de vasodilatación endotelial, produce una cascada inflamatoria y aumenta la expresión de receptores para los productos finales de la glucosilación enzimática, estas reacciones pueden alterar la función de enzimas, receptores, factores de crecimiento y proteínas estructurales (9).

Considerando que un elevado nivel en sangre de homocisteína representa un factor de riesgo conocido para enfermedades cardiovasculares, se relacionó el nexo entre hiperhomocisteinemia y las complicaciones micro-vasculares (nefropatía, retinopatía) de los diabéticos no *insulino dependientes* (DMNID) (49).

Evans y Colaboradores dosificaron los niveles de homocisteína y trombomodulin en el plasma (un marcador del daño celular), antes y después de 3 h de la administración oral de metionina en 75 pacientes con DMNID controlada y 40 sujetos de control. Los criterios de exclusión eran hiperlipidemia, hipertensión, hábito de fumar, o historial

positivo familiar para una enfermedad cardiovascular. Los resultados obtenidos demuestran que los pacientes con Diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID) tuvieron niveles pre y post carga más altos de homocisteína que los pacientes de control saludables así se ve (12.0 vs. 7.7 $\mu\text{mol/l}$ y 27.6 vs. 16.0 $\mu\text{mol/l}$). De 75 pacientes con Diabetes mellitus insulino dependiente (DMID), 26 tuvieron niveles de homocisteína plasmática por encima del rango normal (48).

H. Tratamiento

Afortunadamente, existen métodos sencillos para intentar disminuir los niveles de homocisteína.

1. Tratamiento Vitamínico

Se basan en que las enzimas de su metabolismo anteriormente descritas necesitan para su adecuado funcionamiento la cooperación de grupos prostéticos o coenzimas en los que participan la vitamina B6 (piridoxina), vitamina B12 (cianocobalamina) y el ácido fólico. Los expertos en Nutrición recomiendan que las personas que posean cifras de homocisteína superiores a los 10 $\mu\text{mol/L}$, consuman más alimentos con estas vitaminas (3,17). Estas vitaminas B6, B12 y ácido fólico se pueden obtener de estos alimentos:

- B6: Carnes, pescado, aves, frutas y vegetales.
- B12: Carnes, pescado, aves, leche, productos lácteos.
- Acido fólico: Germen de trigo, maní, espinacas, espárragos, garbanzos, habichuelas pintas, jugo de china. (50).

Si la terapia nutricional no es efectiva al cabo de un mes se necesitaría una suplementación multivitamínica, con dosis diarias que, según los casos, pueden variar entre 0,2 a 15 mg de ácido fólico, 3 a 250 mg de vitamina B6 y de 0,05 a 1 mg de vitamina B12. Con ello se suelen conseguir reducciones del 25-35 por ciento en las concentraciones de homocisteína. En los casos refractarios se puede ayudar con la administración de betaína (23).

- a. Si se detecta un fallo en la remetilación (hiperhomocisteinemia basal), es aconsejable seguir la pauta siguiente, con controles bimestrales para evaluar si el tratamiento es efectivo:
- Acido fólico + Vitamina B₁₂
 - Acido fólico + Vitamina B₁₂ + Vitamina B₆
 - Acido fólico + Vitamina B₁₂ + Vitamina B₆ + Betaína (5).
- b. Si se detecta un fallo en la transulfuración (normohomocisteinemia basal e hiperhomocisteinemia post-metionina), es aconsejable seguir la pauta siguiente, con controles bimestrales para evaluar si el tratamiento es efectivo:
- Vitamina B₆
 - Acido fólico + Vitamina B₁₂ + Vitamina B₆
 - Acido fólico + Vitamina B₁₂ + Vitamina B₆ + Betaína
 - Valorar el empleo de una dieta pobre en Met (metionina) y con suplemento de Cisteína (5).

Un suplemento significativo de 0.5 a 5.7 mg/d del ácido fólico puede producir un 25% de reducción en la concentración de homocisteína. Beneffts, Naurath et al han mostrado que inyecciones IM que combinan 1 mg de ácido fólico, 1.1 mg de vitamina B12 y 5 mg de vitamina B6 normalizaron los niveles elevados de homocisteína en ancianos. Las dosis inferiores de ácido fólico pueden también ser útiles en personas de mayor edad. Bronstrup et al redujo la concentración de homocisteína en 15 por ciento en personas ancianas saludables que usaban suplementos diarios de ácido fólico, 400 mg; o de la vitamina B 12, 4 mg; o la vitamina Bs. 2 mg, administrados oralmente por 4 semanas. Dosis IM de hidroxicoalamina, o el suplemento de ácido Fólico puede reducirce la homocisteina - cisteina disulfuro en mujeres postmenopausicas (19,50,51).

