



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE
LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**“HOMOCISTEÍNA SÉRICA ELEVADA COMO PREDICTOR DE
MORTALIDAD CARDIOVASCULAR EN ENFERMOS RENALES EN
PROGRAMA DE HEMODIÁLISIS”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA
NADIA GUADALUPE TAPIA PASTRANA**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN
MEDICINA INTERNA**

ASESOR DE TESIS:

DR. JORGE VILLALPANDO HERNÁNDEZ

NO. DE REGISTRO DE PROTOCOLO: 197.2018

AÑO: 2018. CIUDAD DE MEXICO.





Universidad Nacional
Autónoma de México



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. DANIEL ANTONIO RODRÍGUEZ ARAIZA
COORD. DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN

DRA. FLOR MARIA DE GUADALUPE
AVILA FEMMAT
JEFE DE ENSEÑANZA

DRA. MARTHA EUNICE
RODRÍGUEZ ARELLANO
JEFE DE INVESTIGACIÓN

DR. RICARDO SANTIAGO RAMIREZ
PROFESOR TITULAR

DR. JORGE VILLALPANDO HERNÁNDEZ
ASESOR DE TESIS

RESUMEN

Introducción. Aunque la mortalidad cardiovascular está aumentada en los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en hemodiálisis, los factores de riesgo cardiovascular clásicos no explican el total de mortalidad.

Objetivo. Determinar si la homocisteína sérica elevada en enfermos en hemodiálisis es un predictor de mortalidad cardiovascular.

Metodología. Se realizó un estudio observacional, prospectivo y transversal en pacientes del Hospital General Regional "Lic. Adolfo López Mateos" del ISSSTE, en la Ciudad de México, con ERC en hemodiálisis con un mínimo de 1 año en el programa y una edad de > 25 años. De ellos se obtuvo información demográfica, comorbilidades, hábitos tóxicos, parámetros bioquímicos como de creatinina, glucosa, perfil lipídico, urea, ácido úrico y nitrógeno ureico en sangre. También se cuantificaron los niveles séricos de homocisteína mediante ELISA. Se determinó la mortalidad global y cardiovascular durante el periodo de seguimiento. Se compararon las concentraciones de homocisteína entre fallecidos y sobrevivientes y la mortalidad según concentraciones de homocisteína. Además, se realizó una regresión logística binaria para determinar predictores de mortalidad cardiovascular. Una $p < 0.05$ fue considerada significativa.

Resultados. Un total de 53 pacientes (34% femeninos y 66% masculinos) con edad promedio 58.1 ± 14.0 años fueron incluidos. La frecuencia de tabaquismo (43.4%), sedentarismo (84.9%) y comorbilidades como hipertensión (84.9%), diabetes mellitus (43.3%), dislipidemia (43.3%) y obesidad (41.5%) fueron elevadas pero similares entre grupos. La mortalidad global durante el seguimiento de los pacientes fue de 24.5%, mientras la mortalidad cardiovascular fue 18.9%. La mortalidad en pacientes con hiperhomocistinemia moderada fue 0%, con hiperhomocistinemia intermedia fue 15.2% y en pacientes con hiperhomocistinemia severa 29.4%. Las concentraciones de homocisteína en quienes fallecieron fueron 98.5 ± 34.7 $\mu\text{mol/L}$ y en los sobrevivientes 76.1 ± 35.5 $\mu\text{mol/L}$ ($p = 0.079$). En el análisis multivariado, la homocisteína ($B = 0.061$; $\text{Exp}(B) = 1.063$ IC95% 1.014-1.114) y el sexo masculino se asociaron significativamente con mayor mortalidad cardiovascular.

Conclusiones. La homocisteína es un predictor independiente de mortalidad cardiovascular en pacientes en hemodiálisis, junto al género masculino.

Palabras clave: enfermedad renal crónica, homocisteína, riesgo cardiovascular, hemodiálisis

ABSTRACT

Background: Although cardiovascular mortality is increased in patients with chronic kidney disease (CKD) on hemodialysis, classic cardiovascular risk factors do not explain the total mortality.

Objectives: To determine whether elevated serum homocysteine in patients on hemodialysis is a predictor of cardiovascular mortality.

Methods: An observational, prospective and cross-sectional study was performed in patients of the Regional General Hospital "Lic. Adolfo López Mateos" of ISSSTE, in Mexico City, with CKD in hemodialysis with a minimum of 1 year in the program and an age of > 25 years. They obtained demographic information, comorbidities, toxic habits, biochemical parameters such as creatinine, glucose, lipid profile, urea, uric acid and blood urea nitrogen. Serum homocysteine levels were also quantified by ELISA. Global and cardiovascular mortality were determined during the follow-up period. The concentrations of homocysteine between deceased and survivors and the mortality according to homocysteine concentrations were compared. In addition, a binary logistic regression was performed to determine predictors of cardiovascular mortality. One $p < 0.05$ was considered significant.

Results: A total of 53 patients (34% female and 66% male) with an average age of 58.1 ± 14.0 years were included. The frequency of smoking (43.4%), sedentary lifestyle (84.9%) and comorbidities such as hypertension (84.9%), diabetes mellitus (43.3%), dyslipidemia (43.3%) and obesity (41.5%) were high but similar between groups. Overall mortality during follow-up of patients was 24.5%, while cardiovascular mortality was 18.9%. Mortality in patients with moderate hyperhomocysteinemia was 0%, with intermediate hyperhomocysteinemia was 15.2% and in patients with severe hyperhomocysteinemia 29.4%. The concentrations of homocysteine in those who died were $98.5 \pm 34.7 \mu\text{mol} / \text{L}$ and in survivors $76.1 \pm 35.5 \mu\text{mol} / \text{L}$ ($p = 0.079$). In the multivariate analysis, homocysteine ($B = 0.061$, $\text{Exp}(B) = 1.063$ IC95% 1.014-1.114) and male sex were significantly associated with higher cardiovascular mortality.

Conclusion: Homocysteine is an independent predictor of cardiovascular mortality in patients on hemodialysis, along with the male gender.

keywords: chronic kidney disease, homocysteine, cardiovascular risk, hemodialysis

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo va dirigido con una expresión de gratitud a todos los que fueron parte de mi formación en esto llamado especialidad.

A Dios quien ha sido mi guía en este camino, mi gratitud eterna por todo lo recibido.

A mis padres quienes han sido el motor más importante en toda esta odisea, espero que este logro sea un claro testimonio de la recompensa que espera a cada sacrificio. Gracias porque nunca se han cansado de demostrarme lo mucho que me aman. Para ustedes quienes han sufrido cada dificultad y gozado todos mis logros, solo quiero retribuir un poco de lo mucho que me han dado.

