

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA  
“IGNACIO CHÁVEZ”**

**TESIS**

**IMPACTO DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE HOMOCISTEINA EN  
PACIENTES JOVENES CON ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA**

**Presenta Tesis: Dr. Adolfo López Basurto**

**-Julio 2008-**



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.

Dr. J. Fernando Guadalajara Boo

**Director de Enseñanza del INCICH**

---

**Asesores:**

Dra. Aurora de la Peña Díaz.

---

Dr. Marco Antonio Peña Duque

---

Dr. Manuel Alfonso Baños González

---

**Presenta Tesis:**

Dr. Adolfo López Basurto

---

*Agradecimientos:*

*A mi esposa Araceli y mi Hija Sofía por su amor y compañía.*

*A mis Padres por su apoyo y confianza. En todo momento los llevo conmigo.*

*A mis asesores la Dra. Aurora, así como al Dr. Marco A. Peña y la ayuda especial del Dr. Manuel Baños, por su disposición brindada.*

*Agradezco a Dios por la vida.*

*A los amigos por su confianza y lealtad.*

## TABLA DE CONTENIDO

<b>1. TITULO</b> .....	1
<b>II. INVESTIGADORES</b> .....	1
2.1 Investigadores Responsables.....	1
2.2. Investigador de Tesis.....	1
2.3. Investigadores asociados.....	1
<b>III. SEDE</b> .....	2
<b>IV. MARCO DE REFERENCIA</b> .....	2
4.1. Introducción.....	2
4.2. Metabolismo de la homocisteína.....	4
4.3 Formas moleculares de homocisteína.....	5
4.4 Métodos de determinación plasmática.....	6
4.4 Definición de hiperhomocisteinemia.....	6
4.5 Clasificación de la hiperhomocisteinemia.....	7
Cuadro 1. Clasificación de hiperhomocisteinemia.....	7
4.6 Causas de hiperhomocisteinemia.....	7
4.6.1 Causas Genéticas.....	7
4.6.2 Causas nutricionales.....	8
4.6.3 Otras causas.....	8
Cuadro 2. Causas de hiperhomocisteinemia.....	10
4.7 Fisiopatología de la lesión vascular.....	11
4.7.1 Disfunción endotelial.....	11
4.7.2 Alteraciones en la función plaquetaria.....	12
Cuadro 3. Mecanismos trombóticos de la hiperhomocisteinemia.....	13
Figura 2 Mecanismos trombóticos de la hiperhomocisteinemia.....	14
4.8 Alteraciones vasculares.....	14
<b>V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	17

<b>VI. HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>VII. OBJETIVO GENERAL</b> .....	17
<b>VIII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	17
<b>IX. METODOLOGÍA</b> .....	18
9.1 Diseño del estudio.....	18
9.2 Población.....	18
9.3 Criterios de inclusión.....	18
9.4 Criterios de no inclusión.....	18
9.5 Controles.....	19
9.6 Cálculo de tamaño de muestra.....	19
9.7 Descripción operativa.....	20
9.8 Determinación de la concentración plasmática de homocisteína.....	20
9.9 Angiografía coronaria.....	21
9.10 Definición de variables.....	21
9.11 Tipo de muestreo.....	22
9.12 Análisis estadístico.....	22
9.13 Riesgo de la investigación. ....	23
9.14 Recursos humanos.....	23
9.15 Recursos físicos.....	23
9.16 Recursos financieros.....	23
<b>X. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO</b> .....	24
<b>XI. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS DEL PACIENTE</b> .....	25
<b>XII. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS ANGIOGRÁFICOS</b> .....	29
<b>XIII. RESULTADOS</b> .....	32
13.1 Características clínicas de la población estudiada y niveles de homocisteína.....	32
Tabla 1. Se muestran las características clínicas y perfil bioquímico de pacientes y controles agrupados por edad.....	33
Tabla 2. Características clínicas y perfil bioquímico de Pacientes y controles excluyendo.....	34
13.2 Relación con otros factores de riesgo.....	36

13.3 Relación entre infarto de miocardio, homocisteína y factores de riesgo.....	36
Tabla 3. Factores de riesgo para infarto de miocardio en grupo de edad menores de 50 años acorde a análisis de regresión múltiple.....	36
13.4 Relación entre los niveles de homocisteína y extensión de la enfermedad coronaria.....	36
Tabla 4. Relación entre niveles plasmáticos de Homocisteína y variables angiográficas en pacientes con enfermedad coronaria.....	36
<b>XIV. DISCUSION.....</b>	<b>37</b>
<b>XV. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....</b>	<b>38</b>
<b>XVI. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>40</b>
<b>XVII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>42</b>

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA “IGNACIO CHÁVEZ”**  
**TESIS**

**I. TITULO.**

**IMPACTO DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE HOMOCISTEINA EN  
PACIENTES JOVENES CON ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA**

**Tipo de investigación:** De casos y controles.

**II. INVESTIGADORES:**

2.1 Investigador Responsable:

Dra. Aurora de la Peña Díaz, Profesor Titular Departamento de Farmacología UNAM. Firma \_\_\_\_\_

Dr. Marco Antonio Peña Duque, Jefe del Servicio de Cardiología Intervencionista del INCICH Firma \_\_\_\_\_.

Dr. Manuel Alfonso Baños González. Cardiólogo Instituto Nacional de Cardiología  
Firma \_\_\_\_\_

2.2. Investigador de Tesis: Adolfo López Basurto. Residente de Cardiología.

Firma \_\_\_\_\_

2.3. Investigadores asociados:

Dr. Guillermo Cardoso Saldaña. Departamento de Endocrinología

Dr. Benjamín Valente. Alumno de Pregrado UNAM

Dr. Javier Figueroa Solano. Adjunto Servicio Terapia Intensiva Pediátrica

Dr. Jaime Angulo Ortiz. Residente de Cardiología Intervencionista. INCICH.

Dr. Bruno Escalante Acosta. Investigador titular. CINVESTAV

Dr. Eduardo Anglés-Cano. INSERM Francia.

**III. SEDE.**

Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, Departamento de Cardiología Intervencionista.



## **IV. MARCO DE REFERENCIA.**

### **4.1 Introducción.**

La aterosclerosis es una enfermedad crónica inflamatoria y multifactorial que afecta arterias de mediano y gran calibre. Los principales componentes de las placas ateroscleróticas son la matriz de tejido conectivo extracelular, incluyendo colágena, proteoglicanos y fibras elásticas de fibronectina; colesterol cristalino, ésteres de colesterol y fosfolípidos, macrófagos, linfocitos T, y células de músculo liso, plaquetas y depósitos de fibrina.<sup>58</sup> Existen factores que favorecen el desarrollo de la aterosclerosis y se denominan factores de riesgo.<sup>59</sup> Los distintos factores de riesgo ocasionan disfunción del endotelio, promueven el aumento de la permeabilidad de los lípidos y células, oxidación de lipoproteínas, inflamación, proliferación del músculo liso, depósito o lisis de la matriz extracelular, activación plaquetaria y formación de un trombo. Estos cambios ocurren en la íntima, media y adventicia.<sup>60</sup> En las fases iniciales de la aterosclerosis, las células endoteliales expresan moléculas de adhesión celular, atraen a los monocitos, se acumulan lípidos y se incrementa la proliferación de las células del músculo liso. Si el daño persiste, se incrementa el número de macrófagos y linfocitos en la lesión. En las fases avanzadas, se liberan enzimas hidrolíticas, citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento, los cuales inducen mayor daño y eventualmente conducen a una necrosis focal. Los macrófagos mediante la secreción de enzimas proteolíticas, pueden debilitar la capa fibrosa y predisponer a su ruptura<sup>61</sup>, con manifestaciones clínicas de angina inestable, infarto del miocardio o muerte súbita.

Esta enfermedad ha sido identificada en humanos desde hace más de 3000 años. Antes del siglo XVIII, tenía una baja incidencia y prevalencia, sin embargo, el cambio de estilo de vida con aumento de consumo de grasa animal, sedentarismo y estrés han permitido que aumente de manera importante, constituyendo actualmente una de la principal causa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial.

En México, la enfermedad arterial coronaria, principal contribuyente de la enfermedad cardiovascular, representa la segunda causa de muerte con más de 53 mil muertes al año. (Secretaría de Salud, INEGI, 2005.)

Existen factores de riesgo tradicionales para el desarrollo de aterosclerosis como la obesidad, la hipertensión arterial sistémica, la dislipidemia, la Diabetes Mellitus, el tabaquismo, la edad, el género, grupo étnico, y otros factores llamados emergentes como la homocisteína. En años recientes, la correlación entre homocisteína y aterosclerosis se ha estudiado cada vez con mayor entusiasmo, debido a que la hiperhomocisteinemia se asocia con enfermedades arteriales prematuras, proponiéndose como factor de riesgo cardiovascular independiente para enfermedad arterial coronaria. En algunas poblaciones, el 10% de todos los casos de cardiopatía isquémica son exclusivamente secundarios a hiperhomocisteinemia.<sup>2</sup>

La prevalencia de la hiperhomocisteinemia ha sido estimada en un 5% en la población general, y en un 13 y 47% entre pacientes con enfermedad vascular aterosclerótica sintomática.<sup>3</sup>

Esta prevalencia en la población tiene un franco componente de tipo genético que se ha estudiado a través de los diferentes genotipos de la mutación del gen C677T de la metilén tetra hidro folato reductasa (MTHFR) en la que se clasifica a la CC alelo silvestre, la CT como mutación heterocigota y la TT como mutación homocigota. <sup>4</sup>

La alteración por mutación homocigótica (TT) se ha encontrado hasta en un 35 % de la población mexicana, la cual predispone a alteraciones de carácter trombótico.<sup>5</sup>

