

TESIS DOCTORAL

**HIPERHOMOCISTEINEMIA,
POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y
SÍNDROME CORONARIO AGUDO**

JOSÉ MANUEL GARCÍA PINILLA

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, BIOLOGÍA
MOLECULAR Y QUÍMICA ORGÁNICA
UNIVERSIDAD DE MÁLAGA**

D. EDUARDO DE TERESA GALVÁN, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

CERTIFICA: Que D. José Manuel García Pinilla, ha obtenido y estudiado bajo mi dirección el material necesario para la realización de su Tesis Doctoral titulada “Hiperhomocisteinemia, polimorfismos genéticos y Síndrome coronario agudo”, la cual ha sido revisada por mí, encontrándola conforme para ser presentada y aspirar al grado de DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente certificado en Málaga, a 7 de diciembre de 2005

Fdo. Eduardo de Teresa Galván

D. ARMANDO REYES ENGEL, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, BIOLOGÍA MOLECULAR Y QUÍMICA ORGÁNICA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

CERTIFICA: Que D. José Manuel García Pinilla, ha obtenido y estudiado bajo mi dirección el material necesario para la realización de su Tesis Doctoral titulada “Hiperhomocisteinemia, polimorfismos genéticos y Síndrome coronario agudo”, la cual ha sido revisada por mí, encontrándola conforme para ser presentada y aspirar al grado de DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA.

Y para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, expido el presente certificado en Málaga, a 7 de diciembre de 2005

Fdo. Armando Reyes Engel

CURRÍCULUM VITAE

Proyecto galardonado con la Beca NOVARTIS-2000, otorgada por la Sociedad Española de Cardiología en Granada, el 18 de octubre de 2000

“Influencia de los niveles plasmáticos basales de folatos en el pronóstico de los pacientes con síndrome coronario agudo”, como primer autor. XXXVIII Congreso de la Sociedad Andaluza de Cardiología. Sevilla, 15-17 de mayo de 2003.

“Metabolismo de la homocisteína y pronóstico del síndrome coronario agudo”, como primer autor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares-SEC 2004. Madrid, 20-23 de octubre de 2004.

“Metabolismo de la homocisteína y pronóstico a medio plazo en el síndrome coronario agudo sin elevación de ST”, como primer autor. Congreso de la Sociedad Andaluza de Cardiología. Almería, 19-21 de mayo de 2005.

“Influencia del polimorfismo C677T de la metiltetrahidrofolato-reductasa en el desarrollo del síndrome coronario agudo”, como segundo autor. Congreso de la Sociedad Andaluza de Cardiología. Almería, 19-21 de mayo de 2005.

“Hiperhomocisteinemia moderada y patrón angiográfico en pacientes con síndrome coronario agudo”, como segundo autor. Congreso de la Sociedad Andaluza de Cardiología. Almería, 19-21 de mayo de 2005.

“¿Existe correlación entre las alteraciones del metabolismo de la homocisteína y los fenómenos inflamatorios en pacientes con síndrome coronario agudo?”, como segundo autor.

Congreso de la Sociedad Andaluza de Cardiología. Almería, 19-21 de mayo de 2005.

“Influencia del polimorfismo C677T de la metiltetrahidrofolato reductasa en el desarrollo del síndrome coronario agudo”, como segundo autor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares-SEC 2005. Barcelona, 26-29 de octubre de 2005.

“¿Existe correlación entre las alteraciones del metabolismo de la homocisteína y los fenómenos inflamatorios en pacientes con síndrome coronario agudo?”, como segundo autor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares-SEC 2005. Barcelona, 26-29 de octubre de 2005.

“Hiperhomocisteinemia moderada y patrón angiográfico en pacientes con síndrome coronario agudo”, como segundo autor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares-SEC 2005. Barcelona, 26-29 de octubre de 2005.

“Metabolismo de la homocisteína y pronóstico a medio plazo en el Síndrome coronario agudo sin elevación de ST”, como primer autor. Congreso de las Enfermedades Cardiovasculares-SEC 2005. Barcelona, 26-29 de octubre de 2005.

García Pinilla JM, Espinosa-Caliani S, Jiménez-Navarro MF, Gómez-Doblas JJ, Hernández-García JM, Alonso-Briales JH, Cabrera-Bueno F, Ortega-Jiménez MV, Muñoz-Morán E, Gaitán-Arroyo MJ, Ruiz-Galdón M, Reyes-Engel A, de Teresa-Galván E. Influencia de la hiperhomocisteinemia moderada y del déficit basal de folatos sobre el pronóstico a medio plazo del Síndrome coronario agudo sin elevación de ST. Rev Esp Cardiol. En evaluación.

García-Pinilla JM, Espinosa-Caliani S, Jiménez-Navarro MF, Gómez-Doblas JJ, Muñoz-Morán E, Gaitán Arroyo MJ, Hernández-García JM, Alonso Briales JH, Cabrera-Bueno F, Robledo-Carmona J, Ortega-Jiménez MV, Reyes-Engel A, de Teresa-Galván E. Influence of 677 C→T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase in medium-term prognosis after acute coronary syndromes. *Am J Cardiol*. En evaluación.

García-Pinilla JM, Espinosa-Caliani S, Gómez-Doblas JJ, Jiménez-Navarro MF, Gaitán MJ, Cabrera-Bueno F, Hernández-García JM, Robledo-Carmona J, Ortega-Jiménez MV, Montiel-Trujillo A, Ruiz-Galdón M, Reyes-Engel A, de Teresa-Galván E. Influence of high homocysteine and low folate plasmatic levels in medium-term prognosis after acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. En evaluación.

AGRADECIMIENTOS

A Mariví, que con todo su amor y comprensión ha sido la mano que me ha conducido durante los años que llevamos juntos, y sin cuyo sacrificio humano y profesional este proyecto no habría sido posible.

A María, que con su inocencia y ternura me hace afrontar con firmeza los retos que esta vida nos plantea, y cuya aparición en nuestra vida nos colmó de felicidad; para que este trabajo sea una imagen en la que reflejarse en el futuro que le augura.

A la memoria del Dr. Salvador Espinosa Caliani, promotor de este trabajo, mi maestro y, sobre todo, mi amigo, que estaría orgulloso de su finalización y sin cuya ilusión y apoyo no habría sido posible su realización.

A mis padres, Manuel y Enriqueta, que con su esfuerzo, dedicación y cariño, me permitieron completar mis estudios y que desde la distancia me siguen apoyando y queriendo.

A mi hermano, Enrique, por toda su comprensión, con la esperanza de que todas sus ilusiones se hagan realidad.

A los Profesores Eduardo de Teresa y Armando Reyes Engel, por su sabia dirección en la elaboración de este trabajo.

A Juanjo Gómez Doblas, Manolo Jiménez, Fernando Cabrera y Ángel Montiel, por sus consejos en la confección del manuscrito, su asesoramiento científico y su ayuda en la realización del análisis estadístico de los datos, sin cuya colaboración no hubiera sido posible su finalización.

A Juan Robledo y Miren García, por el cariño demostrado y el entusiasmo transmitido.

A Victoria y Pepe, por haberme acogido con tanto cariño en tan poco tiempo.

A Juan Francisco, Natividad, Antonio, Juan, Norberto, Laura y M^a Ángeles por los momentos que compartimos hace tanto tiempo, sin cuya amistad los momentos difíciles no hubieran pasado con tanta facilidad.

A Genoveva, por su fuerza y decisión ante la adversidad, que me permitió afrontar las

dificultades que esta vida conlleva, y que se sentiría orgullosa de la culminación de este trabajo.

A mis compañeros de trabajo del Hospital Universitario Virgen de la Victoria de Málaga y del Hospital Costa del Sol de Marbella por su compromiso y ayuda.

A los enfermeros y auxiliares de la Sección de Hemodinámica del Servicio de Cardiología del Hospital Virgen de la Victoria de Málaga, sin cuya colaboración en la recogida de muestras no habría sido posible la realización del trabajo de campo.

A Rosa Flores, nuestra querida administrativa, por su desinteresada e indispensable ayuda en la recogida de datos.

A Encarnación Fernández, María Jesús Gaitán y Maximiliano Ruiz por su Colaboración en la determinación de los parámetros analíticos, sin cuyo trabajo este proyecto no podría haberse realizado.

Para Mariví

Para María

Para Mis Padres

ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
INTRODUCCIÓN.....	6
I. Definiciones. Epidemiología de la arteriosclerosis y de la enfermedad coronaria.....	7
II. Fisiopatología de la arteriosclerosis.....	13
III. Fisiopatología del Síndrome coronario agudo.....	20
A. Introducción.....	20
B. Rotura y erosión de la placa arteriosclerótica.....	21
C. Papel de los fenómenos inflamatorios.....	22
D. Trombosis.....	23
E. Vasoconstricción.....	23
F. Reconocimiento de placas vulnerables.....	23
G. Síntomas clínicos derivados de la rotura de la placa.....	24
IV. Homocisteína plasmática y Enfermedad vascular arteriosclerótica.....	26
A. Introducción.....	26
B. Metabolismo de la homocisteína.....	27
C. Factores que alteran el metabolismo de la homocisteína. Etiología de la hiperhomocisteinemia.....	29
D. Determinación de la homocisteína plasmática.....	33
E. Epidemiología de la hiperhomocisteinemia.....	34
F. Homocisteína y Enfermedad aterotrombótica vascular.....	35
1. Efectos vasculares y sobre la coagulación.....	36
2. Estudios epidemiológicos.....	44
3. Tratamiento de la hiperhomocisteinemia. Ensayos clínicos.....	54
V. Polimorfismo C677T (A222V) de la enzima Metiltetrahidrofolato reductasa y enfermedad coronaria.....	63

HIPÓTESIS.....	67
OBJETIVOS.....	70
MATERIAL Y MÉTODO.....	72
I. Muestra de estudio. Selección de casos y controles.....	73
II. Coronariografía.....	74
III. Recogida de datos clínicos.....	75
IV. Determinaciones analíticas específicas.....	79
V. Determinaciones analíticas generales.....	80
VI. Determinación del genotipo para el polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR.....	81
VII. Determinación de la homocisteína plasmática.....	84
VIII. Seguimiento clínico.....	87
IX. Proceso de datos y análisis estadístico.....	88
RESULTADOS.....	89
I. Características epidemiológicas de la población estudiada.....	90
A. Controles.....	90
B. Casos.....	94
II. Estudio comparativo casos-contrroles.....	102
A. Características epidemiológicas y factores de riesgo cardiovascular.....	102
B. Características clínicas.....	104
C. Tratamiento al alta.....	108
D. Estudio analítico general.....	109
E. Reactantes de fase aguda.....	111
F. Metabolismo de la homocisteína.....	114
G. Polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR.....	117

H. Estudio del pronóstico.....	118
III. Correlación entre inflamación y metabolismo de la homocisteína.....	120
A. Análisis cuantitativo.....	120
B. Análisis cualitativo.....	123
IV. Metabolismo de la homocisteína y polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR.....	129
A. Análisis cuantitativo.....	129
B. Análisis cualitativo.....	131
V. Relación entre el polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR y el Síndrome coronario agudo.....	136
A. Epidemiología y riesgo cardiovascular.....	136
B. Características clínicas.....	140
C. Características angiográficas.....	142
D. Pronóstico.....	146
VI. Relación entre el metabolismo de la homocisteína y el Síndrome coronario agudo.....	150
A. Epidemiología y riesgo cardiovascular.....	150
B. Características clínicas.....	156
C. Características angiográficas.....	163
D. Pronóstico.....	172
DISCUSIÓN.....	184
I. Consideraciones generales.....	185
II. Estudio casos-contróles.....	188
A. Características epidemiológicas y factores de riesgo cardiovascular.....	188
B. Características clínicas.....	189

C. Tratamiento.....	190
D. Estudio analítico general.....	191
E. Reactantes de fase aguda.....	191
F. Metabolismo de la homocisteína.....	192
G. Polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR.....	193
H. Pronóstico.....	195
III. Inflamación y metabolismo de la homocisteína.....	197
IV. Metabolismo de la homocisteína y polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR.....	200
V. Polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR y Síndrome coronario agudo.....	202
A. Epidemiología y riesgo cardiovascular.....	202
B. Características clínicas.....	206
C. Características angiográficas.....	207
D. Pronóstico.....	209
VI. Metabolismo de la homocisteína y Síndrome coronario agudo.....	214
A. Epidemiología y riesgo cardiovascular.....	214
B. Características clínicas.....	215
C. Características angiográficas.....	217
D. Pronóstico.....	220
VII. Limitaciones.....	232
CONCLUSIONES.....	234
ABREVIATURAS.....	237
BIBLIOGRAFÍA.....	239

INTRODUCCIÓN

I. DEFINICIONES. EPIDEMIOLOGÍA DE LA ARTERIOSCLEROSIS Y DE LA ENFERMEDAD CORONARIA.

La Cardiopatía isquémica (CI) es un síndrome clínico producido por un proceso de isquemia miocárdica relacionado en la mayoría de las ocasiones por arteriosclerosis a nivel de las arterias coronarias. Las formas de presentación clínica incluyen la angina de pecho estable, la isquemia silente, la angina inestable (AI), el infarto de miocardio (IAM), la insuficiencia cardíaca, las arritmias ventriculares y la muerte súbita.

Bajo el término Síndrome coronario agudo (SCA) se incluyen diferentes entidades clínicas que comparten un sustrato fisiopatológico común que conduce a isquemia coronaria aguda y que engloba desde el IAM con o sin elevación del segmento ST hasta la AI. La diferenciación entre IAM y AI viene determinada por la presencia de necrosis miocárdica asociada a la isquemia y que es definitiva de IAM. El IAM, consecuencia de la obstrucción completa al flujo coronario, comienza a desarrollarse a los 15-30 minutos de isquemia severa y progresa desde el subendocardio al subepicardio. La reperfusión (incluyendo el reclutamiento de ramas colaterales) puede salvar al miocardio de que se produzca la necrosis.

En los últimos años se ha establecido la diferenciación entre los SCA con elevación del segmento ST (SCACEST) en el electrocardiograma (ECG) y los SCA sin elevación del ST (SCASEST), que incluyen la AI y el IAM sin onda Q, por las diferentes estrategias de manejo clínicoterapéutico que se utilizan en ambos.

En los últimos diez años la CI constituyó la causa de hasta el 29% de los fallecimientos en los países industrializados¹, lo que la convierte en la principal causa de muerte, y probablemente en el año 2020 seguirá siéndolo^{2,3}. Es responsable de más del 45% de los fallecimientos en mayores de 65 años y del 70% en mayores de 75 años⁴. La CI es la primera causa de muerte en varones mayores de 45 años y en mujeres mayores de 65 años⁵.

