

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

EFFECTOS DE LA CARGA DE METIONINA EN LOS NIVELES
PLASMATICOS DE HOMOCISTEINA EN ADULTOS SANOS.
IMPLICACIONES METABOLICAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMATEUTICA BIOLOGA

PRESENTA:

PATRICIA MARTINEZ CRUZ

MEXICO, D.F

2007



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.

Jurado asignado:

Presidente: Prof. Raúl Aguilar Caballero.

Vocal: Profa. Alicia Cervantes Peredo.

Secretario: M en C. Isabel Ibarra González.

1er. Suplente Prof. Adriana Camacho Villanueva.

2o. Suplente Prof. Ma. Benita Leonor Fernández Salgado.

Este trabajo fue realizado en la Unidad de Genética de la Nutrición en el INP del Instituto de Investigaciones Biomédicas.

Asesor del tema: M en C. Isabel Ibarra González.

Sustentante: Patricia Martínez Cruz.

Quiero agradecer a Dios por haberme puesto en este camino que si bien no ha sido fácil, con su presencia ha aligerado la marcha.

Gracias mi gran amigo.

Agradezco infinitamente a las personas que formaron parte de este logro, aquellas personas que con sus conocimientos enriquecieron los míos.

Al jurado, pues de no haber tenido sus valiosas aportaciones a este trabajo, el resultado no hubiera sido el mismo.

Prof. Raúl Aguilar Caballero.

Dra. Alicia Cervantes Peredo.

M en C. Isabel Ibarra González.

De manera muy especial quiero agradecer a mi asesora Isabel Ibarra por la confianza y credibilidad tan grandes que pusiste en mí, por el entusiasmo y dedicación en este proyecto, y por el apoyo que me has brindado siempre...

Gracias Isabel.

Al Dr. Abraham Majluf.

Investigador titular B de la Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasis y Aterogénesis del Hospital General Regional Gabriel Mancera por su apoyo y gran aportación a este trabajo ya que de no contar con él este proyecto hubiera sido casi imposible.

A la Dra. Vela: por darme la oportunidad de trabajar con ella, por todo su apoyo y confianza brindados y por ser un ejemplo a seguir en todos los aspectos de la vida.

Gracias Dra. Vela.

Un agradecimiento muy especial a la Unidad de Genética de la Nutrición, Joel, Martita, Claudia, Arturo, Sr. Roberto, Sra. Tere, Matías, Blanquita, Salvador, Violeta, etc. por brindarme su apoyo y por las sugerencias a este trabajo.

Gracias.

También quiero agradecer a aquellas personas que con su presencia me engrandecieron como ser humano.

A mis Padres:

Por fomentar día a día el deseo de llegar a este momento y con amor, dedicación y esfuerzo logre alcanzar la meta, porque con su paciencia y cariño me enseñaron a amar, y con su perseverancia, dedicación y esfuerzo me enseñaron a luchar y lograr metas.

Gracias Papito, Gracias Mamita.

A mi familia:

Pastor, María, Lyn, Wif, Xochitl, Tita, Paz, Jared y Natanael por ser coparticipes conmigo de este andar, a mis papas por se los impulsores de este sueño, mis hermanas por compartir desvelos, alegrías, tristezas, por entender ausencias y disfrutar triunfos; a mis sobrinos porque con su llegada trajeron mas alegría en mi vida.

Gracias, son lo mejor que hay en mi vida...

A mis amigos:

Montse, Ru y Sol, empezamos compartiendo un salón de clases, un laboratorio, una escuela, un sueño; terminamos compartiendo una vida...

Gracias mis cuasi hermanos.

En mi andar por esta escuela tuve la fortuna de conocer a muchas personas que fueron y siguen siendo importantes porque con ellas compartí momentos de enojo, tristeza, alegría, momentos que siempre vivirán en la memoria de los recuerdos; Gracias a toda la banda de la zona del terror, y a la banda de la reja amarilla.

A Marisa

Por el apoyo que me brindaste siempre e incondicionalmente así como la confianza y comprensión, pero sobre todo gracias por tu amistad y por darme la oportunidad de convivir con tu familia tan hermosa, Iván, Kari y Keko.

Gracias...

Al equipo de fútbol.

Ale, Toy, Pati, Sol, Montse, Gis, Nadia, Adriana, Rosario, Chio, Ross, a los entrenadores el Tala y Ray, con ustedes tuve la oportunidad de conocer la otra parte del ser universitario y de disfrutar momentos de derrota pero con ello valorar los momentos de gloria y porque mas que ser un equipo de fútbol formamos un equipo de compañerismo y amistad.

Gracias...

A mi Universidad UNAM

Por darme la fortuna de realizar sueños, conocer personas tan valiosas pero sobre todo por darme las herramientas para aprender, crecer y enriquecer mi persona y porque simplemente de no existir nada de esto hubiera sido posible...

Orgullosamente UNAM.

Love truth and pardon error, but don't built truths on lies...

Voltaire and anónimo.

INDICE

Resumen	3
Homocisteína	
Generalidades	6
Metabolismo de la Homocisteína	
Remetilación	8
Transulfuración	11
Regulación del metabolismo de la Homocisteína	11
Regulación por nutrimentos	12
Hiperhomocisteinemia	12
Causas de la hiperhomocisteinemia	13
Defectos genéticos en el metabolismo de la homocisteína	14
Deficiencias nutricionales	15
Otras causas de la hiperhomocisteinemia	16
Hiperhomocisteinemia y enfermedades vasculares	
Hiperhomocisteinemia y enfermedades vasculares	18
Posibles mecanismos de HHC como un factor de riesgo independiente de enfermedades vasculares.....	20
Prueba de la postcarga de metionina	
Prueba de la postcarga de metionina	21
Justificación	23
Hipótesis	24
Objetivos	25
Metodología	26
Material para la cuantificación de homocisteína	30
Procesamiento de la muestra	31
Resultados	34

Discusión	42
Conclusiones	50
Perspectivas	52
Bibliografía	53

**EFFECTO DE LA CARGA DE METIONINA EN LOS NIVELES
PLASMATICOS DE HOMOCISTEINA EN ADULTOS.
IMPLICACIONES METABOLICAS.**

RESUMEN.

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido azufrado no proteico, que se sintetiza en el organismo a partir de la metionina, es el producto intermedio de este aminoácido y la cistina, metabolizada por dos vías principalmente: 1) La transulfuración por medio de la cual es catabolizada a cistationina, la enzima principal de esta vía es la Cistationina- β - sintasa, y 2) por la vía de la remetilación, en la cual es remetilada a metionina participando la metionina-sintasa. Existe una vía menor en la que interviene la betaína-homocisteína metiltransferasa. La vía de la remetilación requiere de vitamina B₁₂ y de ácido fólico como cofactores, y se ve favorecida cuando la dieta es deficiente de proteínas, inhibiendo la vía de la transulfuración. Ésta vía se activa cuando el organismo requiere de la síntesis de cisteína o cuando hay un exceso de metionina, tiene como cofactor al piridoxal -5- fosfato o vitamina B₆. En condiciones en las que hay un exceso de cisteína, la Hcy es oxidada hasta taurina y sulfatos inorgánicos para ser excretada por la orina.

La Hcy la podemos encontrar en diversas formas en la circulación sanguínea, teniendo una concentración de Homocisteína total (Hcy_T) de 10 – 15 $\mu\text{mol/l}$, este valor puede verse elevado por múltiples factores ocasionando una hiperhomocisteinemia (HHC),

teniendo consecuencias severas en el organismo. Desde 1968 Carey y sus colaboradores, al describir el cuadro clínico de nueve pacientes homocigóticos con homocistinuria clásica, destacaron las complicaciones aterotrombóticas de aparición temprana, KS McCully y cols (1968) plantean la hipótesis de que la HHC puede tener relación causal con la aterosclerosis. Esto ha llevado a diversos investigadores a tratar de encontrar el mecanismo por el cual se desarrollan las enfermedades vasculares en personas que presentan elevación en los niveles de este aminoácido y a tratar de determinar si esto constituye un factor de riesgo.

En este estudio se evaluaron los niveles basales de Hcy_T y el efecto de una carga oral de metionina sobre estos. Para ello se realizó un estudio en una población de individuos nacidos en México, que incluyó a 85 mujeres y 60 hombres, con edad entre los 18-77 años, sin antecedentes de enfermedades vasculares y clínicamente sanos. Se determinó la concentración de Hcy_T plasmática pre y post carga de metionina por CLAR (cromatografía de líquidos de alta resolución) con detección de fluorescencia, los niveles basales de vitamina B₁₂, y de ácido fólico ambos por ensayos quimioluminiscentes.

El valor medio de Hcy_T plasmática basal obtenido en este estudio fue de 10.89 μmol/L (1.61-87.96 μmol/L), el 80% de la población presento valores de Hcy_T plasmática basal menor o igual que lo reportado en la bibliografía (<15 μmol/L), el 20% restante presentó HHC (> 15 μmol/L). Al igual que lo reportado en la bibliografía

observamos que la edad es un factor que influye en estos valores, siendo la población mayor de 60 años los que presentaron los valores más elevados. En cuanto al género, en la población de estudio, existe diferencia significativa entre el género masculino y el género femenino ($p= 0.0899$). Todos los individuos presentaron niveles de ácido fólico y vitamina B₁₂ dentro del intervalo de referencia. Después de la administración de la carga de metionina el valor medio de la concentración de Hcy_T fue de 38.89 $\mu\text{mol/L}$ (11.85- 177.82 $\mu\text{mol/L}$).

ANTECEDENTES

1. Homocisteína.

1.1 Generalidades.

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido azufrado no proteico, es formada a partir del aminoácido esencial metionina la cual es la principal fuente de los átomos de azufre de las proteínas. La homocisteína plasmática total (Hcy_T) la podemos encontrar en las formas reducidas de Hcy libre que corresponden a un 30% del total, en este 30% está incluida la Hcy en su forma reducida, el 70% restante está conformado por las formas oxidadas, ya sea como; homocistina, o como mezcla de disulfuros, Homocisteína-cisteína, o también homocisteína- proteína ¹, fig 1.

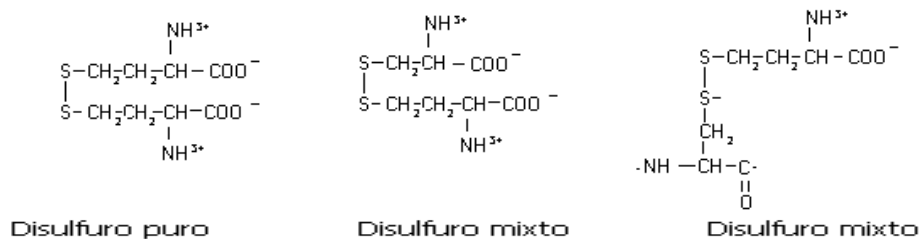


Fig 1. Formas en la que se puede encontrar a la Hcy en el organismo.