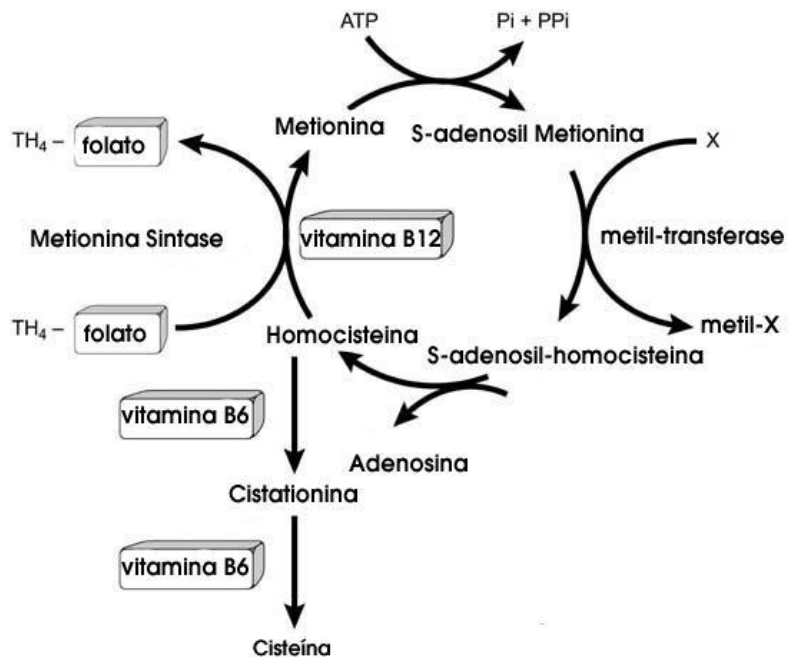
Las consecuencias de la presencia de las mutaciones depende de otros factores como es la ingesta de folatos, género, estados de comorbilidad como Diabetes Mellitus entre otros. <sup>6</sup>

Desde finales de la década de los sesentas se puso atención al metabolismo de la metionina, y en su elemento intermedio la homocisteína.

En 1969 McCully y Wilson <sup>57</sup>, describieron dos casos de necropsia con una extensa enfermedad arteriosclerótica en dos niños con homocistinuria. En 1975, McCully publicó una teoría, en la que relacionaba la homocisteína como un factor aterogénico. Y en 1976 Wilcken y Wilcken <sup>2</sup> publicaron el primer artículo sobre la homocisteína en la patogénesis de la enfermedad coronaria. Este estudio se centró en demostrar que la elevación moderada a importante de los niveles de homocisteína se encontraba mas frecuentemente en pacientes con enfermedad arterial coronaria que en aquellos que no padecían esta última.

## 4.2 Metabolismo de la homocisteína

La homocisteína es un producto intermedio del metabolismo de la metionina, aminoácido esencial proveniente de la dieta (Figura 1). Alrededor de la mitad de la homocisteína se combina en forma irreversible con la serina y se produce cistationina por una reacción de transulfuración donde actúa como catalizador la cistationina beta-sintetasa y su cofactor la vitamina B6. Existe otra vía por remetilación regenerando metionina a través de dos mecanismos. Uno de ellos, en obligada presencia de la enzima 5-metiltetrahidrofolato-homocisteína metiltransferasa, metilcobalamina y metiltetrahidrofolato, cofactor y cosubstrato respectivamente de la enzima. La otra vía es catalizada por la enzima betaína-homocisteína metiltransferasa.



**Figura 1.** Metabolismo de la metionina.

En el metabolismo de la homocisteína participan diversas enzimas y cofactores como la piridoxina, folatos y cobalamina, cuya concentración correlaciona con los niveles de homocisteína.

#### **4.3 Formas moleculares de homocisteína.**

La mayoría de los estudios clínicos se basan en la determinación de la homocisteína en plasma, la cual incluye la homocisteína unida a proteínas, la forma disulfurada mixta, la homocisteína tiolactona y la forma libre, medir únicamente la homocisteína libre no es clínicamente útil. La homocisteína total equivale a la suma de todos los tipos plasmáticos de homocisteína.<sup>7</sup>

#### **4.4 Métodos de determinación plasmática.**

Los métodos analíticos disponibles para determinar los niveles en sangre de este producto del metabolismo son: analizador de aminoácidos, radioenzimático, espectrometría de masa en tándem, cromatografía gaseosa-espectrometría de masa, cromatografía de alta presión con detección fluorimétrica o electroquímica.

El método de referencia para la cuantificar la homocisteína plasmática es la cromatografía líquida de alta eficacia con detección de fluorescencia o electroquímica<sup>8</sup>

La muestra debe conservarse en hielo, separar el plasma a la brevedad, ya que si se dejan a temperatura ambiente durante más de 4 horas se observa un incremento de hasta un 35% en la concentración de la homocisteína. Esta

variación se debe probablemente a la salida de homocisteína desde los glóbulos rojos.<sup>9</sup>

#### **4.5 Definición de hiperhomocisteinemia.**

Los valores normales oscilan entre 5 y 15  $\mu\text{mol/L}$  dependiendo del método utilizado y las características, incluyendo el género y perfil genético, de la población evaluada. Los valores de homocisteína son más elevados en el hombre que en la mujer y, a su vez, son mayores en la mujer postmenopausica<sup>10</sup>. La diferencia de valores entre los sexos podría deberse a una mayor masa muscular y valores más elevados de creatinina. La homocisteína plasmática aumenta también con la edad. La causa de este incremento sería ocasionada por una disminución de los niveles de los cofactores enzimáticos, un deterioro de la función renal y/o una disminución de la actividad de la cistationina beta-sintetasa.

11

Los niveles de homocisteína, son menores en afroamericanos que en la población blanca o asiática.<sup>12</sup>

#### **4.5 Clasificación de Hiperhomocisteinemia.**

Kang la clasifica en tres niveles de riesgo: (ver cuadro 1)

#### **Cuadro 1. Clasificación de hiperhomocisteinemia<sup>13</sup>.**

<b>Moderada</b> 15-30 micromol/l
<b>Intermedia</b> >30-100 micromol/l

**Severa >100 micromol/l**

La prueba de carga oral con metionina se utiliza para poner en evidencia la alteración en el metabolismo de homocisteína que en condiciones basales se encuentra en valores normales. La dosis de metionina utilizada es de 3 g/m<sup>2</sup>, con determinaciones plasmáticas 2, 4, 6 u 8 horas luego de la ingesta <sup>14</sup>

#### **4.6 CAUSAS DE HIPERHOMOCISTEINEMIA (Cuadro 2)**

##### **4.6.1 Causas Genéticas:**

A) Deficiencia de Cistationina-Beta-Sintasa (CBS): La causa genética más común de hiperhomocisteinemia severa y homocistinuria clásica es la deficiencia homocigota de la CBS. se presenta en 1 en 100.000 nacimientos. Se hereda de forma autosómica recesiva. <sup>15</sup>

B) Deficiencia de la Metionina Sintasa: Es causa rara de hiperhomocisteinemia severa.

Se caracteriza por la alteración en la actividad de la enzima metionina sintasa debido a una alteración genética del metabolismo de la vitamina B12. <sup>16</sup>

C) Deficiencia de la Metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR): Deficiencia severa (homocigótica) de la enzima MTHFR, poco frecuente. <sup>17</sup>

D) Deficiencia de la MTHFR variante "termolábil": Los estudios "in vitro" demuestran que la enzima presenta una sensibilidad térmica (46°C). El

defecto molecular en esta variante se produce por una sustitución de una citosina por una timina en el nucleótido 677 del gen, lo que origina un cambio de alanina por valina. La actividad enzimática disminuida de esta variante, incrementa la susceptibilidad a desarrollar hiperhomocisteinemia moderada, especialmente en individuos con concentración sérica de ácido fólico en el límite bajo de la normalidad.<sup>18</sup> La prevalencia de esta deficiencia se sitúa entre un 10 y 15% en la población general, siendo por tanto el defecto genético más común.

#### **4.6.2 Causas nutricionales.**

- a. Se reportan la deficiencia de ácido fólico, vitamina B12, y de vitamina B6. Aproximadamente el 60% de la hiperhomocisteinemia es debido a niveles inadecuados en sangre de una o más de estas vitaminas.<sup>19</sup>
- b. Incremento en la síntesis de homocisteína debido a la toma en gran cantidad de metionina.

#### **4.6.3 Otras causas.**

1. Fármacos.<sup>20</sup>

A continuación se enlistan los mecanismos principales y fármacos relacionados.

- a. Inhibición de la enzima dihidrofolato reductasa: Metotrexate, fenotiazinas, antidepresivos tricíclicos, anticonceptivos orales, tuberculostáticos y el



trimetoprin, estos actúan, interfiriendo en la remetilación de la homocisteína.

- b. Alteración del metabolismo del ácido fólico: Fenitoína, fenobarbital, primidona, carbamacepina y ácido valproico.
- c. El óxido nítrico, inactiva irreversiblemente la enzima metionina sintasa.
- d. Antagonistas de la vitamina B6: azaribine, isoniazida, cicloserina, hidralacina y teofilina.

- 2. Insuficiencia renal crónica: La concentración de homocisteína en sangre se incrementa entre 1,95 y 3,6 veces respecto a los controles. Esto promueve una mayor susceptibilidad a desarrollar enfermedad vascular prematura.<sup>21</sup>
- 3. Enfermedades: anemia perniciosa; hipotiroidismo; leucemia linfoblástica aguda; carcinoma de ovario, mama y páncreas; psoriasis severa.
- 4. Edad y Género.

## Cuadro 2. CAUSAS DE HIPERHOMOCISTEINEMIA

Factores dietéticos: déficit de vitaminas B6, B12 y ácido fólico.