De manera muy especial a mi compañero de vida, por todo el apoyo brindado en toda mi carrera profesional, quien sin entender del todo este estilo de vida llamado medicina, ha decidido no sólo ser parte de ella, si no también acompañarme fervientemente en la lucha por cada una de mis metas y sueños. Gracias por demostrarme que el amor lo puede todo.

A mis profesores, guías y tutores en mi formación. Gracias por su apoyo.

A mis pacientes, educadores y educandos, quienes sin saberlo fueron motivo para seguir preparándome, ustedes me inspiran a ser un mejor doctor.

A todos mis compañeros de especialidad, amigos ya para toda la vida.

Al Doctor Jorge Villalpando por siempre estar disponible y apoyarme en este proyecto.

.

ÍNDICE

RESÚMEN.....	4
AGRADECIMIENTOS.....	6
ABREVIATURAS, SIGLAS Y ACRONIMOS.....	8
LISTA DE TABLAS.....	9
LISTA DE FIGURAS.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
ANTECEDENTES.....	16
OBJETIVOS.....	17
MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
RESULTADOS.....	20
DISCUSIÓN.....	26
CONCLUSIONES.....	27
REFERENCIAS.....	28

ABREVIATURAS, SIGLAS, Y ACRÓNIMOS

<i>Siglas</i>	<i>Descripción</i>
CI	Cardiopatía Isquémica
ECV	Enfermedad Cardiovascular
EVP	Enfermedad Vascular Periférica
FRCV	Factores Relacionados a Enfermedad Cardiovascular
Hcy	Homocisteína
HTA	Hipertension Arterial
HVI	Hipertrofia Ventricular Izquierda
IMC	Índice de Masa Corporal
MTHFR	Metilentetrahidrofolato Reductasa

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Descripción	Página
Tabla 1	Determinantes de las concentraciones séricas de homocisteína	13
Tabla 2	Características demográficas y hábitos de los participantes	23
Tabla 3	Parámetros bioquímicos de los participantes	24
Tabla 4	Comparación de las características de los pacientes fallecidos por causa cardiovascular y sobrevivientes	27
Tabla 5	Variables que permanecieron en el modelo final, de la Regresión logística binaria para predicción de mortalidad cardiovascular	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
Figura 1	Frecuencia de comorbilidades en los pacientes	24
Figura 2	Clasificación de los pacientes según el grado de hiperhomocistinemia.	25
Figura 3	Mortalidad global, de origen cardiovascular y no cardiovascular de los pacientes.	26
Figura 4	Mortalidad de origen cardiovascular por grado de hiperhomocistinemia	26

INTRODUCCIÓN

A pesar de los avances significativos en la prevención, diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad Cardiovascular (ECV), esta patología continúa siendo la primera causa de mortalidad y morbilidad en la mayoría de los países industrializados y con tendencia a aumentar en los países emergentes. Esto la convierte en un problema de salud pública de primera magnitud, tanto por la mortalidad que causa como por la incapacidad que genera y por el incremento exponencial del coste económico que implica su diagnóstico y tratamiento, así como las pérdidas laborales que ocasiona (1).

Esta patología representa la principal causa de muerte en los pacientes en hemodiálisis (HD) (cerca de la mitad del total de muertes) (2) y alrededor de un 30% de las causas de hospitalización. La tasa de mortalidad CV en estos pacientes es entre 10 y 20 veces superior a la de la población general (2).

Conocer el impacto de esta enfermedad y su evolución es fundamental para evaluar la efectividad del tratamiento y organizar los recursos destinados a la misma. Está demostrada que la aterosclerosis es la etiología subyacente de la ECV. La aterosclerosis es un proceso patológico adquirido que ocurre por la interacción de factores genéticos, susceptibilidad individual y factores ambientales que comienza de forma silente y aparentemente benigna en la infancia. No presenta Sintomatología hasta que se complica a partir de la tercera o cuarta década de vida, cuando la obstrucción o rotura de una placa induce isquemia en el territorio irrigado por esa arteria (3). Las complicaciones trombóticas de la ECV constituyen la principal causa de morbi-mortalidad a partir de los 35 años, tanto en mujeres como en hombres (4).

Aunque la ECV es una sola enfermedad, tiene diversas expresiones clínicas que incluyen la cardiopatía isquémica (CI), la enfermedad cerebro-vascular isquémica, la enfermedad vascular periférica (EVP), enfermedad renal y muerte súbita.

Se ha postulado que los factores relacionados a enfermedad cardiovascular (FRCV) nuevos o propios de la uremia también estarían involucrados en el desarrollo de la aterosclerosis acelerada y arteriosclerosis que presentan estos pacientes (11). Asimismo, el posible papel contribuyente de la técnica de diálisis en el elevado riesgo CV que presentan estos pacientes está aún por definir. La prevalencia de FRCV nuevos o no tradicionales (hiperhomocisteinemia, hiperfibrinogenemia, inflamación, estrés oxidativo (6) también es muy elevada por lo que pueden contribuir a la elevada morbimortalidad CV en estos pacientes, así como predecir a corto y largo plazo mortalidad de los mismos (1)

En los últimos años se ha demostrado que la hiperhomocisteinemia juega un papel importante en la enfermedad cardiovascular; la cual es la principal causa de muerte en pacientes con insuficiencia renal crónica, Sin duda la Hcy es un factor de riesgo independiente para cardiopatía en la población general y juega un papel primordial en el desarrollo de aterogénesis y trombosis vascular, especialmente en pacientes con insuficiencia renal. A este respecto, los pacientes sometidos a hemodiálisis están bajo los efectos tóxicos de hiperhomocisteinemia(7), por lo que es importante lograr determinar su relación en nuestra población y ofrecer medidas terapéuticas a este respecto.

En el año 1969, McCully describe un paciente con un defecto metabólico de la cobalamina (vitamina B12) que cursaba con elevación de la concentración de homocisteína (Hcy) plasmática, excreción urinaria elevada de Hcy, trombosis arterial y venosa, junto a otros signos y síntomas propios de la homocisteinemia clásica, descrita por Carson y Mudd. Este autor propuso que el incremento moderado y sostenido en el tiempo de Hcy plasmática podría contribuir el desarrollo de aterosclerosis. Más tardíamente se describieron pacientes con otros déficit enzimáticos, como el de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), también infrecuente (8). Estos defectos

moleculares tenían en común el nivel elevado de Hcy plasmática y trombosis en arterias y venas de todos los calibres. Desde entonces numerosos estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales han ido demostrando, no sin excepciones, que la elevación de la concentración de Hcy plasmática es un factor de riesgo independiente en el desarrollo de enfermedad cardiovascular (1). Por lo general, en los pacientes con elevación de Hcy la aterosclerosis comenzaba a manifestarse como enfermedad coronaria prematura en la tercera o cuarta década de vida y episodios de trombosis venosa o arterial recurrentes.