Constituye la tercera causa de hospitalizaciones de corta duración, con un elevado coste por estancia hospitalaria y representa la causa principal de invalidez permanente prematura (19% de las prestaciones por invalidez)⁶. En Estados Unidos la tercera parte de los varones desarrollan algún tipo de enfermedad cardiovascular antes de alcanzar los 60 años, siendo la CI la más frecuente, pues supone dos tercios del total en ambos sexos.

El estudio Frammingham proporcionó datos que permitieron estimaciones fiables de la morbimortalidad cardiovascular tras el seguimiento durante 36 años de una muestra poblacional de 5209 individuos de 35 a 94 años. Sus resultados indican que la incidencia media anual de las enfermedades cardiovasculares aumenta desde el 0,5% en hombres entre los 35 y 44 años al 5,9% en los de edades comprendidas entre 85 y 94 años⁷.

En los países industrializados se ha evidenciado una disminución progresiva de la mortalidad por CI^{8;9}, que parece relacionarse con una reducción en la aparición de nuevos casos (incidencia)¹⁰ y con las mejoras terapéuticas instauradas en el tratamiento en la fase aguda del IAM, así como con un mayor esfuerzo en el control de los factores de riesgo cardiovascular con las medidas de prevención secundaria^{11;12}. Así, las tasas de mortalidad por CI en 1995 representaron el 9,3% del global de fallecimientos en las mujeres (tercera causa) y el 11,3% en los varones (primera causa desde 1989)¹³. En este sentido, desde 1965 el número de fumadores ha descendido en Estados Unidos un 37%¹⁴, entre 1960 y 1991, los niveles medios de colesterol han disminuido de 220 mg/dl a 205 mg/dl en sujetos de 20 a 75 años¹⁵ y la mortalidad anual global por hipertensión arterial (HTA) pasó de 56/100000 habitantes en 1950 a 6,5/100000 habitantes en 1991. La reducción de su incidencia es responsable del aumento de la esperanza de vida en los países desarrollados.

En Estados Unidos, antes de la década de 1940 y en relación con el control de las enfermedades infecciosas, se produjo un aumento de la mortalidad cardiovascular hasta convertirse en la causa dominante de fallecimientos debido a un aumento epidémico de los

accidentes coronarios letales. Posteriormente la mortalidad cardiovascular decreció un 1% anual durante la década de 1950, y a partir de entonces se produjo una aceleración de esta reducción hasta un 3% anual¹⁶. Se observó una reducción superior al 50% en la tasa de muerte ajustada a la edad desde el pico de 1963, siendo la tasa de reducción actual de un 3-4%, con una reducción máxima en adultos jóvenes y en poblaciones de nivel socioeconómico medio-alto.

En España se ha producido una tendencia descendente similar desde 1968 para todos los grupos de edad, fundamentalmente a expensas de la enfermedad cerebrovascular y habiéndose estabilizado la mortalidad de origen coronario. La tasa de mortalidad por CI decreció lentamente en España entre 1975 y 1995¹⁷⁻¹⁹, aunque en los últimos años la tendencia se ha suavizado, especialmente en las mujeres²⁰. En 1987 la mortalidad por causa coronaria fue de 31,6% en varones y del 18,3% en mujeres, mientras que la de causa cerebrovascular fue del 30,4% y del 36,4%, respectivamente²¹. La mortalidad y la incidencia de IAM en España son de las más bajas del mundo^{1;22;23} y la última se ha estabilizado en los últimos 15 años^{24;25}. En España, la CI fue la causa del 11% de las muertes en varones y el 10% de las muertes en mujeres en el año 1997 y constituye la primera causa individual de muerte en varones y la tercera en mujeres¹³. Sin embargo, la encuesta de morbilidad hospitalaria del Instituto Nacional de Estadística (publicada en 1999) evidenció que el número de pacientes dados de alta o fallecidos con el diagnóstico de CI pasó de 30032 en 1977 a 94124 en 1993. Además, la prevalencia de CI aumenta con la edad, y España será el país con la población más envejecida del mundo en unas pocas décadas. El envejecimiento poblacional aumentará por sí mismo el número de casos de IAM y angina inestable (AI) en España. Se estima que en el año 2002 ingresaron en los centros hospitalarios españoles unas 74500 personas en relación con SCA, el 55% por IAM y el resto por AI; y si se mantiene la tendencia actual, en el año 2005 ingresarán por SCA unas 78000 personas²⁶. Además, los registros poblacionales demuestran

que una tercera parte de los pacientes mueren antes de llegar al hospital y que existe una elevada letalidad en los mayores de 74 años. A éstos habría que sumar los IAM silentes (hasta un 30% de los casos, según datos procedentes del estudio Frammingham²⁷), con lo que la cifra podría elevarse hasta 98000 IAM, con una letalidad a los 28 días del 39,5%²⁶.

El SCA, con y sin elevación del segmento ST en el electrocardiograma (IAM, AI e IAM sin onda Q), da lugar a una creciente demanda asistencial que parece relacionarse con el aumento de casos de IAM en la población, ya que, si bien la incidencia de IAM en la población de 25 a 74 años permanece estable, el aumento de la esperanza de vida y el descenso de la natalidad en España dan lugar a un envejecimiento poblacional que se traduce en un aumento de patologías crónicas, entre ellas la CI. Se ha de tener en cuenta que la incidencia y morbimortalidad asociadas con el IAM en los mayores de 74 años es más alta que en la cohorte de edad 25-64²⁸. La mayor demanda asistencial podría deberse a la mayor incidencia de SCA recurrente debido a la menor mortalidad en pacientes hospitalizados observada en las últimas dos décadas relacionada con la mejoras terapéuticas^{11;29}. En el registro de actividad de la Sección de Hemodinámica y Cardiología Intervencionista de la Sociedad Española de Cardiología se ha observado un aumento de los procedimientos intervencionistas en la última década, con un incremento medio del 22,9% en el número de coronariografías y del 33,5% en las revascularizaciones no quirúrgicas^{30;31}.

Se considera en la actualidad que los factores de riesgo mayores de enfermedad coronaria son: Dislipemia, hipertensión arterial (HTA), tabaquismo y diabetes mellitus (DM). Se han descrito otros factores de riesgo como: Sedentarismo, obesidad, historia familiar de enfermedad coronaria, edad, sexo, hiperhomocisteinemia, consumo de alcohol y factores psicológicos y de personalidad. A pesar de los avances realizados en el campo de la prevención primaria de la CI son numerosas las incógnitas que quedan por resolver, puesto que los factores de riesgo descritos no justifican plenamente las diversas manifestaciones ni

los distintos grados de enfermedad coronaria en pacientes con factores de riesgo similares. Además, dichos factores no aparecen en todos los pacientes con enfermedad coronaria. Por ello se intenta encontrar otros factores implicados en la génesis de la arteriosclerosis coronaria.

Los criterios que se requieren para determinar la existencia de asociación causal entre dos variables es un tema aún no resuelto en la Investigación Científica. Diversos autores han hecho propuestas al respecto, destacando los Criterios de causalidad de Bradford Hill³²:

- Fuerza de asociación: Cuanta mayor asociación exista entre dos variables, mayor probabilidad hay de que dicha relación sea causal. Viene determinada por el riesgo relativo de los individuos expuestos a cierto factor de riesgo comparado con los no expuestos.
- Secuencia temporal correcta: El factor de riesgo debe preceder al efecto.
- Gradiente dosis-respuesta: A mayor exposición a un factor de riesgo, más efecto. El riesgo relativo de la enfermedad coronaria aumenta a medida que se incrementa la exposición al factor estudiado.
- Consistencia: Si estudios diferentes apuntan en la misma dirección probablemente la asociación propuesta sea real. La asociación se debe observar en diferentes poblaciones.
- Plausibilidad biológica: La asociación propuesta no debe contradecir el conocimiento biológico actual.
- Coherencia: La asociación propuesta no debe contradecir la historia natural y la biología de la enfermedad.
- Especificidad de la asociación: Debe existir una relación biunívoca exclusiva entre el factor de riesgo y el efecto. La asociación debe ser independiente tras controlar otros factores de riesgo.

- Analogía: Si la relación existente entre el factor de riesgo y el efecto es muy similar a otras en las que se ha demostrado que dicha relación es causal, también es probable que lo sea en este caso.
- Evidencia experimental: Debe producirse una disminución o desaparición del efecto si se suprime el factor de riesgo.

II. FISIOPATOLOGÍA DE LA ARTERIOSCLEROSIS.

La arteriosclerosis no consiste en un simple acúmulo de lípidos a nivel de la pared arterial. Actualmente se considera un proceso inflamatorio en el que intervendrían mecanismos celulares y moleculares fruto de la interacción de multitud de factores endógenos y exógenos³³.

La estría grasa, clásicamente considerada la lesión patológica precursora de la arteriosclerosis, y que se puede observar en niños, es una lesión puramente inflamatoria compuesta exclusivamente por macrófagos y linfocitos³⁴.

El papel del endotelio es crucial en la fisiopatología de la arteriosclerosis. En primer lugar constituye una barrera altamente selectiva que separa las células sanguíneas del resto de tejidos, regulando de forma activa el paso de sustancias a su través. Además presenta una gran actividad metabólica, sintetizando gran número de sustancias vasoactivas y anticoagulantes. Así, gracias a la síntesis de prostaciclina (antiagregante plaquetario y vasodilatadora), la cobertura de heparán sulfato y la presencia de una ecto-ADPasa, la superficie endotelial no es trombogénica. Además produce otras sustancias con acción vasodilatadora como el EDRF derivado del óxido nítrico^{35,36}, fibrinolítica como el plasminógeno, procoagulantes como el factor de Von Willebrand³⁷, y otras moléculas con actividad vasoconstrictora como la endotelina³⁸, la enzima convertidora de angiotensina y los factores de crecimiento plaquetarios. Así mismo en las células endoteliales se sintetizan moléculas reguladoras del crecimiento y citocinas, proporcionan una superficie no adherente a los leucocitos circulantes y modifican lipoproteínas al ser transportadas al interior de la pared arterial.

La teoría de la respuesta al daño endotelial propone que el proceso arteriosclerótico se inicia con la lesión de las células endoteliales por parte de una serie de factores que conduce a la pérdida de su función homeostática, desencadenando los fenómenos inflamatorios

característicos de la arteriosclerosis.

En aquellos segmentos arteriales sometidos a flujo turbulento (bifurcaciones y ramificaciones) se producen una serie de fenómenos que pueden actuar como desencadenantes de la formación de la placa arteriosclerótica. Parece existir una mayor permeabilidad al paso de lipoproteínas de baja densidad (LDL) modificadas (mediante fenómenos de oxidación, glicosilación y unión a proteoglicanos e inmunocomplejos). Además, como respuesta al aumento del estrés parietal, se modifica la actividad de los promotores de diversos genes en las células de la pared endotelial, dando lugar a un incremento de la producción de sustancias como la molécula de interacción celular 1³⁹, la cadena B del factor de crecimiento plaquetario⁴⁰, el factor tisular (con acción trombogénica)⁴¹, las selectinas (receptores de los glucoconjugados) y las integrinas (presentes en los monocitos y linfocitos T)⁴², que facilitan los fenómenos de adhesión celular al endotelio. Por otro lado se producen sustancias quimiotácticas (LDL modificadas, moléculas generadas por el endotelio, las células musculares lisas y los monocitos como la proteína quimiotáctica de los monocitos 1 o la osteopontina⁴³). Se sintetizan y liberan otras sustancias que favorecen la unión de las LDL al endotelio y a la célula muscular lisa (el factor de necrosis tumoral, la interleucina 1 y el factor estimulador de colonias de macrófagos) y se estimula la transcripción del gen de los receptores de LDL^{44;45}.

Una vez que los monocitos se instalan en el espacio subendotelial se transforman en macrófagos y comienzan la captación de lípidos (principalmente LDL oxidada) a través de unos receptores de superficie denominados scavengers⁴⁶, convirtiéndose en células espumosas⁴⁷. El sustrato histológico de este proceso es la formación de la estría grasa (la lesión arteriosclerótica más precoz constituida por células espumosas, linfocitos T y células musculares lisas). La captación de lípidos por el macrófago (en un intento de minimizar el daño de la LDL oxidada sobre las células endoteliales y musculares lisas) constituye el paso

inicial del proceso inflamatorio. Los macrófagos actúan como células presentadoras de antígeno y secretan citocinas, quimiocinas y moléculas estimulantes del crecimiento (PDGF, FGF, factor EGF-like y beta-TGF), metaloproteinasas y otras hidrolasas, pero también LDL oxidada y aniones superóxido que pueden lesionar las células endoteliales vecinas, dando lugar a una autoperpetuación de la lesión endotelial.

El PDGF y la angiotensina II estimulan la mitosis de las células musculares lisas de la pared arterial así como la migración de fibroblastos y células musculares lisas, favoreciendo la formación de tejido fibroso y dando lugar a la formación de una lesión fibromuscular proliferativa a nivel del espacio subendotelial^{48;49}. Al mismo tiempo, la liberación de proteasas y la muerte de las células espumosas, los linfocitos y las células musculares en relación con fenómenos apoptóticos y la acción tóxica de la LDL oxidada, da lugar a la constitución de un núcleo necrótico constituido por todos estos restos celulares y por gran cantidad de LDL oxidada. Como consecuencia de este proceso la estría grasa evoluciona a placa arteriosclerótica constituida por una cubierta de tejido fibromuscular y el núcleo de material necrótico.

Las células espumosas pasan al torrente sanguíneo para transportar al bazo y los ganglios linfáticos los lípidos fagocitados en la pared arterial, quedando el tejido subendotelial expuesto al flujo sanguíneo (sobre todo en zonas con flujo turbulento). Esto conduce a la agregación de plaquetas a dicho nivel, produciendo un trombo mural y liberando citocinas y factores de crecimiento que contribuyen a la migración y proliferación de células musculares lisas y macrófagos⁵⁰; así mismo sintetizan tromboxano A₂ (con gran actividad vasoconstrictora y proagregante) y leucotrienos, amplificando la respuesta inflamatoria de la placa^{51;52}. De esta forma las plaquetas, además de iniciar la formación del trombo intraluminal responsable de la aparición de los SCA, tienen un papel relevante en la formación y progresión de la placa de ateroma.

La acción de las metaloproteinasas y otras enzimas hidrolíticas da lugar a que se produzcan fenómenos hemorrágicos de los vasa vasorum y adelgazamiento de la capa fibrosa en las lesiones avanzadas. Como consecuencia la placa puede fracturarse, dando lugar a la formación de un trombo, lo cual se relaciona con la progresión subclínica de las lesiones arterioscleróticas pero también con la aparición de eventos isquémicos agudos^{53;54}.