Fármacos y tóxicos que interfieren en la síntesis de estas vitaminas:

tabaco (que antagoniza la vitamina B6), metotrexate, teofilina, fenitoína, etc.<sup>22</sup>

Anemia perniciosa.<sup>23</sup>

Algunos carcinomas (mama, ovario, páncreas, leucemia aguda linfocítica)

Hipotiroidismo.<sup>24</sup>

Insuficiencia renal crónica.

El envejecimiento: la concentración de homocisteína aumenta gradualmente con la edad. disminución de la ingesta de vitaminas B6, B12 y fólico, deterioro de la función renal, o disminución de la actividad de la cistationina beta-sintasa

Diferencias raciales y de género

## 4.7 FISIOPATOLOGIA DE LA LESION VASCULAR

La homocisteína induce el desarrollo de enfermedad arterial coronaria es a través de los siguientes mecanismos:

**4.7.1. Disfunción endotelial.** Estudios in vivo. Harker y col observaron que la infusión intravenosa de homocisteína en babuinos producía la descamación del endotelio de la aorta y la disminución de la sobrevida plaquetaria <sup>25</sup>. El estudio anatomopatológico de la aorta de estos animales mostró engrosamiento intimal, acúmulo de lípidos y proliferación de células musculares lisas. El daño endotelial fue proporcional a la concentración de homocisteína. El uso de agentes antiagregantes plaquetarios disminuyó la actividad plaquetaria y la proliferación intimal, pero no la descamación endotelial. Estos autores postularon que la homocisteína lesiona el endotelio en forma directa y como consecuencia de este daño se produce el aumento del consumo de las plaquetas con formación de trombos y aterogénesis.

Por otra parte, otros autores que desarrollaron modelos animales en los que la hiperhomocisteinemia se incrementó por modificar la dieta, comprobaron la aparición de fenómenos tromboembólicos <sup>26</sup>, alteraciones en la reactividad

vascular a agentes vasodilatadores, cambios degenerativos en la pared arterial<sup>27</sup> y proliferación de células musculares lisas con acumulación de colágeno.<sup>28</sup>

La homocisteína produce daño endotelial a través de un mecanismo oxidativo.<sup>29</sup>

El grupo sulfhidrilo de la homocisteína al oxidarse forma anión superóxido y peróxido de hidrógeno. Estas moléculas derivadas del oxígeno son las responsables de la lesión endotelial que produce la homocisteína. Asimismo, se ha observado que la generación de radicales libres incrementa la oxidación de las lipoproteínas de baja y alta densidad. La lipoproteína(a) cambia también su estructura frente a diversos compuestos sulfhidrúlicos.<sup>30</sup> Por otro lado, la afinidad por la fibrina aumenta con concentraciones de homocisteína tan bajas como 8  $\mu\text{mol/L}$ .<sup>56</sup>

La disfunción endotelial que altera la vasodilatación son características de la hiperhomocisteína, debido principalmente a una disminución en la producción de óxido nítrico, prostaciclina, activador del plasminógeno y trombomodulina entre otros mecanismos.<sup>31,32</sup>

Una de las principales características del daño endotelial es la expresión de un fenotipo procoagulante con incremento en la actividad del factor V y protrombina. Además, la homocisteína inhibe la activación de la proteína C (un mecanismo anticoagulante fisiológico)<sup>33</sup> y la expresión de la trombomodulina en la superficie endotelial.<sup>34</sup>

Otros factores que se suman y favorecen la trombosis son las alteraciones en la unión de la antitrombina III, reducción de la unión del activador tisular del

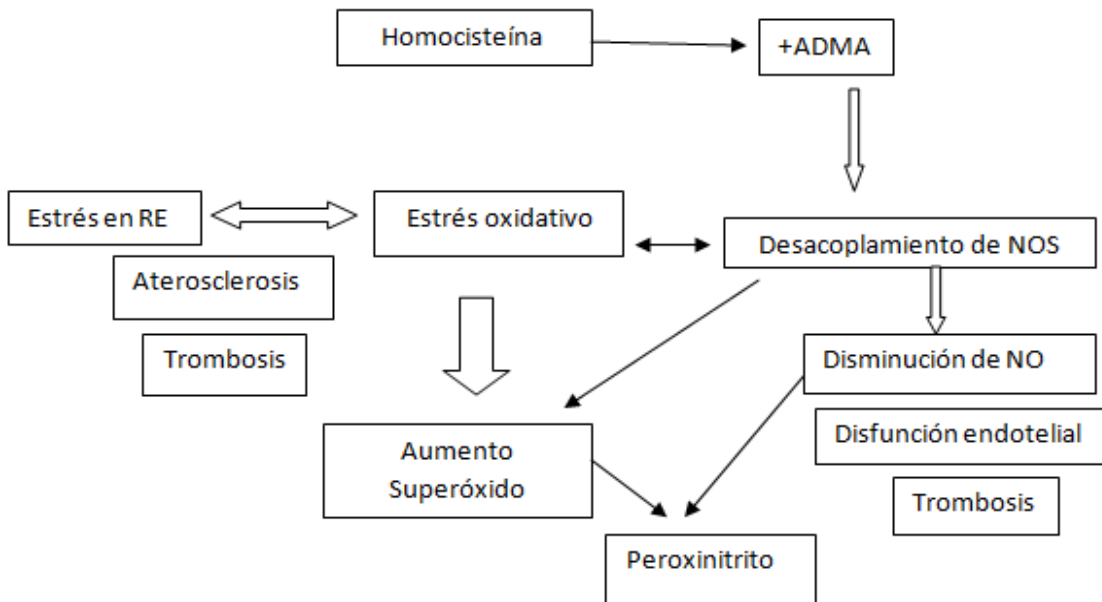
plasminógeno a su receptor endotelial, anomalías en la secreción del factor von Willebrand , y un aumento de la expresión del factor tisular por parte del endotelio expuesto a la homocisteína (Cuadro 3). La homocisteína induce también la proliferación de las células musculares lisas y disminuye la síntesis del ADN.<sup>35</sup>

**4.7.2. Alteraciones en la función plaquetaria.** Son inconsistentes los resultados obtenidos en los estudios de hiperhomocisteinemia y fisiología de las plaquetas. Sin embargo existe evidencia que respalda un incremento en la actividad de las plaquetas a medida que se exponen a concentraciones crecientes de homocisteína sobre todo en pacientes isquémicos.<sup>36, 37</sup>

En la figura 2 y el cuadro 3, se resumen los principales mecanismos por los que la homocisteína altera la hemostasia<sup>38</sup>.

**Cuadro 3. Mecanismos trombóticos de la hiperhomocisteinemia.**

Proceso	Efecto	Evidencia
<b>Sistema de coagulación</b>		
Expresión del factor tisular	Incrementado	Sugestiva
Actividad del F VII	Incrementado	Inconsistente
Modificación del fibrinógeno	Presente	Sugestivo
Expresión de trombomodulina	Disminuida	Sugestiva
Inactivación del F Va	Disminuida	Inconsistente
Inhibidor del factor tisular	Aumentado	Inconsistente
<b>Fibrinólisis</b>		
Fijación del tPA	Disminuido	Sugestivo
Generación de plasmina	Disminuida	Sugestiva
<b>Plaquetas</b>		
Reactividad plaquetaria	Incrementada	Inconsistente
<b>Endotelio</b>		
Generación de radicales libres	Incrementada	Sugestivo
NO biodisponibilidad	Disminuida	Sugestivo
Otros mecanismos	Aumentado	Inconsistentes



**Figura 2.** (Modificada de Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1646–54). Los hallazgos en modelos animales sugieren que el mecanismo de disfunción endotelial, aterosclerosis y trombosis en ratones con hiperhomocisteinemia se asocia con el estrés oxidativo que se induce en el retículo endoplásmico, acelerando la aterosclerosis y trombosis promoviendo la inflamación y apoptosis en las células vasculares. El estrés oxidativo puede contribuir a la disfunción endotelial a través del anión. También incrementa los niveles de dimetilarginina asimétrica (ADMA), la cual puede causar desacoplamiento de la síntesis de la óxido nítrico sintasa (NOS) resultando en un decremento de la producción de NO e incremento en la producción de superóxido. La reacción oxidativa del superóxido con NO genera peroxinitritos y disminuye la biodisponibilidad de NO induciendo disfunción endotelial. El peroxinitrito además desacopla la Sintetasa de óxido nítrico (NOS).

#### **4.8 ALTERACIONES VASCULARES**

Los hallazgos clínicos en los pacientes con defectos homocigóticos en la cistationina beta-sintetasa se caracterizan por presentar alteraciones en el tejido óseo, ectopia lentis, retardo mental, aterosclerosis precoz y trombosis.<sup>39</sup>

La principal causa de morbi-mortalidad en estos pacientes son los episodios de trombosis venosas y arteriales.

Tomando como base estos hallazgos se llegó a la conclusión de que la homocisteína elevada de forma moderada (como la que se observa en sujetos

heterocigotos), es un factor de riesgo independiente para cardiopatía isquémica, el cual no está relacionado con los factores de riesgo cardiovascular clásico.

Boushey y cols, concluyeron en un meta análisis de 27 estudios que incluyó a más de 4000 pacientes que con cada incremento de  $5 \mu\text{M}$  en los valores de homocisteína, el riesgo de cardiopatía isquémica aumenta en un 60% en los varones y en un 80% en las mujeres, lo que equivale a un aumento de riesgo por colesterol sérico de  $20 \text{ mg/dL}$  ( $0.5 \mu\text{M}$ ).<sup>40</sup>

Para muchas poblaciones el límite de corte para considerar a la homocisteína como un factor de riesgo es de  $10 \mu\text{M}$ .<sup>41</sup>

En diversos meta-análisis se han demostrado que los niveles de homocisteína se encuentran relacionados a diferentes factores de riesgo cardiovascular como: sexo masculino, tabaquismo, hipercolesterolemia, hipertensión arterial sistémica, diabetes Mellitus 2, edad avanzada y sedentarismo.<sup>42</sup> También se ha informado que la homocisteína como factor de riesgo es más fuerte en los estudios prospectivos que en los retrospectivos. Lo que puede ser consecuencia de la dificultad de seleccionar adecuadamente a los controles o efectos en el tratamiento.