2. Tratamiento farmacológico

a. **antifolatos.** Las sustancias como el metotrexate y sus derivados hepáticos, los poliglutamatos, inhiben la enzima dihidrofolato reductasa. Las fenotiacinas, los

antidepresivos tricíclicos, los contraceptivos orales, los tuberculostáticos y el trimetropin pueden actuar por mecanismos similares. Las sustancias anticonvulsivantes (fenitoína, fenobarbital, primidona, carbamacepina, ácido valproico) alteran el metabolismo del folato, disminuyen su absorción intestinal y alteran algunas de las enzimas involucradas en la transferencia de un átomo de carbono induciendo deficiencia de folato e hiperhomocisteinemia (44).

b. antivitamina B12. El óxido nitroso empleado como anestésico oxida el cobalto de la cobalamina, bloquea el transporte de grupos metilos por la cobalamina, inactiva irreversiblemente la enzima 5-metiltetrahidrofolato-homocisteína S-metiltransferasa e induce Homocisteína (44).

c. antagonistas de la vitamina B6. El azabirina (triacetato-6-azaurina) empleado en el tratamiento de la psoriasis refractaria interfiere con la síntesis de uridina-5-monofosfato, es un antagonista de la vitamina B6, por lo tanto, inhibe la cistationina beta-sintasa e induce aumento de la concentración de homocisteína en la sangre. La isoniacida, cicloserina, hidralacina, carbamacepina y la teofilina también interfieren con la función de la vitamina B6 (44).

Pese que en nuestro medio la dosificación de la homocisteína no esta a la accesibilidad del médico, el suplemento del complejo vitamínico B o el ácido fólico reduce los niveles de la Homocisteína en personas normales y en pacientes con enfermedad vascular, diabéticos, ancianos, pre y post menopausicas (44).

Si la disminución de niveles de Homocisteína tiene un efecto benéfico en enfermedades progresivas, solo se sabrá en un futuro 3 a 5 años tras realizar al menos una docena de ensayos clínicos a nivel mundial en alrededor de 70,000 pacientes (6).

La mayoría de los pacientes con hiperhomocisteinemia responden a una terapia multivitamínica (90 por ciento de los casos) (28).

I. Determinación de Homocisteína plasmática

Los métodos de estimación de los niveles plasmáticos o séricos de homocisteína total comienzan a desarrollarse a mediados de la década de los años 80 mediante técnicas relativamente complejas y costosas que en general consisten en:

1. Generar homocisteína libre por reducción de los puentes disulfuros mediante la utilización de diferentes agentes reductores.
2. Separar la homocisteína de otros metabolitos de bajo peso molecular con grupo tiol mediante cromatografía líquida de alta resolución o por cromatografía gaseosa capilar, el cual es el método más útil para el laboratorio clínico.
3. Determinar la homocisteína mediante detección electroquímica, la fluorimetría previo marcaje con un fluorocromóforo.
4. La determinación automatizada FPIA
5. Utilizar anticuerpos monoclonales por inmunoensayo
6. La medición in vivo de la actividad de la cistationina sintetasa mediante cultivos de fibroblastos tomados de biopsia de piel (20).

La homocisteína libre no es detectada normalmente por métodos de laboratorio pero una pequeña parte de homocisteína se encuentra ligada a la cisteína (homocisteína-cisteína) y también ligada a proteínas (homocisteína-proteínas). Inmediatamente después de la administración de una dosis de carga importante de metionina, se puede detectar homocisteína libre en plasma y los niveles de homocisteína-cisteína aumentan notablemente. Por lo tanto el nivel de homocisteína total soluble (homocist-cisteína, homocisteína-homocisteína) aumenta marcadamente. La mujeres premenopáusicas tienen menores concentraciones de derivados de homocisteína luego de la carga de metionina que los hombres o las mujeres postmenopáusicas por lo que hay que tener cuidado al hacer comparaciones con controles (14).

La conservación de las muestras sanguíneas es fundamental, ya que si se dejan a temperatura ambiente durante 4 horas se observa un incremento de hasta un 35 por ciento en la concentración de la homocisteína. Se considera que este aumento refleja la exportación de homocisteína desde los eritrocitos. Es por esto que las muestras se conservan en hielo y se procede a la separación del plasma en el menor tiempo posible (14).

La determinación de homocisteína requiere la extracción de suero/plasma en tubo frío y una rápida centrifugación en idénticas condiciones. Ello es debido a las interferencias positivas que producen los hematíes con su continua producción y deplección de esta molécula. Actualmente estamos evaluando, en nuestro laboratorio, la posibilidad de analizarla en plasma citratado a temperatura ambiente, debido a la inhibición que en este sentido produce dicho citrato sobre los hematíes.

La extracción basal debe de acompañarse con una sobrecarga de metionina y extracción a las 6 horas, lo cual aumenta la posibilidad de detección de hiperhomocistinemias enmascaradas por el mecanismo de remetilación (5).