Los datos aportados por numerosos investigadores (provenientes mayoritariamente de estudios necrópsicos) han permitido realizar una clasificación histológica de las lesiones arteriosclerosas. Así, las lesiones que preceden a la arteriosclerosis avanzada y pueden dar lugar al desarrollo de ésta se clasifican como tipos I, II y III. Se trata de pequeños depósitos lipídicos que no desorganizan la estructura normal de la íntima y tampoco deforman la arteria o se vuelven clínicamente evidentes. Las lesiones arterioscleróticas avanzadas se clasifican como tipos IV, V, VI, VII y VIII y en ellas está presente una desorganización de la estructura de la íntima y se observan cambios en el contorno externo o interno del segmento arterial (tales cambios se asocian con acumulaciones de lípidos). Hasta el tipo IV las lesiones crecen principalmente porque se acumula lípido en la íntima a un ritmo lento. Posteriormente, en edades más avanzadas (a partir de la cuarta década de la vida), se asocia un mecanismo adicional: La formación de colágeno, dando lugar a la lesión tipo V. Cuando la lesión aumenta de tamaño como consecuencia de la aparición de fenómenos trombóticos y hematomas se la llama tipo VI. Los hematomas y trombos aceleran el crecimiento de la lesión en forma de episodios; así, al curarse el defecto y convertirse el depósito trombótico en matriz extracelular, el tipo VI vuelve a la morfología del tipo V, pero con mayor tamaño que antes.

Lesiones tipo I: Son las primeras en aparecer. No aumentan el espesor de la pared arterial. Constan de depósitos lipídicos en la íntima que sólo son detectables al microscopio o por métodos químicos, y de reacciones asociadas de los macrófagos. Son frecuentes en lactantes y niños. Las alteraciones histológicas consisten en pequeños grupos aislados de

macrófagos y células espumosas.

Lesiones tipo II: Incluye las lesiones que se conocen como estría grasa. Son visibles en la superficie interna de las arterias. Además se tiñen de rojo con Sudán III o IV. Aumentan el espesor intimal en menos de 1 mm. Histológicamente presentan células espumosas estratificadas y las células musculares lisas también presentan gotas de contenido lipídico. La mayoría del contenido lipídico se encuentra a nivel intracelular, fundamentalmente en las células espumosas.

Lesiones tipo IIA y IIB: Son lesiones tipo II localizadas junto a endurecimiento adaptativo, conteniendo algo más de lípidos. El que una de estas lesiones evolucione a un mayor grado viene determinado en gran medida por la acción de las fuerzas mecánicas (bifurcaciones y ramificaciones) que dan lugar a un mayor flujo de lipoproteínas al interior intimal en estas localizaciones.

Lesiones tipo III: Constituye el “puente” histológico entre las lesiones mínimas y las avanzadas. También se conoce como preateroma⁵⁵ o lesión intermedia⁵⁶. No obstruyen el flujo sanguíneo. Se observa acúmulo de lípidos a nivel extracelular formando depósitos no bien definidos entre las capas de músculo liso. Su presencia parece señalar la existencia de enfermedad clínica en el futuro.

Lesiones tipo IV: Existe una acumulación densa de lípidos extracelulares en la íntima de un segmento arterial (núcleo lipídico). Es el primer tipo lesional que se considera avanzado, debido a la rotura y desorganización de la estructura arterial provocada por la gran acumulación de lípidos a nivel extracelular. Estas lesiones pueden romperse y pasar a tipo VI; en este caso, tras la organización del trombo, pasan de nuevo a ser tipo IV.

Lesiones tipo V: Se añade una o varias capas de colágeno a las características histológicas de la lesión tipo IV. El colágeno se sintetiza como reacción a la rotura celular y tisular consecuencia del acúmulo de lípidos a nivel extracelular. Estas lesiones también

pueden romperse y pasar a tipo VI.

Lesiones tipo VI: También se llaman lesiones complicadas y son responsables en gran medida de la morbilidad de la arteriosclerosis coronaria. Se producen roturas en la superficie de la lesión, en forma de fisuras, erosiones o ulceraciones, hematomas o hemorragias y depósitos trombóticos. Los fenómenos reparativos subsecuentes dan lugar a una vuelta a morfología de lesión tipo V pero de mayor tamaño y con mayor obstrucción al flujo que la precedente.

Lesiones tipo VII y VIII: Algunas lesiones arterioscleróticas avanzadas no contienen núcleo lipídico ni lípido acumulado. La íntima consta de capas de colágeno y/o calcio. El tipo VII se aplica a lesiones predominantemente calcificadas y el tipo VIII cuando predomina el colágeno. Ambos tipos pueden representar los estadios finales de lesiones arterioscleróticas formadas originalmente por acumulación de lípidos. Algunas lesiones tipo VIII pueden ser el resultado de la evolución de trombos murales.

En conclusión, la arteriosclerosis se inicia por la aparición de disfunción endotelial en parte relacionada con la adhesión de LDL modificadas. La alteración endotelial da lugar a un desequilibrio entre sustancias procoagulantes y anticoagulantes así como a un incremento de la síntesis de sustancias vasoactivas, citocinas y factores de crecimiento que desencadena una respuesta inflamatoria que trata de evitar la acción nociva de los iniciadores sobre la pared arterial. Si los factores iniciadores no son neutralizados, la reacción inflamatoria persiste de forma indefinida, estimulando la migración y proliferación de células musculares lisas, conduciendo a un engrosamiento de la pared arterial que inicialmente es compensada por una dilatación en lo que se denomina remodelado arterial. La activación de estas células conduce a la liberación de enzimas hidrolíticas, citocinas y factores de crecimiento, que conlleva un mayor daño sobre la pared vascular. Se suceden ciclos de acumulación de células mononucleares, migración y proliferación de células musculares lisas y formación de tejido

fibroso, que conduce a crecimiento y reestructuración de la lesión, apareciendo un acúmulo de lípidos y células necróticas. El resultado de este proceso da lugar, como consecuencia del acúmulo de lípidos, a una placa más vulnerable, con tendencia a la ruptura y al desarrollo de trombosis intraluminal, que conduce a isquemia arterial aguda. Por otro lado, como resultado del crecimiento de la placa, se agota la capacidad de remodelado arterial, apareciendo obstrucción al flujo sanguíneo de forma progresiva, lo que provoca una situación de isquemia arterial crónica.

III. FISIOPATOLOGÍA DEL SÍNDROME CORONARIO AGUDO.

A. Introducción.

Durante las últimas décadas se ha comprobado la complejidad de los SCA. La arteriosclerosis no es un proceso lineal sino continuo, en el que se suelen alternar fases de estabilidad e inestabilidad. El SCA es consecuencia de un desequilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno a nivel de miocardio y se suele producir por una reducción aguda o subaguda de dicho aporte debido a la disrupción de una placa arteriosclerótica asociada a fenómenos inflamatorios, trombosis, vasoconstricción y microembolización⁵⁷.

Se establecen 5 posibles causas:

1. Formación de un trombo oclusivo/suboclusivo sobre una placa arteriosclerótica preexistente.
2. Obstrucción dinámica en relación con espasmo coronario (provocado por aumento del tono muscular y/o disfunción endotelial) o vasoconstricción anómala de pequeños vasos de resistencia localizados a nivel intramural.
3. Obstrucción mecánica progresiva en pacientes con arteriosclerosis progresiva o con reestenosis tras revascularización percutánea.
4. Inflamación y/o infección. La inflamación arterial, causada o relacionada con una infección, puede conducir al estrechamiento arterial, desestabilización y/o rotura de la placa y favorece la trombogénesis.
5. SCA secundario. En este caso, existe un factor precipitante extrínseco al lecho arterial coronario. Se produce en condiciones que aumentan las necesidades de oxígeno (fiebre, taquicardia, hipertiroidismo), disminuyen el flujo coronario (hipotensión), o que reducen el aporte de oxígeno (anemia, hipoxemia)⁵⁸.

La presentación clínica y el pronóstico dependen de la localización de la obstrucción

así como de la severidad y duración de la isquemia miocárdica.

B. Rotura y erosión de la placa arteriosclerótica.

En el 75% de los IAM los fenómenos trombóticos tienen lugar sobre placas que provocaban estenosis leves o moderadas⁵⁹. Sin embargo, las estenosis severas provocan eventos coronarios que conducen al IAM en más ocasiones que las lesiones leves⁶⁰.

Las placas vulnerables (con tendencia a la rotura) tienen un gran core lipídico, baja densidad de células musculares lisas, alta densidad de macrófagos, una delgada capa fibrosa con colágeno desorganizado y una alta concentración de factor tisular^{53;61-64} y constituyen el sustrato de entre 2/3 y 3/4 de los trombos coronarios. Tras la muerte de las células espumosas el core lipídico no sólo se forma como consecuencia de acumulación pasiva de material lipídico sino también por disolución activa del colágeno a través de metaloproteinasas. El core lipídico de las placas con tendencia a la ruptura tiene un gran contenido de ésteres de colesterol con una gran proporción de ácidos grasos poliinsaturados, sobre todo en los niveles más superficiales. La proporción relativa de los diferentes ácidos grasos podría contribuir a la agregación y activación plaquetaria local así como a la formación del trombo.

La disrupción de la placa arteriosclerótica se produce como consecuencia de la conjunción de varios mecanismos:

Mecanismos activos: Se debe a la secreción de enzimas proteolíticos por los macrófagos, que puede debilitar la capa fibrosa.

Mecanismos pasivos: Se relaciona con fuerzas físicas aplicadas sobre la zona más débil de la capa fibrosa, que se corresponde con la zona más delgada de ésta, a nivel de la unión con la pared arterial normal.

La vulnerabilidad de la placa puede relacionarse con el estrés mural circunferencial, así como con la localización, tamaño y composición del core lipídico, y también con el

impacto del flujo en la superficie luminal de la placa⁵³.

Junto a la rotura de la placa, los fenómenos erosivos de la misma también se han descrito como mecanismos subyacentes en los SCA. Parece ser más frecuente en mujeres, diabéticos e hipertensos^{65;66}; así mismo existen datos que parecen objetivar que se produciría con mayor frecuencia en estenosis de alto grado y en estenosis localizadas en la arteria coronaria derecha^{67;68}. Cuando se produce la erosión, el trombo se adhiere a la superficie de la placa mientras que cuando ésta se rompe el trombo envuelve las capas profundas subyacentes al core lipídico.

C. Papel de los fenómenos inflamatorios.

La capa fibrosa suele tener altas concentraciones de colágeno tipo I lo que le confiere una alta resistencia al estrés físico. Sin embargo, es una estructura dinámica con un equilibrio continuo entre la síntesis de colágeno (modulada por factores de crecimiento) y su degradación (a través de metaloproteinasas producidas por los macrófagos activados). Además, los fenómenos apoptóticos de las células del músculo liso pueden debilitar el tejido de la placa y favorecer su ruptura⁶⁹. El infiltrado macrofágico ha sido demostrado en estudios patológicos: Su proporción es entre seis y nueve veces mayor en las placas rotas que en las placas estables⁷⁰. Su presencia refleja la existencia de un proceso inflamatorio que también se caracteriza por la presencia de linfocitos T activados. Éstos pueden liberar varias citocinas que activan a los macrófagos y promueven la proliferación de las células del músculo liso. Se ha sugerido que estas células también producirían proteasas que digieren la matriz extracelular. Además se han hallado mastocitos en los márgenes de las placas⁷¹.

La hiperplasia neointimal se ha descrito en un 40% de las muestras patológicas procedentes de pacientes con angina inestable sometidos a aterectomía direccional⁷²: Se caracteriza por tejido fibroso con abundante matriz extracelular. Podría estar estimulada por

factores factores de crecimiento inflamatorios.

D. Trombosis.

Es inducida por la ruptura/erosión de la placa. Puede dar lugar a cambios rápidos en la severidad de la estenosis y dar lugar a oclusión vascular total (provocando un SCACEST o subtotal dando lugar a un SCASEST). El core rico en lípidos, que es expuesto tras la ruptura, es altamente trombogénico y tiene una alta concentración de factor tisular⁷³. Se ha encontrado que la actividad procoagulante sistémica de los monocitos está elevada en pacientes con AI. También se implican factores relacionados con la hipercoagulabilidad sistémica, la hipercolesterolemia, el fibrinógeno, y la infección en la génesis del trombo.

El trombo que se observa en los SCA es rico en plaquetas. La obstrucción inicial del flujo coronario se debe a agregación plaquetaria pero la fibrina es importante para la posterior estabilización del trombo. La respuesta trombótica de la placa es dinámica: Es decir, se producen de forma simultánea tanto los fenómenos trombóticos como trombolíticos, dando lugar a interrupción intermitente del flujo coronario y fenómenos de embolización distal⁷⁴ que explican episodios transitorios de oclusión y suboclusión que se asocian con cambios en el ECG y en la clínica de los pacientes.

E. Vasoconstricción.

El trombo rico en plaquetas puede liberar sustancias con acción vasoconstrictora como la serotonina y el tromboxano A₂⁷⁵ que inducen vasoconstricción a nivel de la ruptura de la placa y también en la microcirculación.

F. Reconocimiento de placas vulnerables.

La angiografía coronaria permite reconocer las lesiones responsables de la isquemia

miocárdica pero es necesario visualizar la pared arterial más que la luz vascular para poder reconocer las lesiones precoces y las placas vulnerables no estenosantes. De este modo, técnicas disponibles como la ecografía intravascular y la angioscopia pueden revelar aspectos de la placa que no son valorables por coronariografía. Así mismo, la Resonancia magnética nuclear permitirá en un futuro no lejano un estudio fisiológico *in vivo* de las lesiones coronarias. Incluso una simple muestra de sangre permite determinar la existencia de signos de inflamación sistémica y activación de células endoteliales, leucocitos, plaquetas, coagulación y fibrinólisis que pueden resultar útiles para diferenciar entre arteriosclerosis quiescente y progresiva.

G. Síntomas clínicos derivados de la rotura de la placa.

La rotura de la placa va seguida de una hemorragia intralesional a través de su superficie rota y una trombosis intraluminal que da lugar a un crecimiento rápido de ésta, lo que da lugar a la progresión brusca de la lesión coronaria⁷⁶. Otro mecanismo que podría contribuir a esta progresión aguda podría ser la proliferación acelerada de células musculares lisas y el aumento de matriz, consecuencia de mecanismos inflamatorios superficiales, denudación endotelial, adherencia y desgranulación de las plaquetas y factores de crecimiento sanguíneos⁷⁷.

1. Rotura silente de la placa.

Datos procedentes de necropsias indican que el 9% de las personas sanas presentan placas arterioscleróticas rotas, aumentando este porcentaje a 22% en diabéticos o hipertensos⁷⁸.

2. Síndromes coronarios agudos.

Tras la rotura de la placa, una hemorragia en su interior, una trombosis luminal o un vasoespasmo pueden causar obstrucción repentina del flujo y dar lugar a síntomas. Existen

tres determinantes de la respuesta trombótica a la rotura de la placa:

- Sustratos trombogénicos locales: Carácter de los componentes expuestos
- Trastornos del flujo local: Grado de estenosis e irregularidades superficiales que activan la plaquetas.
- Tendencia a la trombosis sistémica: Equilibrio trombolítico-trombótico en el momento de la rotura.

