



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

**FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**HIPERHOMOCISTEINEMIA COMO  
FACTOR DE RIESGO PARA  
TROMBOSIS VENOSA CEREBRAL**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORADO EN CIENCIAS MEDICAS**

**P r e s e n t a :**

**DR. CARLOS GERARDO CANTU BRITO**

**TUTOR: Dra. Elisa Alonso Vilatela  
COTUTOR: Dr. Camilo Ríos Castañeda**

**MEXICO, D.F.**

**Mayo 2006**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

TESIS DE DOCTORADO EN CIENCIAS MEDICAS

HIPERHOMOCISTEINEMIA COMO FACTOR  
DE RIESGO PARA TROMBOSIS VENOSA  
CEREBRAL

ALUMNO DE  
DOCTORADO: CARLOS GERARDO CANTU BRITO

INSTITUCION: Clínica de Enfermedad Vascul ar Cerebral  
Instituto Nacional de Neurología y  
Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez"

TUTOR: Dra. Elisa Alonso Vilatela  
Departamento de Genética  
Instituto Nacional de Neurología y  
Neurocirugía MVS

COTUTOR Dr. Camilo Ríos Castañeda  
Departamento de Neuroquímica  
Instituto Nacional de Neurología y  
Neurocirugía MVS

# CONTENIDO

## 1. RESUMEN

## 2. FUNDAMENTOS Y JUSTIFICACION

## 3. ANTECEDENTES

- 3.1 TROMBOSIS VENOSA CEREBRAL (TVC)
- 3.2 CASUAS Y FACTORES PREDISPONENTES DE TVC
- 3.3 HIPERHOMOCISTEINEMIA Y TROMBOSIS
  - a) Fenotipos
  - b) Hiperhomocisteinemia y estados trombofílicos
  - c) Plausibilidad Biológica de la Asociación Epidemiológica

## 4. HIPOTESIS

## 5. OBJETIVOS

- 5.1 OBJETIVOS PRIMARIOS
- 5.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

## 6. SUJETOS Y METODOS

- 6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO
- 6.2 SELECCION DE PACIENTES Y CONTROLES
  - a) Grupo de Estudio
    - Criterios de Inclusión
    - Criterios de Exclusión
    - Criterios de Eliminación
  - b) Grupo Control
- 6.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA
- 6.4 EVALUACION CLINICA
- 6.5 EXAMENES DE LABORATORIO
  - a) Determinación de Niveles plasmáticos basales de homocisteína y después de prueba de carga con metionina (poscarga)
  - b) Determinación de Niveles plasmáticos de Vitamina B<sub>12</sub> y Folatos
  - c) Análisis de la Mutación C677—T del Gen de la Enzima 5,10-Metilentetahidrofolato Reductasa
  - d) Estudios de Coagulación

## 7. ANALISIS ESTADÍSTICO

## 8. CONSIDERACIONES ETICAS

## 9. RESULTADOS

## 10. DISCUSION

## 11. CONCLUSIONES

## 12. BIBLIOGRAFIA

## 1.0 RESUMEN

**Introducción y Propósitos:** La hiperhomocisteinemia (que puede ser producida por factores genéticos y/o carenciales) se ha relacionado con incremento en el riesgo de trombosis venosa profunda. Se desconoce su papel en el desarrollo de trombosis venosa cerebral (TVC) y solo se cuenta con descripción de reportes de casos. A través de un estudio de casos y controles se evalúa la potencial asociación entre los niveles de homocisteína, folatos y vitamina B12, y la mutación común C677—T en el gen de la enzima 5,10-mutilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), en pacientes con TVC.

**Métodos:** Se estudiaron 45 pacientes con TVC y 90 sujetos controles sanos. Se determinaron los niveles plasmáticos de homocisteína (en ayunas y poscarga de metionina), folatos y vitamina B12. Se determinaron los genotipos del gen de la enzima MTHFR. Mediante regresión logística se estimó el riesgo de asociación expresado como razones de momios (RM) y sus intervalos de confianza al 95%, tanto crudos como ajustados por otras variables independientes.

**Resultados:** Las RM ajustadas para TVC asociadas con niveles elevados de homocisteína fueron de 4.6 (1.6 – 12.8) mientras que las RM entre valores bajos de folatos y TVC fueron de 3.5 (1.2 – 10.0). Se encontró mayor frecuencia de la mutación MTHFR en pacientes con TVC (22% versus 10%) sin alcanzar significancia estadística (P=0.09). Los pacientes con la mutación MTHFR y valores bajos de folatos presentaron los niveles más altos de homocisteína.

**Conclusiones:** Las concentraciones en plasma elevadas de homocisteína y los niveles bajos de folatos se asociaron a incremento en el riesgo de TVC en esta población donde las bajas condiciones socio-económicas y deficiente estado nutricional podrían contribuir a su relativamente alta incidencia.

**Palabras Clave:** (1) trombosis cerebral; (2) trombosis de senos duros; (3) homocisteína; (4) factores de riesgo; (5) coagulación

## **ABSTRACT**

**Background:** Elevated plasma levels of homocysteine are associated with an increased risk of deep-vein thrombosis. Through a case-control study we examined whether the potential association between homocysteine, folate and vitamin B<sub>12</sub> levels, and the common C677→T mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, in patients with cerebral venous thrombosis (CVT).

**Methods:** Forty-five patients with CVT and 90 control subjects were studied. The plasma levels of homocysteine (fasting and after methionine load), folate, and vitamin B<sub>12</sub>, were measured. Genotyping of the MTHFR gene was also performed. The estimated risk of CVT associated with hyperhomocysteinemia, low vitamin levels, and MTHFR mutation were expressed as OR and its 95%CI (crude and after adjusting by other independent variables).

**Results:** The adjusted OR for CVT associated with high (>90th percentile) fasting levels of homocysteine was 4.6 (1.6 – 12.8). The association between low plasma folate values (<10th percentile) and presence of CVT was 3.5 (1.2 – 10.0) after adjustment for confounding factors.

There was a higher frequency of MTHFR mutation in patients with CVT (22% versus 10%) but it was not statistically significant (P=0.098). Patients with MTHFR mutation and low folate levels presented the highest homocysteine levels.

**Conclusions:** High plasma concentrations of homocysteine and low plasma folate levels were associated with an increased risk of CVT in this population where low socioeconomic conditions and deficient nutritional status may contribute to its relatively high incidence.

**Key Words:** (1) cerebral thrombosis; (2) sinus thrombosis; (3) homocysteine  
(4) Risk factors; (5) coagulation

## 2. FUNDAMENTOS Y JUSTIFICACION

La Trombosis venosa cerebral (TVC) se caracteriza por el pleomorfismo de sus manifestaciones neurológicas, dificultad diagnóstica, diversidad de condiciones médicas en que se presenta y pronóstico impredecible.<sup>1</sup> A pesar de ser una entidad poco común a nivel mundial, la TVC es de particular interés en México ya que se observa con cierta frecuencia, sobre todo en la forma asociada al estado posparto.<sup>2-4</sup> Entre los principales avances en el estudio de la TVC se encuentra la identificación de nuevos factores protrombóticos,<sup>5-7</sup> tomando en consideración que la TVC forma parte de las principales características clínicas de los pacientes con síndromes trombofílicos como se describe en la Tabla 1.<sup>8,9</sup>

**Tabla 1. Manifestaciones clínicas de los estados protrombóticos**

---

1. Tromboembolismo venoso (> 90% de los casos)	2. Primer evento trombótico usualmente antes de los 40 años de edad
a) Trombosis venosa profunda de miembros inferiores (Común)	3. Historia familiar de trombosis
b) Embolismo pulmonar (Común)	4. Recurrencia de la trombosis
c) Tromboflebitis superficial	
d) Trombosis de venas mesentéricas (Raro pero característico)	
e) Trombosis venosa cerebral (Raro pero característico)	

---

Además de los factores de riesgo circunstancias y transitorios que promueven episodios hipercoagulables (v.gr., inmovilización, puerperio, cirugía reciente, etc.), en los últimos años se han descrito nuevos factores predisponentes para procesos trombóticos.<sup>8-11</sup> Estas coagulopatías trombofílicas pueden ser hereditarias o adquiridas e incluyen principalmente: a) deficiencia de anticoagulantes naturales: Proteína C, Proteína S y antitrombina, b) resistencia a la Proteína C activada, c) mutación en el Factor V de Leiden y en el gen de la protrombina (G20210A), d) hiperhomocisteinemia ya sea hereditaria o adquirida, y e) anticuerpos antifosfolípidos. Se ha postulado que incluso en aquellos casos que ocurren en asociación con factores de riesgo

circunstanciales que promueven episodios protrombóticos deben existir factores protrombóticos adicionales que expliquen el desarrollo de TVC en estas condiciones.

Entre los factores protrombóticos previamente mencionados destaca la hiperhomocisteinemia. En la última década se ha demostrado que incluso la hiperhomocisteinemia leve se asocia con eventos trombóticos arteriales y venosos sistémicos y el desarrollo prematuro de aterosclerosis.<sup>12-18</sup> De hecho, este trastorno metabólico es frecuente ya que puede ser producido por mecanismos genéticos y adquiridos y podría ser uno de los factores más importantes en la promoción de eventos trombóticos. Se estima que los niveles elevados de homocisteína pueden ser responsables del 10% de los eventos trombóticos venosos periféricos. Hasta la actualidad se desconoce su papel en el desarrollo de trombosis venosa cerebral y solo se cuenta con descripción de reportes de casos.<sup>19,20</sup>

La hiperhomocisteinemia puede ser causada por defectos en varios genes que codifican diferentes enzimas involucradas en el metabolismo de la homocisteína,<sup>21</sup> siendo de particular importancia un fenotipo común en la población caucásica que se asocia a la presencia de una mutante termolábil de la enzima 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), la cual es una enzima reguladora en la remetilación de homocisteína dependiente de folatos.<sup>22</sup> La frecuencia de este defecto genético es del 5% en la población general en el estado homocigoto.<sup>23</sup> Por otra parte, se ha demostrado que la hiperhomocisteinemia leve puede ser consecuencia de estados nutricionales carenciales por ingesta vitamínica inadecuada (B6, B12, ácido fólico); esta relación ha sido demostrada en los Estados Unidos de Norteamérica en población de edad avanzada (sobrevivientes estudio Framingham).<sup>24</sup> Uno de los aspectos más importantes en la producción de niveles elevados de homocisteína es la potencial interacción entre el factor genético y ambiental, de tal forma que el trastorno metabólico hereditario se manifestará principalmente en aquellos individuos con estado carencial nutricional.<sup>25</sup> Por lo tanto, se ha postulado que la alta prevalencia de

hiperhomocisteinemia leve en la población podría corregirse mediante la administración de suplementos de ácido fólico.

Con base en los datos anteriores, es de esperarse que en México la hiperhomocisteinemia podría explicar en parte la frecuencia de TVC en nuestro medio, ya que si se demostrará que la prevalencia en la población mexicana de la variante MTHFR termolábil es similar a la población caucásica, estarían dadas las condiciones para que los factores nutricionales carenciales, asociados a las bajas condiciones socioeconómicas, influyan en el desarrollo de la hiperhomocisteinemia. Por consiguiente, se justifica plenamente el estudio de este trastorno metabólico en nuestro medio ya que de probarse la asociación entre hiperhomocisteinemia y la TVC, sería un factor de riesgo potencialmente controlable.

### **3. ANTECEDENTES**

#### **3.1 TROMBOSIS VENOSA CEREBRAL**

A pesar de que las descripciones iniciales de la anatomía del sistema venoso cerebral datan alrededor del año 280 A.C. cuando Herophilus de Alejandría describe los senos venosos duros,<sup>26</sup> no es hasta principios del siglo pasado en que se publican los primeros casos clínicos detallados de trombosis venosa cerebral, entre los que destaca el de Abercrombie en 1828 al describir el primer caso asociado al puerperio.<sup>27</sup> Durante muchas décadas, la TVC se asoció principalmente a procesos sépticos. Con el uso generalizado de los antibióticos, la frecuencia de TVC relacionada con procesos infecciosos ha disminuido considerablemente, y en la actualidad la trombosis venosa cerebral primaria o aséptica, reconocida por Gowers desde 1889,<sup>28</sup> es la forma más común de TVC.