La Hcy se ubica en un punto importante de ramificación metabólica, puede ser convertida en cistationina a través de la vía de la transulfuración o metilada para formar metionina ² fig 2.

1.2 Metabolismo de la homocisteína.

1.2.1 Remetilación.

La Hcy es metilada en mamíferos por medio de la betaína o por 5-metiltetrahydrofolato como donadores del grupo metilo. La metilación dependiente de betaína (a su vez formada del metabolismo de la colina) es catalizada por la enzima betaína – homocisteína metiltransferasa ³. La betaína – homocisteína es una vía menor de remetilación que trabaja independiente de folatos y cobalamina, ésta usa la conversión de betaína a N,N dimetilglicina, la betaína actúa como donador del grupo metilo, y se deriva de la colina que se obtiene de la dieta o es sintetizada en el organismo, esta reacción es catalizada por la betaína – homocisteína metiltransferasa, y se lleva a cabo principalmente en hígado y riñón en el humano, cuando hay deficiencias de folatos y cobalamina esta vía se encarga de mantener la concentración en tejidos de metionina necesaria para la síntesis de SAM ¹.

La metilación de la Hcy teniendo como donador del grupo metilo al 5-metiltetrahydrofolato es catalizada por la enzima N⁵-metiltetrahydrofolato-homocisteína metiltransferasa (metionina sintasa),¹ el 5-metiltetrahydrofolato es generado a partir de 5,10-metilentetrahydrofolato por la enzima metilentetrahydrofolato reductasa (MTHFR).¹

Una gran proporción de la metionina formada, es convertida a S-adenosilmetionina (SAM) por la enzima dependiente de ATP metionina S-adenosiltransferasa. SAM actúa principalmente como donador de grupos metilo en gran variedad de reacciones de

transmetilación originando compuestos metilados como son la creatinina, y DNA metilado. El coproducto de estas reacciones de transmetilación la S-adenosilhomocisteína, es hidrolizado por la enzima S-adenosilhomocisteína hidrolasa, regenerando la Hcy .⁴

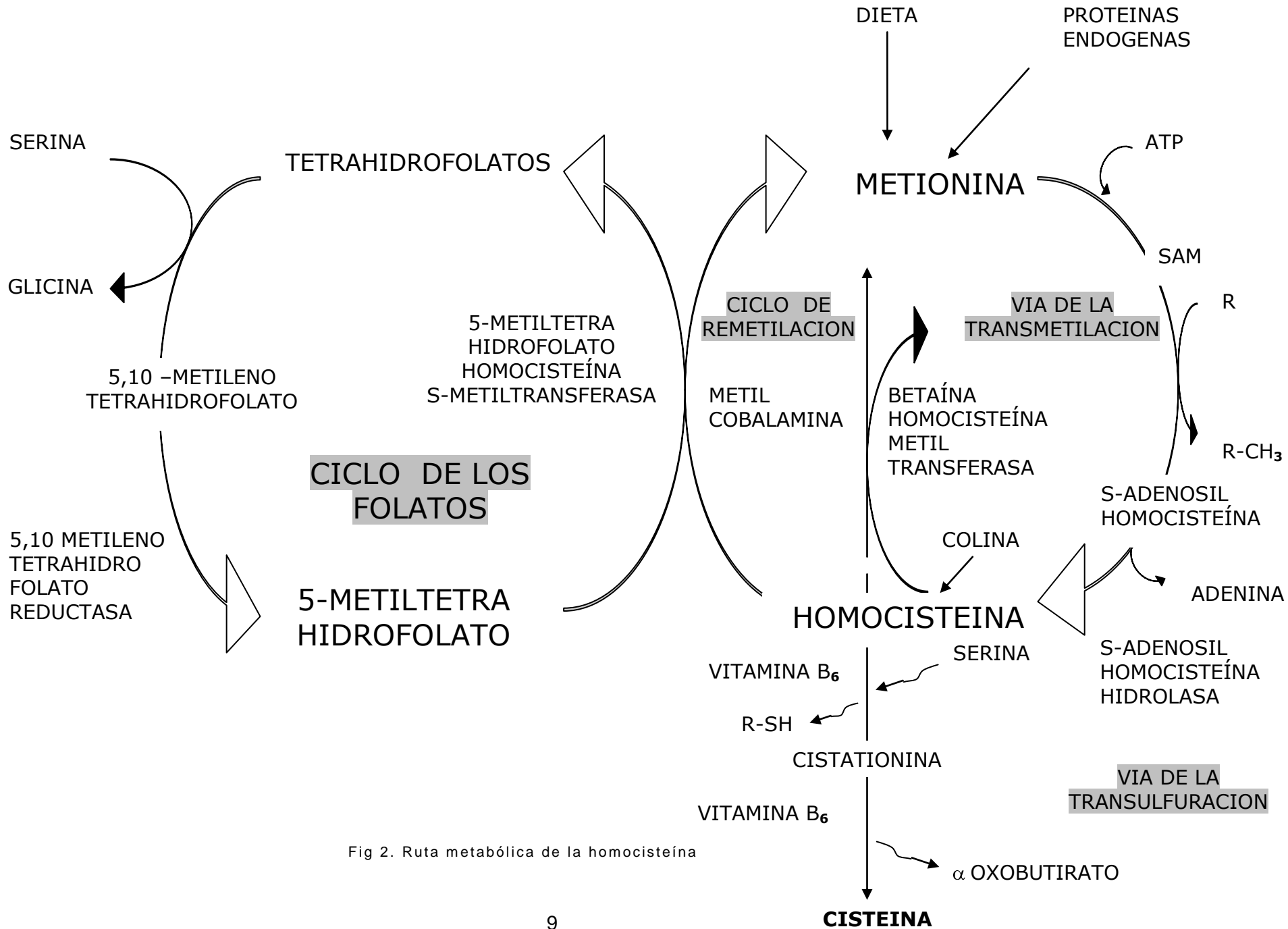


Fig 2. Ruta metabólica de la homocisteína

1.2.2 Transulfuración

La ruta principal de la Hcy es su condensación con serina para formar la cistationina, reacción catalizada por la cistationina β -sintasa (CBS), enzima dependiente de piridoxal 5-fosfato (vitamina B₆), la cistationina es segmentada a cisteína y α -cetobutirato, reacción catalizada por la enzima dependiente de piridoxal- 5-fosfato, γ cistationasa. El exceso de cisteína es oxidado a taurina, sulfatos inorgánicos o excretado por la orina.⁵

1.3 Regulación del metabolismo de la homocisteína.

El organismo es capaz de discriminar entre las rutas de remetilación y transulfuración, y así adaptarse a las diferentes cantidades de metionina contenidas en la dieta. La coordinación entre estas dos rutas se lleva a cabo mediante dos mecanismos: El primer mecanismo se debe a la capacidad de SAM para actuar como inhibidor alostérico de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y como activador de la enzima ciststionin- β - sintasa, esto implica que SAM suprime la síntesis de un sustrato importante (N-5 metiltetrahidrofolato) requerido para la ruta de la remetilación, y promueve la reacción inicial de la transulfuración (síntesis de cistationina). El segundo mecanismo consiste en la regulación de la concentración intracelular de SAM. En el hígado, la síntesis de SAM es catalizada por dos grupos de isoenzima: el primer grupo presenta gran afinidad por la metionina, y se cree que actúa bajo condiciones fisiológicamente normales, en

tanto que el segundo grupo posee menor afinidad por la metionina, y probablemente es activado cuando existe un alto consumo de este aminoácido.⁴

Stead y colaboradores (2004) sugirieron que la demanda de la metilación impuesta por sustratos fisiológicos y farmacológicos, juegan un papel importante en la regulación de la formación de Hcy y exportación al espacio extracelular, el hígado es el órgano más importante en la regulación de este aminoácido, dado que el 75% de las reacciones de transferencia de grupos metilo tienen lugar en este órgano.⁶

Regulación por nutrimentos

Diversos estudios han mostrado que las deficiencias de cobalamina y de folato en la dieta inducen una elevación moderada o intermedia de los niveles de Hcy, esto es lógico si tenemos en cuenta la participación de dichas moléculas en el metabolismo de la Hcy, actuando como cofactores.¹

En el caso de la Vitamina B₆ se ha visto que sólo una deficiencia severa y prolongada es capaz de alterar los niveles basales de Hcy, esta deficiencia también altera los valores de Hcy después de una carga oral de metionina, alterando la actividad de la CBS, otra situación en la que se ven alterados los niveles de Hcy es en el caso de individuos con niveles de folatos óptimos con un exceso de metionina y una deficiencia de Vitamina B₆, en estas circunstancias se ve disminuida la movilización del folato intracelular en la vía de la

remetilación ocasionando una elevación de la Hcy en el plasma, esto puede ser resultado de la saturación de la vía catabólica de dicho aminoácido.¹

2. Hiperhomocisteinemia.

La concentración de Hcy_T en plasma es de 5-15 μmol/l en sujetos normales.^{1,7-11} La (hiperhomocisteinemia) HHC es el resultado metabólico de la interacción entre factores genéticos, dietéticos y hormonales. Además existen otros factores como enfermedades sistémicas y fármacos que igualmente contribuyen a su aparición. Kang y colaboradores (1983) la clasifican como; moderada 15-30 μmol/l, intermedia de 31-100 μmol/l, y severa >100 μmol/l^{1, 12}.

2.1 Causas de la hiperhomocisteinemia.

Defectos genéticos en el metabolismo de la homocisteína.

Deficiencia de cistationina β -sintasa (CBS): Esta es una alteración de la vía de la transulfuración. El gen *CBS* ha sido localizado en el cromosoma 21(21q22.3). El patrón de herencia es autosómico recesivo, con frecuencia de 1:200 000 para homocigotos y de 1: 70 a 1:200 en heterocigotos. Esta es la causa más frecuente de HHC más grave, la forma homocigota de la enfermedad (homocistinuria congénita) puede asociarse con concentraciones de Hcy_T en ayuno mayor de 400 $\mu\text{mol/l}$. Las manifestaciones clínicas incluyen ectopia *lentis*, alteraciones esqueléticas, retraso mental, tromboembolismo y aterosclerosis prematura grave.