IV. JUSTIFICACIÓN

Para diseñar y desarrollar estrategias para disminuir la incidencia y mortalidad de las enfermedades cardiovasculares, es necesario no solo conocer los mecanismos fisiopatológicos que intervienen, sino también identificar las circunstancias que favorecen el desarrollo y aceleración de la enfermedad.

Uno de los factores asociados a enfermedad cardiovascular es la elevación sérica de Homocisteína, la cual es un factor de riesgo importante, independiente y frecuente para aterosclerosis clínica.

No está establecido que la Homocisteína por si sola, pueda ser causa de forma efectiva de accidentes cardiovasculares, pero sus niveles si guardan una relación directa con la enfermedad vascular aterotrombótica.

Considerando que un elevado nivel en sangre de homocisteína, como factor de riesgo, contribuye a desarrollar las complicaciones microvasculares (nefropatía, retinopatía) de los diabéticos no *insulino dependientes* (DMNID), donde dichas complicaciones son las responsables de alrededor del 80 por ciento de las muertes de los diabéticos. Su determinación aporta una información valiosa en el esclarecimiento de accidentes vasculares de causa desconocida y proporciona una estrategia diagnóstica y preventiva en los pacientes diabéticos tipo II que asisten a Liga Guatemalteca del Corazón, ya que sus niveles suelen disminuir en muchos casos con el tratamiento vitamínico adecuado.

V. OBJETIVOS

A. GENERAL

Determinar los niveles séricos de Homocisteína en pacientes que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón, como una herramienta para disminuir el riesgo a padecer enfermedad cardiovascular.

B. ESPECÍFICOS

1. Determinar la concentración de Homocisteína sérica en pacientes diabéticos tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca contra del Corazón.
2. Demostrar que los pacientes diabéticos tipo II, poseen niveles elevados de homocisteína plasmática.

VI. HIPOTESIS

Los niveles séricos de Homocisteína están elevados en pacientes diabéticos tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón, aumentando así el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo del Trabajo

Pacientes de 30 a 60 años con Diabetes Mellitus tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca del corazón.

B. Muestra de trabajo

Se realizó un muestreo de 45 pacientes con Diabetes Mellitus tipo II que asistan a la Liga Guatemalteca del Corazón, los cuales cumplieron con el criterio de inclusión (ser diabético tipo II y tener más de 5 años de haber sido diagnosticada la enfermedad) y exclusión (fumar, ingerir alcohol, tener mas de 60 años, padecer hipertensión, enfermedades tiroideas, realizar algún tipo de dieta, antecedentes familiares de diabetes y enfermedades cardiovasculares), verificándose por medio de una encuesta.

C. Recursos

1. Recursos Humanos

- a. **Tesista:** Br. Fabiola Ivon Quiñónez Carballo
- b. **Asesora:** Lic. Alba Marina Valdés de García

2. Instituciones

- a. Laboratorio Clínico de la Liga Guatemalteca del Corazón
- b. Hospital privado El Pilar
- c. Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia
- d. Biblioteca de la Universidad Francisco Marroquín
- e. Biblioteca de la Organización Panamericana de Salud

f. Biblioteca de la Universidad del Valle

D. Materiales

1. Equipo

- a) Refrigeradora de 2-4 °C
- b) Centrifuga
- c) Congelador a -20° C
- d) IMX System de ABOTT®
- e) Micropipetas automáticas de volumen variable

2. Reactivos

- a) Solución de pretratamiento la cual contiene ditiorenilol (DTT) y adenosina con ácido cítrico.
- b) S-adenosil-L-homocisteína hidrolasa (bobina) con buffer de fosfato y proteína (bobina) estabilizante y como preservantes, azida de sodio y agentes antimicóticos.
- c) Conjugado, anticuerpos marcados con Anti-S-adenosil-L-homocisteína (monoclonales de ratón), buffer de fosfato con proteína (porcina) como estabilizante, y como preservante azida de sodio.
- d) Trazador, fluoroseína S-adenosil-L-cisteína, buffer de fosfato con proteína (bovina) como estabilizante, y como preservante azida de sodio.
- e) Calibradores que contienen un preparado de S-adenosil-L-homocisteína en buffer de fosfato a diferentes concentraciones (0.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0)
- f) Controles Bajo (7.0 $\mu\text{mol/L}$), medio (12.5 $\mu\text{mol/L}$), alto (25.0 $\mu\text{mol/L}$).

3. Materiales

- a) Algodón
- b) Alcohol
- c) Liga

- d) Jeringas
- e) Agujas
- f) Curitas
- g) Tips amarillos
- h) Tips azules
- i) Guantes de latex
- j) Marcadores
- k) Gradillas para tubos
- l) Viales Eppendorf
- m) Gradilla para viales Eppendorf
- n) Papel mayordomo

E. Metodología

1. Consentimiento

Se obtuvo por escrito la autorización de los pacientes que participaron en el estudio (Anexo 1).

