

Homocisteinemia basal y post sobrecarga de metionina

Experiencia en una Unidad de Prevención y Seguimiento de Riesgo Cardiovascular

Fasting and Post Methionine Loading Test Homocysteinemia

Experience in a Preventional and Follow up Cardiovascular Risk Unit

► Burjel Laura^{1*}, Cordoba Mario^{2**}, Ribeiro Liliana^{1*}, Thomas Carlos^{1*}

* Bioquímicos.

** Médico.

1. Laboratorio Alfa. Rincón 1374. Paysandú. Uruguay.

2. Unidad de Detección, Intervención y Seguimiento de Factores de Riesgo Cardiovascular. COMEPA. Paysandú. Uruguay.

Resumen

Se estudiaron 81 individuos al azar (49 mujeres y 32 hombres) que concurren a la Unidad de Prevención Cardiovascular entre octubre de 2000 y enero de 2001. Las edades oscilaban entre los 22-73 años. Once de los 81 pacientes (13,6%) presentaron valores de homocisteína basal por encima del valor de corte (12 $\mu\text{mol/L}$). Diez de los 81 pacientes presentaron valores de homocisteína entre 12-15 $\mu\text{mol/L}$ (12,3%) y fueron seleccionados para realizar el *test* de sobrecarga de metionina para ponderar así probables hiperhomocisteinemias en el futuro. De ellos, 2 pacientes presentaron homocisteinemia post-sobrecarga por encima de los valores de referencia. Tres de los 81 pacientes (3,7%) que observaron hiperhomocisteinemia detectada en forma basal o indirectamente a través del *test* de sobrecarga de metionina fueron sometidos a tratamiento con suplemento vitamínico. Ocho de 81 (9,9%) individuos que presentaron homocisteinemia por encima del valor de corte pero observaron respuesta normal al *test* de sobrecarga fueron asesorados en mejorar conductas alimenticias y modificar hábitos de vida.

Palabras clave: homocisteína * prevención * factores de riesgo

Summary

Eighty-one patients, randomly selected from our Cardiovascular Prevention Unit, were checked for fasting homocysteinemia levels between October 2000 and January 2001. Forty-nine females and 32 males aged between 22 - 73 years old were studied. 11/81 patients (13,6%) showed homocysteinemia over expected cutoff value (12 $\mu\text{mol/L}$). 10/81 (12,3%) presented homocysteinemia values between 12-15 $\mu\text{mol/L}$. These patients were select-

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

undergo a methionine loading test in order to evaluate future hiperhomocysteinemia. 2/10 presented post prandial homocysteinemia over reference values. 3/81 (3,7%) were finally treated with vitamin supplement. 8/81 (9,9%) patients who showed homocysteinemia between 12-15 $\mu\text{mol/L}$ but normal response to the loading test were instructed in improving quality food consumption and healthy living conditions.

*Key words: homocysteine * prevention * risk factors*

Introducción

En los últimos años ha cobrado interés el conocimiento de la homocisteína (Hcy) (1). Numerosos estudios epidemiológicos postulan que niveles plasmáticos elevados de Hcy constituyen un factor de riesgo relevante e independiente para la enfermedad aterosclerótica, que afecta al sistema vascular coronario, cerebral y periférico, como así también el venoso (2-5). La Hcy es un tior aminoácido no formador de proteínas, producto del metabolismo de la metionina (6). La metionina es la única fuente conocida de Hcy. Su metabolismo se encuentra controlado por dos vías metabólicas: transulfuración y remetilación. En situaciones en que existe un exceso de metionina o es requerida la síntesis de cisteína se pone en marcha la vía de la transulfuración. Esta reacción es catalizada por la cistationina-beta-sintetasa y su actividad es vitamina B₆-dependiente. Durante episodios de deficiencia de metionina, la Hcy es metabolizada principalmente por la vía de la remetilación. Esta remetilación ocurre en la mayoría de los tejidos y se encuentra íntimamente ligada al ciclo del folato donde utiliza las enzimas metilentetrahidrofolato reductasa y metioninsintetasa, y el donante del grupo metilo es el folato metilado. Existe una vía alternativa de remetilación que ocurre fundamentalmente a nivel hepático vía betaín-homocisteína metiltransferasa. Esta vía es independiente de vitamina B₁₂ y folato y el cofactor betaína es el donante del grupo metilo. Los niveles séricos de Hcy son el resultado de la interrelación de diversos factores, entre ellos genéticos y hábitos de vida del individuo. Se observan incrementos en diferentes circunstancias: desórdenes genéticos ligados fundamentalmente a deficiencias enzimáticas, aportes vitamínicos insuficientes en la dieta, enfermedad renal, hepática e hipotiroidismo y aumentos de la Hcy relacionados con el consumo de fármacos, edad y el sexo (1) (8-15). También se ha observado que un porcentaje importante de individuos que presentan valores normales de Hcy basal, muestran valores post-prandiales elevados cuando son sometidos a la prueba de sobrecarga de metionina. Esta prueba muestra los cambios fisiológicos post-prandiales de Hcy plasmática y pone de manifiesto, principalmente, alteraciones ge-

néticas o adquiridas de los componentes de la vía de transulfuración (16-18).