La presentación clínica y el resultado dependen de la intensidad y la duración de la isquemia. Así, un trombo no oclusivo u oclusivo de forma transitoria subyace generalmente a la AI y al IAM sin onda Q, mientras que en el IAM con onda Q se suele observar con mayor frecuencia un trombo más estable y oclusivo⁵³. La lesión responsable de la parada cardíaca extrahospitalaria y de la muerte súbita es a menudo similar a la de la AI⁷⁹.

3. *Infarto agudo de miocardio frente a oclusión.*

Se produce con mayor frecuencia consecuencia de una oclusión repentina de una lesión estenótica leve o moderada (las placas menos obstructivas son las más vulnerables). Las lesiones más estenosantes progresan con mayor frecuencia hasta la oclusión total pero lo suelen hacer de forma progresiva, sin causar infarto, gracias a la formación de circulación colateral bien desarrollada.

IV. HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA Y ENFERMEDAD VASCULAR ARTERIOSCLERÓTICA.

A. Introducción.

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido sulfhidrónico derivado de la desmetilación de la metionina (un aminoácido esencial abundante en las proteínas de origen animal, principal donante de grupos metilo en los mamíferos). En el plasma se encuentra presente de las siguientes formas moleculares:

1. Aproximadamente un 1% circula en forma libre, como monosulfato.
2. 70-80% se encuentra unida a las proteínas del plasma, predominantemente a la albúmina, en forma de disulfato.
3. El 20-30% restante se combina con ella misma (dando lugar a un homodímero: Homocistina) o con otros tioles (constituyendo heterodímeros) incluida la cisteína (formando el disulfato mixto de homocisteína-cisteína) a través de puentes disulfuro⁸⁰.

El término “Hcy plasmática total” u “Hcy sérica” hace referencia al “pool” combinado de estas 4 formas.

Una concentración anómala de Hcy se define de forma arbitraria a través de un punto de corte (por ejemplo el percentil 95) en la distribución de concentraciones que se observa en la población normal, de la misma manera en que se definió la HTA o la hipercolesterolemia. Así, por ejemplo, tras una sobrecarga de metionina, se define la hiperhomocisteinemia como una Hcy superior a 2 desviaciones estándar (DE) sobre la media. En individuos en ayunas los valores normales de Hcy oscilan entre 5 y 15 $\mu\text{mol/l}$ ⁸¹, aunque existe gran controversia al respecto y dichos valores pueden variar en función del laboratorio que realice las determinaciones. De forma arbitraria se clasifican los valores superiores en :

1. Hiperhomocisteinemia moderada: 16-30 $\mu\text{mol/l}$.

2. Hiperhomocisteinemia grave: 31-100 $\mu\text{mol/l}$.
3. Hiperhomocisteinemia severa: $> 100 \mu\text{mol/l}$ ⁸².

B. Metabolismo de la Homocisteína.

La Hcy se forma durante el metabolismo de la metionina. El exceso de metionina procedente de la dieta o del catabolismo proteico es transformado en Hcy mediante dos reacciones químicas. En la primera se produce S-adenosil-metionina mediante una reacción catalizada por la L-metionina adenosil transferasa; tras la desmetilación ésta se transforma en S-adenosil homocisteína, que posteriormente será hidrolizada a homocisteína y adenosina por una hidrolasa, constituyendo la única fuente de homocisteína en los vertebrados⁸³.

Una vez formada la Hcy se inician dos rutas metabólicas: Transulfuración y remetilación⁸⁴ (Figura 1). El que la Hcy siga una ruta u otra viene determinado por la concentración plasmática de metionina. Si ésta aumenta, hay un aumento de la transulfuración y disminución de la remetilación. Cuando aumenta la síntesis de Hcy o disminuye su catabolismo aumenta su flujo hacia el espacio extracelular. Por tanto la concentración plasmática de Hcy es un indicador de la actividad de las enzimas y de la disponibilidad de coenzimas involucradas en su metabolismo.

1. Remetilación.

Se forma metionina mediante dos rutas metabólicas independientes en las que participan las enzimas 5-metiltetrahidrofolato-homocisteína-S-metiltransferasa: metionina sintetasa (MS) y la betaína-homocisteína metiltransferasa (BHMT); la primera requiere de metilcobalamina (vitamina B₁₂ como coenzima y de 5-metiltetrahidrofolato como cosubstrato). La segunda, que se encuentra en hígado, riñones y en glándulas suprarrenales, utiliza betaína como fuente de grupos metilo. Aproximadamente el 50% de la Hcy es convertida en metionina mediante remetilación. La reacción en la que participa la MS es muy

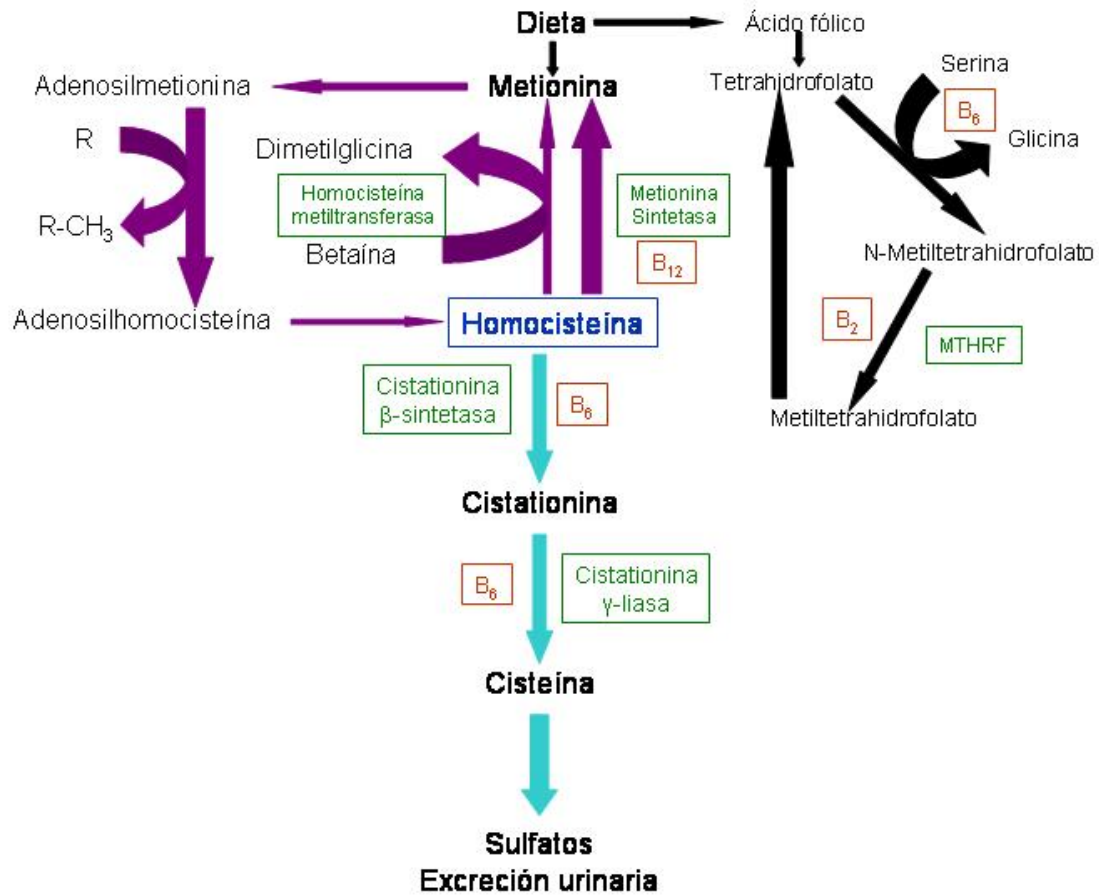
importante para el metabolismo del ácido fólico, permitiendo su ingreso en el depósito intracelular, imprescindible para la síntesis de ADN y la proliferación celular. En el hígado una gran cantidad de Hcy es remetilada por la BHMT. En otros tejidos la reacción es catalizada por la MS⁸⁴.

2. *Transulfuración.*

Cuando la vía de la remetilación se satura o cuando se precisa cisteína, la Hcy se transforma en cistationina (y después en cisteína) por la cistationina β -sintetasa (CBS) y la cistationina γ -liasa. La vitamina B₆ (piridoxina) es un cofactor esencial para las dos reacciones. La cisteína puede ser metabolizada posteriormente en sulfatos, que son excretados en la orina⁸⁴.

La remetilación y la transulfuración son responsables cada una del 50% de la eliminación de la Hcy. La remetilación es la principal responsable de las concentraciones de Hcy en ayunas mientras que las alteraciones de la transulfuración aumentan las concentraciones de Hcy cuando los valores de metionina son elevados (como ocurre postprandialmente).

Figura 1. Metabolismo de la homocisteína.



C. Factores que alteran el metabolismo de la homocisteína. Etiología de la hiperhomocisteinemia.

1. Defectos genéticos.

Las deficiencias heredadas en el metabolismo de la Hcy dan lugar a hiperhomocisteinemia; las dos más frecuentes son las que afectan a la CBS y la metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR). El déficit de CBS es la causa más frecuente de hiperhomocisteinemia severa y de la homocistinuria clásica⁸⁵. Se hereda de forma autosómica

recesiva y su incidencia es 1:100000, dando lugar a un aumento mayor de 40 veces los valores normales basales de Hcy. Clínicamente se expresa en forma de dislocación del cristalino y otras alteraciones oculares, déficit intelectual en el 50%, deformidades óseas, arteriosclerosis prematura y eventos aterotrombóticos vasculares precoces. Casi la mitad de los pacientes presentan un evento cardiovascular antes de los 30 años⁸⁶. La forma heterocigota (prevalencia 1/150) se asocia con frecuencia a niveles basales normales de Hcy y sigue siendo controvertido si se asocia con mayor riesgo de eventos vasculares, aunque como los heterocigotos son raros en la población general, las mutaciones de la CBS no contribuyen de forma importante a moderar la hiperhomocisteinemia en la población general. Se han descrito al menos 60 mutaciones del gen de la CBS, siendo las más comunes la I278T y la G307S, aunque el espectro difiere según las poblaciones estudiadas⁸⁷.

El defecto enzimático más frecuentemente asociado con elevación moderada de Hcy es la sustitución de cisteína por timina a nivel del nucleótido 677 (C677T) del gen codificante de la MTHFR, que da lugar a una variante termolábil de ésta, con una actividad del 50% respecto a la variante normal⁸⁸. La frecuencia alélica de la mutación es del 35% con una frecuencia homocigótica (TT) del 12%⁸⁹ y en presencia de una carencia nutricional de ácido fólico pueden presentar elevaciones moderadas (50%) del la Hcy⁹⁰. Recientemente se ha descrito otra variante en relación con la mutación A1298C que también da lugar a una disminución de la actividad del enzima MTHFR⁹¹.

2. Déficits nutricionales.

Las concentraciones plasmáticas de vitaminas B₁₂ y B₆ así como las de ácido fólico se relacionan inversamente con las de Hcy⁹² y cualquier persona con un déficit de dichos cofactores presenta un riesgo elevado de hiperhomocisteinemia⁹³; de hecho, se ha sugerido que 2/3 de los casos de hiperhomocisteinemia estarían en relación con niveles infranormales de estos cofactores⁹². La deficiencia de vitaminas del grupo B es probablemente la causa más

corriente de hiperhomocisteinemia moderada. El ácido fólico y la vitamina B₁₂ son necesarios para remetilar la Hcy y su deficiencia (incluso subclínica) puede aumentar las concentraciones plasmáticas de ésta⁹². La vitamina B₆ es necesaria para la transulfuración y su deficiencia provoca hiperhomocisteinemia en estados con elevados valores de metionina^{85;92}. Los ancianos son particularmente susceptibles al desarrollo de deficiencias subclínicas de vitaminas, de manera que el 30%-35% presentan una hiperhomocisteinemia moderada^{92;94}. Además, se ha observado que las dietas ricas en proteínas y la reducción del consumo diario de café disminuye las cifras de Hcy en poblaciones no seleccionadas.

3. Otras causas.

Es frecuente observar hiperhomocisteinemia en pacientes con insuficiencia renal⁹⁵. La Hcy se eleva al mismo tiempo que la creatinina plasmática. Esto no se relaciona con la excreción urinaria (ya que el aclaramiento renal de Hcy no es muy alto) sino más bien con una alteración del metabolismo renal de la Hcy que es la ruta más importante para su aclaramiento. Los niveles plasmáticos de Hcy están frecuentemente elevados en los pacientes con insuficiencia renal crónica y constituyen un predictor independiente de complicaciones de la arteriosclerosis en la insuficiencia renal crónica⁹⁶. Los niveles plasmáticos de Hcy están más elevados en los pacientes sometidos a hemodiálisis que en aquellos que reciben diálisis peritoneal en probable relación con los menores niveles de folatos en los primeros. En cualquier caso los mecanismos que conducen a la hiperhomocisteinemia en la insuficiencia renal no han sido completamente aclarados.

Se ha asociado la hiperhomocisteinemia con la presencia de títulos elevados de anticuerpos IgG frente a *Chlamydia pneumoniae* en pacientes con enfermedad arteriosclerótica coronaria, habiéndose postulado que la asociación entre estos parámetros se relacionaría a su vez con la arteriosclerosis de estos pacientes⁹⁷.

Los niveles plasmáticos de Hcy pueden aumentar en relación con medicamentos y

enfermedades que interfieran con el metabolismo del ácido fólico, la vitamina B₆ o la vitamina B₁₂⁸². Se ha descrito elevación de la Hcy en relación con neoplasias (mama, ovario, páncreas, leucemia linfoblástica aguda), el hipotiroidismo, procesos reumáticos/inflamatorios crónicos (lupus, psoriasis), las hepatopatías crónicas y los receptores de trasplante de órganos sólidos. Son varios los fármacos que alteran los niveles de Hcy en plasma. Una serie de sustancias elevan los niveles de Hcy. Así, el colestipol, la colestiramina y la niacina elevan la concentración de Hcy al unirse e inactivar a la vitamina B₁₂ y al ácido fólico^{98;99}. El metotrexate y la carbamazepina son antagonistas del ácido fólico y el óxido nitroso es un antagonista de la cobalamina. La teofilina puede provocar deficiencia de piridoxina^{100;101}. La L-Dopa actúa como un sustrato para la S-adenosilmetionina, que conduce a un incremento de los niveles de S-adenosilhomocisteína¹⁰². La ciclosporina altera la función renal y se asocia también a hiperhomocisteinemia¹⁰³. Los andrógenos aumentan la masa muscular y la creatinina sérica y la metformina puede disminuir la absorción de cobalamina. Otras sustancias disminuyen los niveles de Hcy: La penicilamina y la acetilcisteína pueden disminuir su concentración al alterar las reacciones de intercambio de grupos tioles-disulfuro. Las mujeres que toman anticonceptivos orales estrogénicos así como aquéllas en tratamiento hormonal sustitutivo presentan niveles plasmáticos bajos de Hcy.