La Hcy ejerce un efecto tóxico directo en el endotelio y provoca trombosis a través de su efecto sobre diversos factores de la coagulación, así como sobre las plaquetas. La Hcy también potencia la autooxidación del colesterol de lipoproteínas de baja densidad. Múltiples estudios apoyan la hipótesis de que el exceso de Hcy plasmática aumenta el riesgo de enfermedad coronaria, cerebrovascular y periférica (9). Como ocurre con el colesterol, la relación entre concentración de Hcy y el riesgo cardiovascular es gradual, continua y sin un valor umbral bien definido a partir del cual se inicie o desaparezca el riesgo.

Metabolismo de la homocisteína

La síntesis de la Hcy como producto intermediario del metabolismo de la metionina requiere de la acción de diversas enzimas, entre ellos la metionina adenosiltransferasa, que convierte la metionina en S-adenosilmetionina, el principal donante biológico de grupos metilo que interviene en numerosos e importantes procesos celulares. Posteriormente, mediante la acción de varias metiltransferasas encargadas de desmetilar la S-adenosilmetionina, se obtiene la S-adenosilhomocisteína, precursor inmediato de la Hcy. Ésta, una vez formada puede seguir 2 vías o rutas.

1. Vía de la remetilación. Permite que la homocisteína se recicle a metionina tras sufrir un proceso de metilación. Esta etapa puede llevarse a cabo con la participación de 2 enzimas diferentes: a) Metioninasintasa o 5-metiltetrahidrofolato homocisteína-S-metiltransferasa; b) Betaína homocisteína metiltransferasa.

2. Vía de la transulfuración. Implica la acción de enzimas dependientes de la vitamina B6 que conducen a la degradación de la Hcy a cisteína. La primera de ellas, la cistationina- β -sintetasa (CBS), se encarga de condensar la Hcy con serina para formar cistationina, que posteriormente, por acción de la cistationina-liasa se escinde en cisteína y cetobutirato. La cisteína, así generada, puede utilizarse en la síntesis de proteínas o como precursor del antioxidante glutatión. Este proceso de transulfuración es irreversible y dirige la homocisteína al catabolismo hacia su producto final, los sulfatos (10).

Formas moleculares de homocisteína en plasma

El 70% de la Hcy plasmática está ligada a las proteínas, principalmente a la albumina, mediante puentes disulfuro, parte de esta fracción ligada a proteínas, puede estar unida por enlaces amilo, con la hemoglobina. En su conjunto a toda esta fracción se denomina Hcy ligada a proteínas. El 30% restante de Hcy se encuentra en estado libre y está formada por dímeros de Hcy-cisteína y Hcy-Hcy (homocistina), en ambos casos unidos por puentes disulfuro, así como por monómeros de Hcy, que se formaría por derivatización de la Hcy durante la síntesis de proteínas. La suma de todas las formas plasmáticas de Hcy se denomina homocisteína total u HCy(11)

La hiperhomocisteinemia ha sido clasificada en [11]:

- Moderada (15- 30 $\mu\text{mol/L}$)
- Intermedia (30- 100 $\mu\text{mol/L}$)
- Severa (>100 $\mu\text{mol/L}$)

Determinantes fisiológicos de la concentración de homocisteína en plasma

En la Tabla adjunta (Tabla 1) se resumen los factores capaces de aumentar los valores plasmáticos de Hcy(11).

Tabla 1. Determinantes de las concentraciones séricas de homocisteína	
Factores Independientes	Edad Sexo Raza Posmenopausia Embarazo
Causas Genéticas	Alteraciones de la re-metilación Deficiencia de cistationina B sintetasa Alteración en el metabolismo del folato. Alteraciones del metabolismo de la vitamina B12
Patologías Adquiridas	Déficit de Folato. Déficit de vitamina B12 Déficit de vitamina B6 Déficit de vitamina B2

Edad

Las concentraciones de Hcy se elevan a lo largo de la vida en ambos sexos. Antes de la pubertad, todos los niños presentan concentraciones bajas y similares, en torno a los 5 μ mol/l. Durante la pubertad, estos valores se elevan considerablemente, más en los niños que en las niñas, de modo que a los 40 años de edad, existe una diferencia de unos 2 μ mol/l entre ambos sexos y con valores medios en torno a los 11 μ mol/l en los varones y 9 μ mol/l en las mujeres (10). Posteriormente, a medida que se eleva la edad, aumenta la homocisteína total, hecho que puede relacionarse con la disminución de la filtración glomerular, déficit vitamínicos y malabsorción intestinal (3).

Sexo

Los varones presentan concentraciones de Hcy total superiores a las mujeres. Esta situación se mantiene hasta que las mujeres alcanzan edades próximas a los 60 años, el período posmenopáusico, a partir del que los valores de Hcy total entre ambos sexos tienden a igualarse. La diferencia entre sexos podría deberse a la distinta masa muscular (3), ya que la síntesis de creatina es superior en los varones que en las mujeres, y existe una correlación significativa entre la Hcy total plasmática y la concentración de creatina plasmática (1).

Menopausia y embarazo

Las mujeres posmenopáusicas presentan una elevación media del 20% en las concentraciones de Hcy total en ayuno con respecto a las premenopáusicas; sin embargo, aquellas sometidas a terapia hormonal sustitutiva consiguen reducir su Hcy total. En el embarazo, la concentración de la Hcy total disminuye entre un 30-50%, para normalizarse a los 2-4 días posparto (13). Durante el embarazo normalmente disminuye el nivel plasmático de Hcy, atribuido a hemodilución, aumento de estrógenos y tratamientos farmacológicos.

Raza

La concentración de Hcy muestra diferencias entre las distintas razas. Un estudio interétnico realizado en Los Ángeles mostró valores de Hcy total menores en la raza negra y en los asiáticos que en las personas de raza blanca, mientras que los latinoamericanos tenían concentraciones intermedias (10). No obstante, en todas las etnias, los varones presentaban concentraciones de Hcy superiores al de las mujeres.

Deficiencia de cistationina B sintetasa (CBS)

La deficiencia de esta enzima es la causa más frecuente de homocistinuria. Su característica más sobresaliente es la elevación de Hcy plasmática, 10-30 veces más de lo normal, junto a la marcada excreción urinaria de Hcy que da nombre a la enfermedad. Se hereda de forma autosómica recesiva (14). La frecuencia de estas mutaciones varía según las etnias o países, lo mismo que la respuesta al tratamiento con vitaminas B6. Se estima que entre el 0.3-1% de la población general es portadora de un defecto en uno de los alelos del gen codificador para esta enzima (13).