David y cols, demostraron que la disminución en la concentración de esta sustancia en  $3 \mu\text{M}$  de los niveles, con la ingesta de ácido fólico disminuye el riesgo en promedio de cardiopatía isquémica en 16% (11% a 20%), trombosis venosa profunda en 25% (8% a 38%), y EVC 24% (15% a 33%).<sup>43</sup>



Otra estrategia de estudio ha sido la correlación entre los niveles de homocisteína y la gravedad de la enfermedad arterial coronaria por estudios angiográficos, obteniendo resultados variables.

Por una parte se puede mencionar entre otros a Chao, que en 1999 demostró una relación directa entre los niveles de homocisteína y el número de vasos afectados ( $P < 0.05$ ) o en pacientes con lesiones estenóticas con  $\geq 90\%$ , ( $P = 0.005$ ), comparada con sujetos sin enfermedad arterial coronaria (EAC). El riesgo de EAC en los dos cuartiles más altos ( $\geq 14.0$  y  $10.1-13.9 \mu\text{M}$ ) fueron 4.0 (95% CI, 1.7-9.2) y 3.2 (95% CI, 1.4-7.4) que en el cuartil más bajo ( $\geq 7.9 \mu\text{M}$ ) ( $P = 0.001$  y  $0.007$ , respectivamente). El análisis estadístico de regresión lineal demostró correlación entre homocisteinemia y la gravedad y extensión de la lesión aterosclerótica ( $P = 0.0001$  para ambos) <sup>44</sup>

Moreira y cols, demostraron una fuerte asociación entre una estenosis coronaria mayor de 70% y los niveles de homocisteína. <sup>45</sup> Liu, encontró también que los niveles de homocisteína más altos se relacionan directamente con el número de arterias afectadas. <sup>46</sup>

Senaratne, al estudiar a 612 pacientes en un programa de rehabilitación cardíaca en donde los reportes cuantitativos en los angiogramas coronarios fueron calificados en una escala de tres parámetros 1) El primero es la escala de “Jeopardy” <sup>47</sup> que estratifica la gravedad de la EAC de acuerdo al sitio y extensión de la lesión aterosclerótica. 2) Escala de lesiones. De acuerdo al número de lesiones diferentes identificadas en la angiografía 3) Escala de extensión en

dónde se midió la suma de la longitud total de las lesiones dividida en la longitud total del árbol coronario y fue expresada en porcentaje.

Los resultados demostraron que estas escalas, eran significativamente más altas en pacientes con hiperhomocisteinemia. Otras variables con esta anomalía fueron HDL bajo, género masculino, IAM, CRVC.<sup>48</sup>

Sin embargo existe otro grupo de estudios en donde no se ha demostrado una correlación entre las concentraciones de homocisteína y lesiones coronarias, Bozkurt en Japón incluyó 341 pacientes con coronariografía. De estos pacientes 195 padecían EAC y 146 tenían arterias coronarias angiográficamente normales. Se demostró que la hiperhomocisteinemia era un factor de riesgo independiente, obteniendo una relación positiva de acuerdo a género, edad, HAS, DM2, pero sin encontrar relación entre los niveles y la severidad y extensión de EAC de acuerdo a las escalas utilizadas para clasificar las lesiones coronarias. Otros estudios con resultados negativos son el de Kang, et al<sup>50</sup> quien consideró como valor positivo a las lesiones estenóticas mayores de 70% y Wilcken, et al<sup>51</sup> a las lesiones coronarias mayores del 50% de estenosis luminal.

Como muestra de la población latina, Rodríguez<sup>52</sup> en Puerto Rico obtiene resultados negativos y concluyó que los niveles de Hcys no predicen fiablemente la gravedad de las lesiones coronarias en la población puertorriqueña.<sup>52</sup>

## **V. PREGUNTA DE INVESTIGACION**

¿Los pacientes mexicanos con diagnóstico de enfermedad arterial coronaria y antecedente de infarto de miocardio tienen incremento en los niveles plasmáticos de homocisteína?

## **VI. HIPOTESIS**

Los pacientes mexicanos con antecedentes de infarto de miocardio y cardiopatía isquémica documentada por angiografía coronaria tienen incremento en la concentración plasmática de homocisteína comparado con sujetos sin cardiopatía isquémica.

## **VII. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la concentración plasmática de homocisteína en pacientes con cardiopatía isquémica y antecedente de infarto de miocardio.

## **VIII. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Determinar los niveles plasmáticos de Hcy en pacientes con cardiopatía isquémica documentada por angiografía.
2. Determinar los niveles plasmáticos de Hcy en individuos sanos –grupo control-
3. Comparar los niveles plasmáticos de Hcy en pacientes y controles.
4. Determinar la razón de momios y los intervalos de confianza 95 (riesgo predictivo) de los niveles plasmáticos de Hcy en pacientes con antecedente de infarto de miocardio

5. Analizar la correlación de los niveles plasmáticos de Hcy con factores de riesgo coronario tradicionales.
6. Determinar la asociación de niveles plasmáticos de homocisteína con la extensión y gravedad de la enfermedad coronaria

## ***IX. MATERIAL Y MÉTODOS***

El estudio de casos y controles se realizó del 1 de enero de 2007 al 30 de mayo de 2008 donde se incluyeron consecutivamente a 111 pacientes con enfermedad arterial coronaria documentada por angiografía previamente y a 111 sujetos controles y que después del estudio pertinente se aceptaron como donadores y aceptaron participar en el estudio.

A ambos grupos se les determinó homocisteína con la técnica descrita previamente, a los pacientes se les realizó la toma de la muestra durante el estudio de coronariografía. En los controles se determinó la concentración de homocisteína en el momento de la donación en el banco de sangre durante el periodo especificado.

En los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, se registraron los factores de riesgo tradicionales como edad, género, índice de masa corporal, antecedentes familiares y personales como hipertensión, Diabetes Mellitus, tabaquismo y dislipidemia. En todos los participantes se requirió consentimiento informado para su inclusión en el estudio. La angiografía coronaria fue realizada por cardiólogos intervencionistas en todos los casos. Se utilizó análisis de estimación visual para cuantificar el grado de obstrucción coronaria.

### ***9.1 DISEÑO DEL ESTUDIO:***

#### ***Casos y controles***

## **9.2 POBLACIÓN:**

Pacientes con enfermedad arterial coronaria de múltiples vasos angiográficamente documentada, hospitalizados en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” que cumplan con los criterios de inclusión.

## **9.3 CRITERIOS DE INCLUSION:**

- Pacientes con enfermedad arterial coronaria de 2 o más vasos documentada por angiografía coronaria.
- Enfermedad arterial coronaria estable.
- Hombres y mujeres mayores de 18 años de edad

## **9.4 CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN:**

- Historia de Infarto de miocardio de 1 mes o menos de diagnóstico
- Cirugía de revascularización coronaria previa.
- Patología tiroidea o antecedentes de uso de hormonas tiroideas
- Intervenciones quirúrgicas recientes (3 meses previos)
- Antecedente personal de artritis reumatoide
- Antecedentes personal de cardiopatía reumática
- Infección grave (3 meses previos)
- Insuficiencia renal o hepática.

## **9.5 CONTROLES:**

Se incluyeron donadores voluntarios que acudieron a banco de sangre. Se excluyeron pacientes con enfermedades crónicas como diabetes, hipertensión, tabaquismo y antecedentes de enfermedad cardiovascular. Se registraron medidas antropométricas y signos vitales. En todos se realizó perfil lipídico completo.

### **9.6 CALCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA**

Estudio casos y controles:

$$N = \frac{(Z_{\alpha/a} + 2B)^2 \cdot p \cdot (1 - p) \cdot (r+1)}{(d)^2 \cdot r}$$

$$(d)^2 \cdot r$$

.r = razón entre el número de controles por caso = 1

.p<sup>2</sup> = proporción de casos expuestos = 20% (0.20)

.p<sup>1</sup> = proporción de controles expuestos = 5% (0.05)

.p = promedio ponderado de p<sup>2</sup> y p<sup>1</sup> = (p<sup>2</sup> + rp<sup>1</sup>) / (1+r) = 0.125

.d = diferencias en proporciones = 0.15

.a = alfa = 0.05

B= beta = 0.2

$$(Z_{\alpha/a} + 2B)^2 = 7.849$$

$$.n = \frac{(7.849) \cdot 0.125 \cdot (1-0.125) \cdot (1+1)}{(0.15)^2 \cdot 1} = \frac{1.716968}{0.0225} = 77$$

$$(0.15)^2 \cdot 1$$

$$0.0225$$

N= 77 Casos y 77 controles

### **9.7 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN PLASMÁTICA DE HOMOCISTEINA**

Se obtuvo una muestra de sangre con por lo menos con 8 horas de ayuno en cada enfermo y control. Mediante punción venosa se extrajeron 10 mL de sangre y se colocaron en un tubo de ensaye de vidrio con EDTA como anticoagulante. Se centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos. El plasma se distribuyó en alícuotas y se congelaron a -70°C hasta completar el tamaño de la muestra requerido (tiempo menor a 6 meses). Se analizaron en bloques con el fin de disminuir la variabilidad interensayo. La concentración en plasma de homocisteína fue medida por método comercial inmunonefelométrico (Dabe Behring) y los valores fueron expresados en  $\mu\text{M}$ . El método utilizado para determinar homocisteína está estandarizado y validado para este fin.