Los heterocigotos para esta deficiencia enzimática tienen concentraciones menores de Hcy_T plasmática, entre 20-40 $\mu\text{mol/l}$.^{8,}

13

Deficiencias de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR): Este es un defecto de la vía de la remetilación, si bien la HHC provocada por la deficiencia de MTHFR es menos grave que la debida a la deficiencia de CBS, el pronóstico es peor por la falta de respuesta al tratamiento. La mayoría de los pacientes con deficiencia de MTHFR tienen además, disminuida la concentración sérica de metionina, pero sin llegar a desarrollar anemia megaloblástica. Se han descrito dos variantes enzimáticas de la MTHFR (proteína de 40kDa): la termoestable y la termolábil. En la primera, heredada con carácter

autosómico recesivo, el gen se localiza en el cromosoma 1 (1p36.3) y se han descrito nueve mutaciones puntuales. De mucho mayor importancia es la variante termolábil, considerada la forma genética más común de HHC y resultante de una mutación puntual (C677T) que conduce a la sustitución de alanina por valina.¹ La frecuencia de la mutación homocigota para la variante C677T varía dependiendo la población estudiada desde 1.4% en población negra, 12-15% en Europa y el Medio Oriente, en América, México ha sido el país con la mayor prevalencia de éste genotipo (TT) con una frecuencia del 32%.¹⁴ Se ha postulado que la deficiencia ocasionada por la presencia de la variante termolábil es un factor de riesgo para enfermedad coronaria,^{5, 13, 16} hasta 42% de los pacientes con enfermedad vascular cerebral isquémica, 28% con enfermedad arterial periférica y 30% con enfermedad coronaria han presentado en plasma niveles elevados de homocisteína.³³

Deficiencias nutricionales.

Es de particular interés revisar la relación entre deficiencias nutricionales e HHC, debido a la alta prevalencia de desnutrición que existe en México, desde este punto de vista, es factible que exista gran cantidad de casos con HHC leve o moderada, ya que es posible que los cofactores requeridos en el metabolismo de la Hcy, tal como el ácido fólico y las Vitamina B₆ y B₁₂ no se encuentran en las concentraciones óptimas. Está bien demostrado que existe una asociación no lineal e inversa entre la concentración de Hcy_T y la de folato plasmático, así como con la ingesta de dicha vitamina.^{10, 30}

La deficiencia de vitamina B₆ se asocia primariamente con HHC posterior a una carga oral de metionina (COM), la mayoría de los casos de HHC son atribuibles a concentraciones séricas bajas de ácido fólico, puesto que esta deficiencia ocurre con mayor frecuencia que la deficiencia de vitamina B₁₂.^{10, 30}

2.2 Otras causas de hiperhomocisteinemia.

Existen otras razones que no se relacionan con el metabolismo de la Hcy directamente, pero que afectan sus niveles en la circulación, dentro de estos factores tenemos; la edad, el estilo de vida, el género, algunas patologías tales como las enfermedades crónicas renales, el hipotiroidismo, la anemia perniciosa, diferentes tipos de cáncer, y la administración de algunos medicamentos, estos factores al combinarse con los factores genéticos y las condiciones fisiopatológicas del paciente, interfieren en el metabolismo de la Hcy.¹

La enfermedad renal crónica afecta los niveles de este aminoácido, aún no está claro si la HHC se debe a una reducción en los niveles de excreción o a la alteración del metabolismo del aminoácido en las células renales, el caso es que en estos pacientes los niveles de Hcy se elevan de dos a cuatro veces. El hipotiroidismo es otra enfermedad en la que se ven alterados los valores de Hcy, aunque aún no existe una explicación clara para dicho incremento. En los pacientes con anemia perniciosa se presenta una elevación de este aminoácido debido a que estos pacientes presentan una mala absorción de la

cobalamina, que como ya se ha mencionado es cofactor en la vía de la remetilación de la Hcy. El cáncer de mama ovarios páncreas y leucemia linfoblástica, son otras patologías en las que se ha encontrado una HHC, en las células cancerosas el metabolismo de dicho aminoácido se ve nulificado.¹²

Se ha visto que bajo condiciones fisiológicas normales y al paso del tiempo, los niveles de Hcy se van incrementando gradualmente en sangre, adicional a esto, se ha observado que en hombres los niveles de Hcy son más altos que en mujeres premenopáusicas, dejando evidencia clara de que los niveles de Hcy están influenciados con el genero. ^{1, 17} Esto puede ser por las diferencias que existen entre las vías metabólicas de la remetilación y de la transulfuración, siendo en mujeres más eficiente la vía de la remetilación y en hombres resulta más eficiente la vía de la transulfuración.¹⁸ Las terapias de reemplazamiento hormonal también afectan los niveles de Hcy plasmática, se ha observado que este aminora el incremento de la Hcy después de la menopausia.¹

Otras causas de HHC es el consumo de algunos fármacos entre los cuales están: Metotrexate, que tiene una potente acción inhibitoria de la enzima folato reductasa; la fenitoína; es un fármaco que interfiere en el metabolismo del folato; la teofilina puede causar HHC por interferir en la síntesis de fosfato de piridoxal, la forma coenzimatica de la Vitamina B₆, se ha sugerido que el colestipol y el ácido nicotínico alteran los niveles de Hcy debido a que provocan una alteración en el proceso de absorción de los folatos.¹²

Algunos hábitos como el tabaquismo y el alto consumo de café se asocian con un incremento en los niveles plasmáticos de Hcy, quizá por interferencia con la síntesis del fosfato de piridoxal.

El alcoholismo crónico también se ha considerado como causante de HHC, probablemente por las deficiencias nutricionales que le acompañan.⁹

3. Hiperhomocisteinemia y enfermedades vasculares.

Las enfermedades vasculares tienen una etiología múltiple, como consecuencia de diversos factores de riesgo tales como el tabaquismo, la hipertensión arterial, las concentraciones sanguíneas de colesterol elevadas, la intolerancia a la glucosa, la obesidad y la inactividad física, entre otros. Sin embargo, fuertes evidencias en estudios recientes muestran a la HHC moderada como un factor de riesgo independiente en el desarrollo de enfermedades vasculares.^{19, 54, 55}

Una elevación moderada de Hcy en sangre ocurre en 30% de pacientes con enfermedad arterial coronaria y el 42% de pacientes con enfermedad cerebro vascular ²⁰. En 1968, Carey y otros, habían destacado las implicaciones aterotrombóticas de aparición temprana al describir el cuadro clínico de 9 pacientes con homocisteinuria I. En 1969 KS McCully plantea la hipótesis de que la HHC puede tener una relación causal con la aterosclerosis. De estas fechas a la actualidad se han realizado un gran número de estudios tratando de aclarar dicha relación, más de 80 estudios de carácter epidemiológico con enfoque de riesgo confirman esta relación, pero lo que queda por esclarecer es

sí la HHC es un factor de riesgo causal o un elemento acompañante de la aterosclerosis ⁹.

Dentro de los mecanismos propuestos para esclarecer el papel de la Hcy como causante o agravante de las enfermedades vasculares, se incluye; daño endotelial, reducción de la producción de óxido nítrico y biodisponibilidad, un efecto mitótico sobre las células del músculo liso, una influencia sobre el comportamiento de los leucocitos y la hemostasis, además de modificar el estado oxidativo de las lipoproteínas de baja densidad, ^{21,22}.

3.1 Posibles mecanismos de HHC como un factor de riesgo independiente de enfermedades vasculares

El mecanismo por el cual la Hcy causa disfunción endotelial es probablemente mediado por el estrés oxidativo ⁹. La disfunción endotelial es caracterizada por un cambio en las funciones del endotelio que lleva a una reducción de la vaso dilatación, a un estado pro inflamatorio y protrombotico. Este daño endotelial está asociado con varias enfermedades vasculares, el mecanismo incluye la reducción de la generación de óxido nítrico, decremento en la producción del factor de hiperpolarización y un exceso de estrés oxidativo.¹²

En el plasma la Hcy es rápidamente autoxidada a disulfuros mixtos, homocistina y Hcy tiolactona, generando potentes especies reactivas de oxígeno, incluyendo superóxido, peróxido de hidrógeno y el anión hidroxilo, estos radicales generan daño endotelial, peroxidación de los

lípidos de las lipoproteínas plasmáticas, fundamentalmente de las de baja densidad con la formación de hidroxicolesteroles altamente aterogénicos, degradación de ácidos grasos polinsaturados, y la formación de lisolecitina y modificación de los residuos de lisina de la Apo B100 con los consiguientes efectos citotóxicos y aterogénicos.⁹

Por otro lado la Hcy tiolactona que se produce en cantidades mínimas, puede llevar a dos situaciones:

- Combinación con moléculas de LDL, lo que conllevaría a captación y agregación por macrófagos de la ínfima arterial y las células espumosas de las placas de ateroma en formación.
- Conjugación con proteínas intracelulares de la secreción, por acilación de restos de lisina conduciendo a alteraciones del metabolismo oxidativo, reforzando el daño oxidativo y cambios fibroticos y proliferaticos de las células de músculo liso de la pared vascular.¹²

Estas son solo algunas propuestas que se han hecho en cuanto a la relación hiperhomocisteinemia- enfermedades vasculares, pero aún falta por elucidar un mecanismo fisiopatológico que lleve a una clara explicación de esta relación, sin embargo existen fuertes evidencias de que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente de dichas enfermedades.¹²

4. Prueba de la post carga oral de metionina (COM).

El procedimiento consiste en medir la Hcy_T plasmática después de una noche de ayuno y seis horas posteriores a la administración de una dosis estándar de metionina (100 mg/kg de peso corporal) la dosis representa de 3-4 veces el promedio de ingesta diaria,²⁵ este método es sensible para determinar alteraciones en la vía de la transulfuración para la detección de heterocigotos para homocistinuria. En sujetos sanos la COM induce un aumento transitorio de la concentración plasmática de Hcy libre y unida a proteínas, con un pico máximo entre cuatro y ocho horas, una prueba con COM se considera anormal cuando la Hcy_T plasmática se encuentra arriba de dos desviaciones estándar del valor basal,^{23,24, 25} hasta un 50% de sujetos con HHC pueden ser detectados solamente con la prueba de la post carga de metionina, estos sujetos tienen valores de Hcy_T basal normales.²⁶

Estudios de casos y controles sugieren que el riesgo de presentar trombosis venosa o enfermedad vascular aterosclerótica, se presenta cuando la concentración de Hcy_T COM se incrementa a 36 y 38 μmol/L respectivamente.²⁵

JUSTIFICACION.

Un creciente acumulo de evidencia en la literatura indica que el metabolismo de la Hcy está influenciado por factores genéticos, nutricionales, estado de salud y estilo de vida. En México no se han realizado estudios de investigación referentes al comportamiento de este aminoácido y su alteración por dichos factores. Por tal motivo en este trabajo se pretende estudiar los valores de Hcy en adultos sanos nacidos en México, determinar el efecto que tiene una carga oral de metionina sobre los niveles plasmáticos de Hcy_T, y evaluar los valores de Hcy_T basal plasmática en función de los niveles plasmáticos de vitamina B₁₂ y los de ácido fólico.

HIPOTESIS:

La concentración plasmática de Hcy_T en adultos sanos nacidos en México es similar a la descrita para otras poblaciones.

Al administrar a sujetos sanos nacidos en México una carga oral de metionina los niveles plasmáticos de Hcy_T se elevarán, cuyo incremento pudiera ser dependiente de sus niveles plasmáticos de ácido fólico y de vitamina B₁₂.