Alteraciones de la Remetilación

Las alteraciones de la remetilación originan otras formas de homocistinuria. En estas variantes hay un suministro inadecuado del 5 metiltetrahidrofolato, la principal forma de folato en sangre y tejidos, o de coenzima metilcobalamina, debido a un defecto en uno de las enzimas involucradas en la formación de estas coenzimas (14).

Alteración en el metabolismo del folato.

Existen dos formas de alteración que difieren en frecuencia y gravedad. Una es la deficiencia severa del enzima MTHFR, que es muy poco frecuente y causa una elevación importante de Hcy plasmática y urinaria. La segunda, la forma termolábil de la enzima en homocigotos (transición C677T), es un factor predisponente de padecer hiperhomocisteinemia. 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 (14).

Alteraciones del metabolismo de la vitamina B12.

El metabolismo de la vitamina B12 o cobalamina, desde su llegada al intestino hasta la formación de las coenzimas adenosilcobalamina y metilcobalamina, es complejo e implica una serie de reacciones donde participan diferentes enzimas, coenzimas y el cobalto. Su alteración afecta el normal funcionamiento de la metionina sintasa y/o metilmalonilCoA mutasa. Cuando el defecto afecta a la metionina sintasa aumenta la Hcy plasmática y urinaria. Cuando afecta a la metilmalonilCoa mutasa, aumenta el metilmalónico en sangre y orina. Hasta el momento se han descrito hasta 10 defectos genéticos que afectan al metabolismo de la cobalamina(14).

Déficit de Folato.

La deficiencia de folatos puede originarse por aporte insuficiente en la dieta, mala absorción o utilización excesiva de folato. Este consumo excesivo se produce de manera muy frecuente durante el embarazo. Además el alcoholismo, la hepatitis u otras enfermedades hepáticas pueden causar un consumo excesivo de folatos. Los niveles de folatos tanto en suero como en eritrocitos, se utilizan para evaluar el estatus de folato. El nivel de folatos sérico es un indicador de una ingestión reciente de folatos. El folato intraeritrocitario es mejor indicador a largo plazo de las reservas de folatos. Un valor bajo de folatos intraeritrocitario puede indicar una deficiencia prolongada de folatos. El folato y la vitamina B12 están ligados por la ruta reactiva para la síntesis

de metionina. Una deficiencia en ambas conduce a una interrupción en esta vía y a síntomas clínicos similares. Otra consecuencia de esta ruta metabólica común es que una deficiencia en B12 interrumpe la captación de folatos en los eritrocitos. Esto conduce a un valor bajo de folatos intraeritrocitario, incluso con el aporte adecuado de folato. Por las razones mencionadas, es frecuentemente necesario medir ambas vitaminas en un estudio clínico.

La deficiencia de folato, además de anemia megaloblástica, induce hiperhomocisteinemia en un porcentaje altísimo de casos (15).

Déficit de vitamina B12

La vitamina B12 es una coenzima que está implicado en dos funciones metabólicas de importancia vital para el crecimiento celular normal así como para la síntesis correcta del ADN: 1) la síntesis de la metionina, y 2) la conversión de metilmalonil CoA en succinil CoA. La deficiencia de esta enzima puede conducir a anemia megaloblástica y en último lugar a problemas neurológicos severos. Debido a que la vitamina B12 y el ácido fólico están conectados a la ruta de síntesis de la metionina, una deficiencia en cualquiera de ellos podría interrumpir esta ruta metabólica y ocasionar los mismos síntomas y problemas médicos. En las deficiencias subclínicas de cobalamina, la concentración de Hcy en sangre es dos veces superior a la de los controles. Esto ha propiciado que algunos autores postulen que se debería fortificar la dieta no sólo con folatos sino también con vitamina B12 (15).

Déficit de vitamina B6

La deficiencia de vitamina B6 afecta significativamente la velocidad de las reacciones de transformación de la Hcy en cisteína al disminuir la actividad de las enzimas CBS y cistationina-y-liasa, lo que aumenta la concentración de Hcy(15).

Déficit de vitamina B2

Desde hace pocos años se ha establecido que también la vitamina B2 o riboflavina es un predictor independiente de la concentración plasmática de Hcy y de forma muy especial, en personas homocigotas para el polimorfismo termolábil de la MTHFR (15).

La homocisteína y riesgo de enfermedad cardiovascular

La conexión entre nivel de Hcy y riesgo CV parece ser gradual, continúa, sin un valor umbral a partir del cual se inicia o desaparece el riesgo. Los resultados de diferentes metaanálisis sugieren que por cada 5 $\mu\text{mol/l}$ de aumento en la concentración de la Hcy se produce un incremento en el riesgo relativo de enfermedad coronaria de un 32% (6).

En termino generales, las personas con hiperhcy moderada tiene un riesgo relativo de 1,3 - 5 veces superior de enfermedad coronaria, 2,5 - 5 veces mayor de enfermedad cerebral, y de 2,9 a 5 veces de vasculopatía arterial periférica de extremidades inferiores que en personas con una concentración de Hcy normal.

Existen múltiples mecanismos por los cuales la homocisteína puede inducir daño vascular (18):

- Promueve el reclutamiento de leucocitos mediante la regulación ascendente de la proteína-1 quimiotáctica monocitaria y la expresión y secreción de interleuquina-8.
- El metabolito de tiolactona de la homocisteína se puede combinar con el colesterol LDL para producir agregados que son absorbidos por los macrófagos vasculares en la íntima arterial; estas células espumosas pueden liberar los lípidos en placas ateroscleróticas.
- La Hcy aumenta la proliferación de células del músculo liso y mejora la producción de colágeno.
- Los efectos protrombóticos de la Hcy, que se han demostrado en pacientes con síndromes coronarios agudos, incluyen la atenuación de los sitios de unión del activador del plasminógeno del

tejido celular endotelial, activación del factor VIIa y V, inhibición de la proteína C y sulfato de heparina, aumento del fibrinopéptido A y fragmentos de protrombina 1 y 2, aumento de la viscosidad sanguínea y disminución de la actividad antitrombótica endotelial debido a cambios en la función de la trombosmodulina.

- El estrés oxidativo de los radicales libres formados durante la oxidación de la Hcy reducida puede dañar directamente las células endoteliales.
- La acumulación marcada de plaquetas puede ser secundaria a efectos proagregantes directos de la Hcy o a un deterioro en la inhibición plaquetaria mediada por el endotelio.
- La exposición prolongada de las células endoteliales a la homocisteína reduce la actividad de la dimetilarginina dimetilaminohidrolasa, la enzima que degrada la dimetilarginina asimétrica, un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa; esto perjudica la producción de óxido nítrico. Esto puede contribuir a la alteración de la vasodilatación dependiente del endotelio tanto del conducto como de los vasos de resistencia.