En relación con los aspectos anatomopatológicos de la TVC, por lo general se documenta trombosis de los senos venosos duros, con o sin afección de las venas cerebrales. En la mayoría de los casos la trombosis involucra el seno longitudinal

superior (SLS), en ocasiones con extensión a los senos laterales y/o venas corticales.<sup>29</sup> Esto se debe a que el SLS posee numerosas láminas y trabéculas fibrosas que favorecen la trombosis. Cuando la trombosis del SLS no se acompaña de afección de venas cerebrales, el bloqueo venoso produce edema y congestión de la corteza ya que existe bloqueo de la absorción del líquido cefalorraquídeo que causa hipertensión intracraneana. Por otra parte, cuando la trombosis se extiende de los senos venosos a las venas cerebrales tributarias se producen infartos venosos usualmente hemorrágicos; además, las venas distendidas, pero no trombosadas, pueden romperse produciendo también hemorragia subaracnoidea.<sup>29</sup>

En la Tabla 2 se describen los principales aspectos demográficos, manifestaciones clínicas, hallazgos neurorradiológicos y pronóstico de acuerdo a la experiencia de 275 casos atendidos en el Instituto Nacional de Neurología.<sup>30</sup> La TVC tiende a afectar a adultos jóvenes; hasta el 75% fueron menores de 35 años con rango de 14 a 71 años y con predominio del sexo femenino, vinculado con la elevada frecuencia de TVC en el embarazo y posparto (56%). Entre las causas No obstétricas, el uso de anticonceptivos orales o de terapia de reemplazo hormonal fue la causa más frecuente de TVC (11%). En alrededor del 30% de los casos no se encuentra un factor predisponente protrombótico aparente. La TVC es un proceso dinámico caracterizado por oclusión venosa progresiva, formación de colaterales y recanalización subsecuente, por lo que se observa un amplio rango de manifestaciones que dificultan su diagnóstico, incluyendo diferentes combinaciones de cefalea con o sin datos de hipertensión intracraneana, crisis epilépticas parciales o generalizadas, datos de focalización sensitiva, motora o lenguaje, alteraciones del estado de alerta y signos meníngeos. La forma de presentación de la TVC depende en gran parte del sitio trombosado del sistema venoso cerebral, de su extensión y de la rapidez con que se instala. Por lo general la presentación clínica es aguda en término de 24 a 48 horas, pero puede haber presentaciones insidiosas y gradualmente progresivas de varias semanas de evolución antes de establecer el diagnóstico de TVC, particularmente

cuando se manifiesta como síndrome de hipertensión intracraneana aislada (pseudotumor cerebro). La presencia de trombosis venosa extraneurológica concomitante ocurre en el 15 al 20% de los casos indicando la naturaleza sistémica del estado hipercoagulable subyacente.

**Tabla 2. Características demográficas, clínicas, neuroimagen y pronóstico en 275 pacientes atendidos en la Clínica de EVC del INNMVS<sup>30</sup>**

<b>Edad Promedio ± DE:</b>	29 ± 10.9	<b>Manifestaciones clínicas:</b>	<b>Neuroimagen (n=161):</b>
		Cefalea	242 (88)
<b>Sexo: M/F</b>	43 / 232	Crisis epilépticas	163 (59)
		Generalizadas	95 (35)
<b>Factor Predisponente:</b>		Focales	85 (31)
Obstétrico	155 (56)	Signos focales	209 (76)
Embarazo	22 (8)	Trast. conciencia	151 (55)
Puerperio	131 (48)	- Estado coma	60 (22)
Posaborto	2 (1)	Papiledema	144 (52)
No Obstétrico	120 (42)	Sx Piramidal bilateral	84 (31)
<b>Trombosis Sistémica</b>	40 (15)	Meníngeos	96 (35)
		Pseudotumor cerebri	32 (12)
			<b>Sitio Trombosis Venosa</b>
			Seno sagital superior
			229 (83)
			Venas corticales
			175 (64)
			Seno lateral
			143 (52)
			Seno recto
			77 (28)
			Sistema profundo
			82 (30)
<b>Estudios Neurodiagnósticos:</b>		<b>Laboratorio:</b>	<b>Evolución:</b>
Tomografía computada	269 (98)	LCR hemorrágico	35/120 (29)
Resonancia magnética	213 (78)	Anemia	148 (54)
Angiografía	116 (42)		
Autopsia	20 (7)		
			Recuperación total
			168 (61)
			Secuelas leves
			43 (16)
			Secuelas incapacitantes
			35 (13)
			Defunción
			29 (10)

Las cifras entre paréntesis son porcentajes. La mortalidad a partir del advenimiento de la IRM en la Institución es del 7% (19/245 pacientes).

Debido al pleomorfismo clínico y dificultad diagnóstica de esta entidad, en muchas ocasiones es un hallazgo de neuroimagen el que hace considerar el diagnóstico.<sup>31,32</sup> La angiografía cerebral se convirtió durante muchos años como la piedra angular para el diagnóstico de TVC. Con el advenimiento de la tomografía computada (TC) y la descripción del "signo Delta" por Bounnano en 1978 fue posible el diagnóstico de algunos casos de TVC en forma no invasiva.<sup>33</sup> Sin embargo, es hasta la introducción de la IRM en que se facilita la detección de la trombosis de senos duros

y los infartos venosos, desplazando a la angiografía y TC como mejor método diagnóstico.<sup>34</sup> La IRM ofrece importantes ventajas en la evaluación de los pacientes con sospecha de TVC. La posibilidad de obtener imágenes en diferentes proyecciones hace posible visualizar directamente las principales estructuras del sistema venoso cerebral, como el SLS y las porciones transversa y sigmoidea de los senos laterales hasta la fosa yugular. La IRM permite mostrar la historia natural de la TVC y en particular del proceso de recanalización en estudios de seguimiento<sup>35</sup> y seguramente logrará determinar la frecuencia real de esta aparentemente poco común entidad.

En relación con el pronóstico de la TVC, anteriormente se consideraba que era una enfermedad con alta mortalidad ya que solamente los casos de autopsia eran diagnosticados. Desde el advenimiento de la IRM es evidente que existen muchos casos que siguen un curso benigno y en la actualidad se conoce que la mortalidad es baja, como se ha descrito en varios trabajos relacionados con los factores pronósticos de la enfermedad.<sup>36-38</sup>

### **3.2 CASUAS Y FACTORES PREDISPONENTES DE TROMBOSIS VENOSA CEREBRAL**

Al igual que los episodios trombóticos venosos sistémicos, numerosas causas o factores predisponentes se han relacionado con el desarrollo de trombosis venosa cerebral y se describen en la Tabla 3. En los últimos años los principales avances en el estudio de la TVC se han enfocado en la identificación de nuevos factores trombofílicos, hereditarios y adquiridos. El término trombofilia se refiere a la mayor tendencia a desarrollar eventos trombóticos como consecuencia de la acción sostenida de estímulos trombogénicos o por defectos en los mecanismos del sistema anticoagulante natural o fibrinolítico.<sup>8</sup> Mientras que desde hace varios siglos se conoce que defectos hereditarios en la coagulación sanguínea causan trastornos hemorrágicos, la existencia de su contraparte, los trastornos hereditarios trombofílicos, se ha apreciado sólo en las últimas décadas. En 1965 se describe la deficiencia de

Antitrombina (AT) y durante muchos años la deficiencia de esta proteína anticoagulante natural fue la única causa identificable de trombofilia hereditaria. A principios de la década de los 80's se identificaron la deficiencia de proteína C (PC) y la deficiencia de proteína S (PS). Sin embargo, estos tres defectos son responsables de menos del 15% de casos seleccionados de trombosis venosa juvenil.<sup>8,9</sup>

**Tabla 3. Causas y factores predisponentes asociados a trombosis venosa cerebral<sup>1</sup>**

---

**Causas locales**

Trauma craneal abierto o cerrado, con o sin fractura; Intervención neuroquirúrgica; tumores incluyendo meningioma, linfoma, astrocitoma, metástasis; cavidad porencefálica, quiste aracnoideo; malformaciones vasculares incluyendo fístula dural y malformación arteriovenosa; cateterismo venoso, marcapaso intravenoso, ligadura de la vena cava o yugular.

**Embarazo y posparto**

Representa el principal factor predisponente en varias regiones del mundo por lo que se describe más ampliamente (ver adelante).

**Fármacos**

Anovulatorios orales, andrógenos, intoxicación NaCl, sobredosis de vitamina A, agentes quimioterapéuticos.

**Estados hipercoagulables: hereditarios y adquiridos**

Deficiencia o anomalías cualitativas de anticoagulantes naturales (antitrombina III, Proteína S, Proteína C); disfibrinogenemia; hipoplasminogenemia anormal; disminución de la liberación del activador del plasminógeno; homocistinuria, anticuerpos antifosfolípidos

**Trastornos hematológicos**

Leucemia, policitemia vera o secundaria, trombocitosis esencial o secundaria, trombocitopenia inducida por heparina, hemoglobinopatías, gamopatías, coagulación intravascular diseminada, anemia hipocrómica ferropriva, hemoglobinuria paroxística nocturna, anemia hemolítica autoinmune idiopática.

**Enfermedades inflamatorias**

Colitis ulcerativa, enteritis regional, enfermedad de Bechet, granulomatosis de Wegener, lupus eritematoso generalizado, sarcoidosis.

**Procesos malignos**

Efectos remotos del cáncer (estado hipercoagulable paraneoplásico).

**Causas diversas**

Trastornos metabólicos (diabetes, uremia, hiperlipidemia, hiperlipidemia, tirotoxicosis); síndrome nefrótico; cardiopatías (congénitas, insuficiencia cardíaca congestiva); cirugía extraneurológica reciente; deshidratación severa y caquexia; síndrome de Hughes-Stovin; enfermedad de Degos; choque eléctrico; cirrosis.

---

En 1993 Dahlbäck et al<sup>39</sup> reportaron una nueva condición protrombótica conocida como resistencia a la Proteína C activada (PCA), la proteasa generada por la vía del sistema anticoagulante PC - trombomodulina para inactivar los factores V y VIII

activados; lo anterior fue corroborado por Koster T. et al.<sup>40</sup> Al año siguiente Bertina et al<sup>41</sup> demostraron que la resistencia a la PCA se asociaba con una mutación de punto en el gen del factor V que produce un estado hipercoagulable al enlentecer la inactivación del factor Va por la PCA. Esta mutación también se conoce como factor V de Leiden y su prevalencia varía del 3 al 6% en las sociedades occidentales. El factor V de Leiden está presente en el 20 a 50% de los casos de trombofilia hereditaria y su significado clínico en la trombosis venosa periférica está bien establecido y se encuentra en el 10% al 60% de los pacientes con trombosis venosa profunda, dependiendo de los criterios de selección.<sup>40-43</sup> El Factor V de Leiden es responsable del 10% al 20% de los casos de trombosis venosa cerebral.<sup>5,44-46</sup> En Europa, Deschiens et al<sup>5</sup> encontraron resistencia a la PCA en 4 de 40 pacientes (10%) mientras que Zuber et al<sup>45</sup> en 4 de 19 (21%).