OBJETIVOS:

- Determinar los valores de Hcy_T en muestras de sujetos sanos nacidos en México y compararlos con los de otros estudios en diferentes poblaciones.
- Evaluar el efecto de una carga oral de metionina en los niveles plasmáticos de Hcy_T basal.
- Determinar el efecto de la concentración plasmática de vitamina B₁₂ y ácido fólico en los niveles basales de Hcy_T plasmática y poscarga de metionina.

METODOLOGÍA:

Se realizó un estudio transversal, descriptivo, ciego simple, en adultos sanos nacidos en México de diferentes centros de atención médica.

Variables.

Dependientes:

- Concentración plasmática de Hcy_T.

Independientes:

- Edad del sujeto en estudio
- Sexo del sujeto en estudio
- Concentración plasmática de vitamina B₁₂
- Concentración plasmática de folato

De control

- No requeridas en el estudio

Descripción operacional de las variables:

- Concentración plasmática de Hcy_T: Valor del aminoácido Hcy en el plasma después de su análisis por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR), expresado en una escala cuantitativa ordinal: μM de Hcy plasmática.

- Edad del sujeto de estudio: Edad al momento de la toma de la muestra plasmática, expresado en una escala cuantitativa ordinal: años de vida.

- Sexo del sujeto de estudio: expresado en una escala cualitativa nominal : masculino; femenino

- Concentración plasmática de vitamina B₁₂: Valor de la vitamina B₁₂ después de su análisis por un método enzimático; expresado en una escala cuantitativa ordinal: pg/ml de vitamina B₁₂.

- Concentración plasmática de folato: Valor de folato después de su análisis por un método enzimático; expresado en una escala cuantitativa ordinal: ng/ml de folato.

Selección de la muestra

- Tamaño: Por ser un estudio descriptivo no se requiere de cálculo de tamaño de la muestra.
- Grupo de estudio: Adultos sanos nacidos en México.
- Criterios de inclusión. Adultos sin enfermedad conocida (sanos), de ambos sexos.
- Criterios de NO inclusión: Cualquier tipo de patología conocida o diagnosticada en el interrogatorio directo.
- Criterios de exclusión: No aceptación del paciente para ingresar al estudio.

Procedimiento.

Una vez que seleccionados para el estudio y previo consentimiento escrito los adultos sanos fueron puncionados para la obtención de sangre total. De cada uno se obtuvieron en ayuno 3ml de sangre en tubos de vidrio con EDTA (9:1 v/v), las muestras fueron inmediatamente centrifugadas a 2, 000 G por 10 min a 4°C para obtener el plasma pobre en plaquetas, las muestras fueron inmediatamente almacenadas a -80°C hasta su procesamiento. Se analizó además la concentración de Hcy_T

después de una carga oral de metionina (COM), de cada adulto se obtuvieron otros 3ml de sangre en tubos de vidrio con EDTA (9:1 v/v), 6 horas después de recibir una COM (0.1g/kg de peso corporal, dosis única). Estas muestras también fueron inmediatamente centrifugadas a 2, 000 G por 10 min a 4°C para obtener el plasma pobre en plaquetas, las muestras fueron inmediatamente almacenadas a -80°C hasta su procesamiento.

Las determinaciones de ácido fólico se hicieron por medio de un kit Beckman Coulter 33010 Acces Folate, para la determinación de la vitamina B₁₂ se utilizó un kit Beckman 33000 Acces Vitamin B₁₂, inmunoensayos quimioluminiscentes, ambas determinaciones se realizaron en la Unidad de Epidemiología del Hospital General Regional “Gabriel Mancera” del Instituto Mexicano del Seguro Social.

La Hcy_T fue cuantificada utilizando la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), con detección por fluorescencia, siguiendo las recomendaciones de Refsum y colaboradores ⁵. Estas determinaciones se realizaron en la Unidad de Genética de la Nutrición INP-IIB.

Material para la cuantificación de homocisteína.

Reactivos:

Ácido homocisteíco

Ditioeritritol (DTE)

Ácido perclórico 6% v/v

Ácido iodoacético en ácido perclórico 50mM

Hidróxido de sodio 3M

Oftaldialdehído (OPA)

L- Homocistina.

Todos los reactivos fueron adquiridos en la casa comercial Sigma-Aldrich.

Equipo.

Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Waters 2690
Separations Module

Detector de fluorescencia Waters 474

Columna Phenomenex Kingsorb 150 x 4.6 mm ID 3 μ m

La detección de Hcy se hizo a una longitud de onda de excitación de 338 nm y una longitud de onda de emisión de 425 nm.

Procesamiento de la muestra

A una alícuota de 100 μl de plasma se adicionaron 20 μl del estándar interno, 20 μl de DTE como agente reductor, ésta mezcla se agitó y se dejó incubar por 10 minutos a temperatura ambiente, se adicionaron 300 μl de ácido iodoacético en ácido perclórico para precipitar las proteínas y carboxilar la Hcy, se agitó nuevamente y se centrifugó a 15000 rpm/ 10 min a 22°C, se filtró la muestra con filtros de 0.05 μm , a 100 μl del sobrenadante se le agregaron 30 μl de hidróxido de sodio 3M y se mezcló, se adicionaron 20 μl del derivatizante, utilizando 10 μl de volumen de inyección.

Condiciones cromatográficas.

Fase móvil:

Disolvente A: Amortiguador de fosfatos 0.02mM (pH 7.0): tetrahidrofurano: agua; 91:5:4.

Disolvente B: Amortiguador de fosfatos 0.02mM (pH 7.0): acetonitrilo: agua; 40:5:55

Condiciones de gradiente:

Tiempo (min.)	%A	%B
0	78	22
7.0	70	30
7.5	0	100
13	0	100

Temperatura de la columna: 40°C

Temperatura de la muestra: 4°C

Curva estándar:

Se realizó una curva patrón, con las siguientes concentraciones: 3, 12, 20, 40 y 50 μM de un estándar de L-Homocisteína en medio plasmático.

Análisis estadístico

Se describen las características generales del grupo estudiado mediante pruebas de estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión de variables cuantitativas y con frecuencias simples en números absolutos y relativos para variables categóricas. Para la evaluación de la diferencia entre géneros se aplicó una prueba no paramétrica, prueba de la suma de rangos de Wilcoxon ², a un nivel de confianza de 0.05; para evaluar la dependencia entre los valores de Hcy_T y la edad se aplicó una prueba de Tukey a un nivel de confianza de 0.05. Para evaluar la dependencia de la Hcy respecto a la concentración de los cofactores ácido fólico y vitamina B₁₂, se hizo por determinación del coeficiente de correlación.

RESULTADOS:

Este estudio se llevó a cabo en una población de adultos sanos nacidos en México, se estudiaron un total de 145 individuos; 85 mujeres, 60 hombres, en edades comprendidas entre 18 y 77 años, con una media general de 35.26 años, para los hombres la media fue de 34.48 años con un intervalo de 18 a 72 años y para las mujeres la media fue de 35.82 años con un intervalo de 18 a 77 años

La cuantificación de Hcy_T se hizo mediante CLAR, en la fig 3 se muestra un cromatograma obtenido en esta determinación.

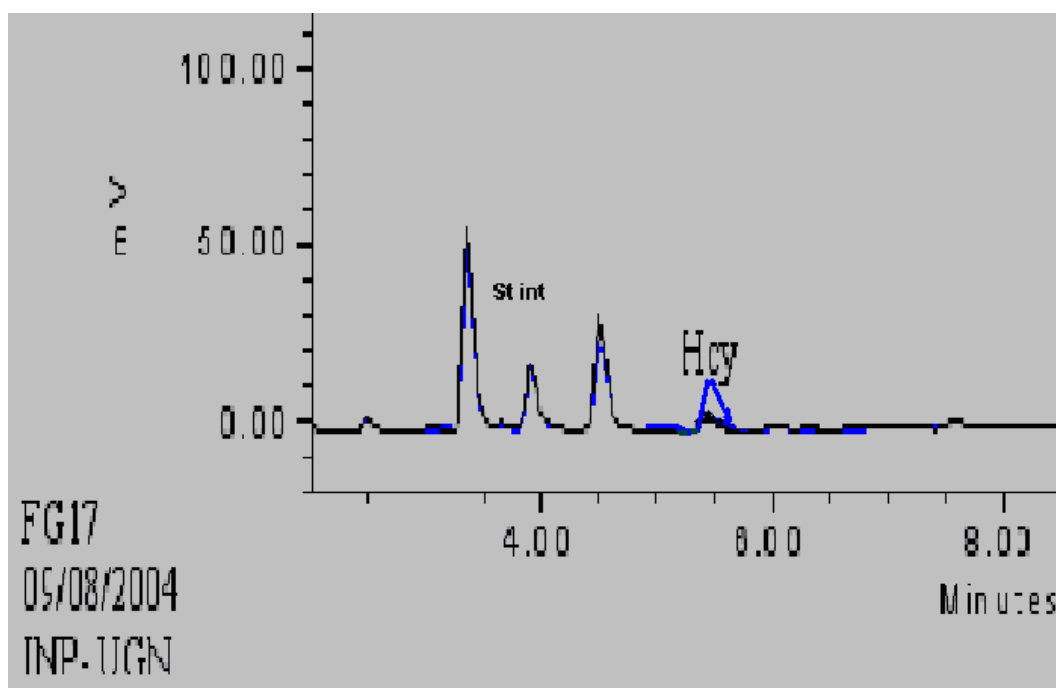


Fig 3. Cromatograma de la determinación de Hcy mediante CLAR

La curva de calibración para este aminoácido (Hcy) se muestra en el gráfico 1, la ecuación de la curva es: $y = 874.94x + 18498$ con un coeficiente de correlación $R^2 = 0.9931$.

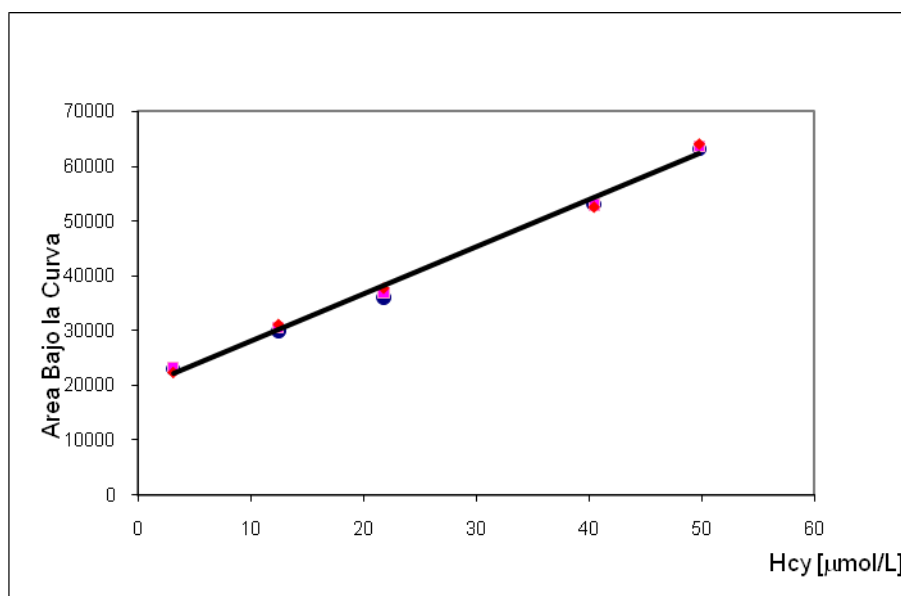


Gráfico 1. Curva de calibración para la cuantificación de Hcy_T plasmática.