2. Encuesta

Luego se realizó una encuesta para evaluar los criterios de inclusión (ser diabético tipo II, y tener mas de 5 años de haber sido diagnosticada la enfermedad) y exclusión (Tener mas de 60 años, padecer hipertensión, realizar alguna dieta, fumar, ingerir alcohol, enfermedades tiroideas, antecedentes de enfermedades tiroideas (Anexo 2).

3. Toma de Muestra

Las muestras de sangre se tomaron bajo medidas de asepsia por punción venosa. Se extrajo 5ml de sangre venosa a cada paciente con 14 horas de ayuno. Cada muestra se depositó en tubos de ensayo sin anticoagulante previamente identificados y luego de reposar por 30 minutos hasta la formación de coágulo, se procedió a centrifugar por 5 minutos a 3,000 rpm. para la separación de suero, el cual se trasvasó a viales eppendorf debidamente etiquetados y tapados para su congelación a -20°C para su posterior análisis.

4. Principio de la Prueba

El método IMX Homocisteína se basa en la tecnología de inmunoensayo de polarización de la fluorescencia (FPIA) combinando las tecnología de unión competitiva de anticuerpos a las proteínas y la polarización fluorescente para la determinación cuantitativa de los anticuerpos ligados.

La homocisteína unida (forma oxidada) se reduce a homocisteína libre y ésta se convierte enzimáticamente en S-adenosil-L-Homocisteína (SAH). Bajo condiciones fisiológicas la SAH hidrolasa convierte la SAH en homocisteína. El exceso de adenosina en la solución de pretratamiento convierte la homocisteína en SAH utilizando SAH hidrolasa bobina.

5. Procedimiento

- a) Las muestras se descongelaron y se llevaron a temperatura ambiente (18-26 ° C).
- b) Mantener los reactivos a utilizar a temperatura ambiente (18-26 °C).
- c) Se agregó 200 µl de cada calibrador (0.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 y 50.0 µmol/L) a las cubetas, las cuales se colocaron en el carrusel, se colocó en cubetas de predilución la solución de pretratamiento, enzimas y el tampón de dilución FPIA, para la elaboración de la curva de calibración.
- d) Se dispensó 200 µl de controles (7.0, 12.5, 25.0 µmol/L) y 200 µl de muestra a analizar en las cubetas correspondientes.
- e) Se dispensó en las cubetas una alícuota de la mezcla de predilución, los anticuerpos monoclonales de ratón y el tampón de dilución FPIA, midiendo la intensidad de fondo según el sistema óptico FPIA.

- f) Se agregó a la cubeta el trazador (S-adenosil-L-cisteína) marcado con fluoresceína, el tampón de dilución FPIA y una segunda alícuota de la mezcla de predilución.
- g) Se determinaron los controles y muestras con el sistema óptico FPIA con una intensidad de luz fluorescente (525-550 nm, luz verde) midiendo la concentración del analito marcado con las trazas sin unirse.

F. Diseño Experimental

1. Tipo de Estudio: Transversal, descriptivo

2. Tipo de Muestro: No probabilístico por cuota, por conveniencia

3. Análisis de Datos

- a. Se estimó la proporción de pacientes con niveles de Homocisteína por arriba del límite superior normal, con un IC del 95 por ciento.
- b. El análisis de la encuesta se realizó por medio del Programa Epi Info 6.
- c. La prueba de Hipótesis se determinó por la media de los datos:

$$H_0: \mu \leq 11.4 \mu\text{mol/L}$$

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

c) Estadístico de prueba = (Z) para un nivel de confianza = 0.01

VIII. RESULTADOS

En la tabla No.1 se presentan los valores de niveles de Homocisteína de cada uno de los pacientes Diabéticos tipo II que participaron en el estudio.

TABLA 1

VALORES DE HOMOCISTEÍNA SÉRICA EN LOS PACIENTES QUE PARTICIPARON EN EL ESTUDIO (n=45)

	NO. REGISTRO	NIVEL DE HOMOCISTEINA MMOL/L		NO. DE REGIRO	NIVEL DE HOMOCISTEINA MMOL/L
1	786	25.13	24	798	12.99
2	595	19.75	25	911	7.11
3	619	7.75	26	884	12.32
4	606	5.9	27	68	11.68
5	527	17.94	28	51	7.47
6	595	12.02	29	66	11.45
7	680	11.83	30	118	9.61
8	684	9.94	31	121	13.6
9	735	4.89	32	127	16.66
10	741	7.27	33	903	5.78
11	700	11.51	34	915	15.27
12	732	4.74	35	923	15.56
13	681	12.04	36	941	11.06
14	861	7.38	37	148	15.26
15	803	4.87	38	137	8.72
16	819	9.39	39	122	11.46
17	876	9	40	889	7.06
18	881	11.66	41	16	12.27
19	830	5.88	42	781	11.31
20	726	13.21	43	786	10.51
21	857	15.63	44	797	3.75
22	889	12.05	45	806	20.65

23	888	8.15			
----	-----	------	--	--	--

Fuentes: Datos Experimentales

En la Tabla 2 se muestra la distribución del nivel homocisteína de los pacientes estudiados, los valores promedios y el porcentaje que estas representan.