El objetivo del trabajo fue, en primer lugar, observar la incidencia de hiperhomocisteinemia en pacientes seleccionados al azar que concurrían a la Unidad de Prevención Cardiovascular. En segundo lugar, observar qué comportamiento presentaban ante un *test* de sobrecarga de metionina aquellos pacientes con valores basales de Hcy entre 12-15 $\mu\text{mol/L}$.

Materiales y Métodos

Entre octubre de 2000 y enero de 2001 se estudiaron 81 individuos al azar, 49 mujeres (60,5%) y 32 hombres (39,5%) que concurrieron a la Unidad de Detección, Intervención y Seguimiento de Factores de Riesgo Cardiovascular (UFRC). Se incluyeron en el estudio pacientes aparentemente sanos que declararon no ingerir drogas que afectaran el nivel sérico de Hcy ni presentaban patologías asociadas con incrementos de la misma. La edad promedio del grupo seleccionado fue de 46,3 años (22-73 años). Luego de un minucioso examen físico e interrogatorio, cada paciente se agrupó en función del n° de factores de riesgo que presentó (Tabla I). Se consideraron factores de riesgo los siguientes parámetros: Índice de Masa Corporal (IMC) > 25 kg/m², eventos cardiovasculares precoces en familiares directos menores de 55 años, sedentarismo, colesterolemia >200 mg/dL, presión arterial > 140-90 mm Hg, diabetes y tabaquismo.

Tabla I: *Pacientes y factores de riesgo.*

N° de pacientes	N° de factores de riesgo
3	0
12	1
13	2
22	3
26	4
5	5
0	6

Para el estudio de Hcy se procedió a extraer sangre luego de 8 horas de ayuno por punción venosa en tubos que contenían k_3 EDTA (Aptaca, Canelli-Italia). La muestra se centrifugó inmediatamente y el plasma obtenido se conservó en *freezer* a -20 °C hasta su procesamiento. Se consideró como valor de corte de Hcy 12 $\mu\text{mol/L}$.

Para el *test* de sobrecarga de metionina se citó nuevamente a los pacientes con ayuno de 8 horas. Por punción venosa se extrajo sangre en condiciones basales y 4 horas post ingesta de 1g de L-metionina (Biopack-Argentina) por cada 10 kg de peso corporal. El paciente permaneció en reposo en el laboratorio. La cantidad de L-metionina necesaria se disolvió en 250 mL de agua saborizada con jugo de naranja. Las muestras se procesaron y almacenaron como se describió anteriormente. Los valores de referencia para el *test* de sobrecarga de metionina se muestran en la Tabla II (16-18).

El dosaje de Hcy se realizó por la técnica de FPIA (inmunoensayo de polarización fluorescente). Se utilizaron reactivos, controles y calibradores comerciales provistos por Laboratorios Abbott (Abbott, Wiesbaden, Alemania) aplicables a aparatos de procesamiento semiautomatizado Abbott IMX System (Abbott Park Illinois, USA).

Resultados

Se analizaron los 81 valores de Hcy obtenidos a través de análisis de varianza a dos criterios de clasificación. Los dos factores considerados, ambos a dos niveles, fueron el sexo y la edad, ésta clasificada como mayor o menor que 50 años. Previamente verificados los supuestos requeridos por esta técnica, se encontró que la interacción entre los dos factores fue no significativa ($p = 0,2638$), pero sí resultaron significativos los efectos, tanto del sexo ($p = 0,0079$) como de la edad ($p = 0,0010$) concluyéndose, en consecuencia, que los valores de Hcy aumentan con la edad y que son mayores para el sexo masculino (Fig. 1). En la Figura 2 se observan los promedios y errores estándares para cada combinación de niveles de factores. Se presenta la tabla de los valores medios según el modelo considerado (Tabla III).