ANTECEDENTES

La insuficiencia renal crónica eleva la concentración de Hcy en plasma de 2 a 4 veces. Está demostrada una correlación inversa entre aclaramiento de creatinina y nivel de Hcy plasmática. Probablemente la hiperhomocistinemia juegue un papel importante en la mayor susceptibilidad a desarrollar enfermedad vascular prematura en estos pacientes renales (17).

En un metaanálisis que recogía diferentes estudios prospectivos, se demostró un poder predictivo de riesgo cardiovascular asociado a la hiperHcy, de 32% (IC 95% 1.9-1.45) en el riesgo coronario y de un 59% (IC 95% 1.29-1.96) en el riesgo de ictus por cada 5 $\mu\text{mol/l}$ de incremento en la concentración de Hcy. En otro estudio prospectivo de base poblacional con más de 4.000 individuos de ambos sexos mayores de 65 años, seguidos durante 4 años, un incremento de 5 $\mu\text{mol/l}$ en la concentración de Hcy se asociaba con una mortalidad CV 50% superior (19). El poder predictivo del riesgo CV propio de la Hcy es más marcado en pacientes que han sufrido un episodio isquémico, independiente del territorio afecto o de la existencia de otras enfermedades comórbidas

La mayor prevalencia de enfermedad CV y de factores relacionados a enfermedad cardiovascular clásicos (Framingham) en los pacientes uremicos, tales como hipertension arterial (HTA), diabetes, tabaquismo, hiperlipemia, sedentarismo o hipertrofia ventricular izquierda (HVI), no explican totalmente el aumento de mortalidad CV en estos pacientes(5,6). De hecho, diferentes estudios han demostrado que el score de Framingham infraestima el riesgo CV en los pacientes renales (18), Motivo por el cual decidimos estudiar a la hiperhomicisteinemia como predictor de mortalidad en nuestra población, específicamente en aquellos con más riesgo CV en nuestra institución, los pacientes en el programa de hemodiálisis.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar si la homocisteína sérica elevada en enfermos en hemodiálisis es un predictor de mortalidad cardiovascular

Objetivos específicos

1. Analizar las características clínicas de nuestros pacientes con niveles elevados de homocisteína
2. Estratificar a dichos pacientes de acuerdo a los diferentes niveles de homocisteína
3. Establecer las principales causas de mortalidad en los pacientes en hemodiálisis
4. Determinar la relación entre hiperhomocisteinemia y mortalidad cardiovascular en pacientes en hemodiálisis

MATERIAL Y METODOS

Para llevar a cabo este trabajo se realizó un estudio descriptivo, prospectivo y transversal, realizado en el Hospital General Regional "Lic. Adolfo López Mateos", ISSSTE, Ciudad de México, del 1 de mayo de 2015 al 30 de abril, 2016. Siguiendo un muestreo de conveniencia, se eligieron al azar pacientes con ERC en terapia de reemplazo de hemodiálisis con un mínimo de 1 año en el programa y una edad de > 25 años, Todos los pacientes estaban inscritos en diálisis tres veces por semana a través de membranas de polisulfona con Kt / V entre 1.2 y 1.5.

Se realizó una encuesta a cada uno de los pacientes para recuperar información de factores de riesgo cardiovascular, como el alcoholismo, edad, drogadicción, género, baja actividad física, tabaquismo y una historia familiar.

Los pacientes fueron medidos (m) y pesado (kg) (Torino). Se calculó el índice de masa corporal (IMC). La Presión sanguínea se midió con un esfigmomanómetro de mercurio (Baumanometer, EE. UU.) Después de 5 minutos de descanso.

Después de un período de ayuno de 12 h, se tomaron muestras de sangre venosa tomados en tubos Vacutainer para la determinación de creatinina, glucosa, perfil lipídico, urea, ácido úrico y nitrógeno ureico en sangre (BUN), (Beckman Coulter AU680) y HbA1c. La homocisteína en suero fue analizada por medio de una prueba de inmunoabsorción enzimática (ELISA). (Wiener Lab, Argentina).

Se obtuvieron los datos de defunción directamente de expedientes clínicos, así como en base de datos SIMEF de la unidad de hemodiálisis del hospital.

Este protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del ISSSTE, Ciudad de México. Este estudio se clasificó como cero riesgo para los participantes, porque no incluía procedimientos adicionales a los estrictamente necesarios para el estándar de atención de la institución y Unidad de Hemodiálisis. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado del hospital.

Criterios de inclusión:

- Pacientes mayores de 25 años
- Inscritos en hemodiálisis por más de 1 año
- Tres sesiones de hemodiálisis a la semana

Criterios de exclusión:

- Pacientes con antecedentes de un evento cardiovascular previo (accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica, enfermedad tromboembólica y trombosis venosa).

Criterios de eliminación:

- Pacientes con cáncer
- No contaban con expediente clínico completo

Análisis estadístico

Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete estadístico SPSS v.21 para Mac. Se realizó un análisis descriptivo y otro inferencial según corresponda. La estadística descriptiva consistió en frecuencias y porcentajes para variables cualitativas nominales u ordinales y en media y desviación estándar para variables cuantitativas. Como pruebas inferenciales se utilizó la χ^2 para comparar variables cualitativas entre pacientes que fallecieron y vivos, así como para comparar la mortalidad por grado de hiperhomocistinemia. También se utilizó la prueba t de muestras independientes para comparar variables cuantitativas entre fallecidos y sobrevivientes.

Se realizó una regresión logística binaria con método Forward, condicional para determinar los factores significativamente asociados a mortalidad cardiovascular.

Se consideró significativa una $p < 0.05$. Se utilizaron tablas y gráficos para presentar los resultados.

RESULTADOS

Características demográficas y hábitos de los pacientes

Se incluyeron un total de 53 pacientes (34% femeninos y 66% masculinos) con ERC en terapia de reemplazo tipo hemodiálisis de edad promedio 58.1 ± 14.0 años (rango 25-87 años). La distribución por grupos de edad se presenta en la Tabla 2. La frecuencia de tabaquismo y etilismo fue elevada, el 7.5% tenía otros hábitos tóxicos (Tabla 2).