TABLA No. 2

DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES DIABÉTICOS TIPO II QUE PARTICIPARON EN EL ESTUDIO SEGÚN NIVELES DE HOMOCISTEÍNA SÉRICA (n=45)

RANGOS DE HOMOCISTEÍNA	DIABÉTICOS (N=45)	PORCENTAJE	VALOR PROMEDIO DE HOMOCISTEINA
Normal sin riesgo (0-11.4µmol/L)	22	48.89 %	7.59 ± 2.14
Normal con riesgo (11.4-15 µmol/L)	14	31.11 %	12.48 ± 0.94
Hiperhomocisteinemia leve (15-30 µmol/L)	9	20.00 %	17.75 ± 2.55
Hiperhomocisteinemia moderada (30-100 µmol/L)	0	0%	0
Hiperhomocisteinemia severa (> 100 µmol/L)	0	0%	0

Fuente: Datos experimentales

Se realizó el análisis estadístico para determinar si existía diferencia significativa entre el promedio de homocisteína sérica por sexo, los resultados se presentan en la tabla 3.

TABLA No. 3

NIVELES PROMEDIOS DE HOMOCISTEÍNA POR SEXO

SEXO	N=45	NIVEL PROMEDIO DE HOMOCISTEÍNA
Masculino	11	12.73 ± 3.48
Femenino	34	10.65 ± 4.51

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La homocisteína es un intermediario formado a partir del metabolismo del aminoácido esencial metionina. Las concentraciones de esta aumentan progresivamente con la edad en la mujer y el hombre siendo un importante factor de riesgo cardiovascular y microangiopático (41). Varios estudios han mostrado que los niveles de homocisteína se elevan en personas de edad avanzada, menopausicas y en pacientes con diabetes mellitus, correlacionándose con una incidencia aumentada de sucesos cardiovasculares (45).

Para comprobar dichos estudios se realizó la determinación de niveles de homocisteína sérica en 45 diabéticos tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón. Al observar los resultados obtenidos, se puede mencionar que los niveles de homocisteína determinados en este estudio coincide con otros trabajos realizados con anterioridad donde concluyen que los niveles de homocisteína están elevados en pacientes diabéticos (48). De las 45 muestras el valor medio de homocisteína sérica fue 11.04 ± 4.29 $\mu\text{mol/L}$.

Para demostrar que en personas diabéticas no insulino dependientes los niveles de homocisteína sérica están elevados, y que esta por si sola, es un factor que aumenta el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular, se utilizó un criterio de exclusión para descartar otros factores de riesgo que aumentan los niveles de homocisteína. Los criterios de exclusión eran ser mayor de 60 años, hiperlipidemia, hipertensión, hábito de fumar, ingesta de alcohol, dieta, o historial positivo familiar para una enfermedad cardiovascular.

El 51.11% de los pacientes que participaron en el estudio presentaron niveles de homocisteína por arriba de $11.4 \mu\text{mol/L}$ (Valor normal con riesgo), esto comprobó la hipótesis propuesta de que los niveles de homocisteína están elevados en las personas que

padecen diabetes tipo II, con un nivel de confianza de 95% y afirmando lo que concluyo el estudio de Evans y colaboradores (48) que los pacientes con Diabetes mellitus no insulino dependiente poseen niveles altos de homocisteína, aumentando así el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular.

Se distribuyó a los pacientes por niveles de homocisteína donde 22/45 poseían concentraciones de homocisteína dentro del rango normal sin riesgo (0-11.4 μ mol/L) con un valor promedio de 7.59 ± 2.14 (48.49 por ciento), 15/45 presentaron niveles normales con riesgo (11.4-15 μ mol/L) con una media de 12.48 ± 0.9 (31.11 por ciento) y el 17.78 por ciento, 8/45 con hiperhomocisteinemia leve (15-30 μ mol/L). Con lo que se puede considerar que más del 50% de los pacientes diabéticos tipo II poseen un factor de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular, ya que la exposición mínima de homocisteína al endotelio, actúa directamente sobre el, lesionándolo, produciendo como consecuencia un aumento del consumo de plaquetas con formación de trombos y aterogénesis (42).

El análisis de la encuesta se realizó por medio del programa Epi Info versión 6.0, de acuerdo a los resultados obtenidos no se encontró relación directa entre el nivel elevado de homocisteína y otros factores de riesgo.