Concentración de Hcy_T basal.

La población estudiada presentó una media de Hcy_T plasmática basal de $10.89\mu\text{M}$ con un valor mínimo de 1.61 y un máximo de $87.96\mu\text{M}$. Para el género femenino fue de $10.61\mu\text{M}$ (1.61 - $87.96\mu\text{M}$), y para el masculino de $12.19\mu\text{M}$, (5.30 - $84.56\mu\text{M}$). En el gráfico 2 se muestra la distribución de la concentración de Hcy_T plasmática basal, la cual no sigue una distribución normal ($p=0.05$).

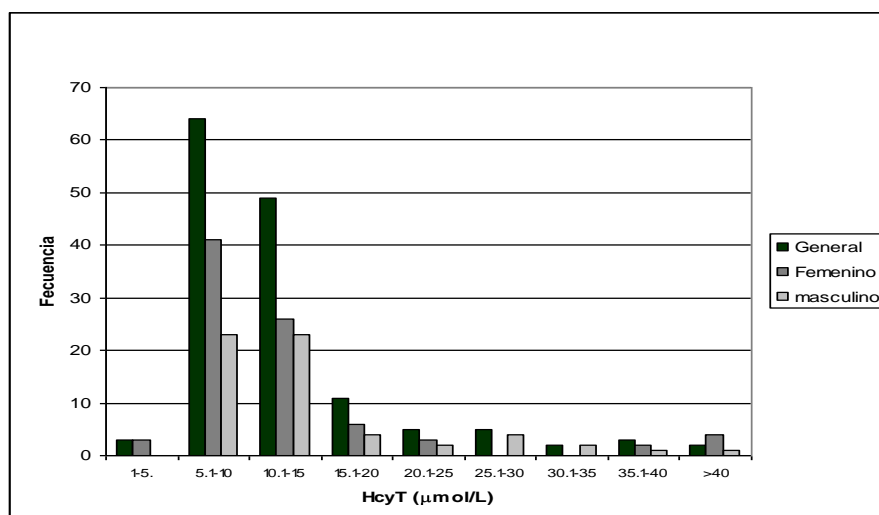


Gráfico 2. Distribución de la concentración de Hcy_T basal plasmática.

Considerando la clasificación de Kang,⁷ para la concentración de Hcy_T basal, el 80% de la población de estudio tiene valores normales de Hcy_T por debajo de 15 µM, el 14% presentan una HHC leve, el 5.5% presenta una HHC moderada y el 0.5% es hiperhomocisteinémico grave. En la tabla 1 se presentan estos datos por género.

Concentración de Hcy [µM] basal	Masculino n= 60	Femenino n= 85
Normal (<15)	32%	48%
HHC leve (15-30)	7%	7%
HHC moderada (30-100)	2%	3.5%
HHC grave (>100)	0%	0.5%

Tabla 1. Distribución de la población de estudio de acuerdo a la concentración de Hcy_T basal plasmática.

Para analizar la influencia de la edad en los niveles de Hcy_T basal se dividió la población en 10 grupos etarios, la distribución de la concentración de Hcy_T por grupos etarios se muestra en el gráfico 3, la concentración mayor de Hcy_T se observa en el grupo de >60 años y en el grupo de 40-44 años, para los géneros masculino y femenino respectivamente.

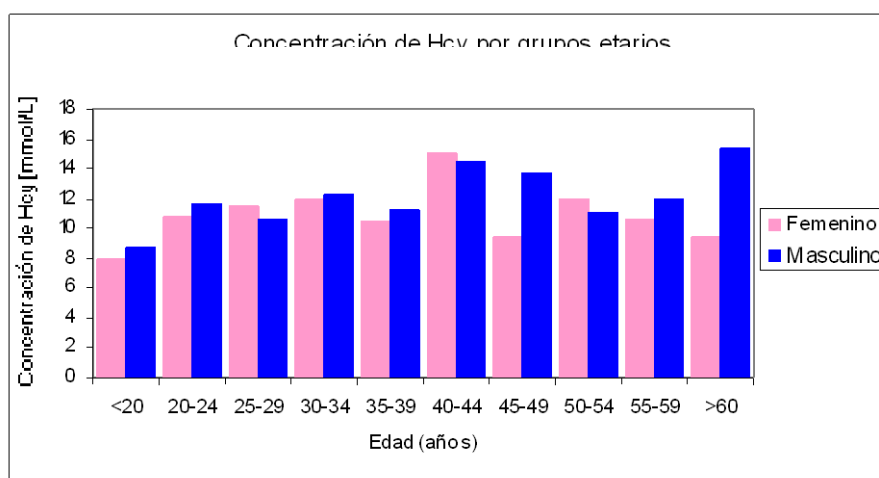


Gráfico 3. Media de Hcy_T basal de los diferentes grupos etarios, hombres y mujeres.

El análisis estadístico muestra que para el género femenino existe diferencia significativa entre el grupo de 40-44 años y el grupo de <20 años ($p=0.05$), para el género masculino el grupo de >60 años presenta diferencia estadísticamente significativa con el resto de los grupos.

Concentración COM de Hcy_T.

La población en estudio presenta un valor medio de la concentración de Hcy_T plasmática postcarga de metionina de

38.89 μM , (11.85- 177.82 μM), el gráfico 4 muestra la distribución de Hcy_T postcarga.

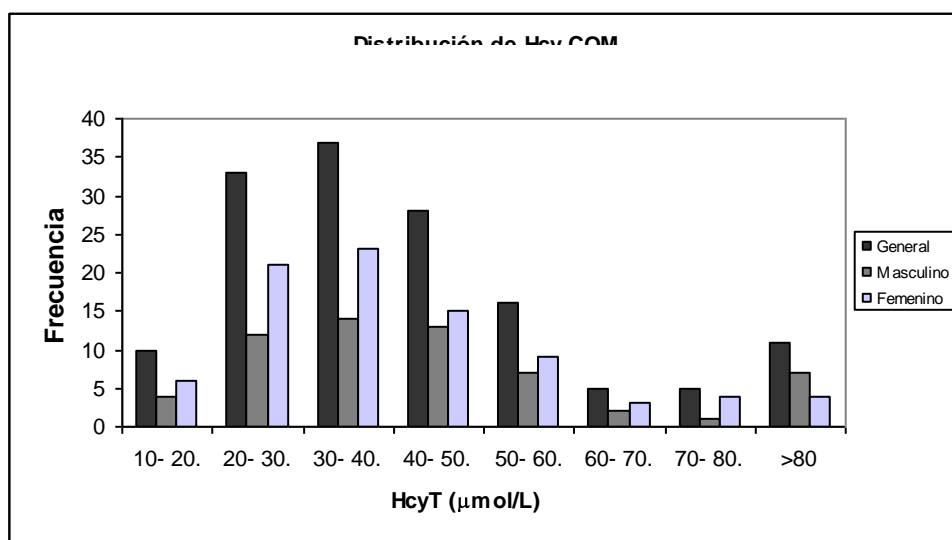


Gráfico 4: Distribución de la concentración de Hcy_T COM.

En el gráfico 5 se muestra la distribución continua en forma creciente de la concentración de Hcy_T plasmática COM, Van der Griend y colaboradores (2002), reportan que una concentración de Hcy_T plasmática postcarga de metionina mayor a 38.00 μM , es un factor de riesgo para enfermedades vasculares ateroscleróticas ²⁵.

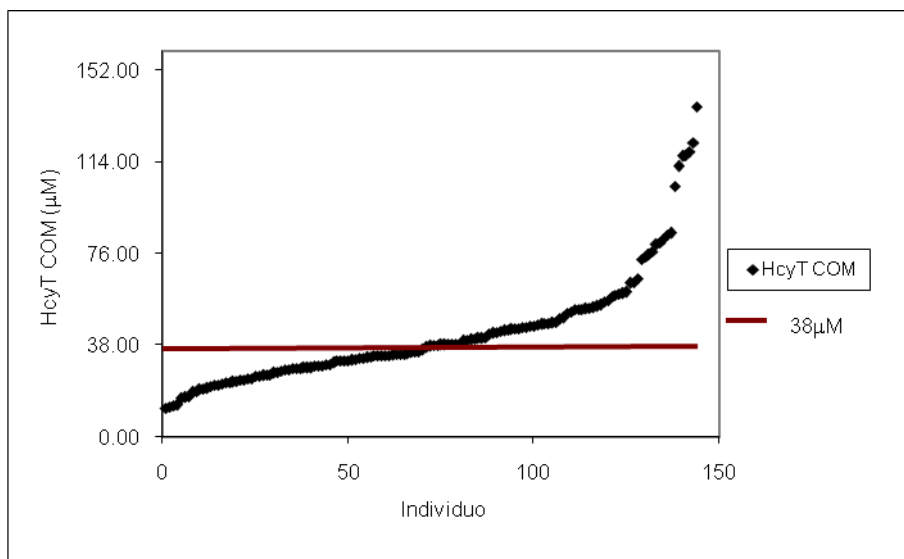


Gráfico 5. Distribución de concentración de Hcy_T COM plasmática en orden creciente.

De esta manera en la población tenemos dos grupos, aquellos en los cuales que después de la COM su concentración de Hcy_T se encuentra por debajo de 38 μM y que representa el 49% y los que están por encima de este valor que constituyen el 51% de la población (tabla 2).

Concentración de Hcy [μM] COM	Masculino n= 60	Femenino n= 85
Hcy_T COM (<38)	47%	51%
Hcy_T COM (>38)	53%	49%
Total	100%	100%

Tabla 2. Distribución de la población de estudio según su concentración de Hcy_T plasmática COM

Ácido fólico y Vitamina B₁₂.

En cuanto a estos dos cofactores toda la población estudiada presentó valores dentro del intervalo normal, para la vitamina B₁₂ el intervalo normal es de 50-1500pg/mL, en los gráficos 6 y 7 se muestra la distribución de este cofactor en función de la concentración de la Hcy_T basal y COM respectivamente, esta correlación presenta un coeficiente $R^2 = 0.0007$ con la Hcy_T basal y $R^2 = 0.0032$ para la Hcy_T COM, lo que indica que estadísticamente no existe correlación entre la vitamina B₁₂ y la Hcy_T.