Tabla 2. Características demográficas y hábitos de los participantes

<i>Característica</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Género		
Femenino	18	34.0
Masculino	35	66.0
Grupo de edad		
<40 años	7	13.2
40-59 años	17	32.1
60-79 años	26	49.1
≥80 años	3	5.7
Toxicomanías		
Tabaquismo	23	43.4
Etilismo	34	64.2
Otras	4	7.5
Sedentarismo	45	84.9

Comorbilidades de los pacientes

Las patologías presentes en los pacientes fueron en orden de mayor a menor frecuencia fueron hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, dislipidemia y obesidad (Figura 1).

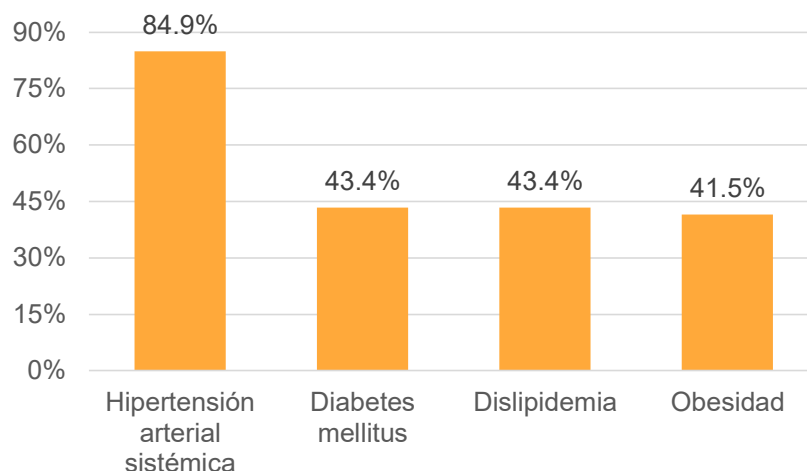


Figura 1. Frecuencia de comorbilidades en los pacientes

Parámetros bioquímicos de los pacientes

Se determinaron los valores promedio, desviación estándar, mínimo y máximo de parámetros bioquímicos de los pacientes. Las cifras promedio de ácido úrico no estuvieron por arriba del rango de normalidad. Sin embargo, los valores medios de los otros parámetros se encontraron por encima de los valores de referencia (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros bioquímicos de los participantes				
Parámetro	Media±DE	Mínimo	Máximo	Valores de referencia
Ácido úrico (mg/dL)	6.5±1.4	4	10	3.1 – 7.0 Hombres 2.5 – 5.6 Mujeres
HbA1c (%)	8.0±2.9	5	17	4.0 – 5.6 %
Colesterol (mg/dL)	190.1±73.3	79	418	<200 mg/dL
Triglicéridos (mg/dL)	168.1±98.9	48	585	<150 mg/dL
Glucosa (mg/dL)	143.6±72.2	63	362	100 mg/dL
Creatinina (mg/dL)	10.1±3.7	4	21	0.5-0.9 Mujeres 0.6-2.0 Hombres
Homocisteína (µmol/L)	80.4±36.2	22	178	<15 µmol/L

Grado de hiperhomocistinemia

Se clasificó a los pacientes según los niveles de homocisteína. El 5.7%(n=3) tuvieron hiperhomocistinemia moderada, el 62.3(n=33)% intermedia y el 32.1%(n=17) severa (Figura 2).

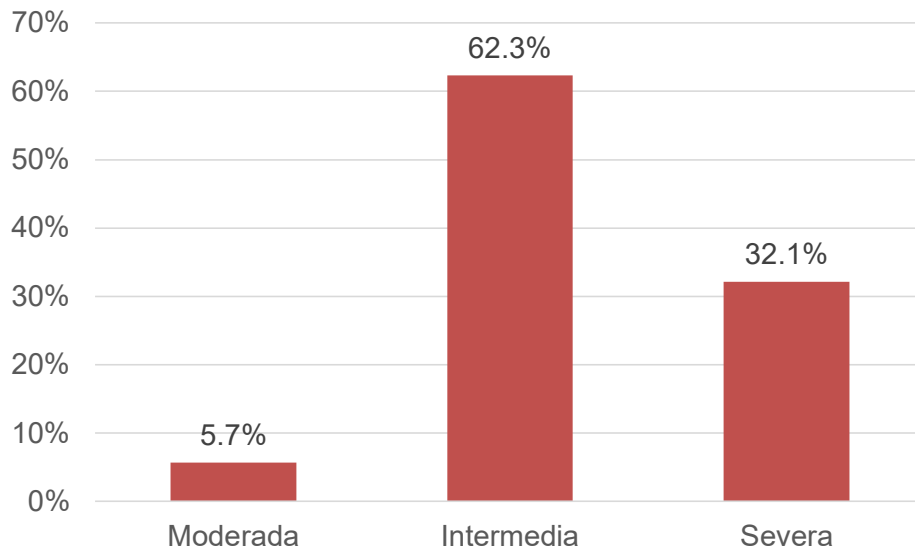


Figura 2. Clasificación de los pacientes según el grado de hiperhomocistinemia.

Mortalidad global y por grado de hiperhomocistinemia de origen cardiovascular y no cardiovascular

La mortalidad global durante el seguimiento de los pacientes fue de 24.5%, mientras la mortalidad cardiovascular fue 18.9% y la no cardiovascular (sepsis o neumonía) fue de 5.7% (Figura 3). Mientras que, la mortalidad cardiovascular por grado de hiperhomocistinemia se presenta en la Figura 4. La mortalidad en pacientes con hiperhomocistinemia moderada fue 0%, con hiperhomocistinemia intermedia fue 15.2% y en pacientes con hiperhomocistinemia severa 29.4% (p=0.327, Exacta de Fisher).

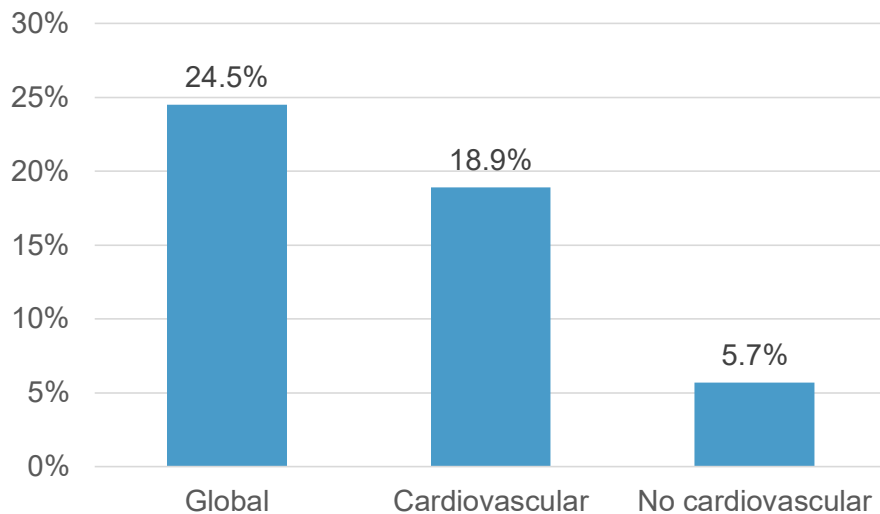


Figura 3. Mortalidad global, de origen cardiovascular y no cardiovascular de los pacientes.