Se estratificó por sexo, por lo que los valores tienden a ser mayores en individuos del sexo masculino que en el femenino con respecto a la homocisteína. No se puede concluir totalmente ya que en la población muestreada predomino el sexo femenino, ya que no hubo equivalencia entre los dos sexos, para establecer una comparación definitiva.

Los pacientes diabéticos tipo II, que presentaron otro factor de riesgo como dieta y ejercicio, presentaron un nivel de homocisteína similar a los pacientes diabéticos tipo II que no realizaban ejercicio o dieta, ya que el ejercicio no es un factor que aumente el nivel de homocisteína plasmática y en la dieta no se incluía poca ingesta de vitamina B12 y B6 (34).

Muchos expertos consideran que estos niveles elevados de homocisteína en la sangre pueden ser tan peligrosos como lo es el colesterol alto o el hábito de fumar (4). Afortunadamente la presencia de niveles altos de homocisteína en sangre es fácil de remediar, mediante la ingesta diaria de 400 miligramos de ácido fólico, que puede llevar a

la normalidad estos niveles recordando que el ácido fólico esta presente de manera natural en los vegetales verdes (17). De manera que la simple determinación de esta sustancia en la sangre podría contribuir a prevenir las patologías del corazón y los vasos.

X. CONCLUSIONES

1. Los pacientes diabéticos tipo II que asisten a la Liga Guatemalteca del Corazón presentan una distribución de los niveles séricos de Homocisteína que se asocian con una alta probabilidad de padecer enfermedad cardiovascular.
2. El valor promedio de Homocisteína en pacientes diabéticos tipo II fue de $11.04 \pm 4.29 \mu\text{mol/L}$.
3. El 51 por ciento de los pacientes diabéticos tipo II que participaron en el estudio presentan niveles de Homocisteína por arriba de $11.4 \mu\text{mol/L}$ (Normal con riesgo).
4. El 31.11 por ciento de los pacientes se encuentran dentro del rango normal con riesgo ($11.4-15 \mu\text{mol/L}$).
5. No se puede concluir que los niveles de homocisteína se encuentran más elevados en los hombres que en las mujeres, debido al número reducido de pacientes de sexo masculino incluidos en el estudio.

XI. RECOMENDACIONES

1. Continuar con investigaciones en otro tipo de pacientes para generar información que contribuya a la implementación de programas de control de pacientes con alto riesgo de padecer enfermedad cardiovascular y demostrar que el tratamiento con estas vitaminas, además de disminuir la concentración plasmática de homocisteína, consigue disminuir dicho riesgo.
2. Se debe realizar un muestreo más grande, para que sea representativo con respecto al número de personas diabéticos tipo II en la ciudad capital o interior del país y poder así relacionar niveles de homocisteína sérica y el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular.
3. Divulgar los resultados par contribuir al establecimiento de programas de monitoreo de pacientes Diabéticos.
4. Se requiere la existencia de estudios clínicos controlados que comprueben que la disminución de los niveles de homocisteína produce una reducción del riesgo cardiovascular.
5. Las mediciones de rutina no están recomendadas pero es conveniente determinar sus niveles en pacientes de alto riesgo.
6. Implementar programas de seguimientos da los pacientes que participen en los siguientes estudios.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Blumberg A. *et al* .**Ingesta de energía y nutrientes y riesgo de ingestas inadecuadas. Fuentes alimentarias de energías y nutrientes.** ENCA 1998;3:187-196.
2. Informe del grupo de Estudio de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Ginebra, 1995.(página 4).
3. Memoria anual del Sistema General de Información de la Situación de la Salud Pública y Asistencia social, Mayo-Junio 2,000;3-8.
4. Navarro Ulloa, Orlando. **Factores de Riesgo Cardiovascular. Su Repercusión sobre el Infarto del Miocardio y la Mortalidad.** Cardiocaribe, 2,001 Junio;3:9-14.
5. Hankey J.G. Eikelboom J.W. **Homocysteine and vascular disease.** Lancet 1999;354:407-413.
6. Horton M. **Bioquímica.** Mexico: Prentice- Hall, 1993:22-36p.(p.14-2).
7. Israelsson B, Brattstrom LE, Hultberg BL. **Homocisteina and Diabetes. Atherosclerosis.** 1998;71 :227-233.
8. Menendez cabezas Arturo Metabolismo de la homosisteína y su relacin con la Aterosclerosis. Rev Cubana Invest Biomed 1999;18(3):155-8.
9. Hernández LV, Toledo BI, Sánchez AF, López LG. **Homocisteína y enfermedad vascular en diabetes mellitus tipo 2.** Rev Edocrinol Nutr. 2001; 9 (4): 170-175
10. **Endoteliopatía en la Diabetes Tipo 2.** Consultada 6 de Junio del 2003. www.enclombia.com/medicina/academedicina/medicina23201-articulosien2.htm.
11. Ridker,P.M. et al. **Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women.** JAMA. 2000;281:1817-1821.
12. Harjai, J. **Potencia new cardiovascular risk factors: Left ventricular hypertrofy, homocysteine, lipoprotein (a), triglicerides, oxidative stress, and fibrinogen.** Ann Inter Med. 1999;131:376-386.
13. Freggiaro L:E. **Diabetes Mellitus tipo I y II: Una breve reseña.** Consultada el 6 de Junio del 2003. orbita.starmedia.com/~forobioq/articulos.html.
14. De la Serna G. **Risk factor for cardiovascular disease.** A review of the literature. J. Farm. Pract. 1998;39:468-477.