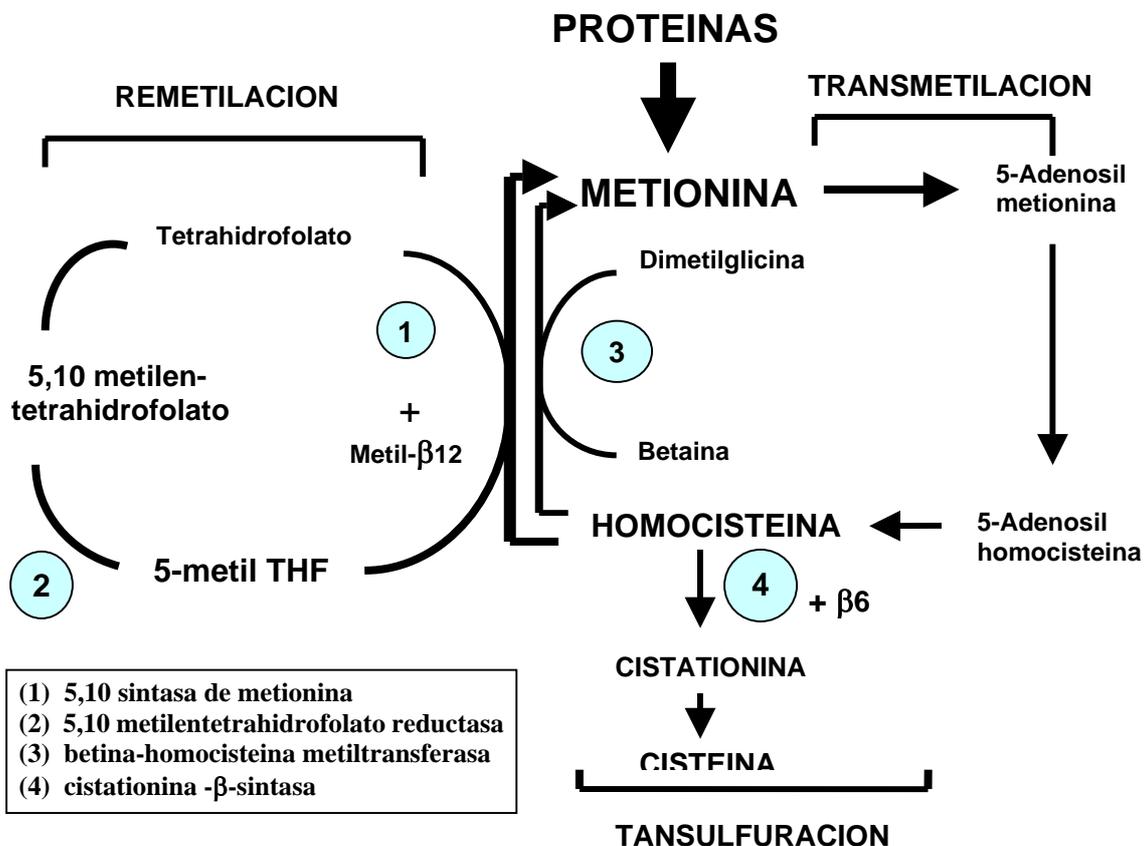
Recientemente, también se ha descrito un nuevo factor protrombótico, la mutación en el gen de la protrombina, caracterizada por transición G – A en la posición del nucleótido 20210.<sup>47</sup> Esta mutación se ha encontrado en el 6 a 10% de los casos de trombosis venosa periférica, en comparación con el 2% en controles sanos.<sup>48</sup> Por otra parte, el factor 20210 se ha asociado con TVC en el 5 a 10% en Europa.<sup>49,50</sup>

Es importante señalar que la mayoría de los individuos heterocigotos al factor V de Leiden, y muchos de los homocigotos, no desarrollan un evento trombótico. Por lo tanto, el riesgo de trombosis en esta condición está sustancialmente influenciado por la presencia de factores de riesgo trombofílicos adicionales, ya sea hereditarios o adquiridos.<sup>8</sup> Así, los individuos con la mutación del factor V de Leiden y combinado con deficiencias en los anticoagulantes naturales (PC, PS) tienen mayor riesgo de trombosis. De la misma forma otras condiciones hipercoagulables como el uso de anticonceptivos orales, el puerperio, la inmovilización o cirugías recientes, incrementan sustancialmente el riesgo de sufrir eventos trombóticos.<sup>51,52</sup>

Entre los últimos avances en el estudio de las trombofilias venosas se encuentra la hiperhomocisteinemia y se analiza en detalle en la siguiente sección.

### 3.3 HIPERHOMOCISTEINEMIA Y TROMBOSIS

La homocisteína es un aminoácido sulfhidrilo derivado de la conversión metabólica de la metionina. Su metabolismo intracelular ocurre a través de la remetilación a metionina o transulfuración a cisteína (ver esquema).<sup>21</sup> Existen dos vías de remetilación. En la catalizada por la sintasa de metionina, el grupo metil es donado por la metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y la cobalamina actúa como cofactor. En la otra vía, la betaina es el donador de metil en reacción catalizada por la metiltransferasa de betaina-homocisteína. En la vía de transulfuración, la homocisteína es transformada por la cistationina-β-sintasa en cistationina, actuando la piridoxina como cofactor (ver esquema). La homocisteína es oxidada en el plasma a los disulfuros homocisteína-homocisteína (homocistina) y homocisteína-cisteína (disulfuro mixto). La homocisteína y los disulfuros existen en formas libres y unidas a proteínas y son referidas como homocisteína total, con concentración en plasma de 5 a 12 μmol/L.



Los números en paréntesis indican a las principales enzimas

## a) Fenotipos

Varias condiciones hereditarias y adquiridas pueden causar hiperhomocisteinemia grave ( $> 100 \mu\text{mol/L}$ ), moderada (25 a  $100 \mu\text{mol/L}$ ) o leve (14 a  $24 \mu\text{mol/L}$ ).<sup>21</sup> La hiper-homocisteinemia puede ser causada por alteraciones genéticas en las diferentes enzimas involucradas en el metabolismo de la homocisteína. La causa clásica de hiperhomocisteinemia grave es la deficiencia homocigota de cistationina- $\beta$ -sintasa, con una frecuencia en la población general de 1:200,000 a 1:335,000 aproximadamente.<sup>21</sup> Los individuos afectados presentan retraso mental, subluxación de cristalinos, alteraciones esqueléticas, enfermedad vascular arterial oclusiva prematura y tromboembolismo venoso. El aislamiento del gen de la cistationina- $\beta$ -sintasa ha permitido la detección a escala molecular de los heterocigotos para homocistinuria, habiéndose detectado ya 17 mutaciones en el gen.<sup>21</sup> Otras formas de hiperhomocisteinemia grave menos frecuentes (5% a 10%) se relacionan con defectos en la vía de la remetilación, siendo el más común de estos defectos la deficiencia homocigota de la MTHFR y se caracteriza por retraso psicomotor, convulsiones y trombosis arterial y venosa.<sup>53</sup>

La hiperhomocisteinemia leve o moderada se encuentra en individuos con defectos genéticos o afecciones adquiridas. A pesar de que en la población general la frecuencia para el estado heterocigoto de la deficiencia de la Cistationina B sintasa es del 0.3% a 1.4%, esta condición no se ha relacionado con trombofilia.<sup>54</sup> En 1988 Kang et al<sup>55</sup> encontraron un polimorfismo de la MTHFR que hace lábil a la enzima y disminuye su actividad al 50% de la actividad de la variante común cuando se observa en estado homocigoto. Esta mutante termolábil es un defecto común de la vía de la remetilación, se relaciona estrechamente con los niveles de ácido fólico, se ha encontrado hasta en el 5% de la población general caucásica en el estado homocigoto y se considera un factor genético de riesgo vascular.<sup>22,56</sup>

En relación con las causas de hiperhomocisteinemia adquirida las más comunes son las deficiencias nutricionales de cobalamina, folato o piridoxina, es decir,

los cofactores esenciales en el metabolismo de la homocisteína. Selhub et al<sup>24</sup> reportaron niveles elevados de homocisteína en individuos de edad avanzada, participantes del Estudio de Framingham; demostraron que los niveles se incrementaban con la edad y se correlacionaron inversamente con los niveles de folato en plasma y en menor grado con los niveles de vitaminas  $\beta_{12}$  y  $\beta_6$ . La prevalencia de hiperhomocisteinemia fue de 29.3% en esta cohorte de 1160 sujetos y fue mayor entre los sujetos con estado carencial de folato. Al parecer las concentraciones plasmáticas inadecuadas de una o más de las vitaminas del complejo B contribuyen hasta en el 67% de los casos de homocisteína elevada en esta población.

#### **b) Hiperhomocisteinemia y estados trombofílicos**

Estudios transversales, de casos y controles y longitudinales han demostrado en forma clara que la hiperhomocisteinemia leve o moderada es un factor independiente para isquemia cerebral, infarto al miocardio, enfermedad arterial periférica y estenosis carotídea extracraneal.<sup>12-18,21,57-59</sup> Por otra parte, recientemente se ha demostrado que la hiperhomocisteinemia leve también se asocia con trombosis venosa en sujetos jóvenes y con trombosis venosa recurrente.<sup>16,60</sup> Falcon et al<sup>16</sup> reportaron que la frecuencia de hiperhomocisteinemia en pacientes menores de 40 años con uno o más eventos trombofílicos venosos periféricos fue del 19%. En otro estudio de casos y controles realizado en Holanda, den Heijer et al<sup>17</sup> encontraron que 28 de 269 pacientes (10%) con trombosis venosa profunda tuvieron niveles elevados de homocisteína (OR de 2.5; IC 1.2 a 5.2). El mismo grupo reportó que el riesgo de trombosis recurrente era dos a tres veces mayor en pacientes con hiperhomocisteinemia.<sup>61</sup> En los estudios anteriores se encontró que el riesgo de trombosis era dos veces mayor cuando los niveles de homocisteína eran superiores a 18.5  $\mu\text{mol/L}$  y hasta cuatro veces mayor cuando los niveles excedían los 20  $\mu\text{mol/L}$ . Datos similares fueron corroborados en Italia por Simioni et al en estudio de casos y controles.<sup>62</sup> Recientemente, Ray JG ha publicado un meta-análisis sobre

hiperhomocisteinemia como factor de riesgo para trombosis venosa sistémica.<sup>63</sup> Se incluyeron los 9 estudios de casos y controles realizados hasta ese momento, con determinación de homocisteína en ayunas en todos los estudios y en 5 de ellos se midió también después de una prueba de carga con metionina. Los 9 estudios mostraron una tendencia cualitativa similar en los niveles en ayunas, para el riesgo de asociación entre hiperhomocisteinemia y trombosis venosa. Las razones de momios agrupados fueron de 2.95 (IC 95%, 2.08 – 4.17;  $p < 0.001$ ), sin evidencia de heterogeneidad entre los estudios. La estimación del riesgo de trombosis venosa se incrementó a 4.37 (IC 95%, 1.94 – 9.84) al excluir los estudios con pacientes mayores de 60 años. den Heijer et al<sup>64</sup> encontraron resultados similares en otro meta-análisis.

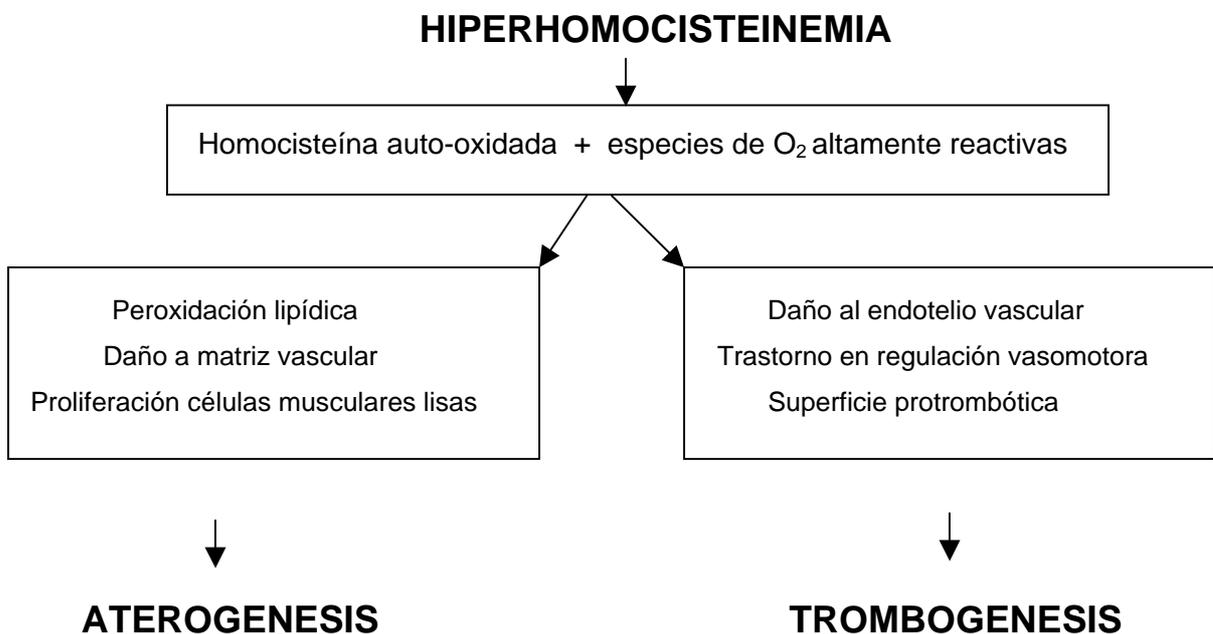
Se ha postulado que la principal causa de hiperhomocisteinemia leve en la población está relacionada con la mutante del gen de la enzima MTHFR que conduce a la variante termolábil de esta enzima.<sup>18,21-23,65</sup> Sin embargo, se ha demostrado que sólo un grupo de pacientes con hiperhomocisteinemia desarrollan eventos trombóticos; de hecho, estudios en portadores homocigotos para la variante termolábil no han encontrado aumento del riesgo de trombosis venosa. Por consiguiente, se ha postulado que factores adicionales deben intervenir para que la hiperhomocisteinemia se manifieste clínicamente por lo que ha surgido la posibilidad de efectos interactivos, a través de la modificación o sinergismo que se presenta cuando dos o más factores actúan en el mismo individuo.<sup>8</sup> Este efecto interactivo parece ser relevante en el caso de la hiperhomocisteinemia, ya que puede darse a través de interacciones genéticas y a través de la interacción genética con factores ambientales.<sup>66,67</sup>

Finalmente, uno de los aspectos más importantes en la producción de niveles elevados de homocisteína es la potencial interacción entre el factor genético y ambiental.<sup>8</sup> Jaques et al.<sup>25</sup> encontraron que en los individuos con la mutante termolábil de la MTHFR los requerimientos de folato son mayores para la regulación de los niveles plasmáticos de homocisteína: sólo se observó hiperhomocisteinemia en aquellos sujetos con niveles séricos bajos de ácido fólico. Por lo tanto, el trastorno

metabólico hereditario se manifestará principalmente en aquellos individuos con estado carencial de ácido fólico.