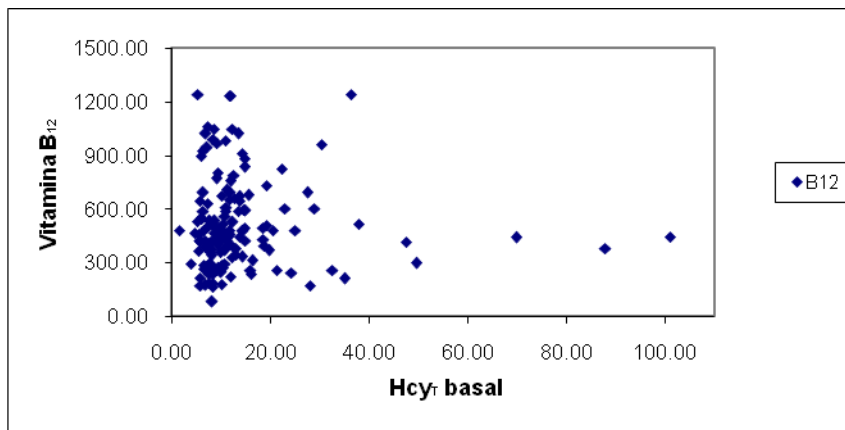


Gráfico 6: Distribución de la concentración de vitamina B₁₂ y Hcy_T basal.

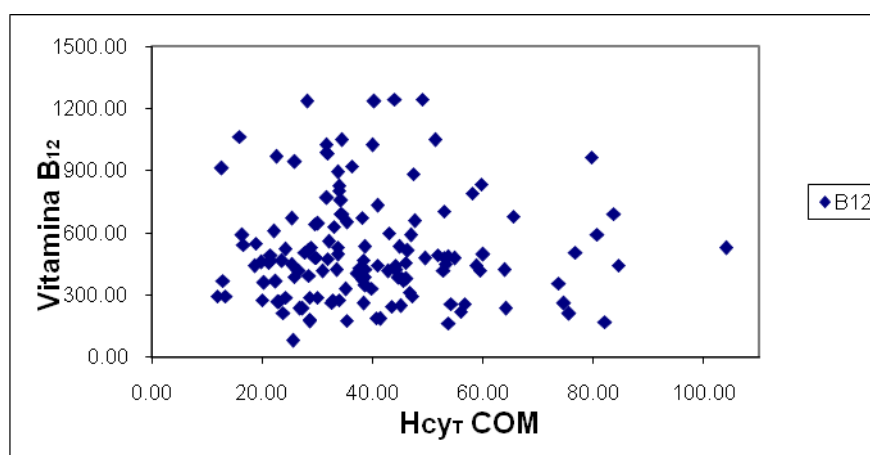


Gráfico 7: Distribución de la concentración de vitamina B₁₂ y Hcy_T COM

Para el ácido fólico el intervalo de referencia es de 0.5 a 20.0 ng/mL, en las graficas 8 y 9 se muestra la distribución de este cofactor en función de la concentración de Hcy_T plasmática basal y COM, que presentan un R²= 0.0345 y R²= 0.0399 respectivamente, estadísticamente tampoco existe correlación entre estos factores.

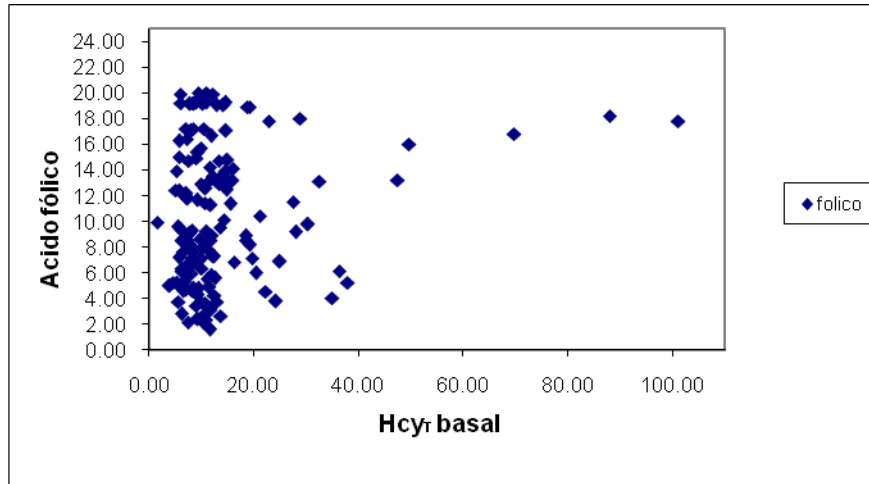


Gráfico 8: Distribución de la concentración plasmática de ácido fólico y Hcy_T basal.

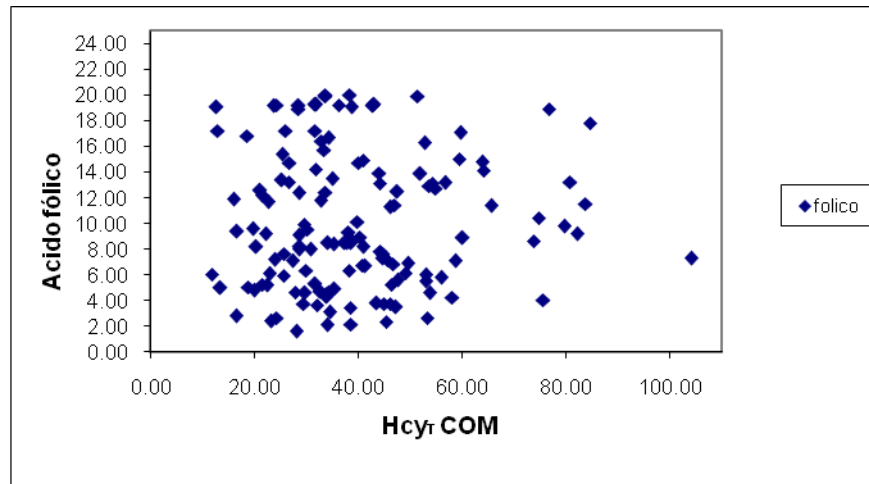


Gráfico 9: Distribución de la concentración plasmática de ácido fólico y Hcy_T COM.

DISCUSION.

En México no existe un consenso acerca de los valores de la concentración de Hcy_T plasmática, usualmente la concentración plasmática de Hcy_T es medida en ayuno y puede además ser medida después de una carga oral de metionina, los valores pueden variar según el grupo étnico, edad o sexo.¹⁷ En este estudio de sujetos sanos nacidos en México, de edad entre 18 a 77 años, se obtuvo una concentración de 10.89μmol/L, en la bibliografía se reportó como valor normal de concentración de Hcy_T plasmática basal 10μmol/L ± 5.0,^{1,6,14.} un estudio comparativo de sujetos sanos de diferentes países indica que el nivel de Hcy_T en plasma, varía entre poblaciones, el análisis estadístico comparativo entre estos valores y los obtenidos en este estudio indica que no existe diferencia significativa entre ellos, lo que nos muestra que nuestra población presenta un comportamiento semejante a lo reportado en la literatura para otras poblaciones, (tabla 3).

En nuestro país no se habían hecho estudios en cuanto al comportamiento de este aminoácido, es importante destacar que en la población en estudio el 20% presenta un tipo de HHC, la HHC es considerada un factor de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis y sus complicaciones ¹⁴.

Los niveles de Hcy_T plasmática generalmente son más altos en hombres que en mujeres ^{1, 12, 14, 27, 28,} en el presente estudio las mujeres muestran un valor de la media de la concentración

Población de estudio	media [Hcy] ($\mu\text{mol/L}$)	N	[Hcy] ($\mu\text{mol/L}$) femenino	n	[Hcy] ($\mu\text{mol/L}$) Masculino	n	mínimo	máximo	edad	Metodología	
Turquía	8.91	159	7.38	41	9.51	118	4.3	22.6	22-88	CLAR	TASKIN
Sudáfrica	SD*	120	SD	SD	11.3	120	6.9	21.7	23.1	CLAR	Ubbink 2003
Irán	SD	1214	14.05	786	19.02	428	SD	SD	25-64	CLAR	Fakhrzadeh
Italia	SD	SD	8,08-8,17	20	SD	SD	SD	SD	48-61	CLAR	Villa
España	13.30	140	13.10	81	13.6	59	3.9	30.7	60-80	CLAR	Huerta
Italia	9	140	SD	SD	59	SD	5.1	24	SD	CLAR	Marcucci
México	13.4	1277	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD	FPIA	Mutchinick
Lima	8,39-8,43	229	7,76/2,39	SD	8,97/2,35	SD	SD	SD	17-60	FPIA*	Kian
Corea del Sur	12.2	50	10.1	19	13.5	31	SD	SD	SD	ADVIA***	Jin Hu
Checoslovaquia	10.27	187	SD	SD	SD	SD	SD	SD	45-64	CLAR	Kuch
Alemania	8.93	147	SD	SD	SD	SD	SD	SD	45-64	CLAR	Kuch
México	10.89	145	10.61	85	12.19	60	1.61	87.96	18-77	CLAR	UGN

* SD: Sin dato.