En todos los pacientes se realizó perfil de lípidos completo. El colesterol LDL fue calculado acorde a formula de Friedwald.

### **9.8 ANGIOGRAFIA CORONARIA:**

Las angiografías coronarias fueron realizadas por cardiólogos intervencionistas experimentados. Las angiografías fueron analizadas en por lo menos 5 proyecciones distintas para la arteria coronaria izquierda y 3 proyecciones para la arteria coronaria derecha.



### **9.9 DEFINICION DE VARIABLES:**

- Diabetes mellitus tipo 2: Pacientes con diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2 ó que estuvieran recibiendo tratamiento hipoglucemiante y/o insulina, y pacientes con glucemia en ayuno de 126 mg/dL en 2 o más ocasiones.
- Hipertensión arterial sistémica: Pacientes con diagnóstico previo o con tratamiento antihipertensivo establecido.
- Hipercolesterolemia: Pacientes con diagnóstico previo, niveles de colesterol total igual o mayor de 240 mg/dL, niveles de colesterol LDL igual o mayor de 160 mg/dL o colesterol HDL menor de 40 mg/dL.
- Hipertrigliceridemia: se considero con diagnóstico previo, tratamiento con fibratos o triglicéridos séricos igual o mayor de 150 mg/dL.
- Tabaquismo previo: Antecedentes de consumo de 5 o más cigarros al día suspendido en un tiempo mayor a un año.
- Tabaquismo activo: al consumo de 5 o más cigarros al día al momento de su ingreso al estudio o suspendido en un tiempo menos a 1 año.
- Obesidad: cuando el índice de masa corporal (peso en kg/ talla en m<sup>2</sup>) fue igual o mayor de 30.
- La obstrucción coronaria igual o mayor de 50% en un vaso principal o secundario [mayor de 2 mm], se consideró significativa. La enfermedad significativa del tronco principal izquierdo por si sola se consideró enfermedad de 2 vasos (descendente anterior y circunfleja).
- La extensión de la enfermedad arterial coronaria: Significativas (> 50% de reducción de diámetro) Los criterios angiográficos para evaluar extensión y gravedad, fueron tomados del estudio BARI<sup>i</sup> ya que este estudio analizó diversos tratamientos en pacientes con enfermedad coronaria de múltiples vasos. Se consideraron 29 segmentos arteriales.
- La localización de la lesión: es especificada por la porción proximal de la lesión. Se dividió en ostial, cuerpo y distal para el tronco de la arteria coronaria izquierda. Se consideró afectación del tronco a lesiones de 50% o mas; lesión en DA proximal si se localizó antes de primer ramo septal,

lesión en bifurcación si la lesión significativa se localizó en sitio de ramificación en tronco distal, DA con primer ramo diagonal, circunfleja con primer ramo marginal y/o CD distal con Descendente posterior.

- Se analizó la gravedad y extensión de la enfermedad coronaria en cada paciente con el score de Gensini el cual evalúa tanto la gravedad de las lesiones en cuanto a porcentaje de estrechez luminal y el segmento arterial coronario afectado. De acuerdo al porcentaje de pérdida luminal se otorga un puntaje de 1 a 32, este valor se multiplica si la lesión esta en tronco: x 5; si esta en la DA proximal: x 2.5; DA media: x1.5, DA distal: x 1; Cx proximal x 2.5; Cx distal: x 1.0; MO y PL x 1.0, Diagonales, DP y ramo retroventricular x 0.5. ostial, proximal, medio y distal para la descendente anterior (DA), circunfleja (CX), coronaria derecha (CD) o sus ramas secundarias (mayores de 2 mm). Se consideró lesión ostial (tipo B) si la lesión afectaba el tronco principal izquierdo, DA, Cx y/o CD proximales.
- Se utilizó escala continua (1-100%) y escala ordinal: arteria sin lesiones coronarias; enfermedad obstructiva menor de 50%; obstrucción de 50 a 70%,; obstrucción de 71 a 99% u oclusión total del vaso coronario (100%).

#### **9.10 TIPO DE MUESTREO:**

No probabilístico incidental

#### **9.11 ANALISIS ESTADISTICO:**

Para la estadística descriptiva, se utilizaron medidas de tendencia central. Medias con desviación estándar o medianas para variables continuas según la distribución. Variables discretas como frecuencias y porcentajes. El análisis estadístico se realizó con la prueba U de Mann-Whitney para comparar diferencias entre variables continuas. Las diferencias significativas entre variables categóricas fueron evaluadas usando chi-cuadrada. Se utilizó la prueba exacta de Fisher para frecuencias menores a 5. La prueba de correlación de Pearson o Spearman (según distribución) se utilizó para evaluar la asociación de los niveles de Lp(a) con otras variables cuantitativas. Se utilizó prueba de Kruskal-Wallis para determinar asociación entre niveles de homocisteína y grado, localización y

extensión de la enfermedad arterial coronaria. El análisis de regresión logística múltiple fue incluido para determinar la relación entre factores de riesgo, niveles de homocisteína e infarto de miocardio. Se utilizaron razón de momios con Intervalos de Confianza de 95% (IC-95%). Un valor de  $P < 0.05$  se consideró significativo. Los cálculos estadísticos se realizaron con el paquete SPSS versión 13.

#### **9.12 RIESGO DE LA INVESTIGACION:**

Mínimo

#### **9.13 RECURSOS HUMANOS:**

Residentes de Cardiología, Médicos Adjuntos Cardiología, Hemodinámica, Investigadores de los departamentos de Endocrinología y Farmacología. Personal de Enfermería.

#### **9.14 RECURSOS FISICOS:**

Servicio de Cardiología, Hemodinámica, Farmacología y endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología.

#### **9.15 RECURSOS FINANCIEROS**

Institucionales, apoyo financiero del Instituto Científico Pfizer, Proyecto CONACYT número, Proyecto PAPIIT.

## **X. HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo \_\_\_\_\_

**Declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio:**

**“ASOCIACION ENTRE NIVELES PLASMÁTICOS DE HOMOCISTEINA CON LA PRESENCIA Y EXTENSIÓN DE LA ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA”**

**El estudio consiste en una toma de muestra de sangre venosa, en la cual se realizara la determinación de los niveles de homocisteína. Los propósitos del estudio son identificar la relación de los niveles elevados de homocisteína con la presencia y extensión de la enfermedad arterial coronaria. Este estudio podría en un futuro, beneficiar a estos pacientes con nuevos tratamientos. Puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en el estudio.**

**Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme del presente estudio en el momento que así lo desee. En caso de que decidiera no participar, la atención que como paciente recibo en esta Institución no se verá afectada.**

\_\_\_\_\_  
**FIRMA**

\_\_\_\_\_  
**TESTIGO**

**Fecha:**

## XI. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

### DATOS GENERALES DEL PACIENTE

NOMBRE: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

REGISTRO: 

--	--	--	--	--	--	--

EDAD: \_\_\_\_\_

FECHA DE NACIMIENTO (DIA/MES/AÑO): (\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_)

GENERO: MASCULINO                       FEMENINO

ESCOLARIDAD: \_\_\_\_\_

CSE: \_\_\_\_\_

FECHA DE INGRESO AL INC: (\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_)

<b>ANTECEDENTES FAMILIARES:</b>	SI	NO
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
CARDIOPATIA ISQUEMICA:		
CARDIOPATIA ISQUEMICA TEMPRANA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Hombres < 55, Mujer <65)		
HIPERTENSION ARTERIAL	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
DIABETES MELLITUS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR:**      SI                      NO

HIPERTESION ARTERIAL:                                           

TIEMPO DE EVOLUCION: \_\_\_\_\_

DIABETES MELLITUS:                                           

TIEMPO DE EVOLUCION: \_\_\_\_\_

TABAQUISMO PREVIO:                                           

DURACION EN AÑOS: \_\_\_\_\_

SUSPENDIDO HACE: \_\_\_\_\_

TABAQUISMO ACTUAL:                                           

NUMERO DE CIGARROS AL DIA: \_\_\_\_\_

EDAD DE INICIO: \_\_\_\_\_

DISLIPIDEMIA:

TIEMPO DE EVOLUCION: \_\_\_\_\_

PESO: \_\_\_\_\_ TALLA: \_\_\_\_\_

**INFARTO DE MIOCARDIO PREVIO:**

TRATAMIENTO DE REPERFUSION:

- TROMBOLISIS

- PERCUTANEA

- QUIRURGICA

**TRATAMIENTO MEDICO ACTUAL:**

ASPIRINA

ESTATINA

BETABLOQUEADOR

CALCIO ANTAGONISTA

INHIBIDOR DE LA ECA

BLOQUEADOR DE RECEPTOR DE ANGIOTENSINA

FIBRATOS

HIPOGLUCEMIANTE ORAL

INSULINA

**PERFIL DE LIPIDOS:**

Colesterol Total: \_\_\_\_\_

Colesterol LDL: \_\_\_\_\_

Colesterol HDL: \_\_\_\_\_

Triglicéridos: \_\_\_\_\_

Acido úrico: \_\_\_\_\_



## **XII. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS ANGIOGRÁFICOS**

### **TRONCO**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				
<b>Calcificación</b>				

Localización: O= Ostial; C: Cuerpo; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO DESCENDENTE ANTERIOR**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				
<b>Calcificación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO RAMO DIAGONAL**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				
<b>Calcificación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO RAMO INTERMEDIO**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				
<b>Calcificación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO CIRCUNFLEJA**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				
<b>Calcificación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO OBTUSA MARGINAL**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO CORONARIA DERECHA**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO DESCENDENTE POSTERIOR**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				
<b>Calcificación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

### **ANALISIS ANGIOGRÁFICO RETROVENTRICULAR**

	Lesión 1	Lesión 2	Lesión 3	Lesión 4
<b>Localización</b>				
<b>Porcentaje</b>				
<b>Bifurcación</b>				
<b>Calcificación</b>				

Localización: O= Ostial; P: Proximal; M: Medio; D: Distal

---

### **XIII. RESULTADOS**

#### **13.1 Características clínicas de la población estudiada y niveles de homocisteína**

Del 1 de Enero del 2007 al 30 de mayo del 2008 se incluyeron consecutivamente a 111 pacientes con enfermedad arterial coronaria documentada por angiografía y 111 individuos controles clínicamente sanos. Los pacientes y controles fueron agrupados en 3 categorías de acuerdo a la edad: menores de 50 años, 50 a 59 años y 60 años o más y comparados de acuerdo a características clínicas (ver tabla 1).