Los resultados observados fueron:

- 11/81 pacientes (13,6%) presentaron homocisteinemia por encima del valor de corte.
- 1/81 pacientes presentó homocisteinemia por encima de 15 $\mu\text{mol/L}$ (1,2%).
- 10/81 pacientes (12,3%) presentaron homocisteinemia entre 12 - 15 $\mu\text{mol/L}$. Cuando se some-

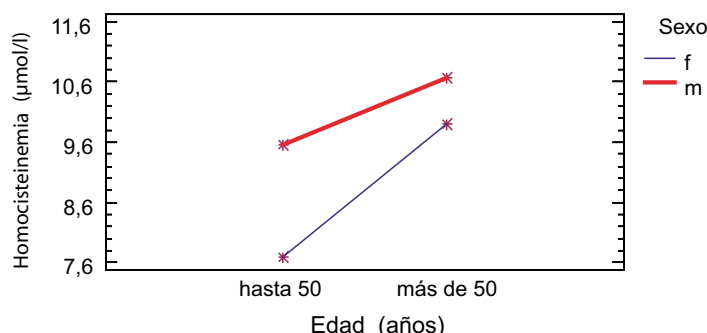


Figura 1. Valores promedio de homocisteína en mujeres y hombres en función de franjas etarias.

Tabla II. Test de sobrecarga de Metionina.

Intervalos de valores esperados de homocisteinemia postprandiales post ingesta de 1 g de metionina / 10 kg de peso. (18)(20)

<i>Hombres</i>	
< 45 años:	19,9 - 56,4 $\mu\text{mol/L}$
> 45 años:	22,0 - 59,3 $\mu\text{mol/L}$
<i>Mujeres</i>	
< 45 años:	16,6 - 44,7 $\mu\text{mol/L}$
> 45 años:	19,6 - 50,0 $\mu\text{mol/L}$

Tabla III. Valores medios según modelo considerado.

Nivel	n	Promedio ($\mu\text{mol/L}$)	Error estándar
Media general	81	9,45691	
<i>Edad</i>			
1	40	8,62323	0,345606
2	41	10,2906	0,34283
<i>Sexo</i>			
F	49	8,79352	0,306012
M	32	10,1203	0,378592
<i>Edad por sexo</i>			
1 F	24	7,68583	0,43716
1 M	16	0,56062	0,53541
2 F	25	9,9012	0,428328
2 M	16	10,68	0,53541

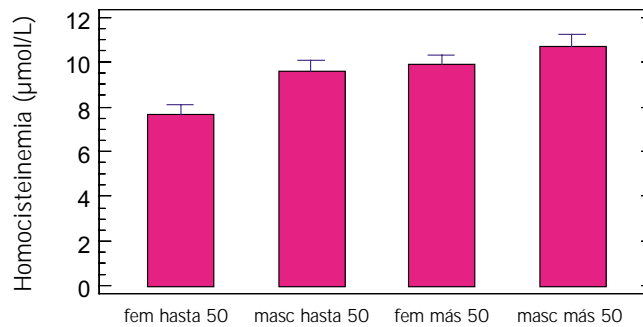


Figura 2. Promedios y errores estándares para cada combinación de niveles de factores.

tieron al *test* de sobrecarga de metionina, 2/81 presentaron valores de Hcy post-prandial por encima del valor esperado (2,5%) y 3/81 pacientes (3,7%) presentaron hiperhomocisteinemia basal o detectada por *test* de sobrecarga.

Discusión y Conclusiones

Los datos obtenidos son ampliamente concordantes con la bibliografía internacional en el tema. Hcy aumenta con la edad y el varón presenta valores más altos que la mujer (1) (19).

Los datos obtenidos permitieron establecer dos perfiles de prevalencia de hiperhomocisteinemia. En primer lugar un 3,7% de los pacientes fueron considerados hiperhomocisteinémicos estrictos y fueron sometidos a tratamiento con ácido fólico (0,4 mg/día, vía oral, Folicacid 800 mg, Laboratorios Dispert SA, Uruguay). En segundo lugar, 8/81 pacientes (9,9%) que presentaron valores de homocisteinemia

por encima de 12 $\mu\text{mol/L}$ pero resultaron respondedores normales al *test* de sobrecarga no se trataron pero sí se instruyeron en forma conjunta con el primer grupo para mejorar hábitos de alimentación y condiciones de vida (20-24). No se realizaron controles posteriores de Hcy en ninguno de los pacientes que superaron el valor de corte. Ambos datos de prevalencia son concordantes con la bibliografía internacional referida al tema (25) (26).

El *test* de sobrecarga de metionina permitió ampliar la capacidad de detección de hiperhomocisteinemias latentes fundamentalmente asociadas a deficiencias genéticas o adquiridas de la vía de transulfuración.

La implementación de este tipo de ensayos representa mayores costos. Dentro de la discrecionalidad que permita conciliar costo y beneficio, los laboratorios de análisis clínicos deben obligadamente proponer nuevas estrategias diagnósticas que permitan a las Instituciones de Salud compatibilizar gastos con beneficios relevantes en la prevención de salud de la población.