La Hcy plasmática se ve incrementada también por el consumo de tabaco y café¹⁰⁴, aunque la influencia del tabaco podría ser reflejo de una disminución del consumo de vitaminas del grupo B. Asimismo, la ingesta excesiva de alcohol se asocia con niveles elevados de Hcy, mientras que su consumo moderado se asociaría con niveles bajos de ésta¹⁰⁵.

Un resumen de los factores que pueden influir en los niveles plasmáticos de homocisteína se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Causas de hiperhomocisteinemia.

Genéticas

Deficiencia de CBS	Deficiencia de Metilentetrahidrofolato homocisteína metiltransferasa (rara)
MTHFR termolábil	Deficiencia de MS (rara)

Ambientales

<u>Fisiológicas</u>	<u>Estilo de vida</u>	<u>Deficiencia de vitaminas</u>	
Sexo masculino	Tabaco	Ácido fólico	
Edad	Café	Cobalamina (B ₁₂)	
Menopausia	Alcohol	Piridoxina (B ₆)	
<u>Enfermedades sistémicas</u>			
Insuficiencia hepática y renal	Hipotiroidismo		
Lupus eritematoso sistémico	Neoplasias		
Psoriasis	Trasplante		
<u>Fármacos</u>			
Metotrexate	Fenitoína	Óxido nitroso	Colestipol y colestiramina
Azatioprina	Teofilina	L-Dopa	
Metformina	Diuréticos	Niacina	
Tiazidas	Andrógenos	Carbamazepina	
Ácido nicotínico	Ciclosporina	Betaina	

D. Determinación de la homocisteína plasmática.

Para la determinación de Hcy se utilizan agentes reductores que nos permiten cuantificar la Hcy total, ya que ésta representa la forma biológicamente activa de la molécula y es la que se ha relacionado con el riesgo cardiovascular⁸⁰. El método más utilizado es la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPCL) pero también se puede realizar de una manera más rápida, sencilla y barata mediante Inmunoensayo⁸¹. Se puede utilizar una sobrecarga oral de metionina y es recomendable un ayuno de al menos 12 horas para evitar la elevación variable que se puede producir tras la ingesta¹⁰⁶.

La sobrecarga oral de metionina estimula las rutas metabólicas de la Hcy, siendo más sensible que los niveles basales en caso de alteraciones leves de la vía de la transulfuración, como las debidas a la deficiencia de vitamina B₆ o el déficit parcial de CBS¹⁰⁷. El procedimiento consiste en una medición basal de Hcy, posteriormente se realiza la ingesta de una dosis estándar de metionina (0,1 g/Kg peso o 3,8-4 g/m² de superficie corporal) y repetir la medida a las 2-8 horas. La sobrecarga de metionina sirve sobre todo para diferenciar las alteraciones de la transulfuración de las de la remetilación¹⁰⁸ y además permite identificar pacientes con una alteración metabólica a pesar de niveles normales de Hcy, y que podrían presentar un mayor riesgo cardiovascular¹⁰⁹. Presenta los inconvenientes del mal sabor y de que los valores de referencia postsobrecarga no están del todo claros.

Las muestras de sangre deben centrifugarse inmediatamente y a baja temperatura ya que en caso contrario puede liberarse Hcy desde las células sanguíneas¹⁰⁸.

La variación diaria de los niveles de Hcy en individuos sanos es pequeña (coeficiente de variación: 7%) por lo que una única medida es válida¹¹⁰. Los varones presentan cifras que son aproximadamente 1 µmol/L mayores que las de las mujeres y la concentración tiende a elevarse discretamente con la edad y durante la menopausia¹⁰⁴. La vida media de la Hcy en plasma oscila entre 12 y 24 horas.

E. Epidemiología de la hiperhomocisteinemia.

Se estima que su prevalencia sería aproximadamente el 5% de la población general y entre 13%-47% entre los pacientes con enfermedad vascular arteriosclerótica sintomática^{111;112}. Sin embargo estas estimaciones están basadas en un corte entre los percentiles 90 y 95 de la distribución de la Hcy en la población general. Quizá sería más apropiado definir la hiperhomocisteinemia con un nivel de Hcy que se correlacionara con un riesgo aumentado de eventos vasculares arterioscleróticos; sin embargo no se ha definido

dicho umbral. De hecho, dicha relación parece ser lineal (de forma similar a la relación existente entre las enfermedades cardiovasculares y la HTA o la hipercolesterolemia).

F. Homocisteína y enfermedad aterotrombótica vascular.

A principios de los años sesenta, Carson y Neill describieron las Homocistinurias: Una serie de enfermedades causadas por mutaciones de los genes que codifican diferentes enzimas involucradas en el metabolismo intracelular de la Hcy y caracterizadas por una importante elevación en su concentración plasmática y en la excreción urinaria de su homodímero, la homocistina. Clínicamente se expresaban como luxación del cristalino, signos y síntomas provocados por afectación neurológica y ósea, así como tendencia a fenómenos trombóticos arteriales y venosos en etapas tempranas de la vida, constituyendo éstos últimos la causa más importante de mortalidad en estos pacientes. En 1969 McCully refirió 2 casos de homocistinuria asociados a arteriosclerosis prematura (a los 2 meses y 8 años de edad)¹¹³. En 1976 un estudio controlado demostró una asociación clara entre la elevación moderada de la Hcy en plasma y la arteriosclerosis¹¹⁴. Estudios posteriores demostraron que el 60% de los pacientes con homocistinuria experimentaban accidentes tromboembólicos o arterioscleróticos antes de los 40 años de edad⁸⁵. A pesar de su heterogeneidad clínica y molecular, presentan una característica común, el incremento del orden de 10-20 veces de la concentración de Hcy respecto a los sujetos sanos. Aunque inicialmente no se prestó especial atención a esta relación con fenómenos trombóticos, posteriormente el interés por estas enfermedades y por el origen genético-metabólico de las mismas ha ido creciendo, especialmente tras evidenciarse en estudios clínicos, epidemiológicos y experimentales su relación con un mayor riesgo cardiovascular. Desde los primeros estudios clínicos la posible asociación entre los niveles plasmáticos de Hcy y la arteriosclerosis ha sido analizada en más de 12000 pacientes en más de 100 estudios. Una revisión sistemática de éstos es complicada

debido a diferencias en el diseño, número de pacientes y controles y tipo de estudio, métodos de cuantificación de la Hcy y definición de hiperhomocisteinemia así como en la posible interacción con los factores de riesgo cardiovascular clásicos y otras variables confusoras, en los métodos de seguimiento así como en la definición de los “end-points” y en el análisis estadístico. El último gran metaanálisis realizado hasta el momento sugiere que la hiperhomocisteinemia es un predictor de enfermedad coronaria e ictus más modesto de lo que se pensaba en población sana¹¹⁵.

1. Efectos vasculares y sobre la coagulación de la homocisteína.

1.1 Coagulación.

La Hcy puede tener una acción procoagulante a través de varias vías:

- Inhibición de la expresión y la actividad de la trombomodulina (el cofactor de la trombina responsable de la activación de la proteína C)¹¹⁶.

- Supresión del efecto anticoagulante mediado por la antitrombina III al inhibir la unión de ésta al heparansulfato endotelial¹¹⁷.

- Inhibición de la actividad ectoadenosina fosfatasa (demostrado en células endoteliales procedentes de vena umbilical humana)¹¹⁷.

- Además interfiere con las propiedades fibrinolíticas de la superficie endotelial al estimular la expresión del gen codificante del PAI-1¹¹⁸. También induce la expresión del factor tisular por parte de los monocitos (el principal activador de la cascada de la coagulación)¹¹⁹ y potencia la agregación plaquetaria¹²⁰.

In vitro, las concentraciones elevadas de Hcy (300 μ mol) inducen la expresión y estimulan la actividad del factor tisular de las células endoteliales, lo que puede iniciar la cascada de la coagulación¹²¹. Además, la Hcy puede activar el factor V¹²² e inactiva

sustancias anticoagulantes y la proteína C estimulando así la formación de trombina. La Hcy estimula la formación de tromboxano A2 en las plaquetas (vasoconstrictor y proagregante)¹²³. Las concentraciones fisiológicas de Hcy estimulan la unión de las lipoproteínas a la fibrina, impidiendo la activación del plasminógeno y la fibrinólisis¹²⁴. También bloquea el dominio de unión del activador del plasminógeno tisular de la anexina II, inhibiendo así también la trombolisis¹²⁵.

Entre los pacientes con hiperhomocisteinemia y DM no insulino-dependientes que recibieron dosis elevadas de ácido fólico (15 mg/día) y vitamina B₆ (600 mg/día), la reducción en los niveles de Hcy no se asoció a un cambio significativo en los niveles plasmáticos de PAI-1 ni de fibrinógeno, dos marcadores de actividad trombótica¹²⁶. En otro estudio en el que sujetos hiperhomocisteinémicos recibieron durante 8 semanas tratamiento con ácido fólico (5 mg/día), vitamina B₆ (300 mg/día) y vitamina B₁₂ (1 mg/semana), los niveles plasmáticos de fibrinógeno, protrombina y antitrombina III, así como la actividad de las proteínas C y S y del factor VII, no se modificaron; sin embargo, se observó una reducción significativa de los complejos trombina-antitrombina III¹²⁷. En un estudio randomizado, controlado por placebo, doble ciego, el suplemento durante 6 meses con una combinación de ácido fólico (1 mg/día), vitamina B12 (400 µg/día) y vitamina B6 (10 mg/día) redujo la tasa de reestenosis tras la angioplastia coronaria¹²⁸. Un estudio prospectivo¹²⁹ ha demostrado que la concentración plasmática de Hcy se relaciona con la presencia de trombo intracoronario, dando lugar a un aumento de la obstrucción coronaria y a una disminución del flujo distal en pacientes con infarto de miocardio y angina inestable.

Es posible, por tanto, que la reducción de los niveles plasmáticos de Hcy se asocie con un efecto antitrombótico. Sin embargo, los mecanismos implicados en este fenómeno son aún desconocidos.

1.2 Endotelio.

La hiperhomocisteinemia provoca disfunción endotelial aguda y crónica. Los mecanismos implicados incluyen síntesis de peróxido de hidrógeno, génesis de radicales superóxido, disminución de la liberación de óxido nítrico, aumento de las interacciones entre leucocitos y endotelio y regulación al alza de las moléculas de adhesión celular, alteraciones del estado redox intracelular, que da lugar a una respuesta de estrés celular. Dicho estrés celular activaría las proteínasas que jugarían un papel primario en este proceso.

Las concentraciones elevadas de Hcy tienen un efecto tóxico sobre las células endoteliales en modelos *in vitro*¹³⁰. Las células con deficiencia de CBS son más sensibles a la exposición de concentraciones elevadas de metionina¹³¹. La Hcy puede inhibir la síntesis del ADN en las células endoteliales, deteniendo su crecimiento en la fase G1 del ciclo celular¹³². En ratas, la hiperhomocisteinemia induce adhesividad entre los neutrófilos y las células endoteliales, que favorece la migración de éstos hacia el endotelio¹³³.

La Hcy provoca disfunción endotelial aguda y crónica, y altera la formación de óxido nítrico en cultivos de células endoteliales¹³⁴. El óxido nítrico, mediante la formación de un vasodilatador antiagregante (el S-nitrosotiol), contrarrestaría los efectos perjudiciales de la Hcy. Sin embargo, la disminución de la síntesis de óxido nítrico debida a la hiperhomocisteinemia, impediría que éste protegiese al endotelio¹³⁴. En estudios experimentales en animales se ha evidenciado que la administración de Hcy provoca desprendimiento de células endoteliales^{135;136}. Así mismo, un estudio en cerdos hiperhomocisteinémicos, ha demostrado que éstos presentaron fragmentación de la lámina elástica interna, desorganización de fibras elásticas y áreas focales de hiperplasia muscular lisa¹³⁷.

En un estudio realizado en primates hiperhomocisteinémicos se observó un claro deterioro de la función endotelial tanto *in vitro* como *in vivo*¹³⁸. Aunque tras suplementación

de vitamina B se redujeron los niveles de Hcy, la función endotelial no mejoró (probablemente porque otros factores como la hipercolesterolemia pueden interrelacionarse)¹³⁹.

En humanos, la dilatación mediada por flujo de la arteria braquial (marcador de función endotelial en los vasos de conducción) se encuentra alterada en homocigóticos para la deficiencia de la CBS¹⁴⁰ y en ancianos¹⁴¹ con hiperhomocisteinemia y la reducción de la Hcy plasmática mediante suplemento de vitamina B y ácido fólico normaliza dicha función¹⁴². La sobrecarga oral de metionina altera tanto la función endotelial de los vasos de conducción como de los de resistencia y ésta puede invertirse con altas dosis de ácido fólico y vitamina C, lo que sugiere un aumento del estrés oxidativo en la patogénesis¹⁴³.

En un subanálisis del estudio Framingham¹⁴⁴ se relacionó la hiperhomocisteinemia y la albuminuria con la hiperinsulinemia, lo que se podría relacionar con el mayor riesgo cardiovascular de los enfermos con resistencia insulínica, al ser un reflejo de daño endotelial.

1.3 Estrés oxidativo.

La Hcy puede autooxidarse formando peróxido de hidrógeno en presencia de cobre o ceruloplasmina¹⁴⁵. El peróxido de hidrógeno generado puede lisar células endoteliales cultivadas y este proceso es inhibido por la catalasa¹⁴⁵. La Hcy oxida las lipoproteínas de baja densidad, estimulando por tanto la captación de LDL modificada¹⁴⁶. Además también genera radicales superóxido que inhiben la relajación dependiente del endotelio¹⁴⁷. Así mismo se ha demostrado que inhibe los antioxidantes intracelulares (incluida la glutatión peroxidasa), lo que disminuye la capacidad de las células para neutralizar los agentes oxidantes¹⁴⁸. El estrés oxidativo debido a la producción de especies reactivas del oxígeno (tanto a nivel extracelular como intracelular) puede desempeñar un papel decisivo en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular. Debido a que la Hcy y otros tioles poseen actividad pro-oxidante, la hipótesis

del estrés oxidativo se invoca con frecuencia para explicar los efectos perjudiciales de la Hcy sobre el tejido vascular^{149;150}. Se ha demostrado que las sustancias antioxidantes son capaces de bloquear la disfunción endotelial durante hiperhomocisteinemia temporal, por lo que se ha sugerido que el estrés oxidativo está involucrado en estos mecanismos^{151;152}.