15. Bell DS. **Inflammation, insulin resistance, infection, diabetes, and atherosclerosis.** Endocr Pract. 2000; 6: 272-6.
16. American Diabetes Association. **Screening for type 2 diabetes.** Diab care. 2001;23:20-23.
17. Eikelbom, W. *et al.* **Eating disorders and diabetic complications.** Ann Int Med 1998;118:557-81.
18. Córdoba A, Blanco F, González F. **Hiperhomocistinemia, un nuevo marcador de riesgo vascular: territorios vasculares afectados, papel en la patogénesis de la arteriosclerosis y la trombosis y tratamiento.** Med Clin (Barc) 1997; 109: 715-725.
19. Gallagher P, Meleady R, Shields D, et al. **Homocisteína and risk of premature coronary heart disease.** Circulation. 1999;94:2154-2158.
20. Kaplan L.A. Química Clínica. **Técnicas de Laboratorio, fisiopatología-métodos de análisis-teoría, análisis y correlación.** 3ª. Ed. Argentina, 1998.(pag. 571-595).
21. **Homocisteína, Diabetes Mellitus y Educación.** Consultado el 28 de Junio 2003. www.monagasvirtual.com/portusalud/marzo4.htm.
22. S. Harvey Mudd. **Vascular Disease and Homocysteine Metabolism.** NEJM. 2001;313:751-753.
23. Córdoba A. **Aminoácido Sospechoso.** Panorama. 2002;17:7-18.
24. Miner SE, Evroski J, Cole DE. **Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: an update.** Clin Biochem 1997;30:189-201.
25. Mudd SH: **Vascular disease and homocysteine metabolism.** Rev Fed Arg Cardiol. 2000;29: 57-66.
26. Momtgomery R, Conway T, Spector A. **Catabolismo y Biosíntesis de los Aminoácidos.** Capítulo 8. Bioquímica casos y texto. 6 ed. España. Harcourt Brace. 1998:273-275.
27. Jacobsen DW. **Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease.** Clin Chem. 1999;44:1833-1841.
28. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. **Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications.** Clin Chem 1995;39:1764-79.

29. Editorial. **Homocysteine species as components of plasma redox thiol status.** Clin Chem. 1995;41:340-342.
30. Gallagher P, Meleady R, Shields D, et al. **Homocisteina and risk of premature coronary heart disease.** Circulation. 1998;94:2154-2158.
31. Arnesen, E. et al. **Serum Total Hocysteine and CHD.** Int. J. Epidemiol. 1999; 24: 704-9.
32. **La Homocisteína un Nuevo factor de riesgo aterosclerótico causa o efecto.** Consultada el 3 de Julio de 2003. www.geocities.com/HotSprings/Falls/2467/activida.html.
33. Boston, A. et al.: **Serum Total Homocysteine Level 1 Predicts all Cause and Cardiovascular Disease Mortality in Elderly. Framingham Men and Women.** Abstracts of the 38th Annual Conference on Cardiovascular Disease Epidemiology and Prevention. Circulation 97, 8, Abstract 30, 818.
34. Malinow MR. **Plasma homocysteine: a risk factor for arterial occlusive diseases.** J Nutr 1996;126:1238S- 43S.
35. . Lupatelli, G, et al. **Homocysteine and Carotid Artery Atherosclerosis..** Atherosclerosis Abstracts of 11 International Simposium on Atherosclerosis. 2000. V 134, 1,2. Abstract 2.P.219, pág 161.
36. Hankey G, Eikelboom J. **Homocystein and vascular disease.** Lancet 2001; 354:408.
37. Welch G, Loscalzo J. **Homocysteine and atherothrombosis.** N.Engl.J.Med 2000; 338:1042.
38. Tyagi SC, Smiley LM, Mujumdar VS, Clonts B, Parker JL. **Reduction-oxidation (Redox) and vascular tissue level of homocysteine in human coronary atherosclerotic lesions and role in extracelular matrix remodeling and vascular tone.** Mol Cell Biochem 1999;181:107-16.
39. Den Heijer M, Koster T, Blom HJ et al. **Hiperhomocystinemia as a risk factor for deepvein thrombosis.** N.Engl. J.Med 1996; 334: 759-762
40. .Mayer, C. et al.: **Hyperhomocysteinemia as an Emerging Risk Factor of**