### c) Plausibilidad Biológica de la Asociación Epidemiológica<sup>21,58</sup>

El mecanismo por el cual la hiperhomocisteinemia produce daño vascular no se ha aclarado. Evidencia experimental indica que la homocisteína promueve la aterogénesis al facilitar el daño arterial oxidativo, dañando la matriz vascular y aumentando la proliferación del músculo liso vascular. La homocisteína podría promover la enfermedad tromboembólica a través de inducir daño oxidativo al endotelio, alterar las propiedades coagulantes de la sangre y alterar la regulación vasomotora dependiente del endotelio (ver esquema). Sin embargo, a pesar de tal importante evidencia epidemiológica, hasta la actualidad permanece sin demostrarse con certeza un efecto aterogénico y/o protrombótico de la homocisteína.



## **4. HIPOTESIS**

La hiperhomocisteinemia constituye un factor de riesgo para el desarrollo de trombosis venosa cerebral y se asocia a la variante termolábil de la enzima metilentetrahidrofolato reductasa y/o a estado carencial por ingesta inadecuada de vitaminas (folatos y  $\beta_{12}$ ) en nuestro medio.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVOS PRIMARIOS**

1. Estimar el riesgo de asociación entre los niveles elevados de homocisteína y el desarrollo de trombosis venosa cerebral.
2. Estimar el riesgo de asociación entre los niveles bajos de vitaminas (folatos y  $\beta_{12}$ ) y el desarrollo de trombosis venosa cerebral.
3. Determinar la frecuencia de la mutación de la enzima MTHFR en pacientes con TVC.
4. Determinar si la hiperhomocisteinemia en pacientes mexicanos con trombosis venosa cerebral, se asocia a la presencia de la variante termolábil de la enzima MTHFR y/o a estado carencial por ingesta inadecuada de vitaminas ( $\beta_{12}$ , ácido fólico).

### **5.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS:**

1. Determinar la coexistencia de hiperhomocisteinemia con otros trastornos trombofílicos, hereditarios y adquiridos, en pacientes con trombosis venosa cerebral en nuestro medio.
2. Determinar la coexistencia de niveles bajos de vitaminas (folatos y  $\beta_{12}$ ) con otros trastornos trombofílicos, hereditarios y adquiridos, en pacientes con trombosis venosa cerebral en nuestro medio.

## **6. SUJETOS Y METODOS**

### **6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

El diseño corresponde a un estudio de casos y controles donde los casos se obtuvieron de una cohorte de casos incidentes de trombosis venosa cerebral. Se investigó la asociación entre un potencial factor de riesgo y el desarrollo de trombosis venosa cerebral, a través del análisis de los niveles plasmáticos de homocisteína y su relación con factores genéticos y ambientales. Asimismo, se evaluó la potencial coexistencia de la hiperhomocisteinemia con otros trastornos trombofílicos.

### **6.2 SELECCION DE PACIENTES Y CONTROLES**

#### **a) Grupo de Estudio**

Fueron elegibles aquellos pacientes admitidos al Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía MVS con diagnóstico de Trombosis Venosa Cerebral de acuerdo a los criterios de inclusión. Solamente se incluyeron pacientes supervivientes de la etapa aguda de la TVC y los estudios de laboratorio se realizaron 3 meses después del evento trombótico cerebral.

#### **Criterios de Inclusión**

1. Pacientes con trombosis venosa cerebral.
2. El diagnóstico de TVC debe estar confirmado mediante angiografía cerebral o imagen de resonancia magnética.
3. La trombosis venosa cerebral debe ser aséptica y no relacionada con procesos malignos ni factores locales (Ver Tabla 3).
4. Consentimiento por escrito para participar en el estudio.

#### **Criterios de Exclusión**

1. Diagnóstico no concluyente para trombosis venosa cerebral.

2. Presencia de factores que alteran el metabolismo de la metionina como la insuficiencia renal crónica, y uso de medicamentos que interfieren con el metabolismo del folato como metrotexate, etc.
3. Pacientes portadores de varios factores de riesgo vascular como diabetes mellitus, hipertensión, hiperlipidemia.
4. Pacientes que están recibiendo preparados vitamínicos que contienen folatos o  $\beta_{12}$ .

### **Criterios de Eliminación**

1. Cuando por algún motivo no se hayan realizado en forma completa las pruebas para la determinación de la homocisteína plasmática y el análisis genético.

### **b) Grupo Control**

Fueron elegibles como controles aquellos individuos aparentemente sanos sin parentesco con los pacientes en estudio. Debido a que alrededor del 90% de los pacientes con TVC son menores de 50 años y el 90% del sexo femenino, la población control se orientó a seleccionar mujeres jóvenes. Debido a la dificultad para conseguir controles no se realizó estudio apareado por edad y género. Los sujetos controles fueron reclutados al mismo tiempo que los casos de TVC. Con el fin de obtener una población control que pertenezca o sea similar a la población fuente de los casos, se invitó a participar como controles a familiares de pacientes que acuden para su atención al INNNMVS, por otras afecciones neurológicas **No** cerebrovasculares. Asimismo, debido a que la mayoría de los casos corresponden a una población de baja condición socio-económica, se obtuvo el ingreso familiar promedio mensual como medida del estado socioeconómico de los participantes. Con el objeto de aumentar el poder de la muestra en estudio se seleccionaron dos controles por cada paciente con TVC.

### **6.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Se estudiaron 45 pacientes con TVC y 90 sujetos controles, de Febrero de 1998 a Diciembre de 2000. El tamaño de muestra se estimó asumiendo un alfa del 0.05 y poder del 80%, de dos colas, con una prevalencia de hiperhomocisteinemia en el grupo control del 10% y del 20 al 25% en el grupo de estudio, y considerando una magnitud de la asociación expresada en términos de razones de momios de 3.0.<sup>68</sup> Para esta estimación se utilizaron los resultados del trabajo de meta-análisis de Ray JG,<sup>63</sup> donde se obtuvieron Razones de Momios de 3.

### **6.4 EVALUACION CLINICA**

En todos los pacientes y sujetos controles se recabaron los siguientes datos:

1. Edad y sexo.
2. Antecedente familiar de episodios trombóticos.
3. Antecedentes personales de importancia con énfasis en la presencia de factores de riesgo vascular y de eventos trombóticos previos, ya sea neurológicos o sistémicos. También se interrogará sobre otros factores predisponentes para trombosis venosa: cirugía reciente, inmovilización, etc.
4. En las mujeres se obtuvo el historial gineco-obstétrico: paridad, embarazos previos y desenlace, antecedente de abortos espontáneos, uso de anovulatorios.

En todos los pacientes con TVC se recabaron los datos clínicos y de neuroimagen, evidencia concomitante de procesos trombóticos extraneurológicos; trombosis venosa profunda pélvica, tromboembolia pulmonar, trombosis arterial, etc. Dentro de los hallazgos de neuroimagen, se evaluó el sitio de la trombosis en el sistema venoso cerebral y la presencia de infartos venosos en el parénquima cerebral. Finalmente, se determinó la evolución clínica del paciente al momento del egreso del hospital.

## **6.5 EXAMENES DE LABORATORIO**

### **a) Determinación de Niveles plasmáticos basales de homocisteína y después de prueba de carga con metionina (poscarga):**

Se tomó muestra de 5 ml de sangre periférica para la medición de la concentración basal de homocisteína. Se administró una carga de metionina de 100 mg pro Kg de peso por vía oral, diluida en 200 ml de jugo de naranja, a las 4 horas se tomó otra muestra de 5 ml de sangre periférica para determinar de nuevo los niveles de homocisteína. Se determinarán los niveles de homocisteína en plasma por cromatografía líquida de alta resolución.<sup>69</sup>

### **b) Determinación de Niveles plasmáticos de Vitamina $\beta_{12}$ y Folatos:**

Se tomó muestra de 5 ml para la determinación de la vitamina  $\beta_{12}$  y folatos. Se realizó usando los Kits para radioinmunoensayo de Diagnostic Product Corporation, mientras que los niveles en plasma de piridoxal 5-fosfato se determinarán con el método de Camp et al.<sup>70</sup>

### **c) Análisis de la Mutación C677—T del Gen de la Enzima 5,10-Metilentetahidrofolato Reductasa:**

Se obtuvieron linfocitos mediante centrifugación con Ficoll-Hypaque, estos se lavan 2 veces con Buffer de Hank's. La pastilla de células se almacena a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. El análisis de la mutación en el gen de la MTHFR se realizó obteniendo el DNA por el método fenol/cloroformo/alcohol isoamílico a partir de una fracción de la muestra de sangre periférica. El análisis de la mutación que produce la variante termolábil se realizó amplificando el DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de acuerdo con Frosst et al.<sup>22</sup> El análisis de la enzima de restricción *HinF1* (GIBCO/BRL) y la electroforesis subsiguiente en un gel de archilamida al 10% revelaron la mutación.<sup>56</sup>

### **d) Estudios de Coagulación:**

1. Cuantificación de anticoagulantes naturales: las pruebas de actividad para la antitrombina III y la proteína C se realizan mediante el método cromogénico,

mientras que la proteína S se determinan mediante prueba funcional y método de Laurell. Estas pruebas se realizan tres meses después del evento agudo y sin recibir tratamiento anticoagulante:

2. Determinación de anticoagulante lúpico y anticuerpos anticardiolipinas.
3. Determinación de resistencia a la proteína C activada, que se realiza en plasma congelado utilizando la prueba basada en tiempo parcial de tromboplastina activada, de acuerdo a la descripción de Dahlbäch et al.<sup>39</sup>
4. A los pacientes con evidencia de resistencia a la proteína C activada, se les determina la presencia del gen mutante del factor V, después de la extracción del DNA, de acuerdo a la descripción de Bertina et al.<sup>41</sup>
5. Finalmente, se determinó la presencia del gen de la mutación en el gen de la protrombina (G20210A), de acuerdo con Poort et al.<sup>47</sup>

## **7. ANALISIS ESTADÍSTICO**

1. Se llevó a cabo análisis descriptivo del grupo en estudio, en relación a las principales características de los pacientes con trombosis venosa cerebral: antecedentes de trombosis, etiología de la trombosis, manifestaciones clínicas, hallazgos de neuroimagen y evolución clínica.
2. Se realizó análisis comparativo de las variables basales entre los casos y controles: edad, sexo, estado socio-económico, antecedentes gineco-obstétricos, promedios y medianas de homocisteína y vitaminas y frecuencia de genotipos de la MTHFR. Se utilizó prueba de  $\chi^2$  para variables categóricas y prueba de U de Mann Whitney para variables continuas ya que la distribución de las variables fue asimétrica.
3. La presencia de hiperhomocisteinemia se definió como aquellos niveles de homocisteína plasmática, basal y poscarga de metionina, superiores al percentil 90 de la distribución de los valores de homocisteína en la población control. Para

evaluar la asociación entre hiperhomocisteinemia y riesgo de desarrollar trombosis venosa cerebral, se calcularon las razones de momios (con sus intervalos de confianza al 95%) mediante análisis de regresión logística, comparando la frecuencia de eventos trombóticos entre pacientes con niveles elevados y normales de homocisteína. Se obtuvieron las razones de momios ajustadas para determinar la influencia de otros factores (edad, género, vitaminas y mutación de la MTHFR) mediante análisis de regresión logística múltiple.