**FPIA: Inmunoensayo de polarización fluorescente

*** ADVIA: Inmunoensayo específico Bayer Corporation.

Tabla 3: Valores de Hcy_T plasmática en sujetos sanos en diferentes países, ^{17, 27, 28, 32, 33, 34, 35.}

plasmática de Hcy_T de 10.61 μmol/L (1.61-87.96 μmol/L), para el género masculino encontramos un valor de la media de 12.19 μmol/L, (5.30-84.56 μmol/L). El análisis estadístico indica que para nuestra población existe diferencia significativa en la concentración plasmática de este aminoácido entre géneros tal como lo reportan Bunot y cols (1998), siendo mayor para el género masculino que para el femenino; el valor más alto en hombres puede estar relacionado a su mayor cantidad de masa muscular, cerca del 75% de Hcy es formada en conjunción con la síntesis de creatina-creatinina, el estado hormonal puede ser otro factor que marque esta diferencia.¹⁷

La edad es otro factor que también influye en los niveles de Hcy_T plasmática,^{14,36} algunos investigadores reportaron que la población chilena de edad entre 22-78 años no mostró diferencia significativa en los niveles de este aminoácido.^{12, 27} Sin embargo en nuestro estudio; el grupo de mayores de 60 años del género masculino presenta el valor de Hcy_T basal más alto, para el género femenino no se observa la misma tendencia, el grupo etario de 40-44 años es el de mayor concentración y estadísticamente solo muestra diferencia significativa con el grupo de <20 años, sin embargo el tamaño de muestra (2 individuos) de este grupo es insuficiente para concluir si existe esta diferencia; el estado hormonal relacionado con la edad, es un factor importante en el nivel de Hcy_T plasmática, el cual se ve disminuido en mujeres premenopáusicas, probablemente mediado por los niveles de

estrógenos, ¹⁴ la concentración de Hcy_T en mujeres premenopáusicas (edad entre 20-40 años) manifiestan un incremento menor en la concentración de Hcy_T que las mujeres en etapa posmenopáusica (>60 años), después de la menopausia los niveles de Hcy_T se incrementan progresivamente ²⁹, la relación del incremento de la Hcy_T con la menopausia es debida a cambios hormonales que no se observan en los hombres ¹⁷, en general las personas adultas mayores presentan una disminución en la producción o actividad enzimática, disfunción renal, disminución en la biodisponibilidad de vitaminas como la B₆, B₁₂ o folatos, estos factores pueden alterar la concentración de Hcy_T. ^{14, 17}

El estilo de vida y factores como el hábito del tabaquismo, influyen en los niveles de Hcy_T. Se ha reportado que el tabaquismo está asociado con cambios en el estado redox, lo que puede influir en el metabolismo de la Hcy. Los fumadores tienen niveles de folato y vitamina B₆ y B₁₂ menores que los no fumadores, ^{14, 17} El alcoholismo es otro factor que incrementa los niveles de Hcy_T, probablemente por alteración en el metabolismo de los folatos y por depleción en las reservas de vitamina B₆. El elevado consumo de café o té, suplementos vitamínicos, la ingesta de frutas y verduras y la actividad física están inversamente relacionados con los niveles de Hcy_T en la circulación,¹ todos estos factores no fueron evaluados en el presente estudio, pero sería de gran interés realizar un estudio en el cual pudiéramos observar su influencia en los niveles de Hcy_T.

En la evaluación de los valores de la concentración de Hcy_T plasmática COM, obtuvimos un valor promedio de 38.89 μ M (11.85- 177.82 μ M). La prueba de la Hcy postcarga de metionina en la actualidad es utilizada para evaluar el metabolismo de este aminoácido bajo diversas condiciones, por ejemplo; en enfermedad vascular prematura.^{25, 32} En estudios de casos y controles se ha sugerido que la concentración de la Hcy_T postcarga de metionina que representa un riesgo para presentar enfermedades vasculares es de 38 μ M,^{1,25} es por ello que es de suma importancia señalar que más de la mitad de la población del presente estudio (51%), exhibe una concentración de Hcy_T post carga de metionina mayor a este valor, Van der Griend y col (2002), reportan que una concentración de Hcy_T plasmática de 36 μ M incrementa el riesgo de presentar trombosis venosa y una concentración mayor a 38 μ M incrementa el factor de riesgo para enfermedades vasculares ateroscleróticas ²⁵.

Un estudio de casos y controles que incluyó 750 pacientes con enfermedad cardiovascular, de nueve países Europeos, definió como valor normal de Hcy_T COM ≥ 38 μ M, que confiere un riesgo vascular independiente semejante al de fumar o al de hipercolesterolemia. También demostraron un efecto multiplicativo cuando ambas concentraciones eran elevadas, incrementando el riesgo de enfermedades vasculares de 1.5 a 2.5 veces, ²⁵ esta característica la presentó 18% en la población de estudio (gráfico10).

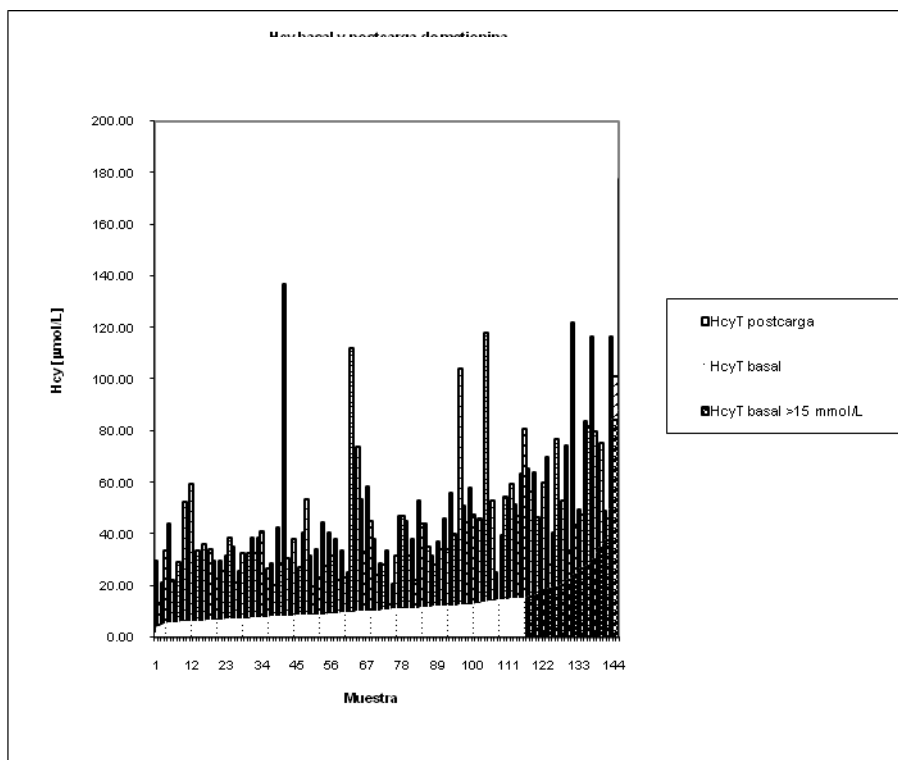


Gráfico 10: Sujetos con valores de Hcy_T basal >15 µM y Hcy_T COM >38 µM.

Recordemos que el metabolismo de la Hcy_T está mediado por dos vías, la remetilación, la cual es dependiente de vitamina B₁₂ y ácido fólico, y la vía de la transulfuración que tiene como cofactor al piridoxal 5 fosfato. En este estudio todos los sujetos presentan valores de ácido fólico y de vitamina B₁₂ dentro del intervalo normal, el factor de correlación entre estos cofactores y la concentración de Hcy_T nos indica que no existe correlación entre los cofactores y el nivel plasmático de Hcy_T basal y COM, esto significa que la concentración plasmática de estos cofactores no está influyendo en los valores de este aminoácido. Es probable que el contenido de ácido fólico en muchos de los alimentos consumidos en México facilite la disponibilidad de dichos cofactores y que este factor no esté afectando los niveles de Hcy_T plasmática.

Existen otros factores que influyen de manera importante en el metabolismo de la Hcy, uno de estos factores es el genético, en la población estudiada encontramos que un alto porcentaje presenta HHC tanto en la toma basal (20%) como en la COM (50%) y un 18% en ambas. La presencia de HHC tiene un franco componente de tipo genético, se sabe que el polimorfismo de la MTHFR del gen C677T (sustitución alanina por valina), es responsable de la disminución en un 50% de la actividad de la MTHFR.¹ Se ha encontrado una alta prevalencia de este polimorfismo en la población mexicana con una incidencia cercana al 35%.¹⁴ Sería interesante estudiar la población que presentó HHC en ambos casos y determinar si es portador de este polimorfismo en estado homocigoto.

Por otro lado estudios genéticos recientes proveen evidencias de que también los polimorfismos de la enzima metionina sintasa (A2756G) y metionina sintasa reductasa (A66G) influyen significativamente en la concentración de la Hcy plasmática, estos pueden interactuar e incrementar el riesgo de presentar HHC.³⁷ En México tampoco se han realizado estudios en cuanto a la presencia de estos polimorfismos, en pacientes que presentan HHC.

Las enfermedades vasculares son una de las principales causas de mortalidad en México ¹⁴, los factores de riesgo aterosclerótico convencionales, tabaquismo, hipercolesterolemia, e hipertensión arterial sistémica no explican totalmente este hecho.

Recientemente se ha reconocido que la HHC contribuye al desarrollo de estas enfermedades de manera directa o en asociación con estos factores,^{1, 12, 13, 14, 33} en años recientes se ha convertido en uno de los factores de mayor interés, estudios epidemiológicos han demostrado que la HHC moderada es un factor de riesgo independiente en el desarrollo de pacientes con arteriosclerosis conocida y trombo embolismo recurrente,^{1, 7,} por lo que el presente estudio prende un foco de alerta a la población mexicana con HHC.

Las limitaciones del presente estudio incluyen el tamaño de la población, y la evaluación de diversos factores no considerados tal como el factor hormonal, estilo de vida, tipo de alimentación, y el factor genético; necesario para determinar el claro efecto de éstos en los niveles de Hcy_T plasmática en la población estudiada.

CONCLUSIONES.

- El valor promedio de Hcy_T basal encontrados en el estudio realizado en adultos sanos nacidos en México es de 10.89 μ mol/L \pm 6.74.
- El género en adultos es un factor que influye en los niveles de Hcy_T plasmática, los hombres presentan valores más elevados que las mujeres.
- Según la clasificación de Kang, el 20% de la población en estudio presenta algún nivel de HHC.
- Las concentraciones plasmáticas de ácido fólico y de vitamina B₁₂ no influyen en los niveles de Hcy_T en la población de estudio.
- Es probable que el 18% de la población esté en riesgo de presentar enfermedades vasculares por tener valores de Hcy_T basal y COM elevados.

PERSPECTIVAS.

En el presente trabajo se encontró que 20% de la población en estudio tiene valores basales de Hcy_T elevados, presentando algún tipo de HHC, en trabajos anteriores se reportó que el 35% de la población presenta la mutación del gen C677T de la MTHFR causante de la disminución en un 50% de la actividad de la enzima MTHFR, y estudios más recientes proveen evidencia de que los polimorfismos de la enzima metionina sintasa (A2756G) y de la metionina sintasa reductasa (A66G) influyen significativamente en la concentración de la Hcy plasmática.