En el grupo de edad menor de 50 años observamos diferencias estadísticamente significativas para genero, niveles plasmáticos de Lipoproteína (a) [Lp (a)] y homocisteína. Al comparar el grupo de edad de 50 a 59 años, se observaron diferencias en genero, perfil de colesterol y lipoproteína (a), sin embargo no hubo diferencias en niveles de homocisteína. En el grupo de mayores de 60 años, se observó diferencias significativas en colesterol LDL y lipoproteína (a). Los niveles plasmáticos de homocisteína fueron mayores en enfermos con cardiopatía isquémica menores de 50 años cuando se compararon con controles sanos ( $p=0.003$ ). En general, los niveles plasmáticos de lipoproteína (a) fueron mayores en enfermos para los diferentes grupos de edad con diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.019$ ,  $p=0.011$ ,  $p=0.046$ , respectivamente).

**Tabla 1. Se muestran las características clínicas y perfil bioquímico de pacientes y controles agrupados por edad.**

	Edad < 50 años				Edad 50 -59 años				Edad > 60 años			
	Total	Casos	Controles	p	Total	Casos	Controles	P	Total	Casos	Controles	p
n	45	14	31		104	38	66		73	59	14	
Género masculino %		92	59	0.035		94	69	0.003		86	92	0.449
IMC		27 ± 4.2	28 ± 4.8	0.331		26 ± 2.9	27 ± 3.4	0.230		26 ± 3.4	27 ± 3.2	0.441
Colesterol total		193 (78-417)	167 (113-238)	0.720		151 (65-264)	183 (111-289)	0.001		150 (65-417)	163 (127-209)	0.052
Colesterol HDL		34 (17-67)	30 (17-51)	0.504		32 (20-54)	36 (21-90)	0.030		34 (17-71)	32 (21-51)	0.200
Colesterol LDL		130 (30-310)	112 (64-171)	0.905		88 (30-191)	118 (43-211)	0.001		86 (33-197)	104 (79-151)	0.009
Triglicéridos		191 ± 85	156 ± 72	0.156		172 ± 74	171 ± 76	0.976		161 ± 103	159 ± 60	0.959
Lp (a)		29.6 (2-74)	9.4 (2-62)	0.019		9.8 (2.4-82)	9.4 (2-70)	0.011		17.2 (2-150)	9.4 (2-38)	0.046
Hcy		10.4 ± 3.4	7.0 ± 3.3	0.003		9.6 ± 3.2	9.0 ± 3.6	0.451		11.2 ± 4.2	9.2 ± 2.8	0.109

Las variables se expresan en media ± desviación estándar (DE) o medianas con valores mínimo y máximo según su distribución. Se realizó prueba T para comparar variables cuantitativas con distribución normal o U de Mann-Whitney como prueba no paramétrica. Chi cuadrada para variables categóricas. IMC= índice de masa corporal; HDL= lipoproteína de alta densidad; LDL= lipoproteína de baja densidad; Lp(a) = lipoproteína (a); Hcy= homocisteína.

Al excluir al género femenino del análisis comparativo (tabla 2) se observó que la homocisteína y Lp(a) estaban significativamente más elevadas en pacientes que en controles para el grupo de edad menor de 50 años. Para el grupo de edad de 50 a 59 años, el perfil de colesterol total y LDL fue más alto para controles mientras que los niveles de Lp (a) fueron menores, con diferencias

estadísticamente significativa. Finalmente, para el grupo de edad de 60 años y más, se observaron diferencias significativas para colesterol total y LDL comparando enfermos con el grupo control.

Se consideró hiperhomocisteinemia a los niveles de Hcy igual o mayores de 13  $\mu$ M. La prevalencia de niveles elevados de Hcy fue de 18.9% en pacientes con cardiopatía isquémica y 9.3% en controles ( $p=0.04$ ). No hubo diferencias significativas en la prevalencia de hiperhomocisteina en cuanto a género 18 vs 27% ( $p=0.456$ ) y 12 vs 3% ( $p=0.278$ ) en pacientes vs controles, respectivamente. Tampoco hubo relación entre edad y niveles de Hcy en pacientes ni en controles.

Analizando únicamente a pacientes, no hubo diferencias significativas en la media de los niveles de Hcy en quienes tenían el antecedente de infarto de miocardio previo ( $n=87$ ) y quienes no ( $n=24$ ) [ $10.4 \pm 2.9$  mmol/L vs  $10.6 \pm 4.1$  mmol/L respectivamente,  $p= 0.839$ ]

**Tabla 2. Características clínicas y perfil bioquímico de Pacientes y controles excluyendo género femenino.**

	Edad < 50 años				Edad 50-59 años				Edad > 60 años			
	Tot al	Casos	Contro les	p	Tot al	Casos	Controle s	p	Tot al	Casos	Contro les	p
N	32	13	19		81	36	45		63	51	12	
IMC		27 ± 4.1	29 ± 5.3	0.186		26 ± 2.9	27 ± 2.9	0.218		26 ± 3.1	27 ± 3.3	0.396
Colesterol total		199 (78-417)	166 (123-238)	0.623		153 (65-264)	179 (111-273)	0.004		142 (75-264)	159 (127-209)	0.046
Colesterol HDL		33 (17-67)	29 (17-40)	0.545		32 (20-54)	35 (21-90)	0.367		34 (20-71)	31 (21-51)	0.234
Colesterol LDL		130 (30-310)	113 (71-171)	0.705		89 (30-191)	113 (43-190)	0.020		87 (33-197)	99 (79-151)	0.016
Triglicéridos		200 ± 81	163 ± 70	0.188		171 ± 72	186 ± 82	0.389		152 ± 101	162 ± 62	0.743
Lp (a)		32 (2-74)	9.6 (2-62)	0.065		9.8 (2.4-82)	9.4 (2-70)	0.012		16.0 (2-96)	9.4 (2-38)	0.163
Hcy		10.6 ± 3.4	7.3 ± 3.8	0.018		9.7 ± 3.2	9.9 ± 3.8	0.819		11.1 ± 4.3	9.1 ± 2.9	0.122

Las variables se expresan en media ± desviación estándar (DE) o medianas con valores mínimo y máximo según su distribución. Se realizó prueba T para comparar variables cuantitativas con distribución normal o U de Mann-Whitney como prueba no paramétrica. Chi cuadrada para variables categóricas. IMC= índice de masa corporal; HDL= lipoproteína de alta densidad; LDL= lipoproteína de baja densidad; Lp(a) = lipoproteína (a); Hcy= homocisteína.

### **13.2 Relación con otros factores de riesgo**

Hubo una correlación positiva entre niveles de hcy y lipoproteína (a) [ $p = <0.0001$ ,  $r=0.23$ ] y edad ( $p = <0.0001$ ,  $r=0.30$ ) y correlación inversa con LDL ( $p=0.015$ ,  $r=-0.165$ ). El resto de factores de riesgo no mostraron correlación lineal.

### **13.3 Relación entre infarto de miocardio, homocisteína y factores de riesgo**

Se realizó un análisis de regresión logística en el grupo de edad  $< 50$  años para el antecedente de infarto. Se incluyeron los factores de riesgo tradicionales para enfermedad coronaria como género, IMC, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos y lipoproteína (a). El modelo mostró que los niveles de homocisteína son predictores independientes de infarto de miocardio con OR de 2.0 [IC: 1.12-3.57] con una  $p = 0.018$  (ver tabla 3). El colesterol total, LDL, IMC y la lipoproteína (a) también fueron predictores independientes de infarto de miocardio. En grupos de edad mayores de 50 años, la Hcy no mostró ser un factor de riesgo independiente para infarto de miocardio (OR 1.0, IC=0.961-1.17,  $p=0.233$ ).

**Tabla 3. Factores de riesgo para infarto de miocardio en grupo de edad  $< 50$  años acorde a análisis de regresión múltiple.**

<b>Factor de riesgo</b>	<b>Razón de Momios</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>P</b>
IMC	0.625	0.41-0.94	0.024
Colesterol total	1.17	1.02-1.33	0.018
Colesterol HDL	1.10	0.94-1.29	0.207
Colesterol LDL	0.86	0.75-0.97	0.022
Lp (a)	1.08	1.00-1.17	0.034
Hcy	2.00	1.02-3.57	0.018

IMC= índice de masa corporal; HDL= lipoproteína de alta densidad; LDL= lipoproteína de baja densidad; Lp(a) = lipoproteína (a); Hcy= homocisteína.

### **13.4 Relación entre los niveles de homocisteína y extensión de la enfermedad coronaria**

Se analizó la relación entre el grupo de enfermos con cardiopatía isquémica ( $n=107$ ) de acuerdo a los datos angiográficos y niveles de tHcy (ver tabla 5). No



encontramos diferencias significativas en niveles de tHcy (dicotomizado en 13 mmol/L) en cuenta al grado de obstrucción coronaria, extensión de la enfermedad coronaria, localización proximal en descendente anterior, enfermedad de tronco de la coronaria izquierda ni escala de severidad de Gensini.