4. La presencia de niveles bajos de vitaminas (folatos y  $\beta_{12}$ ) se definieron como aquellos niveles de vitaminas que son inferiores al percentil 10 de la distribución de los valores de vitaminas en la población control. Para evaluar la asociación entre niveles bajos de folatos y de vitamina  $\beta_{12}$  y el riesgo de desarrollar TVC, se calcularon las razones de momios (con sus intervalos de confianza al 95%) mediante análisis de regresión logística, comparando la frecuencia de eventos trombóticos entre pacientes con niveles bajos y normales de vitaminas. Se obtuvieron las razones de momios ajustadas para determinar la influencia de otras variables independientes (edad, género, homocisteína, y mutación de la MTHFR) mediante análisis de regresión logística múltiple.
5. Para describir la asociación entre TVC y genotipo mutante termolábil de la MTHFR, se determinó la distribución de los genotipos normal (CC), heterocigoto (CT) y homocigoto para la mutación (TT), entre pacientes y controles. Se utilizó regresión logística para calcular las razones de momios y sus intervalos de confianza (95%) para la frecuencia de los genotipos entre pacientes y controles. Para este análisis, debido al número de sujetos con la mutación, se consideró solamente si existía o NO mutación (los genotipos CC y CT se combinaron en un solo grupo, como negativos para la mutación).
6. Para examinar la asociación entre hiperhomocisteinemia y estado de vitaminas  $\beta_{12}$  y ácido fólico, se utilizó la prueba de correlación de Spearman.

7. Para explorar la interrelación entre el genotipo termolábil de la MTHFR y las concentraciones de homocisteína y vitaminas, en particular del folato, se calcularon los niveles promedios y medianas de estas variables con los individuos con genotipos normales y/o heterocigotos versus homocigotos para la MTHFR. Se utilizó prueba de U de Mann Whitney para probar las diferencias entre genotipos.
8. Considerando las características de la muestra reclutada, se evaluó el papel de posibles asociaciones entre hiperhomocisteinemia y niveles bajos de vitaminas (folatos y B-12) con otros estados hipercoagulables, como uso de anticonceptivos, estado posparto y otras trombofilias hereditarias (Factor V Leiden, deficiencias de proteínas S, C y AT-III) o adquiridas (anticuerpos antifosfolípidos). El análisis fue únicamente descriptivo.

## **8. CONSIDERACIONES ETICAS**

El protocolo estuvo sujeto a las normas éticas de la Institución, habiendo sido aprobado por los Comités de Investigación de Ética de la Institución. En ningún momento se practicaron estudios que representaran riesgo para pacientes y controles. Los procedimientos neurorradiológicos utilizados para el diagnóstico de trombosis venosa cerebral son los rutinariamente utilizados para la detección de esta entidad. Se solicitó el consentimiento escrito de pacientes y sujetos controles, previa información explícita y detallada de las características de los estudios que se llevaron a cabo.

## **9. RESULTADOS**

En la Tabla 4 se describen las principales características clínicas y de neuroimagen de los 45 pacientes con TVC del grupo en estudio. El 85% de los pacientes fueron menores de 40 años de edad, con elevado predominio de mujeres. Lo anterior en relación con la alta prevalencia de TVC en el estado posparto en nuestro medio (50% de los casos en el presente estudio).

**Tabla 4. Características clínicas y de neuroimagen de los 45 pacientes con TVC**

<b>Edad Promedio ± DE:</b>	28 ± 9.8	<b>Manifestaciones clínicas:</b>	<b>Neuroimagen:</b>		
		Cefalea	43 (95.6)	Infartos venosos	34 (75.5)
<b>Sexo: M/F</b>	7 / 38	Crisis epilépticas	28 (62.2)	Número lesiones	
		Generalizadas	15 (33.3)	Única	17 (37.8)
<b>Historia familiar trombosis</b>	6 (13.3)	Focales	13 (28.9)	Múltiple	17 (37.8)
		Déficit Motor	26 (57.8)	Con Hemorragia	18 (40.0)
<b>Antecedente al ingreso:</b>		Déficit sensitivo	17 (37.8)	Bihemisférica	15 (33.3)
Puerperio	23 (51.1)	Afasia	5 (11.1)		
Embarazo	1 (2.2)	Somnolencia	12 (26.7)	<b>Sitio Trombosis Venosa</b>	
Uso anovulatorios	2 (4.4)	Estado confusional	10 (22.2)	Seno sagital superior	37 (82.2)
Cirugía reciente	1 (2.2)	Papiledema	18 (40.0)	Venas corticales	26 (57.8)
Lupus eritematoso	1 (2.2)	Pseudotumor cerebri	7 (15.6)	Seno lateral	21 (46.7)
Sin factor predisponente	17 (37.8)	Meníngeos	12 (26.7)	Seno recto	8 (17.8)
				Sistema profundo	7 (15.6)
<b>Trombosis Sistémica</b>	8 (17.8)	<b>Pruebas protrombóticas:</b>			
		Anticardiolipinas +	11 (24.4)		
<b>Estudios Neurodiagnósticos:</b>		RPC activada*	7 (15.5)	<b>Evolución:</b>	
Tomografía computada	45 (100)	Mutación protrombina	4 (8.9)	Recuperación total	27 (60.0)
Resonancia magnética	44 (97.8)	Deficiencia Prot. C	3 (6.7)	Secuelas leves	16 (35.6)
Angiografía	17 (37.8)	Deficiencia Prot. S	3 (6.7)	Secuelas moderadas	2 (4.4)
		Factor V de Leiden	2 (4.4)	Defunción	0 (0)
<b>Anemia</b>	25 (55.6)	Deficiencia AT	1 (2.2)		

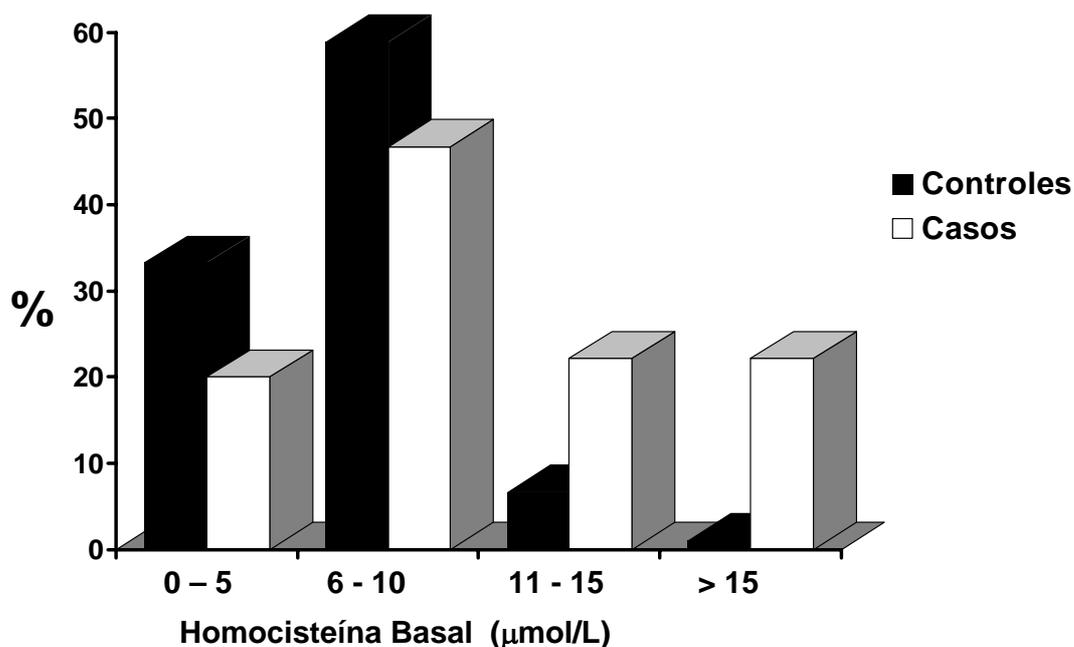
\* De los pacientes con resistencia a la Proteína C activada, en 2 se documentó la mutación del factor V de Leiden y en 3 se asoció a la presencia de anticuerpos antifosfolípidos

Como era de esperarse en casos de TVC se encontró alta frecuencia de trombofilia hereditaria (26%) siendo la más frecuente la mutación del gen de la protrombina (G20210A). Con respecto a la presencia de otros estados hipercoagulables llama la atención la elevada frecuencia de anticuerpos anticardiolipinas en alrededor del 25% de los pacientes (en forma concomitante con anticoagulante lúdico en 4%). Por otra parte, aunque la frecuencia de RPC activada es del 15 %, solo en dos casos se relacionó con el Factor V de Leiden (uno en forma homocigoto y otro heterocigoto), mientras que en tres pacientes se correlacionó con la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, uno con uso de anticonceptivos orales y en

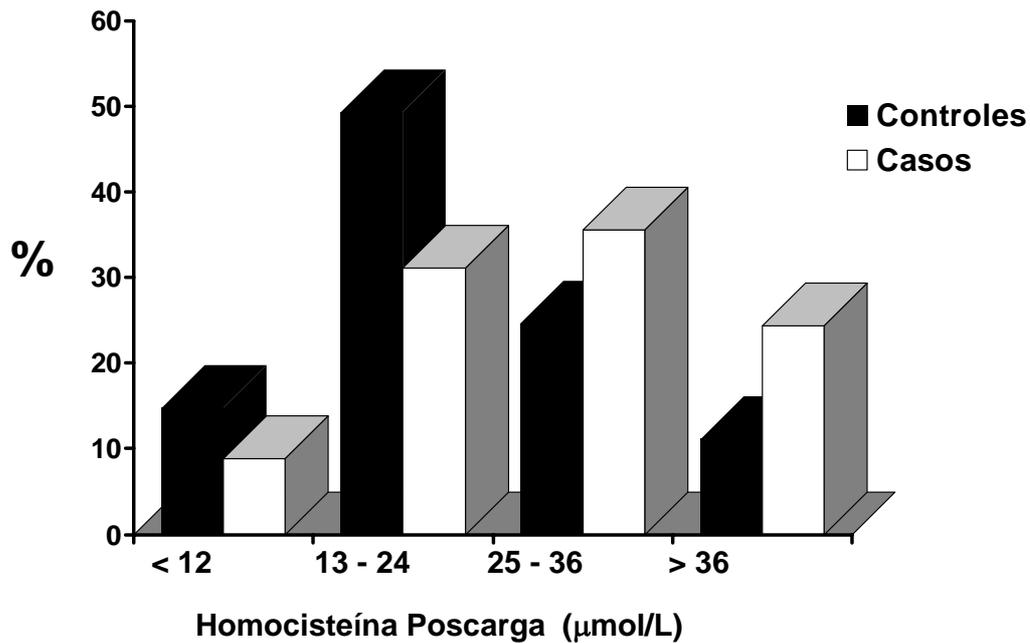
otro paciente fue la única alteración protrombótica. Alrededor del 18% tuvo evidencia de trombosis venosa sistémica, concomitante con la TVC, indicando la naturaleza sistémica del estado hipercoagulable. El seno longitudinal superior, los senos laterales y las venas corticales son los sitios más frecuentemente afectados del sistema venoso cerebral por el proceso trombótico. En relación a la evolución clínica, la mayoría de los pacientes tuvieron evolución favorable, considerando el momento del egreso hospitalario. La mortalidad de la TVC en nuestra institución es de alrededor del 8% y estos pacientes no pudieron ser estudiados por lo que el presente estudio no cuenta con pacientes con formas graves de esta enfermedad.

### ***Diferencias entre Pacientes y Sujetos Controles***

En las Figuras 1 y 2 se muestra la distribución de los valores de homocisteína basal y poscarga de metionina en los casos y sujetos controles y es evidente que los valores son más elevados en los pacientes con TVC. Se observa que existe distribución asimétrica con sesgo positivo, por lo que para la comparación entre los grupos se utilizó estadística no paramétrica.



**Figura 1. Distribución de Homocisteína Basal en Casos y Controles**



**Figura 2. Distribución de Homocisteína Poscarga de Metionina en Casos y Controles**

En la Tabla 5 se describen las diferencias entre el grupo de pacientes con TVC y los sujetos controles. No se observaron diferencias en edad y género. En relación al estado socioeconómico, el ingreso familiar total fue similar en ambos grupos (descrito en Dólares americanos) y corresponde al quintil más bajo para la población Mexicana.<sup>71</sup> Asimismo, la historia obstétrica (paridad, abortos) y el uso de anticonceptivos orales fue similar en ambos grupos. Los valores en suero de la homocisteína se encontraron más elevados en los pacientes con TVC, tanto en ayunas ( $P = 0.01$ ) como después de 4 horas de una carga de metionina ( $P = 0.006$ ). Por otra parte, la concentración promedio de folatos en el suero fue significativamente menor en los casos con TVC ( $P < 0.0001$ ), mientras que hubo una tendencia a niveles bajos de vitamina  $\beta_{12}$  entre los pacientes con TVC en comparación con el grupo control.