AGRADECIMIENTO

Se agradece el invaluable aporte en el área informática de la Ingeniera en Sistemas de Información Ma. de Lourdes De Agostini.

CORRESPONDENCIA

DR. CARLOS E. THOMAS

Laboratorio Alfa

Rincón 1374

(60.000) PAYSANDÚ. Uruguay

Telefax: 00598-72-24104

E-mail: alfab@adinet.com.uy

Referencias bibliográficas

- Williams R, Maggiore J. Hyperhomocysteinemia. Pathogenesis, clinical significance, laboratory assessment and treatment. *Lab Med* 1999; 30: 468-75.
- Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D, *et al.* A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268: 877-81.
- Malinow MR, Kang SS, Taylor LM, Wong PWK, Coull B, Inahara T, *et al.* Prevalence of hyper-homocysteinemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1989; 79: 1180-8.
- Brattstrom L, Lingren A. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for stroke. *Neurol Res* 1992; 14: 81-4.
- D'Angelo A, Selhub J. Homocysteine and thrombotic disease. *Blood* 1997; 90: 1-11.
- Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem* 1990; 1: 228-37.
- Schneede J, Refsum H, Ueland PM. Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26 (23): 263-79.
- Pietrzik K, Brönstrup A. Vitamins B12, B6 and folate as determinants of homocysteine concentration in the healthy population. *Eur J Pediatr* 1998; 157 (suppl. 2): S135-S138.
- Hultberg B, Andersson A, Sterner G. Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 40: 230-5.
- Van Guldener C, Robinson K. Homocysteine and renal disease. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 313-24.
- Refsum H, Ueland PM, Kvinnsland S. Acute and long term effects of high dose methotrexate treatment on homocysteine in plasma and urine. *Cancer Res* 1986; 46: 5385-91.
- James GK, Jones MW, Pudek MR. Homocyst(e)ine levels in patients on phenytoin therapy. *Clin Biochem* 1997; 30: 647-9.
- Piyathilake C, Macaluso M, Hine R, Richards E, Krumdieck C. Local and systemic effects of cigarette smoking on folate and vitamin B12. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 559-66.
- Salden A, Keeney S, Hay C, Cumming A. The C677 MTHFR variant and the risk of venous thrombosis. *Br J Haematol* 1997; 99: 472.
- Miller J, Nadeau M, Smith D, Selhub J. Vitamin B6 deficiency vs folate deficiency: comparison of responses to methionine loading in rats. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 1033-9.
- Bostom A, Jacques P, Nadeau M, Williams RR, Ellison RC, Selhub J. Postmethionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total plasma homocysteine. Initial results from the NHBLI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 1995; 116: 147-51.
- Mansoor M, Svardal A, Schneede J, Ueland P. Dynamic relation between reduced, oxidized, and protein-bound homocysteine and other thiol components in plasma during methionine loading in healthy men. *Clin Chem* 1992; 38 (7): 1316-21.
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom L, Ueland PM, *et al.* Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277: 1775-81.
- Ubbink J, Vermaak W, Vandermerwe A, Becker P. The effect of blood sample aging and food consumption on plasma total homocysteine levels. *Clin Chim Acta* 1992; 207: 119-28.
- Dillon MJ, England JM, Gompertz D, Goodey PA, Grant DB, Hussein HA, *et al.* Mental retardation, megaloblastic anaemia, methylmalonic aciduria and abnormal homo-cysteine metabolism due to an error in vitamin B12 metabolism. *Clin Sci Mol Med* 1974; 47: 43.
- Ubbink J, Becker P, Hayward Vermaak WJ, Delport R. Results of B-vitamin supplementation study used in a prediction model to define a reference range for plasma homocysteine. *Clin Chem* 1995; 41 (7): 1033-7.
- Rasmussen K, Mollewr J, Lyngbak M, Pedersen A, Dybkjaer L. Age and gender-specific reference intervals for total homocysteine and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem* 1996; 42 (4): 630-6.
- Kang S, Wrong P, Norussis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987; 36: 458-62.
- Clarke R, Armitage J. Vitamin supplements and cardiovascular risk: Review of the randomized trials and homocysteine-lowering vitamin supplements. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 341-8.
- Quintana I. Hiperhomocisteinemia. ¿Factor de riesgo trombótico? *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2005 (Supl 1): 1-76.
- Pietrzik K, Brönstrup A. Folate in Preventive Medicine: A new role in cardiovascular disease neural tube defects and cancer. *Ann Nutr Metab* 1997; 41: 331-43.

Acceptado para su publicación el 23 de febrero de 2007