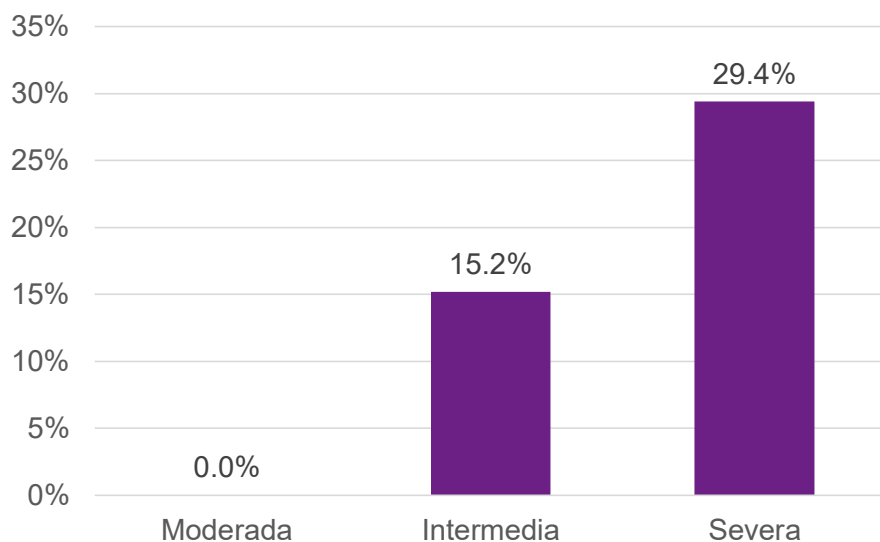


Figura 4. Mortalidad de origen cardiovascular por grado de hiperhomocistinemia ($p=0.0327$, Exacta de Fisher).

Comparación de las características clínicas y bioquímicas de los pacientes que fallecieron por causa cardiovascular y sobrevivientes

Los pacientes que murieron como consecuencia de un evento cardiovascular mayor tuvieron una tendencia a mayores niveles séricos de homocisteína que los sobrevivientes (98.5 ± 34.7 vs 76.1 ± 35.5 ; $p=0.079$, t de Student). Además, tuvieron menor frecuencia de alcoholismo en los que fallecieron que en que los sobrevivientes (Tabla 4). No hubo diferencias significativas en otras características clínicas.

Tabla 4. Comparación de las características de los pacientes fallecidos por causa cardiovascular y sobrevivientes

Característica (%)	Muertos	Vivos	Valor de p
Masculinos (%)	80	62.8	0.301
Sedentarismo(%)	100	81.4	0.197
Alcoholismo(%)	20	74.4	0.002
Tabaquismo(%)	30	46.5	0.484
Obesidad(%)	40.0	41.9	1.000
Dislipidemia(%)	40.0	44.4	1.000
Hipertensión arterial(%)	70.0	88.4	0.327
Diabetes mellitus(%)	60.0	39.5	0.300
Edad (años)	62.1±10.8	57.2±14.6	0.322
Ácido úrico (mg/dL)	6.7±1.5	6.4±1.4	0.564
HbA1c(%)	7.7±2.8	8.1±3.0	0.644
Colesterol total (mg/dL)	198.4±47.7	188.2±78.3	0.696
Triglicéridos (mg/dL)	140.3±35.1	174.6±107.8	0.328
Glucosa (mg/dL)	141.4±51.0	144.1±76.7	0.915
Creatinina (mg/dL)	10.3±3.1	10.1±3.8	0.888
IMC (mg/dL)	31.5±5.0	29.5±5.0	0.262
Homocisteína (µmol/L)	98.5±34.7	76.1±35.5	0.079

Análisis de predictores de mortalidad cardiovascular

Con la finalidad de determinar los factores significativamente asociados a mortalidad cardiovascular se realizó una regresión logística binaria con método forward-condicional. Se introdujeron como co-variables aquellas que en el análisis univariado tuvieron una $p < 0.400$ (Tabla 5). Es decir se introdujeron las variables: sedentarismo, enolismo, sexo, hipertensión, diabetes, edad, IMC, triglicéridos y homocisteína.

Las variables que quedaron en el modelo final y tuvieron una asociación significativa con mortalidad cardiovascular fueron: sedentarismo, enolismo, sexo y homocisteína.

Se encontró que el etilismo y el sexo femenino se asociaron inversamente con mortalidad cardiovascular mientras que los niveles séricos de homocisteína se asociaron positivamente con la mortalidad cardiovascular.

Tabla 5. Variables que permanecieron en el modelo final, de la Regresión logística binaria para predicción de mortalidad cardiovascular

Co-variable	B	Exp(B)	IC95%	Valor de p
Alcoholismo	-5.608	0.004	0.000-0.180	0.005
Sexo masculino	4.385	80.2	1.845-3489.0	0.025
Homocisteína	0.061	1.063	1.014-1.114	0.010

DISCUSIÓN

Los pacientes incluidos en el presente estudio tienen un elevado riesgo cardiovascular por la presencia de múltiples factores de riesgo incluidos, la patología de base (ERC), las comorbilidades que incrementan el riesgo cardiovascular de forma independiente (hipertensión, diabetes mellitus, dislipidemia y obesidad), así como por los hábitos tóxicos (etilismo, alcoholismo) y sedentarismo altamente frecuentes en ellos. De hecho, todos los pacientes incluidos presentaban hiperhomocistinemia con una elevación equivalente a 4 veces los valores normales y más de 94% de los pacientes presentando hiperhomocistinemia intermedia-severa. Lo cual está de acuerdo con lo reportado en la literatura que, en la insuficiencia renal crónica se eleva la concentración de homocisteína en plasma de 2 a 4 veces (17).

La frecuencia de mortalidad cardiovascular y global fue elevada y cercana a 20% entre los pacientes nefrópatas en terapia sustitutiva renal, de hecho en la literatura se ha reportado una mortalidad cardiovascular elevada entre los pacientes nefrópatas. De hecho, en un meta-análisis realizado por Tonelli y cols. se encontró una mortalidad global 3 veces mayor en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) y en pacientes con hipertensión más ERC 2.15 veces mayor, con un hazard ratio de 2.47. (20)

Al comparar la mortalidad por grado de hiperhomocistinemia, no se encontró mortalidad cardiovascular en los pacientes con hiperhomocistinemia moderada, pero en aquellos con hiperhomocistinemia mayor (intermedia) fue de 15.2% y en pacientes con hiperhomocistinemia severa la mortalidad fue aún mayor (29.4%), aunque el valor de p no fue significativo por el moderado tamaño de la muestra.