Tabla 4. Relación entre niveles plasmáticos de Hcy y variables angiográficas en pacientes con enfermedad coronaria.

<b>Variables Angiográficas</b>	<b>Pacientes con Hcy &lt;13 µM n=88</b>	<b>Pacientes con Hcy ≥ 13 µM n=19</b>	<b>Valor de p</b>
Grado de obstrucción coronaria	1 (0-5)	1 (0-4)	0.78
- < 50%	2 (0-6)	2 (0-5)	0.28
- 50-75%	1 (0-4)	1 (0-4)	0.78
- 76-95%	1 (0-3)	1 (0-3)	0.76
- 96-100%			
Extensión de la enfermedad coronaria			0.98
- Bivascular	41 (47)	9 (47)	
- Trivascular	46 (53)	10 (53)	
Localización de lesión			
- Tronco	22 (25)	3 (16)	0.55
- DA proximal	47 (54)	11 (57)	0.97
-			
Característica de complejidad	57 (65)	13 (68)	0.85
- Oclusión total	40 (45)	12 (63)	0.20
- Bifurcación			
-			
Escala de severidad (Gensini)	57 (7-161)	58 (18-148)	0.73

Las variables se expresan en medianas con valores mínimo y máximo . Se realizó prueba U de Mann-Whitney como prueba no paramétrica. Chi cuadrada para variables categóricas. DA= descendente anterior, Hcy= homocisteína.

## **DISCUSION**

El presente estudio muestra que los niveles elevados de homocisteína plasmática son predictores independiente de infarto de miocardio en población joven (< 50 años). Otros factores de riesgo coronario independiente fueron IMC, colesterol, total, LDL, y Lp (a). En población mayor a 50 años no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el antecedente de infarto y los niveles de Hcy. Son múltiples los estudios transversales, de casos y controles, y estudios de cohorte que demuestran que la homocisteína es un factor de riesgo independiente para EAC, y en algunos de estos se asocia con incremento en el riesgo de mortalidad.<sup>40</sup> Sin embargo, otros estudios han mostrado resultados contradictorios.<sup>52</sup> Los factores que probablemente influyan en estos resultados pueden estar relacionados a factores nutricionales, genéticos, estilo de vida y grupo étnico.<sup>42</sup> Nygard, et al<sup>53</sup> reportaron elevación en los niveles de Hcy y el riesgo de eventos cardiacos agudos.

En este estudio, la prevalencia de niveles elevados de Hcy fue de 18.9% en pacientes con cardiopatía isquémica y 9.3% en controles ( $p=0.04$ ). La prevalencia de la hiperhomocisteinemia ha sido estimada en un 5% en la población general, y en un 13 y 47% entre pacientes con enfermedad vascular aterosclerótica sintomática.<sup>3</sup> Esta prevalencia en la población tiene un franco componente de tipo genético que se ha estudiado a través de los diferentes genotipos de la mutación del gen C677T de la metilén tetra hidro folato reductasa (MTHFR) en la que se clasifica a la CC alelo silvestre, la CT como

mutación heterocigota y la TT como mutación homocigota.<sup>4</sup> En nuestra población, la alteración por mutación homocigótica (TT) se ha encontrado hasta en un 35 %, la cual podría predisponer a alteraciones de carácter trombótico.<sup>5</sup> Otro factor importante en nuestra población, el alto índice de mal nutrición en la población general.

En el análisis por grupo de edad, observamos diferencias significativas en niveles plasmáticos de Hcy en población menor de 50 años, siendo mayor para enfermos con cardiopatía isquémica ( $p=0.003$ ), en población de 50 a 59 años no hay diferencias, sin embargo para población mayor de 60 años hay cierta tendencia a tener mayores niveles plasmáticos de Hcy sin llevar a la significancia estadística ( $11.2 \pm 4.2$  vs  $9.2 \pm 2.8$ ,  $p=0.109$ ) para pacientes vs controles, respectivamente. Esta falta de significancia estadísticas pudiera ser explicada por el menor número de sujetos control en esta categoría de edad. Los niveles de colesterol fueron más elevados en controles probablemente debido a que los pacientes estaban bajo tratamiento dietético hipolipemiante y con fármacos hipolipemiantes.

Se sabe que el género masculino tiene mayores niveles de Hcy plasmática. Al hacer el ajuste comparativo para género masculino, se continuó observando diferencias significativas tanto para lp(a) como para Hcy en el grupo de edad menor de 50 años. En mayores de 50 años no se observó diferencias significativas en niveles plasmáticos de Hcy ( $p=0.819$  y  $0.122$ , 50-59 años y 60 o más, respectivamente).

En nuestra población estudiada, existe correlación positiva entre niveles de Hcy y Lp (a) y correlación inversa con niveles de LDL. Esta última favorecida probablemente por el tratamiento instituido a pacientes (comentado previamente). A diferencia de estudios previos en otras poblaciones, no encontramos correlación con otros factores de riesgo convencional como género, hipertensión, DM, tabaquismo, etc.

En nuestro estudio no encontramos asociación con los niveles de Hcy y lesiones coronarias tomando en cuenta la gravedad (grado de estrechez coronaria), localización, extensión ni gravedad de la enfermedad coronaria (escala de Gensini). Esta falta de asociación pudiera ser debido a que se incluyeron únicamente pacientes con enfermedad coronaria de 2 o más vasos. Otra posible explicación pueden ser los criterios de lesión angiográfica, partiendo desde la definición de estenosis significativa, en donde en algunos de ellos se toma a una lesión del 50% como significativa, mientras en otros lo es del 70%.<sup>50,54</sup> Otros estudios no han mostrado asociación con niveles plasmáticos de Hcy y gravedad de enfermedad arterial coronaria. De acuerdo a otros estudios realizados de Bozkurt<sup>49</sup>, Rodríguez<sup>52</sup>, Kang, y cols<sup>50</sup> quienes consideraron como criterio para EAC estenosis lesiones mayores del 70% y Wilcken<sup>54</sup> que utilizó como definición de estenosis ( $\geq 50\%$ ), no hubo relación entre la extensión, severidad y localización de las lesiones coronarias y Hcy. Otros estudios como el de Chao, demostraron una relación directa entre los niveles de homocisteína y el número de vasos afectados ( $P < 0.05$ ) o en pacientes con lesiones estenóticas con  $> o = 90\%$ , ( $P = 0.005$ ), comparada con

sujetos sin enfermedad arterial coronaria (EAC). El riesgo de EAC en los dos cuartiles más altos ( $\geq 14.0$  y  $10.1-13.9$   $\mu\text{M/l}$ ) fueron 4.0 (95% CI, 1.7-9.2) y 3.2 (95% CI, 1.4-7.4) que en el cuartil más bajo ( $\leq 7.9$   $\mu\text{M/l}$ ) ( $P=0.001$  y  $0.007$ , respectivamente). El análisis estadístico de regresión lineal demostró correlación entre homocisteinemia y la gravedad y extensión de la lesión aterosclerótica ( $P=0.0001$  para ambos)<sup>44</sup>

### ***Limitaciones del estudio.***

Los individuos incluidos en el grupo control están asintomáticos desde el punto de vista cardiovascular y no tiene antecedentes de patología cardíaca, sin embargo, no se realizaron estudios diagnósticos específicos para descartar cardiopatía isquémica asintomática. Por lo mismo carecen de angiografía coronaria que permite confirmar ausencia de coronariopatía. Para compensar este punto se procuró contar con individuos en el grupo control menores de 60 años. No se realizó determinación del polimorfismo de THFR que pudiera explicar los niveles elevados de Hcy en la población estudiada. No se analizó el aspecto nutricional de pacientes y controles.

### **CONCLUSIÓN.**

En población mexicana menor de 50 años, los niveles elevados de homocisteína son factores de pronóstico independientes para infarto de miocardio. Estos niveles de homocisteína no se asociaron con la gravedad, localización, ni extensión de la enfermedad arterial coronaria pero sí con la concentración plasmática de lipoproteína (a).

A partir de datos recientes, ha surgido una nueva noción en el mecanismo de acción de la Lp(a). Por una parte, se ha demostrado que las isoformas de apolipoproteína(a) aisladas sea por disociación de la partícula de Lp(a) o producidas por tecnología recombinante, presentan todas una alta afinidad por la fibrina y un efecto antifibrinolítico importante. En cambio cuando se las incorpora en una LDL para formar una partícula de Lp(a), se observa una relación inversa entre tamaño de la apo(a) y el efecto antifibrinolítico. Resulta interesante notar que las formas libres de apo(a) pueden surgir como resultado de un ambiente reductor que se genera por la presencia de altas concentraciones plasmáticas de homocisteína. La apo(a) libre posee un efecto antifibrinolítico mayor que cuando forma parte de la molécula de Lp(a).

La hiperhomocisteinemia inducida por diferentes mecanismos, como deficiencia de folatos, genotipo TT del gen de la MTHFR, mutaciones en otros genes del proceso de remetilación de la homocisteína y deficiencia de otros cofactores, puede inducir un aumento en el efecto antifibrinolítico de la Lp(a), independientemente del tamaño de las isoformas de apo(a). De esta manera, en sujetos que presenten concentraciones elevadas de Lp(a) y de hcy favorecerá un ambiente reductor que disociará la molécula de apo(a) de la partícula de Lp(a) por lo que el efecto aterogénico de estos factores de riesgo sería aditivo.