La presencia de estos polimorfismos en nuestra población podría ser la causante de esta elevación, por lo que sería de gran interés determinar el genotipo de estas enzimas en la población en estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest* 2001; 81: 645-672
2. Harvey Mudd S. Harvey L. Levy Kraus Jan P, In Scriver C.R, Beaudet A.L, Valle M.D, Sly W.S, *The metabolic and molecular Basis of Inherited Disease*, 8a edición Mc Graw Hill, 2001.
3. Fowler B. Disorders of homocysteine metabolism. *J Inherit Metab Dis.* 1997;20:270-85.
4. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr.* 1999;19:217-46
5. Refsum H, Helland S, Ueland PM. Radioenzymic determination of homocysteine in plasma and urine. *Clin Chem.* 1985; 31:624-8.
6. Stead LM, Jacobs RL, Brosnan ME, Brosnan JT. Methylation demand and homocysteine metabolism. *Adv Enzyme Regul.* 2004;44:321-33
7. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem.* 1993 ;39:1764-79.
8. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet.* 1999;354:407-13
9. Zacarías CR, Hernández R AE, Zajarias R A, González B D. Hiperhomocisteinemia: Un nuevo factor de riesgo coronario. *Gac Med Mex* 2001; 137: 335-345

10. Zárata MC, Pérez CE, Hernández JJ, Majluf CA. Nuevos factores de riesgo cardiovascular: hiperhomocisteinemia. Rev Med IMSS 2003; 41: 235- 249.
11. Jacobsen DW. Hyperhomocysteinemia and Oxidative stress: Time for a reality Check, Arterioscler Thromb Vasc Biol 2000; 20: 1182-1184.
12. Menéndez CA, Fernández- Briitos R JE. Metabolismo de la homocisteína y su relación con la aterosclerosis. Rev Cubana Inv Biomed 1999; 18: 55-68
13. Welch GN, Loscalzo J, Homocysteine and atherothrombosis. N Engl J Med.1998; 338: 1042-1050.
14. Morales JJ, Sánchez B, Verdejo J, Ponce de León S, Mutchinick OM. La hiperhomocisteinemia como factor de riesgo en una población mexicana. Arch Cardiol Mex 2003; 73: S103-S105
15. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet. 1995 10:111-3
16. Rozen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Thromb Haemost. 1997; 78:523-6.

- 17.Taskin G, Yilmaz SE, Yildirimkaya M, Nadirler F, Halloran M, Ayoglu FN, Laleli Y. Plasma total homocysteine levels in healthy Turkish population sample. *Acta Cardiol* 2006; 61: 35-42.
- 18.Silberberg J, Crooks R, Wlodarczyk J, Nair B, Finucane P, Guo XW, Xie LJ, Dudman N. Reference range for % rise in homocysteine after oral methionine load. *Aust N Z J Med.* 1997;27:717
- 19.Hoffer LJ. Homocysteine remethylation and trans-sulfuration. *Metabolism.* 2004 ;53:1480-3
- 20.Sachdev P. Homocysteine, cerebrovascular disease and brain atrophy. *J Neurol Sci.* 2004 15;226:25-9
- 21.Pfanzagl B, Tribl F, Koller E, Moslinger T. Homocysteine strongly enhances metal-catalyzed LDL oxidation in the presence of cystine and cysteine. *Atherosclerosis.* 2003 168:39-48.
- 22.Schroeksnadel K, Frick B, Fuchs D. Re: Plasma folate, vitamin B6, vitamin B12, homocysteine, and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95:1091
- 23.Guba SC, Fink LM, Fonseca V. Hyperhomocysteinemia. An emerging and important risk factor for thromboembolic and cardiovascular disease. *Am J Clin Pathol.* 1996;106: 709-22. Review. Erratum in: *Am J Clin Pathol* 1997;107: 715. *Am J Clin Pathol* 1997 ;107:621
- 24.Bostom AG, Jacques PF, Nadeau MR, Williams RR, Ellison RC, Selhub J. Post-methionine load hyperhomocysteinemia in persons

- with normal fasting total plasma homocysteine: initial results from the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis*. 1995;116:147-51
25. Van der Griend R, Biesma D H, Banga JD. Postmethionin load homocysteine determination for the diagnosis hyperhomocysteinaemia and efficacy of homocysteine lowering treatment regimens. *Vasc Med* 2002; 7: 29-33
26. Walpole Ronald E. *Probabilidad y Estadística*. Cuarta edición McGraw Hill. México 1992.pp: 655-659.
27. Tobaru BK, Zavaleta MV A, Romero B E. Valores referenciales de homocisteina plasmática en adultos aparentemente sanos de Lima-Perú. *Diag* 2002; 41
28. Kuch B, Bobak M, Fobker M, Junker R, von Eckardstein A, Marmot M, Hense HW. Associations between Homocysteine and coagulation Factor- A cross- Sectional study in two populations of Central Europe. *Thromb Res* 2001; 103: 265- 273.
29. Hak AE, Polderman KH, Westerdorp ICD, Jacobs C, Hofman A, Witteman JCM, Stehouwer CDA. Increased plasma homocysteine after menopause. *Atherosclerosis* 2000; 149: 163-168
30. Wouters Mg, Moorrees MT, Van der Mooren MJ; Blom HJ, Boers GH, Schellekens LA, Thomas CM, Eskes ttk, Plasma homocysteine and menopausal status. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 801-805

31. Bunot D, Petermann M, Maza P, de la Kauffmann R, Suazo, M, Hirsch S. Niveles séricos de homocisteína en adultos chilenos sanos. *Rev Med Chil* 1998; 126:905-910.
32. Ubbink JB, Becker PJ, delport R, Bester M, Riezler R, Hayward V WJ. Variability of post-methionine load plasma homocysteine assays. *Clin Chim Act* 2003; 330: 111-119
33. Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Redlund M, Mutchinick OM, Lopez MA. Geographical and ethnic variation of the 677>C allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet* 2003; 40: 619-625
34. Mansoor MA, Seljeflot I, Arneses H, Knudsen A, Bates CJ, Mishra G, Larsen TW. Endothelial cell adhesion molecules in healthy adults during acute hyperhomocysteinemia and mild hypertriglyceridemia. *Clin Biochem* 2004; 37: 408-14.
35. Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, Nouri M, Heshmat R, Bandarian F, Shafae A, Larijani B. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin b12 status in healthy Iranian adults: Tehran homocysteine survey (2003- 2004),/ a cross- sectional population based study. *BMC Public Health* 2006; 6: 29
36. Refsum H, Smith DA, Ueland PM, Nexo E, Clarke R, McPartlin J, Jhonston C, Engbaek F, Schneede J, McPartlin C, Scott JM. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: An expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50: 3-32.

37. Laraqui A, Allami A, Crie A, Coiffard AS, Benkouka F, Benjouad A, Bnediss A, Kadiri N, Bennouar N, Benomar A, Guedira A, Raisonier A, Fellati S, Srairi JE, Benomar M. Influence of methionine synthase (A2756G) and methionine synthase reductase (A66G) polymorphism on plasma homocysteine levels and relation to risk coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2006; 61: 51-61.
38. Ubbink JB, Delport R, Riezler R, Hayward V WJ. Comparison of three different plasma Homocysteine assay with gas chromatography-mass spectrometry. *Clin Chem* 1999; 45: 670-675
39. Christine M, Pfeiffer D, Huff LD, Gunter WE. Rapid and accurate HPLC assay for plasma total homocysteine and cysteine in a clinical laboratory setting. *Clin Chem* 1999;45: 290-292.
40. Ducros V., Schmitt D., Pernod G., Faure H., Polack B., Favier A. Gas Chromatographic-mass spectrometric determination of total homocysteine in human plasma by stable isotope dilution: method and clinical applications. *J Chromatogr B* 1999; 729: 333-339.
41. Martínez de Villareal LE. Limón BC, Valdés LR, Sánchez P MA, Villareal P JZ. Efecto de la administración semanal de ácido fólico sobre los valores sanguíneos. *Rev Salud Pública de México* 2001, 43: 103-107
42. Alemán G, Tovar AR, Torres N. Metabolismo de la homocisteína y riesgo de enfermedades cardiovasculares: Importancia del estado nutricional en ácido fólico, vitaminas B6 y B₁₂. *Rev Inv Clin* 2001; 52: 141-151

43. Touceda A L, Arroyo D, Giammona AM, Onofri MF, Iglesias O, Bruseghini S, Bruzzo L, Ruiz de la Fuente ME. Efecto de megadosis intravenosas de ácido fólico sobre la homocisteína en pacientes con hemodiálisis. *Rev Nefrol. Dia y Trasnspl* 2001; 55: 21-28
44. Quéré I, Perneger VT, Zittoun J, Bellet H, Gris JH, Daurés JH. Red blood cell methylfolate and plasma homocysteine as risk factors for venous thromboembolism: a matched case- control study. *Lancet* 2002; 359: 747- 752.
45. Yates Z, Lucock M. Interaction between common folate polymosrfisms and B-vitamin nutritional status modulates homocysteine and risk for a thrombotic event. *Mol Genet Metab* 2003; 79: 201-213
46. Heydrick SJ, Weiss N, shane RT, P. Cap A, Pimentel R D, Loscalzo J, Keaney FJ. L- Homocysteine and L- Homocysteine stereospecifically induce endothelial nitric oxide synthase-dependent lipid peroxidation in endothelial cells. *Free Rad Biol & Med* 2004; 36: 632-640
47. Huerta JM, Gonzalez S, Vigil E, Prada M, San Martín J, Fernández S, Patterson AM, Lasheras C. Folate and cobalamin synergistically decrease the risk of high plasma homocysteine in a nonsupplemented elderly institutionalized population. *Clin Biochem* 2004; 37: 904-910

48. Stead LM, Jacobs RL, Brosnan ME, Brosnan JT. Methylation demand and homocysteine metabolism. *Adv Enzyme Regul.* 2004;44:321-33
49. Bald E, Chwatko G, Glowacki R, Kusmierk K. Analysis of plasma thiols by high- performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chrom A* 2004; 1032: 109-115
50. Kölling L, Ndrepepa G, Koch W, Braun S, Mehilli J, Schômig A, Kastrati A. Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms, plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels and the extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2004; 93:1201-1206.
51. Coombes JS, Fraser DI, Sharman JE, Booth C. Relationship between homocysteine and cardiorespiratory fitness is sex-dependent. *Nutr Res* 2004; 24: 593- 602.
52. Holmes VA, Wallace MW J, Alexander HD, Gilmore WS, Bradbury I, Ward M, Scott JM, McFaul P, McNulty H. Homocysteine is lower in the third trimester of pregnancy in women with enhanced folate status from continued folic acid supplementation. *Clin Chem* 2005; 51; 1-6.
53. Villa P, Perri C, Suriano R, Cucinelli F, Panunzi S, Ranieri M, Mele C, Lanzone A. L- Folic Acid supplementation in healthy postmenopausal women: Effect on homocysteine and glycolipid metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4622-4629.
54. Marcucci R, Brunelli T, Fedi S, Pepe G, Giussti B, Gori AM, Prisco D, Falai M, Margheri M, Abbate R, Gensini GF. Relevance of post-

- methionine homocysteine and lipoprotein (a) in evaluating the cardiovascular risk in young CAD patients. Eur J Clin Invest 2005; 35: 1-7.
55. Jin HH, Sook Ch H, Hee SE, Jang S, Jeonung PCh. Gene-nutrition interactions in coronary artery disease: Correlation between the MTHFR C6677T polymorphism and folate and homocysteine status in Korean population. Thromb Res 2006; 117: 501-506.
56. Norma oficial mexicana NOM-147-SSA1-1996, bienes y servicios. cereales y sus productos. harinas de cereales, semolas o semolinas. alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, semolas o semolinas o sus mezclas. productos de panificación. disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales (5.3.1)