**Tabla 5. Diferencias entre pacientes con TVC y sujetos controles sanos**

Variable	Pacientes N = 45	Sujetos Controles n = 90	P
Edad, años*	28.0 (14 – 55)	28.0 (16 – 53)	0.51
Género (%)			
Mujeres	38 (84.4)	67 (74.4)	
Hombres	7 (15.6)	23 (25.6)	0.18
Estado Socio-económico (%) [Ingreso Familiar total mensual]			
< \$ 1,500.00	21 (46.7)	37 (41.1)	
\$ 1,500.00 – 3,000.00	16 (35.6)	31 (36.7)	
> \$ 3,000.00	8 (17.8)	20 (22.2)	0.77
Historia Obstétrica (%)			
Nulíparas	8 (21.1)	18 (26.9)	
Primíparas	16 (42.1)	25 (37.3)	
Multíparas	14 (36.8)	24 (35.8)	0.78
Abortos	5 (7.5)	2 (5.3)	1.00
Uso anticonceptivos orales (%)†	2/37 (5.4)	4/66 (6.1)	1.00
Homocisteína basal (μmol/L)*	9.0 (3.04 – 42.1)	7.0 (2.3 – 28.7)	0.01
Homocisteína Poscarga (μmol/L)*	26.7 (10.1 – 77.1)	21.1 (3.6 – 49.6) ‡	0.006
Folatos (nmol/L)*	5.7 (2.6 – 12.2)	8.5 (2.3 – 16.1)	<0.0001
Vitamina β12 (pmol/L)*	330.0 (97 – 1515)	430.8 (157 – 2177)	0.07

\* Valores expresados como medianas (rango).

† Porcentaje calculado en el número de mujeres en edad reproductiva.

‡ n = 81

### ***Mutación de la Enzima MTHFR y Trombosis Venosa Cerebral***

En relación con la distribución de los genotipos de la enzima termolábil MTHFR se encontró tendencia a mayor frecuencia de la mutante TT en los casos (22% versus

10%), aunque los controles mostraron mayor frecuencia de heterocigotos (CT) para la mutación (60% versus 47%)[Tabla 6]. Al comparar los pacientes portadores del genotipo termolábil de la MTHFR (TT) con los que son negativos para el mismo (genotipos CC + CT), se observó una tendencia a una asociación del genotipo termolábil con la TVC, sin alcanzar significancia estadística (P = 0.087).

**Tabla 6. Mutación de la enzima MTHFR en casos y controles**

<b>Genotipo MTHFR (%)</b>	<b>Patients N = 45</b>	<b>Control Subjects n = 90</b>	<b>P</b>
CC (Ala / Ala)	14 (31.1)	26 (28.9)	
CT (Ala / Val)	21 (46.7)	54 (60.0)	
TT (Val / Val)	10 (22.2)	10 (11.1)	0.17*

\* TT versus CC & CT

#### ***Asociación entre Hiperhomocisteinemia y Trombosis Venosa Cerebral***

Como se aprecia en la Tabla 7, tomando como punto de corte para considerar hiperhomocisteinemia los valores iguales o superiores al percentil 90 de los resultados obtenidos en los sujetos controles ( $\geq 10.69 \mu\text{mol/L}$ ), se encontró que 17 pacientes con TVC presentaron hiperhomocisteinemia basal (37.8%) en comparación con el 10% de los sujetos controles. Esta diferencia da una estimación del riesgo de asociación (OR) entre hiperhomocisteinemia y TVC de 5.4 (IC 95% 2.2 – 13.6, P < 0.001). Al ajustar los resultados de la homocisteína basal por otras variables independientes (edad, género, ácido fólico, vitamina  $\beta_{12}$  y presencia de mutación MTHFR) se observa que la estimación del riesgo de asociación entre hiperhomocisteinemia y TVC se mantiene de manera independiente, aunque con disminución de las razones de momios. Los resultados con la prueba de poscarga de metionina mostraron una tendencia a la asociación que se perdió al realizar el ajuste por otras variables independientes.

**Tabla 7. Estimación del riesgo de asociación de la Hiperhomocisteinemia y las concentraciones bajas de vitaminas entre pacientes con TVC y sujetos controles sanos.**

<b>Variable</b>	<b>Patients n = 45</b>	<b>Controls n = 90</b>	<b>Crude OR (95% CI)</b>	<b>P</b>	<b>Adjusted OR* (95% CI)</b>	<b>P</b>
<b>Hiperhomocisteinemia Basal</b> (90 <sup>th</sup> percentile: 10.69 $\mu$ mol/L)	17 (37.8)	9 (10.0)	5.4 (2.2 – 13.6)	< 0.001	4.6 (1.6 – 12.8)	0.004
<b>Hiperhomocisteinemia Poscarga</b> (90 <sup>th</sup> percentile: 38.49 $\mu$ mol/L)	10 (22.2)	8/81 (9.9)	2.6 (0.9 – 7.2)	0.054	2.2 (0.6 – 7.4)	0.18
<b>Niveles Baos de Folatos</b> (10 <sup>th</sup> percentile: 5.11 nmol/L)	16 (35.6)	9 (10.0)	4.4 (1.8 – 10.8)	0.001	3.5 (1.2 – 10.0)	0.01
<b>Niveles Bajos de Vitamina <math>\beta</math>12</b> (10 <sup>th</sup> percentile: 242.7 pmol/L)	14 (31.1)	9 (10.0)	4.0 (1.6 – 10.3)	0.002	5.1 (1.8 – 14.2)	0.002

\* Los resultados de hiperhomocisteinemia basal and poscarga de metionina se ajustaron pore dad, sexo, vitaminas y mutación MTHFR. Los niveles vajos de vitaminas se ajustaron por edad, sexo, homocisteina y mutación MTHFR.

### ***Asociación entre Vitaminas y Trombosis Venosa Cerebral***

En la Tabla 7 también se describen los resultados en relación a la asociación entre vitaminas y TVC. Con respecto a los folatos, la frecuencia de valores bajos fue frecuente en el grupo de estudio (36%, considerando como punto de corte para niveles bajos el percentil 10 obtenido en los sujetos controles sanos). La asociación entre valores bajos de ácido fólico y presencia de trombosis venosa cerebral fue contundente (OR = 4.4 [IC 95% 1.8 – 10.8];  $P < 0.0001$ ). Al ajustar los resultados de los folatos por otras variables independientes (edad, género, homocisteína, vitamina  $\beta_{12}$  y presencia de mutación MTHFR) se observa que la estimación del riesgo de asociación entre folatos bajos y TVC se mantiene de manera independiente, aunque con disminución de las razones de momios. Por otra parte, la frecuencia de niveles bajos de vitamina  $\beta_{12}$  también fue frecuente en el grupo de estudio (31%, considerando como punto de corte para niveles bajos el percentil 10 obtenido en los sujetos controles sanos). La estimación de la asociación entre niveles bajos de  $\beta_{12}$  y presencia de trombosis venosa cerebral fue 4.0 (IC 95% 1.6 – 10.3;  $P = 0.001$ ). Al ajustar los resultados de los folatos por otras variables independientes (edad, género, homocisteína, folatos y presencia de mutación MTHFR) se observa que la estimación del riesgo de asociación entre niveles bajos de  $\beta_{12}$  y TVC se mantiene de manera independiente, incluso con incremento de las razones de momios de 4.0 a 5.1 (IC 95% 1.8 – 14.2;  $p = 0.002$ ).

### ***Correlación entre Homocisteína con Vitaminas y Mutación MTHFR en los Pacientes con Trombosis Venosa Cerebral***

Al correlacionar los niveles de homocisteína con los de folatos en los pacientes con TVC, se observa tendencia a una correlación negativa con valores más elevados de homocisteína en presencia de niveles bajos de folatos (Spearman,  $\rho = -0.536$ ;  $p < 0.001$ ). Por otra parte no se encontró correlación entre los valores de homocisteína y



En la Tabla 8 se observa como los promedios y medianas de homocisteína son más elevados en los pacientes con la mutación (medianas de 7.8 versus 18.7  $\mu\text{mol/L}$ ) con elevación aún mayor en presencia de niveles bajos de folatos (homocisteína basal = 23.8  $\mu\text{mol/L}$ ), mientras que los pacientes con valores normales de folatos mantienen niveles normales de homocisteína a pesar de ser portadores de la mutación (homocisteína = 7.7  $\mu\text{mol/L}$ ). El mismo efecto se aprecia con los niveles de homocisteína poscarga de metionina (Tabla 8).

**Tabla 8. Relación de la Homocisteína Plasmática Basal y Poscarga con la mutación de la enzima MTHFR, estratificado por niveles altos y bajos de Folatos, en los 45 pacientes con trombosis venosa cerebral.**

	MUTACION		P
	NO (n = 35)	SI (n = 10)	
<b>Hyc Basal (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	7.8 (3.4 – 15.1)	18.7 (3.0 – 42.1)	0.01
Folato $\leq$ 5.1 (ng/mL)	9.9 (6.3 – 15.1)	23.8 (15.9 – 42.1)	0.001
Folato > 5.1 (ng/mL)	6.9 (3.4 – 13.8)	7.8 (3.0 – 9.8)	0.88
<b>Hyc Poscarga (<math>\mu\text{mol/L}</math>)</b>	25.6 (10.1 – 65.8)	45.1 (12.6 – 77.1)	0.01
Folato $\leq$ 5.1 (ng/mL)	25.5 (14.5 – 35.1)	55.9 (43.7 – 77.1)	0.001
Folato > 5.1 (ng/mL)	25.7 (10.1 – 65.8)	26.8 (12.6 – 29.9)	0.74

Cifras en medianas (rangos)

***Coexistencia de Hiperhomocisteinemia y Niveles bajos de Vitaminas con otros Estados Protrombóticos Asociados a la Trombosis Venosa Cerebral***

Como se describe previamente 28 de los 45 pacientes con TVC presentaron algún antecedente predisponente para trombosis, siendo el más frecuente el estado posparto en 23 pacientes. Por otra parte, en 17 pacientes (37.8%) no se documentó un factor protrombótico transitorio presidponente. Al realizar pruebas de laboratorio

trombofílicas se documentaron estados protrombóticos hereditarios en 12 pacientes y síndrome antifosfolípidos en 11 casos de TVC. Estas alteraciones contribuyeron al desarrollo de TVC en 12 de los 17 pacientes (hereditario 8, antifosfolípidos 3, RPC activada 1) sin antecedente predisponente para trombosis venosa. En 14 pacientes se documentó la presencia de dos o más factores protrombóticos (31.1%). A pesar del estudio trombofílico completo, no se demostró alteración hipercoagulable en 9 casos (20%). En la Tabla 9 se aprecia la relación entre los niveles elevados de homocisteína y bajos de vitaminas con otras condiciones protrombóticas. La hiperhomocisteinemia permitió explicar la causa de la TVC en 6 de los 9 pacientes (67%) que se catalogaron como idiopáticos una vez completadas las pruebas usuales de trombofilia. Por otra parte, se observó la coexistencia entre diversos estados hipercoagulables. Se encontró que los niveles elevados de homocisteína coexisten en un 25% a 40% con otras afecciones que predisponen a trombosis venosa. Por otra parte, los niveles bajos de folatos se correlacionaron principalmente con el estado posparto.

**Tabla 9. Correlación de la hiperhomocisteinemia y niveles bajos de vitaminas con otros estados protrombóticos**

	<b>Trombofilia Hereditaria n = 12</b>	<b>Síndrome Antifosfolípidos n = 11</b>	<b>Puerperio n = 23</b>	<b>Trombofilia Negativa n = 9</b>
<b>hyperhomocysteinemia *</b>	5 (41.7)	5 (45.5)	8 (34.8)	6 (66.7)
<b>Niveles bajos Folatos</b>	2 (16.7)	5 (45.5)	11 (47.8)	3 (33.3)
<b>Niveles bajos Vitamina <math>\beta</math>12</b>	3 (25.0)	5 (45.5)	7 (30.4)	2 (22.2)

**Los valores entre paréntesis son porcentajes**

**\* (Basal y/o poscarga)**

Al realizar análisis de subgrupos, excluyendo a las mujeres con TVC asociada a estado posparto, se encontró que la estimación del riesgo para niveles elevados de homocisteína y TVC no relacionada al puerperio fue hasta de 7.5 (IC 95% 2.5 a 22.2;  $P < 0.001$ ). Por otra parte, las razones de momios para TVC puerperal fueron de 3.9 (IC 95% 1.3 a 12.1;  $P = 0.02$ ). Asimismo al realizar análisis de subgrupos para determinar el papel de las vitaminas en la TVC asociada al embarazo (excluyendo TVC no puerperales), se encontró que la estimación del riesgo para niveles bajos de folatos y TVC puerperal fue hasta de 8.7 (IC 95% 2.8 a 23.7;  $P < 0.0001$ ) mientras que para la vitamina  $\beta_{12}$  de 4.4 (IC 95% 1.4 a 13.9;  $P = 0.01$ ).