En la población mexicana existe una alta prevalencia de la mutación C677T de la enzima MTHFR que aunada a una pobre ingesta de folatos y otras vitaminas del grupo B puede condicionar una elevación de los niveles plasmáticos de

hcy. El estudio de la interacción hcy- Lp(a) se convierte así, en una prioridad de investigación en enfermedades con importante repercusión en salud pública. Consideramos que los resultados destacan la importancia de identificar a los individuos y a los grupos étnicos en los que el binomio hcy-Lp(a) se asocie a la enfermedad aterotrombótica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Morales JJ, La hiperhomocisteinemia como factor de riesgo en una población mexicana Arch Card Mex Vol. 73 Supl. 1/Abril-Junio 2003:S103-S105.
2. Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease:A possible role for methionine metabolism. J Clin Invest 1976;57: 1079-1082.
3. McCully KS, 1996; Malinow MR, et al., 1998.
4. Fallon UB, Ben-Shlomo Y, Kelly PJ, Rosand J, Shih V: *Homocysteine, MTHFR677CT polymorphism, and risk of ischemic stroke: Results of a meta-analysis*. Neurology 2003; 60: 526-527.
5. Mutchinick OM, López MA, Luna L, Waxman J, Babinsky VE, Ryvenmce Collaborative Group: High Prevalence of the Thermolabile Methylenetetrahydrofolate Reductase Variant in Mexico: A Country with a Very High Prevalence of Neural Tube Defects. Mol Gen Met 1999; 68: 461-7.
6. Wald S, Malcolm Law and Joan K Morris *BMJ* 2002;325;1202-1206.
7. Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status Clin Chem. 1995 Mar;41(3):340-2..
8. Ueland et al Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. Clin Chem. 1993 sep;39(9):1764-79.
9. Andersson A, Isaksson A, Hultberg B: Homocysteine export from erythrocytes and its implication for plasma sampling. Clin Chem 38: 1311-1315, 1992.
10. Catelao JE, Gago-Domínguez M . Med Hypotheses Risk factors for cardiovascular disease in women: Relationship to lipid peroxidation and oxidative stress. 2008;71(1):39-44. Epub 2008 Mar 4.
11. Fukagawa NK, Galbraith RA. Advancing age and other factors influencing the balance between amino acid requirements and toxicity. J Nutr. 2004 Jun;134(6 Suppl):1569S-1574S.
12. Ganji V, Kafai MR. Serum total homocysteine concentration determinants in non-Hispanic White, non-Hispanic Black, and Mexican-American populations of the United States Ethn Dis. 2004 Autumn;14(4):476-82.
13. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. N Engl J Med 1998; 338: 1042-1050.
14. Boers GHJ, Fowler B, Smals AGH y col: Improved identification of heterozygotes for homocystinuria due to cystathionine synthase



- deficiency by the combination of methionine loading and enzyme determination in cultured fibroblasts. *Hum Genet* 69: 164-169. 1985.
15. Mudd SH, Levy HL. Plasma homocyst(e)ine or homocysteine? *N Engl J Med*. 1995 Aug 3;333(5):325
  16. Ogier de Baulny H, et al. Remethylation defects: guidelines for clinical diagnosis and treatment. *Eur J Pediatr*. 1998 Apr;157 Suppl 2:S77-83.
  17. Frosst P, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet*. 1995 May;10(1):111-3.
  18. Malinow MR, et al. The effects of folic acid supplementation on plasma total homocysteine are modulated by multivitamin use and methylenetetrahydrofolate reductase genotypes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997 Jun;17(6):1157-62.
  19. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Med* 1999; 19: 217–46.
  20. Lambie DG, Johnson RH. Drugs and folate metabolism. *Drugs* 1985; 30: 145-155.
  21. Bostom AG. Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 2554-2558.
  22. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile: the Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274: 1526-33.
  23. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-1050.
  24. Hussein WI, Green R, Jacobsen DW, Faiman C. Normalization of hyperhomocysteinemia with L-thyroxine in hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1999; 131: 348-351.
  25. Harker LA, Ross R, Slichter J, Scott CR: Homocysteine-induced arteriosclerosis. *J Clin Invest* 58: 731-741, 1976.
  26. Hofmann MA, Lalla E, Lu Y, Gleason MR, Wolf BM, Tanji N, Ferran LJ Jr, Kohl B, Rao V, Kisiel W, Stern DM, Schmidt AM. Hyperhomocysteinemia enhances vascular inflammation and accelerates atherosclerosis in a murine model. *J Clin Invest* 2001; 107: 675–83.

27. Lubec B, Arbeiter K, Hoeger H, Lubec G: Increased cyclin dependent kinase in aortic tissue of rats fed homocysteine. *Thromb Haemost* 75: 542-545, 1996.
28. Lubec B, Labudova O, Hoeger H y col: Homocysteine increases cyclin-dependent kinase in aortic rat tissue. *Circulation* 94: 2620-2625, 1996.
29. Tanriverdi H, Evrengul H. Epub 2007 Jan 30. Effect of homocysteine-induced oxidative stress on endothelial function in coronary slow-flow. *Cardiology*. 2007;107(4):313-20.
30. Ferreti G, Bacchetti T Epub 2005 Sep 12. Structural modifications of HDL and functional consequences. *Atherosclerosis*. 2006 Jan;184(1):1-7.
31. Cai H, Harrison DG. endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 2000; 87: 840-4.
32. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101: 1899-906.
33. Dayal S, Bottiglieri T, Arning E, Maeda N, Malinow MR, Sigmund CD, Heistad DD, Faraci FM, Lentz SR. Endothelial dysfunction and elevation of S-adenosylhomocysteine in cystathionine b-synthase deficient mice. *Circ Res* 2001; 88: 1203-9.
34. Weiler H, Isermann BH. Thrombomodulin. *J Thromb Haemost* 2003;1: 1515-24.
35. Undas et al.: Homocysteine and thrombosis: from basic science to clinical evidence *Thromb Haemost* 2005; 94: 907-15
36. Durand P, Lussier-Cacan S, Blanche D. Acute methionine load-induced hyperhomocysteinemia enhances platelet aggregation, thromboxane biosynthesis, and macrophage-derived tissue factor activity in rats, *FASEB J* 1997; 11: 1157-68.
37. Domagala TB, Undas A, Sydor WJ et al. Thrombin formation in platelet-rich plasma after oral methionine loading. *Thromb Res* 2002; 105: 503-6.
38. Lentz SR. Mechanisms of homocysteine-induced atherothrombosis. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1646-54
39. Mudd SH, Levy HL: Disorders of trans-sulfuration. En: Stanbury JB, Wyngarden JB, Fredrickson DS, Goldstein JL, Brown ME (eds): *The metabolic basis of inherited disease*. McGraw-Hill Book Co., New York, 1983, pp 522-559.
40. Boushey CI, Beresford SA, Omenn GS, Matulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA*. 1995; 274: 1049-57.

41. Yang F, Tan HM, Wang H. Hyperhomocysteinemia and atherosclerosis. *Acta Physiol Sinica*. 2005; 57: 103-14.
42. Clarke R, Collins R, Lewington, et al. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke. Meta-analysis, *JAMA* October 23/30, 2002-vol 288 No 16.
43. David S Wald, Malcolm Law and Joan K Morris Homocysteine evidence on causality from a meta-analysis) *BMJ* 2002;325;1202-1206.
44. Chao CL, The graded effect of hyperhomocysteinemia on the severity and extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1999 Dec;147(2):379-86.
45. Moreira, Homocysteine and Methylenetetrahydrofolate Reductase in Subjects Undergoing Coronary Angiography. *Arq Bras Cardiol* 2007; 88(2) : 144-149.
46. Liu H\_H Zhonghua Nei Ke Za Zhi. The association between plasma homocysteine and the number of coronary artery with stenosis. 1999 Dec;38(12):821-3.
47. JS;Califf et al, *J Am Coll Cardiol* 5:1055-63;1985: to determine the extent of the coronary circulation at jeopardy, based on the severity and location of lesions
48. M Senaratne, J Senaratne, J Griffiths, Edmonton. Relationship between the plasma homocysteine level and the severity/extent of coronary atherosclerosis, Alberta. 2003.
49. Bozkurt et al. The Effects of Hyperhomocysteinemia on the Presence, Extent, and Severity of Coronary Artery Disease *Jpn Heart J* 2003; 44: 357-368.
50. Kang SS, Passen EL, Ruggie N, Wong PWK, Sora H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1993; 88: 1463-9.
51. Wilcken DEL, Wang XL, Sim AS, McCredie RM. Distribution in healthy and coronary populations of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996.
52. Rodríguez José F. Concentraciones totales de homocisteína plasmática en pacientes puertorriqueños con cardiopatía isquémica *Rev Esp Cardiol* 2001; 54:1411-1416
53. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum. H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Eng J Med* 1997; 337: 230-6.
54. Wilcken DEL, Wang XL, Sim AS, McCredie RM. Distribution in healthy and coronary populations of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:878-82.

55. Tsai WC, Li YH, Tsai LM, *et al.* Correlation of homocysteine levels with the extent of coronary atherosclerosis in patients with low cardiovascular risk profiles. *Am J Cardiol* 2000; 85: 49-52.
56. Nardulli M, Durlach V, Pepe G, Anglés-Cano E. Mechanism for the homocysteine-enhanced antifibrinolytic potential of lipoprotein(a) in human plasma. *Thromb Haemost.* 2005; 94:75-81.
57. McCully. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol.* 1969 Jul;56(1):111-28.
58. Stary HC. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Arch.* 1992; 421: 277-90.
59. Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ES, *et al.* New Risk Factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation.* 2004; 109 (suppl III): III-15—III-19.
60. Fuster V, Corti R, Fayad A, Schwitter J, Badimon JJ. Integration of vascular biology and magnetic resonance imaging in the understanding of atherothrombosis and acute coronary syndromes. *J Thromb Haemost.* 2003; 1: 1410-21.
61. Shah PK, Galis ZS. Matrix metalloproteinase hypothesis of plaque rupture: players keep piling up but questions remain. *Circulation* 2001; 104: 1878-80.