Algunos investigadores han postulado que la hiperhomocisteinemia puede causar arteriosclerosis alterando el endotelio de forma directa o alterando el estado de estrés oxidativo. Aunque el mecanismo que produce el daño endotelial no está totalmente dilucidado, se ha sugerido que la hiperhomocisteinemia podría promover la producción de radicales hidroxílicos, iniciadores de la peroxidación lipídica, a través de la autooxidación de la homocisteína y formación de tiolactona^{153;154}. La Hcy contiene un grupo sulfidriilo reactivo (-SH₂) y, como la mayoría de los tioles, puede oxidarse a disulfuro a pH fisiológico en presencia de O₂. La reacción es catalizada por metales de transición¹⁵⁵, y se pueden producir una gran variedad de especies reactivas del oxígeno, incluyendo el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno¹⁵⁶. El análisis de las formas circulantes de la homocisteína sostiene el concepto de la oxidación tiólica *in vivo*. Más del 98% de la Hcy plasmática total en individuos con niveles normales (5-12 μmol/L) o moderadamente elevados (12-25 μmol/L) de Hcy se encuentra en forma oxidada, como homocistina, un dímero disulfuro: 5-10%, la mezcla del disulfuro con cisteína y otros tioles (5-10%) y sulfuros mixtos con proteínas (>80%). Sólo en caso de hiperhomocisteinemia severa (50-500 μmol/L) existe evidencia de compuestos libres y reducidos de Hcy en proporciones superiores al 20%¹⁵⁷. Un individuo con hiperhomocisteinemia moderada generará dos veces la cantidad de peróxido de hidrógeno que se forma en condiciones normales. Sin embargo, el estrés oxidativo generado por la hiperhomocisteinemia moderada es mínimo en comparación con el debido al flujo de cisteína. La concentración plasmática de cisteína total en condiciones normales es 25-30 veces superior a la de Hcy, fundamentalmente de forma oxidada (94-95% del total). El estrés

oxidativo generado por la cisteína sería mucho mayor que el provocado por la Hcy. Si el estrés oxidativo debido a la hiperhomocisteinemia juega un papel en el daño vascular, se podría esperar la existencia de aumento de marcadores de estrés oxidativo en el suero de sujetos afectados de homocistinuria; sin embargo, estudios clásicos no han demostrado este extremo¹⁵⁸⁻¹⁶¹. Entre los compuestos con grupos carbonilos terminales que se producen en la peroxidación lipídica¹⁶²⁻¹⁶⁴, el malonildialdehído (MDA), que se usa como índice de daño oxidativo^{163;165}, ha sido sujeto de especial atención en los estudios farmacológicos por su capacidad de interaccionar con las lipoproteínas. Estas lipoproteínas modificadas son captadas por los macrófagos, que se transforman en células espumosas que contribuyen al desarrollo de la placa arterioclerótica y a la progresión de la arteriosclerosis. En las matrices biológicas, el MDA se encuentra tanto de forma libre como unida a grupos SH₂ y NH₂ pertenecientes a enzimas, aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos¹⁶³. Sólo pequeñas cantidades de MDA libre se pueden detectar en las muestras biológicas.

Algunos autores han reportado un aumento del estrés oxidativo tras una sobrecarga de metionina¹⁶⁶ y en conejos tras dieta rica en metionina durante 6-9 meses¹⁶⁷. Así mismo, el estudio de Huang y colaboradores¹⁶⁸ realizado en ratas ha evidenciado una correlación significativa entre los niveles elevados de Hcy plasmática y la disminución de la concentración hepática de folatos y el aumento de la peroxidación lipídica. El estudio de Kanani y colaboradores¹⁶⁹ ha encontrado que el aumento experimental de la concentración de Hcy (tras sobrecarga oral con metionina) altera de forma rápida la función endotelial en controles sanos y el estrés oxidativo jugaría un papel patofisiológico en el efecto deletéreo endotelial de la Hcy. Sin embargo, otros autores no han encontrado una relación entre los niveles de MDA y los de Hcy en una muestra de pacientes con enfermedad coronaria, aunque sí encontraron relación con la existencia de coronariopatía, lo que haría sospechar que la Hcy no es la única responsable del daño oxidante en esta enfermedad¹⁷⁰.

El empleo de un indicador de estrés oxidativo más sensible como el F2-isoprostano (un marcador *in vivo* de la peroxidación lipídica) permitiría determinar con más precisión el estado del estrés oxidativo en individuos con hiperhomocisteinemia^{171;172}.

Un estudio recientemente publicado ha encontrado una correlación significativa entre los niveles de Hcy y los de superóxido dismutasa extracelular, lo que también sugeriría que la hiperhomocisteinemia puede promover estrés oxidativo, aunque no se relacionaron con la extensión de la enfermedad coronaria¹⁷³.

1.4 Hiperplasia intimal.

La Hcy estimula la mitogénesis en las células musculares lisas vasculares y la síntesis de colágeno, dando lugar al engrosamiento mediointimal¹⁷⁴⁻¹⁷⁶. Los posibles mecanismos incluyen el aumento de la síntesis de ciclina A (que a su vez estimula la reentrada de la célula muscular lisa quiescente en el ciclo celular)¹⁷⁷, aumento del factor de crecimiento derivado de las plaquetas¹⁷⁸ y el incremento de la producción de fosfolípidos, activación de la proteínasa C e inducción de los protooncogenes *c-fos* y *c-myb* en las células musculares lisas, posiblemente mediado por un factor receptor/transportador-like¹⁷⁶. En modelos animales, la elevación de la Hcy sérica se correlaciona con aumento de la hiperplasia intimal a nivel carotídeo¹⁷⁹. Además produce un deterioro de la estructura elástica de la pared arterial debido a una alteración de la actividad metaloproteasa¹⁸⁰. Sin embargo, en un estudio llevado a cabo sobre ratones hiperhomocisteinémicos, se observó la aparición de placas arterioscleróticas precoces pero no se evidenció tendencia a la ruptura de la placa¹⁸¹. En varios estudios se han relacionado los niveles de Hcy con el engrosamiento arterial medio-intimal. Así, en adultos sanos, éste fue aproximadamente 3 veces más frecuente en sujetos en el quintil más alto de los niveles de Hcy comparado con aquéllos pertenecientes al quintil más bajo¹⁸². En otro estudio realizado entre varones de 45 a 69 años, aquéllos con niveles elevados de Hcy

(>11,5 $\mu\text{mol/L}$) presentaron aumento del engrosamiento mediointimal; sin embargo, no hubo diferencias entre las mujeres¹⁸³. En otro estudio, los individuos en el cuartil más alto (frente al más bajo) de niveles de Hcy estuvieron más predispuestos a presentar engrosamiento parietal arterial (OR: 2,6) tras ajustar por edad, sexo y otros factores de riesgo¹⁸⁴. Sin embargo, otro estudio que incluyó sujetos homocigotos y heterocigotos para la deficiencia de CBS, así como otros con hipercolesterolemia familiar e hipertensión esencial y fumadores, no encontró correlación entre los niveles de Hcy y el engrosamiento intimomedial¹⁸⁵.

No existen datos sobre los efectos del suplemento vitamínico en la reducción del engrosamiento intimomedial. Sin embargo, en un estudio observacional, se midió el grosor intimomedial carotídeo en pacientes con insuficiencia renal crónica antes y después del trasplante, en ausencia de tratamiento con vitaminas; aunque se produjo una reducción significativa de los niveles de Hcy y del grosor intimomedial tras el trasplante, no hubo una correlación significativa entre las dos variables¹⁸⁶.

1.5 Hipertensión.

En modelos animales la hiperhomocisteinemia experimental aumenta la presión arterial sistólica y diastólica¹³⁷. Además las concentraciones plasmáticas de Hcy son mayores en pacientes con HTA^{187;188}, habiéndose relacionado la hiperhomocisteinemia con el desarrollo de HTA sistólica aislada en algunos individuos¹⁸⁹. La observación de que la hiperhomocisteinemia induce alteración de la función endotelial en los vasos de resistencia puede ayudar a explicar la relación entre Hcy e hipertensión¹⁴³.

El mecanismo por el cual la Hcy causa daño vascular no está totalmente clarificado. La evidencia experimental sugiere que la Hcy promueve la aterogénesis al facilitar el daño arterial debido al estrés oxidativo, alterando la matriz extracelular y estimulando la

proliferación de las células musculares lisas. Puede promover la enfermedad tromboembólica al provocar un daño oxidativo del endotelio, alterando las propiedades coagulantes de la sangre y modificando el tono vasomotor dependiente del endotelio. Sin embargo, la mayoría de los estudios in-vitro y los estudios con voluntarios se han realizado con concentraciones de Hcy superiores a 10 veces las observadas en pacientes con hiperhomocisteinemia moderada y por tanto deben ser interpretadas con precaución; de manera que el efecto aterogénico y/o protrombótico de la Hcy aún no ha sido definitivamente probado.

2. Estudios epidemiológicos.

2.1 Estudios Genéticos y Familiares.

El papel de factores familiares determinantes de los niveles de Hcy plasmática ha sido demostrado en estudios de gemelos¹⁹⁰, investigación de familias¹⁹¹ y por el hallazgo frecuente de cifras elevadas de Hcy en familias con enfermedad coronaria precoz¹⁹². En niños, un modesto incremento de los niveles de Hcy se ha asociado con muerte cardiovascular prematura en familiares de sexo masculino¹⁹³. Estos datos actuales sugieren por tanto que la elevación de las cifras de Hcy es un rasgo familiar que puede contribuir a aumentar el riesgo en personas con una historia familiar de enfermedad cardiovascular.

Se ha descrito la existencia de niveles más elevados de Hcy entre mujeres premenopáusicas de raza negra que entre las de raza blanca, así como concentraciones menores de folatos plasmáticos, lo que podría contribuir a las mayores tasas de enfermedad coronaria en mujeres premenopáusicas de raza negra¹⁹⁴.

2.2 Cistationina βsintetasa. y 5-10-Metiltetrahidrofolato reductasa.

Estudios iniciales en pacientes con enfermedad vascular mostraron que una respuesta

anómala a la sobrecarga de metionina en la dieta se debía a un déficit heterocigótico de CBS¹⁹⁵. Sin embargo, dichos portadores no parecen asociarse a un exceso de riesgo de enfermedad cardiovascular¹⁹⁶ y la mutación ocurre sólo de forma esporádica en pacientes con enfermedad vascular¹⁹⁷. Algunos estudios^{89;198}, aunque no todos¹⁹⁹, han encontrado que el polimorfismo C677T en el gen de la MTHFR es un factor de riesgo de enfermedad vascular. Un metaanálisis de 8 estudios casos-contróles sugiere que el genotipo TT es un modesto aunque significativo factor de riesgo para presentar enfermedad coronaria²⁰⁰. El que el genotipo TT (un fuerte predictor de hiperhomocisteinemia en la población general⁸⁹) no se asocie de forma inequívoca con un aumento del riesgo cardiovascular podría explicarse por su relativa baja prevalencia y su asociación con niveles elevados de Hcy sólo en presencia de deficiencia de folatos²⁰¹. El metaanálisis más reciente llevado a cabo a este respecto parece confirmar que el genotipo TT presenta un mayor riesgo de enfermedad coronaria, sobre todo en presencia de niveles bajos de folatos²⁰².

2.3. Estudios transversales y casos-contróles retrospectivos.

Se han publicado más de 50 estudios de casos y contróles que han encontrado elevaciones significativas de la concentración plasmática de Hcy y mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con enfermedad cardiovascular que en los contróles. La mayoría de los estudios transversales y retrospectivos han encontrado una asociación entre los niveles plasmáticos de Hcy y el riesgo cardiovascular. Un metaanálisis de 27 estudios observacionales (23 transversales o casos-contróles retrospectivos y 4 casos-contróles anidados basados en cohortes prospectivas), con aproximadamente 4000 pacientes mostró que la hiperhomocisteinemia se asociaba con un incremento del riesgo en eventos coronarios fatales y no fatales (odds ratio: 1,7; intervalo de confianza 95%: 1,5-1,9), enfermedad cerebrovascular (odds ratio: 2,5; intervalo de confianza 95%: 2-3), y enfermedad vascular

periférica (odds ratio: 6,8; intervalo de confianza 95%: 2,9-15,8)²⁰³. La magnitud del riesgo era similar a la de otros factores de riesgo coronario como la hipercolesterolemia o el tabaquismo, estimándose que aproximadamente el 10% de la enfermedad coronaria en la población general podía atribuirse a la hiperhomocisteinemia. Asumiendo una relación lineal entre los niveles de Hcy y el riesgo cardiovascular, una elevación de 5 $\mu\text{mol/L}$ de los niveles de Hcy total conllevaría un aumento de riesgo cardiovascular de 0,33 (similar a una elevación de la concentración plasmática de colesterol total de 0,5 $\mu\text{mol/L}$). Otro metaanálisis²⁰⁴ que incluyó 33 estudios concluye que la Hcy puede ser un indicador de estilos de vida no saludables, y en ese sentido tendría gran valor al manejar pacientes con enfermedad coronaria. Este estudio establece una odds ratio global de 1,58 (1,49-1,68), odds ratio en estudios con poblaciones menores de 500 pacientes de 1,88 (1,72-2,05), odds ratio en estudios de cohortes de 1,49 (1,33-1,67) y una odds ratio en los estudios casos-contróles de 1,62 (1,5-1,74) para la probabilidad de presentar enfermedad coronaria en aquellos enfermos con hiperhomocisteinemia. Estudios más recientes han reportado además una asociación entre hiperhomocisteinemia y enfermedad vascular arteriosclerótica²⁰⁵⁻²⁰⁸. El metaanálisis más reciente publicado sugiere que la hiperhomocisteinemia moderada es un predictor independiente de enfermedad coronaria e ictus mucho más modesto de lo que se pensaba²⁰⁹. Este análisis encontró que, tras el ajuste por factores de riesgo cardiovascular clásicos, una reducción del 25% de los niveles habituales de Hcy (aproximadamente unos 3 $\mu\text{mol/l}$) se asocia a una reducción del 11% (OR 0,89, intervalo de confianza al 95% 0,83-0,96) para el desarrollo de enfermedad coronaria y del 19% (OR 0,81, intervalo de confianza al 95% 0,69-0,95) para el desarrollo de ictus.

El European Collaborative Study concluyó que la Hcy total era un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la arteriosclerosis, calculando un aumento del riesgo relativo de enfermedad vascular arteriosclerótica de 1,35 en hombres y 1,42 en mujeres por cada 0,5

$\mu\text{mol/L}$ de aumento de los niveles basales de Hcy total¹⁰⁹. En alguno de ellos se ha relacionado la hiperhomocisteinemia con el infarto de miocardio pero no con la enfermedad coronaria no complicada²¹⁰.

Sin embargo, el estudio de Nielsen y colaboradores no han encontrado relación entre la hiperhomocisteinemia y la enfermedad coronaria en mujeres postmenopáusicas²¹¹.

Un estudio reciente realizado sobre necropsias de pacientes que presentaron muerte súbita determina la relación de la hiperhomocisteinemia con dicha causa de muerte, de forma independiente de la presencia de trombo intracoronario, y sobre todo en relación con placas arterioscleróticas fibrosas, pobres en lípidos²¹².