- Atherosclerotic Vascular Diseases.** Atherosclerosis Abstracts of 11 International Symposium on Atherosclerosis. 1997. V 134, 1,2. Abstract 2.P.224, pág
41. Craske, R. et al. **Hyperhomocysteinemia: an Independent Risk Factor for Vascular Disease.** N England J. Med. 1999; 324:1149-55.
 42. Welch G, Loscalzo J. **Homocysteine and altherothrombosis.** NEJM. 2000;338:1047-8.
 43. McCully KS. **Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis.** Am J Pathol 1994;56:11-28.
 44. Kang SS, Wong PW, Malinow MR. **Hyperhomocysteinemia as a risk factor for occlusive vascular disease.** Ann Rev Nutr 1996;12:279-98.
 45. Williams R, Maggiore J.A. **Hyperhocisteinemia, pathogenesis, clinical significance, laboratory assessment, and treatment.** Lab Med. 2000;30:468-475.
 46. Hong Sy, Yan D.H, Chang S.K. **The relationship between plasma homocysteine and amino acid concentracions in partients with and-stage renal dislac.** J. Rev. Nutr. 2000;8:34-39.
 47. **Homocisteína y enfermedades cardiovasculares en pacienes con Diabetes Mellitus.** Consultado 10 de Julio de 2003. www.medicgraphic.com/español e-htms/e-endoc/e-erzoor/e-erol-4/em-er014b.htm-2k.
 48. Evans et al. **Homocysteine and Risk Cardiovascular Disease in MRFIT Artherosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology.** 1997; 17 (10):150-153.
 49. Okala, E. et al.: **"Hyperhomocysteinemia is a Risk Factor for Ischemic Heart Disease in Diabetic Patients"**. Atherosclerosis Abstracts of 11 International Symposium on Atherosclerosis. 2000. V 134, 1,2. Abstract 2.P.229, pág 164.
 50. Rimm E, Willett W, Hu F, et al. **Folate and vitamin B6 from diet and supplements in relation to risk of coronary heart disease among women.** JA MA. 2001;279:359-364.
 51. Kuller, L.H., et al.: **"Homocysteine, Vitamins, and Cardiovascular Disease"**. Circulation. 2001; 98:196-9.

XIII. ANEXOS

ANEXO 1

ENCUESTA

DETERMINACIÓN DE NIVELES DE HOMOCISTEINA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO II QUE ASISTEN A LA LIGA GUATEMALTECA DEL CORAZON

Boleta No.-----

DATOS PERSONALES

Nombre-----

Edad----- Sexo----- No. De Registro-----

CONTESTAR LAS SIGUIENTES PREGUNTAS MARCANDO CON UNA "X" SÍ O NO

1. Ingesta de Alcohol Diario 0 – 1 Onz. No Ocasional

2 – 3 Onz.

2. Fuma más de 5 cigarrillos al día Sí No Ocasional

Cuantos años de fumar -----

3. Es Diabético Sí No Ocasional

Cuantos años de Padecerla -----

4. Que tipo de diabetes padece -----

5. Padece de Hipertensión Sí No Ocasional

6. Padece de enfermedades de la Tiroides Sí No Ocasional

7. Realiza algún tipo de ejercicios diarios Sí No Ocasional

8. Tiene algún tipo de dieta Sí No Ocasional

9. Antecedentes familiares de Diabetes Sí No Ocasional

10. Antecedentes Familiares de Enfermedad Cardíaca Sí No Ocasional

Homocisteína: _____ **μmol/L**

ANEXO 2

CONCENTIMIENTO

Yo _____ hago constar que _____

Me explico la importancia de la determinación de Homocisteína serica como factor de riesgo de enfermedad cardiovascular en personas que padecen Diabetes Tipo II, para la cual se necesita muestra de sangre la cual será extraída asépticamente y que mi salud no correrá ningún riesgo. Se me informo que mi participación es voluntaria, no habrá remuneración alguna, y que el análisis será realizado bajo total confidencialidad. Habiendo podido contestar las preguntas realizadas fimo en esta hoja para indicar que entendí las explicaciones y que acepto voluntariamente participar en el estudio.

Firma o Huella del Paciente _____

Firma del Investigador _____

Fecha _____

Fabiola Ivon Quiñónez Carballo
Autora

Licda. Alba Marina Valdés de García
Asesora

Licda. Kenia Caballeros
Revisora

Licda. Maria Eugenia Paredes
Revisora

Licda. Alba Marina Valdés de García
Directora

M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán
Decano