## 10.0 DISCUSION

El principal hallazgo del presente estudio es que los niveles elevados en plasma de homocisteína en ayunas se asociaron en forma independiente con riesgo de trombosis venosa cerebral. El incremento en el riesgo de aproximadamente 4 veces mayor en comparación con sujetos con valores normales de homocisteína. Este hallazgo no se observó después de la carga de metionina al ajustarse por otras variables independientes. Esta discrepancia puede explicarse porque los trastornos en la vía de la remetilación del metabolismo de la homocisteína, que es dependiente de folato, vitamina  $\beta_{12}$  y la actividad de la enzima MTHFR, probablemente están principalmente afectados en nuestra población, mientras que la carga de metionina es más sensible en la detección de alteraciones en la vía de la transulfuración. El grado de asociación entre hiperhomocisteinemia y TVC encontrado en el presente estudio es similar al reportado en tromboembolismo venoso. En dos meta-análisis de los resultados de los estudios de casos y controles sobre el riesgo de tromboembolismo venoso en presencia de hiperhomocisteinemia, Ray JG<sup>63</sup> y den Heijer et al<sup>64</sup> encontraron OR globales de 2.95 y 2.5, respectivamente. La magnitud fue incluso más aparente en pacientes menores de 60 años. Las razones de momios para

tromboembolismo venoso en presencia de valores elevados de homocisteína en ayunas se incrementaron hasta 4.3 cuando los pacientes mayores de 60 años fueron excluidos del meta-análisis.<sup>63</sup> La edad promedio de los pacientes en el presente estudio fue de 28.8 años y los OR ajustados alcanzaron 4.6 para hiperhomocisteinemia basal. Asimismo, los resultados son comparables al estudio recientemente publicado por Martinelli et al,<sup>72</sup> en pacientes con un primer episodio de TVC, que documentaron la presencia de hiperhomocisteinemia (valores altos de homocisteína o incrementos en la poscarga) en 33 de 121 pacientes (27%) y en 20 de 242 controles sanos (8%), con OR de 4.2 (IC 95% 2.3 a 7.5).

Los niveles elevados de homocisteína han demostrado ser un factor notable e independiente relacionado con eventos cerebrovasculares isquémicos en la mayoría de los estudios de cohorte y de casos y controles.<sup>18,57,58,73-77</sup> Los efectos deletéreos de la hiperhomocisteinemia y enfermedad cerebrovascular isquémica parecen ser mediados principalmente a través de efectos pro-aterogénicos.<sup>78</sup> Asimismo, la probable relación causal entre concentraciones de homocisteína elevadas e isquemia cerebral se ha observado en pacientes jóvenes y niños,<sup>79-82</sup> lo que sugiere un mecanismo trombogénico más que aterogénico como causante de la enfermedad cerebrovascular en estos pacientes jóvenes. El riesgo de la asociación entre hiperhomocisteinemia leve y TVC encontrada en el presente estudio es comparable al encontrado en jóvenes y niños con eventos cerebrovasculares isquémicos. Es probable que la homocisteína promueva la trombofilia al producir daño oxidativo al endotelio, altere las propiedades coagulantes de la sangre o impida la regulación vasomotora dependiente del endotelio.<sup>58</sup>

Los niveles bajos de folatos y vitamina B12 también se asociaron con mayor riesgo de TVC. Aunque los valores de homocisteína se correlacionaron negativamente con los de folato, no se observó reducción de la estimación del riesgo de asociación al incluir en el modelo de regresión a la homocisteína, las vitaminas y la presencia de mutación MTHFR, lo cual implica que el incremento en el riesgo de TVC, que

acompaña a los niveles bajos de folatos, parece ser mediado de manera independiente. Cada vez se reconoce más que los valores bajos de ácido fólico probablemente participan directamente en el desarrollo de enfermedad cardiovascular.<sup>83</sup> Aunque la mayoría de los estudios se han enfocado en los efectos benéficos de los folatos sobre la reducción de la hiperhomocisteinemia, se han informado efectos favorables de los folatos que son independientes del metabolismo de la homocisteína.<sup>84</sup> Lo anterior podría explicar la relativamente alta frecuencia de TVC asociada al puerperio observada en nuestro medio, ya que la TVC se observa principalmente en mujeres con bajo estado socio-económico y la consecuente deficiencia nutricional. La alta frecuencia de niveles bajos de folatos correlacionó con la alta frecuencia de anemia, que también parece ser mediada por factores nutricionales y atención deficientes durante el parto. Considerando que los estudios de laboratorio se realizaron tres meses después del evento agudo de TVC, podría especularse que la frecuencia de niveles bajos de folatos y de hiperhomocisteinemia podría ser aún mayor si los estudios se llevarán a cabo durante la etapa aguda. En el estudio de Martinelli et al,<sup>72</sup> no se encontró asociación entre concentraciones bajas de vitaminas y TVC, probablemente por diferencias en las poblaciones estudiadas. La prevalencia del uso de anticonceptivos orales fue elevada en este estudio Italiano (70%), mientras que en el presente estudio hubo preponderancia de TVC puerperal. Por otra parte, Cattaneo et al,<sup>85</sup> demostraron recientemente que la deficiencia de vitaminas es común en pacientes con trombosis venosa profunda, principalmente de vitamina B6 y en menor grado de folatos, que fueron independientes de la presencia de hiperhomocisteinemia. En otros estudios no se ha encontrado asociación entre trombosis venosa y valores bajos de vitamina B12; por lo que en nuestro estudio podría ser tan solo un indicador del bajo estado nutricional de la población estudiada en nuestro medio.

Con relación a al análisis de la mutación de la enzima MTHFR, se encontró tendencia a la asociación (22% en grupo con TVC versus 10% en sujetos controles

sanos) sin alcanzar significancia estadística ( $P=0.098$ ). La ausencia de asociación podría explicarse porque se requiere un gran tamaño de muestra para demostrar la asociación debido a poder estadístico. En un meta-análisis reciente, Wald et al<sup>86</sup> revelaron mayor riesgo de trombosis venosa profunda en personas con la mutación MTHFR. La frecuencia de la mutación en nuestro estudio fue similar a la observada en la población blanca y un estudio reciente en nuestro medio por Mutchinick et al<sup>87</sup> señala que existe una mayor prevalencia de la mutación, lo cual, aunado a la alta frecuencia de niveles bajos de folatos, puede tener importantes implicaciones en el desarrollo de TVC al promover la hiperhomocisteinemia debido a la necesidad de una mayor ingesta de folatos para mantener las concentraciones de homocisteína en rango normal.<sup>88</sup> Como se aprecia en la Figura 3, los valores más altos de homocisteína se observaron en los pacientes portadores de la mutación que a su vez presentan concentraciones bajas de folatos.

Las principales limitaciones del presente estudio son las inherentes a los diseños de casos y controles. A pesar de que los casos fueron seleccionados en forma consecutiva y que los controles fueron elegidos en forma simultánea y de la misma fuente que los casos, diversos confusores potenciales nunca pueden ser eliminados por completo. Si la hiperhomocisteinemia representa realmente la causa o tan sólo la consecuencia de la trombosis venosa cerebral no puede establecerse con diseños retrospectivos como el presente estudio. Sin embargo, los diseños de casos y controles son particularmente útiles para evaluar enfermedades poco comunes como la TVC, donde la organización de estudios prospectivos y/o de intervención se vuelve muy difícil, y en cuyo caso los estudios de casos y controles resulta el único enfoque práctico para su estudio. Otra limitante fue la falta de algunas mediciones que hubieran sido deseables en el grupo control (como creatinina, otras pruebas trombofílicas, etc) que no fue posible realizar por cuestiones de presupuesto para el estudio; sin embargo, es poco probable que afectaran en forma importante los resultados finales. Por ejemplo, aunque la función renal es un determinante importante de los valores

séricos de homocisteína, aunque no se midió la creatinina sérica es muy poco probable que se hubieran incluido controles con daño renal, ya que fueron seleccionados de una población aparentemente sana en base al cuestionario aplicado. Tampoco se aplicó una historia nutricional que hubiera sido de utilidad para determinar su influencia sobre las concentraciones de homocisteína y vitaminas. Consideramos que se requieren estudios adicionales que incluyan estas variables y se conozca el curso temporal de la homocisteína y las vitaminas en mujeres con TVC puerperal.

Los hallazgos del presente estudio son consistentes con la hipótesis de que las concentraciones elevadas de homocisteína se asocian a mayor riesgo de TVC. Adicionalmente, los niveles bajos de folatos también se asociaron a mayor riesgo de TVC en nuestra población donde las bajas condiciones socio-económicas y deficiencias nutricionales probablemente contribuyan a su relativamente alta frecuencia. Con base en los resultados obtenidos en nuestro estudio y de Martinelli et al,<sup>72</sup> la medición de la homocisteína plasmática debe incluirse en la evaluación de los estados protrombóticos en el paciente que desarrolla trombosis venosa cerebral. Finalmente, a diferencia de otros tipos de trombofilias que no pueden modificarse terapéuticamente, la hiperhomocisteinemia puede tratarse en forma fácil y segura con suplementos vitamínicos a base de ácido fólico, de preferencia en combinación de cobalamina y piridoxina.

## **11. CONCLUSIONES**

1. Se documentó hiperhomocisteinemia basal en el 37.8% de los pacientes con TVC y en 22.2% en el estudio con poscarga de metionina, mientras que la frecuencia global de hiperhomocisteinemia, basal y/o poscarga, fue del 42.2%.
2. La estimación del riesgo de asociación entre hiperhomocisteinemia y TVC fue de 5.4 (IC 95% 2.2 – 13.6,  $P < 0.001$ ), que se mantiene de manera independiente al ajustar por otras variables aunque con disminución de las razones de momios.

3. Los resultados con la prueba de poscarga de metionina mostraron una tendencia a la asociación que se perdió al realizar el ajuste por otras variables independientes.
4. Se encontraron niveles bajos de folatos en 35.6% de los pacientes con TVC y niveles bajos de vitamina B12 en el 31.1%. La estimación del riesgo de asociación entre niveles bajos de vitaminas y TVC fue de 3.5 para los folatos y de 5.1 para la vitamina B12, una vez ajustados por otras variables independientes. El riesgo de asociación entre niveles bajos de folatos y TVC está mediado en parte por el efecto de la homocisteína y en parte parece ser un efecto independiente.
5. La prevalencia de la mutación de la enzima MTHFR fue del 22% en pacientes con TVC y del 11% en controles. Aunque esta diferencia no alcanzó significancia estadística, se observó una interacción genético – ambiental, ya que la elevación de la homocisteína se manifestó sobre todo en los pacientes con la mutación MTHFR y niveles bajos de folatos.

## **12. REFERENCIAS**

1. Bousser MG, Barnett HJM. Cerebral venous thrombosis. En: Mohr JP, Choi DW, Grotta JC, Weir B, Wolf PhA (Eds). Stroke: Pathophysiology, diagnosis, and management. Churchill Livingstone, New York, EE.UU., 4<sup>th</sup> Edition, 2004; pp 3102-326.
2. Estañol B, Rodríguez A, Conte G, et al. Intracranial venous thrombosis in young women. Stroke 1979;10:680-684.
3. Cantú C. Factores pronósticos de la trombosis venosa cerebral: Estudio de 78 casos. Tesis de Posgrado (Neurología). Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Universidad Autónoma de México. 1990.
4. Cantú BC, Barinagarrementeria AF. Cerebral venous thrombosis associated with pregnancy and puerperium: Review of 67 cases. Stroke 1993;24:1880-1884.