Existen estudios que han demostrado una asociación clara entre los niveles de Hcy total y la extensión anatómica de la enfermedad arteriosclerótica a nivel de la arteria carótida^{182;213}, las arterias coronarias^{214;215}, la aorta^{216;217} y la enfermedad vascular periférica²¹⁸.

2.4 Estudios prospectivos.

Los resultados de estudios prospectivos sobre la asociación entre hiperhomocisteinemia y riesgo cardiovascular han sido a veces controvertidos. 20 estudios han encontrado asociación estadísticamente significativa entre niveles elevados de Hcy y enfermedad cardiovascular. Un gran estudio realizado en Noruega reportó un riesgo relativo (RR) de enfermedad coronaria del 1,4 (IC 95%: 1,2-1,7) por cada incremento de 4 $\mu\text{mol/L}$ en los niveles plasmáticos de homocisteína²¹⁹. En el Physician's Health Study, el RR ajustado de infarto de miocardio fatal o no fatal fue de 3,4 (IC 95%: 1,3- 8,8; $p=0,01$) en sujetos cuyos niveles de Hcy se encontraban en el percentil 95 respecto a aquéllos que se encontraban en el percentil 10²²⁰. Un estudio británico reportó que el RR de coronariopatía fatal era de 2,9 (IC 95%: 2,0-4,1) entre varones cuyos niveles de Hcy se encontraban en el cuartil más alto frente

a los que se encontraban en el cuartil más bajo²²¹. Otro estudio británico encontró una asociación independiente entre la hiperhomocisteinemia y el riesgo de ictus²²². Nygard y colaboradores han reportado una fuerte relación entre los niveles de Hcy plasmática y la mortalidad en pacientes con enfermedad coronaria manifiesta en la coronariografía, con un RR de muerte de 4,5 (IC 95%: 1,2-17) en pacientes con los niveles más elevados frente a aquéllos con niveles más bajos²²³. En un grupo similar de pacientes los niveles de Hcy se mostraron como predictores de mortalidad independientemente de los factores de riesgo clásicos, la proteína C reactiva (PCR) y el genotipo MTHFR²²⁴. Dos estudio holandeses han comunicado una asociación positiva entre los niveles de Hcy y el riesgo de infarto de miocardio e ictus^{225;226}. Además, los varones sin enfermedad y con hiperhomocisteinemia presentan un riesgo aumentado de trombosis venosa (RR: 3,4; p=0,002)²²⁷. Stubbs y colaboradores encontraron que la elevación de la Hcy al ingreso predecía la aparición de eventos cardiovasculares en los pacientes con SCA a corto y largo plazo (28 días y 2,5 años); así, aquéllos pacientes con niveles de Hcy en los 2 quintiles superiores (>12,2 µmol/l) presentaron un incremento de 2,6 veces en el riesgo de presentar un evento cardíaco en el seguimiento (intervalo de confianza al 95% 1,5-4,3, p<0,001)²²⁸.

Existen varios estudios sobre la asociación entre niveles de Hcy y enfermedad vascular en mujeres y en pacientes con enfermedades específicas. Aquellas mujeres postmenopáusicas sanas con niveles de Hcy en el cuartil más alto presentaron el doble de riesgo de eventos cardiovasculares²²⁹. Se ha comunicado una relación positiva entre los niveles plasmáticos de Hcy y el riesgo de enfermedad coronaria en mujeres cardiopatas²³⁰. Recientemente Zylberstein y colaboradores, en un estudio a largo plazo, han encontrado que en mujeres de edad mediana la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de IAM y también de mortalidad por IAM, ilustrando que probablemente son necesarios estudios a largo plazo para demostrar los efectos de la hiperhomocisteinemia en la morbilidad

y mortalidad post-IAM en mujeres²³¹. Un estudio prospectivo en pacientes con lupus eritematoso sistémico encontró una asociación positiva entre los niveles de Hcy y el riesgo de eventos aterotrombóticos²³². En pacientes con insuficiencia renal terminal los niveles de Hcy en el cuartil más alto se asocian con un aumento de 3-4 veces el riesgo de presentar un evento cardiovascular fatal o no fatal, si se comparan con los que presentan niveles en el resto de cuartiles²³³⁻²³⁵. En los últimos años se han realizado estudios que relacionan los niveles elevados de Hcy con el mayor riesgo cardiovascular en enfermos sometidos a trasplante renal²³⁶. Así mismo se ha implicado la hiperhomocisteinemia en la génesis de la enfermedad vascular del injerto de los pacientes sometidos a trasplante cardíaco, sobre todo en aquéllos que desarrollan insuficiencia renal^{237;238}. En pacientes con diabetes mellitus no insulín-dependientes, los niveles elevados de Hcy se asocian con un aumento de la mortalidad^{239;240}. Finalmente, la Hcy plasmática es un fuerte predictor de ictus y mortalidad cardiovascular y no cardiovascular en los ancianos^{95;241}.

Sin embargo, estos resultados no se han confirmado en 9 estudios, incluido un subanálisis del Physician's Health Study que no ha demostrado una asociación significativa entre los niveles plasmáticos de Hcy y el riesgo de infarto de miocardio o muerte de origen coronario (RR: 1,7; IC 95%: 0,9-3,3) en el seguimiento a largo plazo²⁴². Tampoco se encontró una asociación significativa entre los niveles plasmáticos de Hcy y el riesgo de angina o ictus²⁴³. De forma similar un estudio finlandés²⁴⁴, el Multiple Risk Factor Intervention Trial²⁴⁵, el Atherosclerosis Risk in Communities Study²⁴⁶, el Caerphilly Study²⁴⁷ y otros estudios realizados en Finlandia y Suecia^{248;249}, no encontraron asociación significativa entre la hiperhomocisteinemia, la enfermedad coronaria y el ictus. 5 de estos estudios encontraron una tendencia hacia un aumento de riesgo asociado con niveles elevados de homocisteína^{242;244;246;247;250}. Es posible que el pequeño tamaño muestral de alguno de ellos, los diferentes diseños, y el uso de contrastes extremos bajos (por ejemplo la comparación de

tasas de eventos en pacientes por encima del percentil 95 frente a aquéllos por debajo del percentil 95) podría contribuir a las discrepancias entre los resultados encontrados.

Un subanálisis reciente del estudio AFCAPS/TexCAPS establece que los niveles elevados de Hcy constituyen un factor pronóstico de riesgo para el desarrollo de un primer evento coronario agudo en pacientes sometidos a tratamiento con lovastatina en una estrategia de prevención primaria²⁵¹. Sin embargo, aunque la Hcy predijo eventos coronarios en la población de dicho estudio, no existe evidencia de que la determinación de Hcy proporcione un mejor método para guiar el tratamiento con estatinas en pacientes con niveles normales de LDL.

2.5. Hiperhomocisteinemia y revascularización coronaria.

El intervencionismo coronario constituye una de las principales estrategias terapéuticas en pacientes seleccionados con enfermedad coronaria arteriosclerótica. La introducción de los stents ha mejorado el pronóstico de estos pacientes, al disminuir la tasa de reestenosis. Sin embargo, una proporción significativa de pacientes experimenta eventos isquémicos fatales y no fatales en el seguimiento. La identificación de estos pacientes de alto riesgo es esencial. Se han realizado algunos estudios para intentar relacionar diversas variables con el pronóstico a medio y largo plazo de estos pacientes. Así, el estudio GENERATION (Global Evaluation of New Events and Restenosis After Stent Implantation)²⁵² no ha encontrado diferencias en la tasa de reestenosis o progresión de enfermedad coronaria entre los pacientes con niveles elevados de Hcy y aquéllos con niveles normales. Tampoco el estudio de Stangl y colaboradores encontró una relación entre la hiperhomocisteinemia y la aparición de acontecimientos adversos en el seguimiento a corto plazo (30 días) tras la realización de un procedimiento de revascularización coronaria²⁵³. Sin embargo, el estudio realizado por Schnyder y colaboradores²⁵⁴ ha establecido que la

hiperhomocisteinemia es un predictor independiente de mortalidad, infarto de miocardio no fatal y nueva revascularización tras angioplastia coronaria. En esa misma línea se han publicado otros estudios con menor número de enfermos sometidos a angioplastia simple²⁵⁵ o a implante de stent²⁵⁶. De nuevo, Schnyder y colaboradores han demostrado que el tratamiento combinado con ácido fólico, vitamina B₁₂ y piridoxina no sólo reduce los niveles de Hcy, sino que disminuye la tasa de reestenosis y la necesidad de revascularización tras la angioplastia coronaria²⁵⁷. Por el contrario, un reciente estudio de Genser y colaboradores²⁵⁸ no ha encontrado relación entre los niveles plasmáticos de Hcy, vitamina B₁₂ y folatos y la tasa de reestenosis intra-stent en el seguimiento a 6 meses. La reciente introducción de los dispositivos expandibles recubiertos de fármacos antiproliferativos (rapamicina, taxol) ha disminuido significativamente la tasa de reestenosis, aumentando la supervivencia libre de eventos y los reingresos en estos pacientes. Todavía no se han publicado resultados sobre la posible influencia de los niveles plasmáticos de Hcy en el pronóstico de los pacientes sometidos a revascularización con esta nueva generación de dispositivos.

Existe por tanto una gran evidencia epidemiológica que relaciona el aumento de la Hcy plasmática con un mayor riesgo de enfermedad vascular aterotrombótica. No hay una consistencia completa, y esto podría estar relacionado con diferencias en el diseño de los estudios, el poder estadístico y el azar. En general, la mayor parte de los estudios realizados en pacientes afectados de coronariopatía han demostrado mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia en éstos respecto a los controles. Sin embargo, parece existir discrepancia entre los estudios prospectivos y los casos-contróles. Ésta podría explicarse porque los estudios casos-contróles se realizaron en sujetos más jóvenes y se acepta que la hiperhomocisteinemia se asocia más con la aterotrombosis a edades más tempranas. Otro factor podría ser que la determinación de Hcy en los estudios casos-contróles se suele realizar entre 1 y 3 meses tras el evento agudo, pudiendo no reflejar de manera fidedigna las

concentraciones de Hcy previas al episodio. Así, en dos de estos estudios se observó un aumento progresivo de la Hcy desde las primeras 24-48 horas hasta un pico a las 3 semanas de un infarto agudo de miocardio, posteriormente las cifras descienden^{259;260}. En otro estudio²⁶¹ se determinaron los niveles de Hcy a más largo plazo (1-3 años del infarto) en pacientes que habían sufrido un ictus: En un grupo los niveles descendieron respecto a la primera determinación (48 h tras el evento); mientras que en el otro se produjo elevación (aquéllos con niveles de folato sérico disminuidos). La interpretación de estos resultados resulta compleja: podría deberse a que durante la fase aguda se produjera un mayor metabolismo tisular de la Hcy al aumentar la Hcy libre consecuencia del descenso de la albúmina en la fase aguda; además posteriormente se suelen modificar los hábitos de vida y que ciertos tratamientos farmacológicos también pueden influir sobre las concentraciones de Hcy.

Además, aunque la hiperhomocisteinemia se ha constituido como predictor independiente de enfermedad coronaria, su asociación a determinadas situaciones como los estados de hipercoagulabilidad o el aumento de marcadores inflamatorios podría empeorar el pronóstico de los pacientes con enfermedad coronaria, tal como se puede evidenciar en algunos estudios²⁶².

En cualquier caso, la concentración de Hcy es un factor predictor (dosis-dependiente) de mortalidad en enfermos con arteriosclerosis coronaria objetivada mediante coronariografía²²³.

Por otro lado, la hiperhomocisteinemia moderada puede configurarse como un factor de riesgo cardiovascular con asociaciones a otros factores de riesgo clásicos. Si bien elevaciones moderadas de la concentración de Hcy, en ausencia de otros factores de riesgo, podrían no resultar en un riesgo vascular muy elevado, la asociación de su poder trombogénico en pacientes con arteriosclerosis establecida y alto riesgo cardiovascular, sí

podría ser determinante en la aparición del evento clínico. En este caso, el tratamiento de la hiperhomocisteinemia como prevención de los accidentes cardiovasculares tendría un alto interés. De la misma manera, se ha relacionado la hiperhomocisteinemia como un factor de riesgo asociado a pacientes con DM tipo 2, aumentando la extensión de la enfermedad coronaria en éstos²⁶³.

Recientemente se ha postulado que la hiperhomocisteinemia se relacionaría con la enfermedad arteriosclerótica en el caso de que se asociase también un déficit de vitaminas del grupo B o de folatos. Un estudio reciente, sin embargo ha concluido que la presencia de hiperhomocisteinemia se relaciona con niveles infranormales de vitamina B₁₂ y supranormales de creatinina, pero no así con los de folatos²⁶⁴.

2.6 Homocisteína plasmática y extensión de la arteriosclerosis coronaria.

Varios estudios han encontrado una asociación entre los niveles plasmáticos elevados de Hcy y la severidad de la enfermedad coronaria. Así, Montalescot y colaboradores²⁶⁵ demostraron una relación entre la Hcy y la HTA y la severidad de enfermedad coronaria (número de vasos afectados y calidad de los lechos distales). El estudio de Tsai y colaboradores²⁶⁶ encontró una relación entre la hiperhomocisteinemia y la extensión de la arteriosclerosis coronaria especialmente en pacientes de bajo riesgo mientras que esta correlación se hacía menos significativa cuando aumentaba el número de factores de riesgo. Sin embargo, Nikfardjam y colaboradores²⁶⁷, no encontraron relación entre la elevación de la Hcy plasmática y la extensión de la enfermedad vascular en pacientes con arteriosclerosis coronaria prematura, lo que podría indicar que la hiperhomocisteinemia juega un papel más importante en la trombosis que en el desarrollo de esclerosis coronaria. Tampoco el estudio de Chao y colaboradores²⁶⁸ que la hiperhomocisteinemia se relacione con una mayor severidad y extensión de la enfermedad coronaria. Por otra parte, el estudio de Schnyder y

colaboradores²⁶⁹ también encontró asociación entre la hiperhomocisteinemia y la severidad de la enfermedad coronaria en una cohorte de pacientes sometidos a coronariografía. Nagai y colaboradores²⁷⁰ han encontrado que la hiperhomocisteinemia se relaciona de forma inversa con la formación de circulación colateral en pacientes con arteriosclerosis coronaria.

Algunos investigadores han encontrado que en los individuos hiperhomocisteinémicos se produce enfermedad coronaria de una manera más precoz en aquéllos con niveles normales de homocisteína^{271;272} aunque otros autores no lo han confirmado.