Aún más, al comparar las características clínicas de los pacientes que fallecieron con las de los pacientes sobrevivientes, las concentraciones de homocisteína mostraron una clara tendencia a ser mayores en los primeros que en los segundos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en otras características clínicas y bioquímicas, salvo en la frecuencia de enolismo que fue más frecuente entre los sobrevivientes que entre los que fallecieron.

Para determinar cuáles eran los factores que predecían la mortalidad cardiovascular y dado que en el análisis univariado se encontró solo tendencia a mayores concentraciones de homocisteína en quienes fallecieron y de mayor mortalidad en aquellos con hiperhomocistinemia, se realizó una regresión logística binaria encontrando que los niveles de Hcy se correlacionaron significativamente con mortalidad cardiovascular de forma positiva y proporcional, es decir a mayores niveles de esta molécula mayor mortalidad cardiovascular. Específicamente por cada incremento de 0.061 en la homocisteína, se predice que la mortalidad cardiovascular se incrementará 6.3%.

Esto está de acuerdo a lo reportado en la literatura. Por ejemplo, en su meta-análisis Hankey y Eikelboom encontraron un poder predictivo de riesgo cardiovascular de la homocisteína de 32% (IC95% 1.9-1.45) para riesgo coronario y de 59% (IC95% 1.29-1.96) para riesgo de ictus por cada 5 $\mu\text{mol/l}$ de incremento en la concentración de homocisteína. De esta manera, con base en los hallazgos del presente estudio y en la literatura previa, la homocisteína parece demostrar parte del riesgo cardiovascular incrementado en los pacientes nefrópatas en hemodiálisis. (19)

Por otro lado, el género masculino se asoció con mayor mortalidad cardiovascular lo cual está de acuerdo con lo reportado en la literatura en especial después de los 60 años. De hecho, se ha reportado que los varones tienen mayores niveles de homocisteína que las mujeres. (1,3)

Finalmente, aunque el alcoholismo se asoció a menor mortalidad cardiovascular y tanto en el análisis univariado como multivariado, esto más bien refleja los hábitos previos de los pacientes

que un efecto actual, ya que típicamente los pacientes en hemodiálisis dejan los hábitos tóxicos y tienen determinada adherencia a las recomendaciones médicas.

CONCLUSIONES

La homocisteína es un predictor independiente de mortalidad cardiovascular en pacientes en hemodiálisis, junto al género masculino. Ambos incrementan el riesgo de mortalidad cardiovascular.

La mortalidad cardiovascular es dependiente de los niveles de homocisteína.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bakhai A. The burden of coronary, cerebrovascular and peripheral arterial disease. *Pharmacoeconomics*. 2004;22(suppl 4):11-18
2. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, Eknoyan G, Foley RN, Kasiske BL, et al;Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn, Where do we go from here? *Am J Kidney Dis* 1998;32:853-906. [
3. Fuster V, Badimon L, Cohen M, Ambrose JA, Badimon JJ, Chesebro J. Insights into the pathogenesis of acute ischemic syndromes. *Circulation*1988;77:1213-20.
4. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, Ferguson TB, Ford E, Furie K, Gillespie C, Go A, Greenlund K, Haase N, Hailpern S, Ho PM, Howard V, Kissela B, Kittner S, Lackland D, Lisabeth L, Marelli A, McDermott MM, Meigs J, Mozaffarian D, Mussolino M, Nichol G, Roger VL, Rosamond W; Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Association. *Circulation*. 2011 Oct 18;124(16):e425.
5. Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974;290:697-701.
6. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2005;45:39-47.
7. Guillard, J.C., A. Favier, G.P. de Courcy, P. Galan and S. Hercberg, 2003. [Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor or a simple marker of vascular disease?. 1. Basic data]. *Pathol. Biol.*, 51: 101-110.
8. Mudd SH, Uhlenhof BW, Freeman JM Finfelstein JD, Shih Ve. Homocystinuria associated with decreased methylene-tetra hydrofolate reductase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1972;46:905-12
9. Malinowska, J., J. Kolodziejczyk and B. Olas, The disturbance of hemostasis induced by hyperhomocysteinemia; the role of antioxidants. *Acta Biochim. Pol.*, 59: 2012.
10. Kang SS, Wong PW , Genetic and nongenetic factors for moderate hyperhomocyst(e)inemia. *Atherosclerosis*. 1996;119:135. Department of Pediatrics, Rush Medical College and Rush-Presbyterian St. Luke's Medical Center, Chicago, IL 60612, USA.
11. Ueland PM, Refsum H; Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Lab Clin Med*. 1989;114(5):473
12. McIlroy, S.P., K.B. Dynan, J.T. Lawson, C.C. Patterson and A.P. Moderately elevated plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotype and risk for stroke,

vascular dementia and Alzheimer disease in Northern Ireland. *Stroke*, 33: 2351-2356. Passmore, 2002.

13. Mijatovic V, Kenemans P, Jakobs C, van Baal WM, Peters-Muller ER, van der Mooren MJ. A randomized controlled study of the effects of 17beta-estradioldydrogesterone on plasma homocysteine in postmenopausal women. *Obste Gynecol* 1998;91:432-6
14. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, Boers GJ, den Heijer M, Kluijtmans LA, van den Heuvel LP; A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase; *Nat Genet*. 1995;10(1):111.
15. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH, Hess DL, Davis CE. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation* 1998;98(3):204-10.
16. Agmon Y, Khandheria BK, Meissner I, Schwartz GL, Petterson TM, O'Fallon WM, Gentile F, Whisnant JP, Wiebers DO, Seward JB; Independent association of high blood pressure and aortic atherosclerosis: A population-based study; *Circulation*. 2000;102(17):2087.
17. Hernan trimarch,PabloYyoung2; La hiperhomocisteinemia como factor de riesgo vascular en hemodializados cronicos; *medicina (buenos aires)* 2005; 65: 513-51
18. Christen WG, Ajani UA, Glynn RJ, Hennekens CH; Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual?; *Arch Intern Med*. 2000;160(4):422
19. Hankey GJ, Eikelboom JW; Homocysteine and stroke; *Lancet*. 2005;365(9455):194
20. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M, McAlister Fm Garg A. Chronic Kidney Disease and Mortality Risk: A Systematic Review. *JASN*. 2006; 17(7): 2034-2047.