5. Deschiens MA, Conrad J, Horellou MH, et al. Coagulation studies, factor V Leiden, and anticardiolipin antibodies in 40 cases of cerebral venous thrombosis. *Stroke* 1996;27:1724-1730.
6. Cakmak S, Derex L, Berruyer M, et al. Cerebral venous thrombosis: clinical outcome and systematic screening of prothrombotic factors. *Neurology* 2003;60:1175-1178.
7. de Veber G, Andrew M, Adams C, et al, for the Canadian Pediatric Ischemic Stroke Study Group. Cerebral sinovenous thrombosis in Children. *N Engl J Med* 2001;345:417-423.
8. Rosendaal FR. Risk factors for venous thrombosis: prevalence, risk, and interaction. *Semin Hematol* 1997;34:171-187.
9. De Stefano Valerio, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management. *Blood* 1996;87:3531-3544.
10. Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000;95:1517-32
11. Rand JH and Luong T-H. Thrombophilias: Diagnosis and treatment of thrombophilia relating to contraception and Pregnancy. *Semin Hematol* 1999; 36(Suppl 4):2-9.
12. Boers GHJ, Smals AGH, Trijbels FJM, et al. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Engl J Med* 1985;313:709-715.
13. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten, et al. Hyperhomocystinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991;324:1149-1155.
14. Stampfer MJ, Malino WR, Willet WC, et al. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in USA physicians. *JAMA* 1992;268:877-881.

15. Selhub J, Jacques PF, Boston AG, et al. Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N Engl J Med* 1995;332:286-291.
16. Falcon CR, Cattaneo M, Panzeri D. High prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with juvenile venous thrombosis. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1080-1083.
17. den Heijer MD, Koster T, Blom HJ, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:759-762.
18. Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke. A Meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2015- 2022.
19. Cochran FB, Packman S. Homocystinuria presenting as sagittal sinus thrombosis. *Eur Neurol* 1992;32:1-3.
20. Chaves C, Voetsch B, Loscalzo J, Caplan L, Chavali R. Extensive cerebral venous thrombosis associated with moderate hyperhomocyst(e)inemia and successfully treated with thrombolysis. *Cerebrovasc Dis* 2002;13:214-216.
21. D'Angelo A, Selhub J. Homocysteine and thrombotic disease. *Blood* 1997;96:1-11.
22. Frost P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics* 1995;10:111-113.
23. Engbersen AMT, Franken DG, Boers GHJ., Stevens EMB, et al. Thermolabile 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* 1995;56:142-150.
24. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, et al. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693-2698.
25. Jacques PF, Boston AG, Williams RR, et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.

26. Capra, NF, Anderson, KV. Anatomy of the cerebral venous system. En Kapp, JP, and Schmideck, HH. (Eds). *The Cerebral Venous System and Its Disorders*; Grune & Stratton, Orlando, EE.UU., 1984, pp 1-13.
27. Abercrombie J. *Pathological and practical researches on diseases of the brain and spinal cord*. Edinburg: 1828;83-85.
28. Gowers WR. Thrombosis in the cerebral sinus and veins. In *a Manual of Diseases of the Nervous System*; Blakiston & Son, Filadelfia, EE.UU.; 1888; pp 834-839.
29. Scutta HS. Cerebral venous thrombosis. En Joynt RJ (De). *Clinical Neurology* (Vol 2). Lippincott-Raven; Filadelfia, EE.UU.; 1995; pp 1-67.
30. Cantú C, Arauz A, Sandoval JL, Barinagarrementeria F. Cerebral Venous Thrombosis: Clinical, neuroimaging and prognostic differences between superficial versus deep brain venous system involvement. 2005; (En preparación para publicación).
31. Zimmerman RD, Ernst RJ. Neuroimaging of cerebral venous thrombosis. *Neuroimaging Clin* 1992;2:463-485.
32. Cantú C, Rojas A, Barinagarrementeria F. Neuroimagen de la trombosis venosa cerebral: tomografía computada e imagen por resonancia magnética. *RILAN* 1997;1:23-31.
33. Buonanno F, Moody DM, Ball MR, Laster DW. Computed cranial tomographic findings in cerebral sino-cenous occlusion. *J compt ass tomog* 1978;2:281-290.
34. Villringer A, Seiderer M, Bauer WM, et al. Diagnosis of superior sagittal sinus thrombosis by three-dimensional magnetic resonance flow imaging. *Lancet* 1989;13:1086-1087.
35. Mas JL, Meder JF, Meary E. Dural sinus thrombosis: Long-term follow-up by magnetic resonance imaging. *Cerebrovasc Dis* 1992;2:137-144.
36. Barinagrrementeria F, Cantú C, Arredondo H. Aseptic cerebral venous thrombosis: proposed prognostic scale. *J Stroke Cerebrovasc dis* 1992;2:34-39. Estañol B,

- Rodríguez A, Conte G, et al. Intracranial venous thrombosis in young women. *Stroke* 1979;10:680-684.
37. Ferro JM, López MG, Rosas MJ, et al. Long-term prognosis of cerebral vein and dural sinus thrombosis. results of the VENOPORT study. *Cerebrovasc Dis* 2002;13:272-278.
38. Ferro JM, Canhao P, Stam J, et al, for the ISCVT investigators. Prognosis of cerebral vein and dural sinus thrombosis. Results of the International Study on Cerebral Vein and Dural Sinus Thrombosis (ISCVT). *Stroke* 2004;35:664-670.
39. Dahålbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:1004-1008.
40. Koster T, Rosendaal FR, de Ronde H, et al. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. *Lancet* 1993;342:1503-1506.
41. Bertina RM, Koelmean BPC, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 1994;369:64-66.
42. Ridker PM, Hennekens CH, Lindpainter K, et al. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1995;332:912-917.
43. Rosendaal FR, Koster T, Vandenbroucke JP, et al. High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). *Blood* 1994;85:1504-1508.
44. Brey RL, Coull BM. Cerebral venous thrombosis: Role of activated protein C resistance and factor V gene mutation. *Stroke* 1996;27:1719-1720.
45. Zuber M, Toulon P, Marnet L, Mas JL. Factor V Leiden mutation in cerebral venous thrombosis. *Stroke* 1996;27:1721-1723.

46. Dulli, DA, Luzzio ChC, Williams EC, Schutta HS. Cerebral venous thrombosis and activated protein C resistance. *Stroke* 1996;27:1731-1733.
47. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood* 1996;88:3698-3703.
48. Hillarp A, Zöller B, Svensson PJ, Dahlbäck B. The 20210 A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997;78:990-992.
49. Martinelli I, Sacchi E, Landi G, et al. High risk of cerebral venous thrombosis in carriers of a prothrombin-gene mutation and in users of oral contraceptives. *N Engl J Med* 1998;338:1793-1797.
50. Reuner KH, Ruf A, Grau A, et al. Prothrombin Gene G20210—A transition is a risk factor for cerebral venous thrombosis. *Stroke* 1998;29:1765-1769
51. Göttl UN, Junker R, von Eckardstein A, et al. Risk of recurrent venous thrombosis in children with combined prothrombotic risk factors. *Blood* 2001;97:858-862.
52. de Bruijn SFTM, Stam J, Koopman MMW, Vandenbroucke JP, for the Cerebral Venous Sinus Thrombosis Study Group. Case-control study of risk of CVT in oral contraceptive users who are carriers of hereditary prothrombotic conditions. *BMJ* 1998;316:589-592.
53. Mudd SH, Levy LH, Skouby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver CR, Beaudet AL, Valle D (Eds). *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. McGraw Hill, New York, 1995, pp. 1279-1327.
54. Kozich V, Kraus E, de Franchis R, et al. Hyperhomocysteinemia in premature arterial disease: examination of cystathionine  $\beta$ -Synthasa alleles at the molecular level. *Hum Mol Genet* 1995;4:623-629.

55. Kang SS, Zhou J, Wong PWK, et al. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variante of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988;43:41-421.
56. Kluijtmans LA, vanden Heuvel LPWJ, Boers GHJ, et al. Molecular genetic analysis in mild hyperhomocysteinemia: A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet* 1996;58:35-41.
57. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-1057.
58. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999;354:407-413.
59. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb Haemost.* 1999;81:165-176.
60. Fermo Y, D'Angelo SV, Paroni R, et al. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med* 1995;123:747-753.
61. Heijer MD, Blom HJ, Gerrits WBJ, et al. Is hyperhomocysteinemia a risk factor for recurrent venous thrombosis. *Lancet* 1995;345:882-885.
62. Simioni P, Prandoni P, Burlina A, et al. Hyperhomocysteinemia and deep-vein thrombosis: a case control study. *Thromb Haemost* 1996;76:883-886.
63. Ray JG. Meta-analysis of hyperhomocysteinemia as a risk factor for venous thromboembolic disease. *Arch Intern Med* 1998;158:2101-2106.
64. den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, Gerrits WBJ, Bos GMJ. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998;80:874-877.
65. Gallagher PM, Meleady R, Shields DC. Homocysteine and the risk of premature coronary heart disease: Evidence for a common gene mutation. *Circulation*

- 1996;94:2154-2158.
66. Mandel H, Brenner B, Berant M, et al. Coexistence of hereditary homocystinuria and factor V Leiden - Effect on thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:763-768.
  67. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, et al. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation* 1997;95:1777-1782.
  68. Borja VH, Muñoz SR, Bustamante P. El diseño de casos y controles en la investigación médica. *Rev Invest Clin* 1997;49:481-489.
  69. Ubbink JB, Hayward WJ, Bissbort S. Rapid high-performed liquid chromatographic assay for total homocysteine levels in human serum. *J Chromatogr* 1991;565:441-446.
  70. Camp VM, Chipponi J, Faray BA, Radioenzimatic assay for direct measurement of pyridoxol 5'-phosphato. *Clin Chem* 1983;29:632-644.
  71. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática, Censo General de Población y Vivienda 2000 (México) [[www.inegi.gob.mx](http://www.inegi.gob.mx)].
  72. Martinelli I, Battaglioli T, Pedotti P, Cattaneo M, Mannucci PM. Hyperhomocysteinemia in cerebral vein thrombosis. *Blood* 2003;102:1363-1366.
  73. Perry IK, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men. *Lancet* 1995;346:1395-1398.
  74. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European Concerted Action Project. *JAMA* 1997;277:1775-1781.
  75. Yoo J-H, Chung Ch-S, Kang S-S. Relation of plasma homocyst(e)ine to cerebral infarction and cerebral atherosclerosis. *Stroke* 1998;29:2478-2483.
  76. Eikelboom JW, Hankey GJ, Anand SS, Lofthouse E, Staples N, Baker RI. Association between high homocyst(e)ine and ischemic stroke due to large- and small-artery disease but not other etiologic subtypes of ischemic stroke. *Stroke*

2000;31:1069-1075.

77. FaBbender K, Mielke O, Bertsch T, et al. Homocysteine in cerebral macroangiopathy and microangiopathy. *Lancet* 1999;353:1586-1587.
78. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and stroke. *Curr Opin Neurol*. 2001;14:95-102.
79. Kristensen B, Malm J, Nilsson TK, et al. Hyperhomocysteinemia and hypofibrinolysis in young adults with ischemic stroke. *Stroke* 1999;30:974-980.
80. Kittner SJ, Giles WH, Macko RF, et al. Homocysteine and risk of cerebral infarction in a biracial population. The Stroke Prevention in Young Women Study. *Stroke* 1999;30:1554-1560.
81. Madonna P, de Stefano V, Coppola A, Cirillo F, Cerbone AM, Orefice G, Minno G. Hyperhomocysteinemia and other inherited prothrombotic conditions in young adults with a history of ischemic stroke. *Stroke* 2002;33:51-56.
82. van Beynum IM, Smeitink JAM, den Heijer M, Pothoff M, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia. A risk factor for ischemic stroke in children. *Circulation* 1999;99:2070-2072.
83. Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattstrom L, Boers G, Ueland P, Rubba P, Palma-Reis R, Meleady R, Daly L, Witteman J, Graham I. Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. *Circulation* 1998;97:437-443.
84. Verhaar MC, Stroes E, Rabelink TJ. Folates and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:6-13.
85. Cattaneo M, Lombardi R, Lecchi A, Bucciarelli P, MD. Mannucci, PM. Low plasma levels of vitamin B6 are independently associated with a heightened risk of deep-vein thrombosis. *Circulation* 2001;104:2442-2446.
86. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002;325:1202-1209.
87. Mutchinkick OM, Lopez MA, Luna L, Waxman J, Babinsky VE. High prevalence of

the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase variant in Mexico: a country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Genet Metab* 1999;68:461-477.

88. Gemmati D, Previati M, Serino ML, Moratelli S, Guerra S, Capitani S, Forini E, Ballerini G, Scapoli GL. Low folate levels and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase as primary determinant of mild hyperhomocysteinemia in normal and thromboembolic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1761-1767.