3. Tratamiento de la hiperhomocisteinemia. Ensayos clínicos.

3.1. Suplementos de ácido fólico.

El ácido fólico (ácido pterolymonoglutámico: forma sintética equivalente a los folatos de la dieta) es el principal tratamiento de la hiperhomocisteinemia. Es una terapia barata, segura y efectiva para disminuir los niveles de Hcy en unas pocas semanas. Las principales fuentes naturales de folatos son los cereales, el pan, las frutas y verduras. Algunos estudios han demostrado que la presencia de niveles bajos en plasma de folatos vitaminas del grupo B aumentan el riesgo de desarrollar arteriosclerosis²⁷³. El tratamiento aislado o combinado de ácido fólico y vitaminas B₆ o B₁₂ reduce los niveles de Hcy incluso en pacientes sin déficits de dichos principios²⁷⁴. En pacientes con enfermedad coronaria se ha demostrado una disminución significativa de la concentración de Hcy con una dosis de 400 µg diarios de ácido fólico durante 4-5 semanas²⁷⁴⁻²⁷⁶. Incluso una dosis menor (200 µg/día) ha demostrado una alta eficacia en la reducción de los niveles de Hcy²⁷⁷. Aunque estas dosis bajas serían eficaces en la mayoría de los pacientes, los individuos con insuficiencia renal, algunos con la variante termolábil de la MTHFR o los que se encuentran en tratamiento con algún fármaco

que altera el metabolismo de la Hcy podrían precisar dosis mayores de ácido fólico.

Además los resultados en la reducción de los niveles de Hcy el suplemento de folatos proporciona una mejora en parámetros de función endotelial (como la vasodilatación dependiente del endotelio)^{278;279} aunque no se ha observado un aumento de la producción de óxido nítrico *in vitro*. Sin embargo, el estudio realizado por Doshi y colaboradores^{280;281} encontró que la mejoría en parámetros de función endotelial se relacionaba con la administración de fólico pero no con la reducción de los niveles de Hcy, en probable relación con una mejora del estrés oxidativo. En otro estudio se ha evidenciado que la reducción de los niveles de Hcy mediante un suplemento de ácido fólico disminuye la reactividad vascular en pacientes con enfermedad coronaria²⁸². En el estudio de Thambyrajah y colaboradores el suplemento con 5 mg diarios de ácido fólico se asoció no sólo a una reducción de los niveles de Hcy sino también con una mejora de la función endotelial²⁸³. En el mismo sentido se decanta el estudio de Chambers y colaboradores²⁸⁴ empleando suplementos de ácido fólico y complejos vitamínicos. También el estudio de Title y colaboradores²⁸⁵ encuentra una mejora en la disfunción endotelial en pacientes con arterioesclerosis coronaria a los que se administró suplementos de ácido fólico.

Un efecto secundario potencial de los suplementos de ácido fólico es un daño neurológico progresivo (degeneración combinada subaguda medular) en pacientes con déficit concomitante de vitamina B₁₂ debido a que el ácido fólico puede enmascarar las alteraciones hematológicas que produce este último. Sin embargo, esto se puede obviar determinando los niveles de dicha vitamina antes de iniciar el tratamiento o bien añadiendo ésta de forma combinada al ácido fólico (un mínimo de 400 µg diarios, ya que aunque sólo se necesitan 2 µg al día, sólo un 3-4% se absorbe tras su administración oral). En el caso de la vitamina B₆ el principal efecto secundario es una neuropatía periférica sensitiva que se puede producir con dosis superiores a 400 mg al día; sin embargo, las dosis que se suelen emplear son sólo de 10-

50 mg diarios.

Dado que estos suplementos son relativamente baratos y seguros parece razonable detectar y tratar la hiperhomocisteinemia en ciertos grupos de alto riesgo. Desde el 1 de enero de 1998 la “US Food and Drug Administration (FDA)” obligó a fortalecer con ácido fólico los cereales y harinas (140 µg/100 g) con la intención de prevenir defectos del tubo neural. No se sabe cómo influirá esta decisión en los estudios de intervención, pero desde entonces se ha objetivado un incremento del 60-100% en las concentraciones plasmáticas de folatos en el grupo de adultos de edad media y mayores del estudio Framingham, las concentraciones medias de Hcy han disminuido en el 7-10% y el número de individuos hiperhomocisteinémicos ha descendido del 19% al 10%²⁸⁶. Sin embargo, Bostom y colaboradores²⁸⁷ no encontraron una reducción estadísticamente significativa en los niveles de Hcy tras sobrecarga oral con metionina en un grupo de pacientes estudiados en la era post-fortificación, lo que tendría importantes implicaciones para el poder estadístico de los ensayos clínicos que postulen la hipótesis de que la reducción de los niveles de Hcy plasmática puede disminuir las tasas de eventos cardiovasculares. Un estudio reciente ha demostrado que aunque los cereales enriquecidos aumentan los niveles de folato plasmático en torno al 30%, los niveles de Hcy sólo se redujeron un 3-7% pero que sin embargo, los cereales enriquecidos con mayor cantidad de ácido fólico (400 µg) producían una reducción de los niveles de Hcy de al menos un 11%, lo que sugiere que la fortificación con ácido fólico a niveles mayores de los corrientemente recomendados sería más beneficiosa²⁸⁸. Jang y colaboradores²⁸⁹ han demostrado así mismo que la sustitución de arroz refinado por arroz entero como fuente de carbohidratos en las comidas produce efectos beneficiosos sobre los niveles de glucemia, insulina, Hcy y peroxidación lipídica en pacientes con enfermedad coronaria. Anderson y colaboradores²⁹⁰ han analizado si la fortificación con fólico en los alimentos (inicialmente aprobada por la FDA para disminuir defectos congénitos del tubo neural) habría disminuido

los niveles de Hcy en la población, encontrando una reducción de éstos en promedio de unos 2 $\mu\text{mol/L}$ y una disminución de individuos con hiperhomocisteinemia de alto riesgo ($> 15 \mu\text{mol/L}$) de un 33%. Un estudio reciente²⁹¹ ha demostrado que los alimentos ricos en isoflavonas producen una reducción del riesgo coronario al disminuir los niveles de lípidos, LDL oxidadas, Hcy y presión arterial.

3.2. Ensayos clínicos.

Los datos epidemiológicos apoyan la existencia de un papel para la Hcy en la patogenia de la arteriosclerosis y la hipertensión. Incluso estudios prospectivos negativos sugieren que la deficiencia de vitaminas B puede contribuir a la enfermedad vascular. Mark y colaboradores²⁹² han encontrado que la respuesta al tratamiento con vitaminas y ácido fólico disminuye los niveles de Hcy pero de forma independiente del polimorfismo genético de la enzima MTHFR. Sin embargo, ensayos controlados aleatorizados en los que se estudian los efectos de la reducción de las concentraciones de Hcy sobre los objetivos finales cardiovasculares no se han completado todavía. Un estudio no controlado ha demostrado que el tratamiento de la hiperhomocisteinemia reduce el tamaño de la placa aterosclerótica²⁹³.

El estudio PACIFIC (Prevention with a Combined Inhibitor and Folate in Coronary Heart Disease) randomizó a 723 pacientes con IAM o AI a recibir 0,2 mg diarios de ácido fólico, 2 mg de ácido fólico o placebo; las dos dosis de fólico redujeron los niveles de Hcy pero los efectos de la dosis mayor fueron tres veces superiores²⁹⁴.

El estudio VISP (Vitamin intervention for stroke prevention)²⁹⁵ randomizó a 3680 adultos con ictus a recibir una dosis diaria de una combinación de 25 mg de piridoxina, 0,4 mg de cobalamina y 2,5 mg de ácido fólico, frente a una dosis baja de la combinación previa (200 μg de piridoxina, 6 μg de cobalamina y 20 μg de ácido fólico), independientemente de sus niveles de Hcy; encontrando que a pesar de reducir de forma moderada la Hcy plasmática,

este suplemento no influyó en la aparición de efectos vasculares en el seguimiento a 2 años.

El Swiss Heart Study evaluó el efecto de la terapia de reducción de Hcy en el pronóstico clínico tras el intervencionismo coronario percutáneo. Se incluyeron 553 pacientes sometidos a angioplastia coronaria, que se randomizaron a recibir una combinación diaria de 1 mg de ácido fólico, 400 µg de cianocobalamina y 10 mg de piridoxina frente a placebo. La estrategia terapéutica disminuyó la incidencia de eventos cardiovasculares (muerte, IAM, necesidad de nueva revascularización) en el seguimiento a 6 meses y un año²⁹⁶.

Recientemente se ha publicado el estudio WENBIT (Western Norwegian Study on the Effects of Homocysteine Reduction with B.vitamins in Patients with Angiographically Verified Coronary Artery Disease)²⁹⁷. En este caso el tratamiento con ácido fólico y vitamina B₁₂ disminuyó rápidamente la concentración de Hcy plasmática basal y tras sobrecarga con metionina; la vitamina B₆ no modificó los niveles basales de Hcy pero sí tras sobrecarga con metionina. Los resultados sobre el pronóstico no se han publicado hasta la fecha.

Se han puesto en marcha otros ensayos multicéntricos aleatorizados para estudiar la utilidad de los suplementos de ácido fólico y vitaminas del grupo B en la prevención secundaria de pacientes con enfermedad cardiovascular (Tabla 4).

3.3. Rehabilitación cardíaca.

El estudio de Ali y colaboradores²⁹⁸ puso de manifiesto que un programa de rehabilitación cardíaca realizado sobre pacientes que habían sufrido un evento coronario reciente y que presentaban niveles normales de lípidos en el momento de su inclusión permitía disminuir de forma significativa los niveles de Hcy entre aquéllos que presentaban hiperhomocisteinemia al inicio del estudio. Así, evidenciaron una disminución del 12% en los niveles de Hcy, que a su vez podría reducir el riesgo coronario entre un 20-30%.

Tabla 2. Estudios prospectivos y casos-contróles anidados sobre hiperhomocisteinemia y riesgo cardiovascular.

Estudio	Sexo	Casos/Contróles	Objetivo	Seguimiento medio (años)	Homocisteína media (µmol/l) Casos/Contróles	RR (IC 95%)
Physician's Health Study, U.S.A. ²²⁰	H	271/271	IAM fatal/no fatal y enfermedad coronaria	5	11,1/10,5	3,4 (1,3-8,8)
BUPA, Reino Unido ²²¹	H	229/1126	Muerte cardiovascular	8,7	≥15,2/<10,3	2,9 (2,0-4,1)
Tromsø ²¹⁹ , Noruega	H/M	123/492	Enfermedad cardiovascular	4	12,7/11,3	1,32 (1,0-1,6)
British Regional Heart Study ²²²	H	107/118	Ictus	12,8	13,7/11,9	2,8 (1,3-5,9)
Nygaard, Bélgica ²²³	H/M	64 casos	Mortalidad	4,6	≥20/≤9	4,5 (1,2-16)
Physician's Health Study, U.S.A. ²⁴²	H	333/333	IAM/muerte cardiovascular	7,5	-/-	1,7 (0,9-3,3)
Physician's Health Study ²⁴³ , U.S.A.	H	149/149	Nueva angina o necesidad de CABG	9	10,9/10,4	1 (0,4-2,4)
Physician's Health Study ²⁵⁰ , U.S.A.	H	109/427	Ictus isquémico	5	11,4/10,6	1,2 (0,7-2,0)
MRFIT ²⁴⁵ , U.S.A.	H	93/186 147/286	IAM no fatal Muerte cardiovascular	7	12,6/13,1 12,8/12,7	0,82 (0,55-54)
North Karelia Project ²⁴⁴ , Finlandia	H/M	265/269	IAM/ictus	9	H 9,9/9,8 M 9,6/9,3	H 1,05 (0,56-1,95) M 1,22 (0,6-2,8)
ARIC ²⁴⁶ , U.S.A.	H/M	232/537	IAM	3,3	8,9/8,5	1,28 (0,5-3,2)
Ridker ²²⁷ , U.S.A.	H	145/646	Tromboembolismo venosos	10		3,4 (1,6-7,3)
Bots ²²⁵ , Holanda	H/M	224/553	IAM, ictus	2,7		2,5 (1,2-5,3)
Ridker ²²⁹ , U.S.A.	M	122/244	Enfermedad cardiovascular	3		2 (1,1-3,8)
Hoogeveen ²⁴⁰ , Holanda	H/M	171/640	Mortalidad	5		1,6 (1-2,5)
Knekt ²³⁰ , Finlandia	M	149/298	Enfermedad coronaria	13		1,6 (1-2,5)
Fallon ²⁴⁷ , Reino Unido	H	312/1248	IAM y muerte cardiovascular	10		1 (0,6-1,9)
Thogersen ²⁴⁸ , Suecia	H/M	78/156	IAM	1,5		
Knekt ²⁴⁹ , Finlandia	H	438/876	IAM y muerte cardiovascular	1,5		0,9 (0,5-1,6)

Petri ²³² , U.S.A.	H/M	94	Tromboembolismo arterial y venoso,ictus	4,8		3,5 (1-12,5) 2,4 (1,-1,4)
Bostom ²³³ , U.S.A.	H/M	16	Enfermedad cardiovascular	1,4		3(1,1-8,1) 4,4(1,6-12)
Moustapha ²³⁵ , U.S.A.	H/M	86	Mortalidad y enfermedad cardiovascular	1,5		1,01 (1-1,01)
Stehouwer ²²⁶ , Holanda	H	162	Enfermedad coronaria, ictus	10		1,8 (1-3,1)
Stehouwer, Holanda ²³⁹	H/M	49	Mortalidad	6,4		1,11 (1,08-1,15)
Bostom ²⁹⁹ , U.S.A.	H/M	897	Mortalidad	10		2,2 (1,9-2,6)
Bostom ⁹⁵ , U.S.A.	H/M	165	Ictus	9,9		1,8 (1,1-2,9)
Anderson ²²⁴ , U.S.A.	H/M	166	Mortalidad	3		1,6 (1,2-2,2)
Ducloux ³⁰⁰ , Francia	H/M	30	Enfermedad cardiovascular, mortalidad	1,7		1,06 (1,04-1,09)
Vollset ²⁴¹ , Noruega	H/M	259	Mortalidad	4,1		1,5 (1,3-1,7)

H: Hombres, M: Mujeres

Tabla 3. Estudios casos-controles retrospectivos sobre hiperhomocisteinemia y riesgo cardiovascular.

Estudio	Sexo	Casos/Controles	Homocisteína media ($\mu\text{mol/l}$) Casos/Controles	RR (IC 95%)
Graham ¹⁰⁹ , Europa	H/M	750/800	11,3/9,7	2,2 (1,6-2,9)
Lingren, Suecia	H/M	162/60	13,4/13,8	NS
Hopkins ¹⁹² , U.S.A.	H/M	162/155	H 13,7/11,3 M 12,6/8,9	8,1 (3,2-20,4)
Dalery ²⁰⁶ , Canadá	H/M	150/584	H 11,7/9,7 M 12/7,6	P<0,001 P<0,01
Robinson ²⁰⁷ , U.S.A.	H/M	304/231	H 13,9/11,2 M 15,3/10,1	P<0,01 P<0,01
Malinow ²⁰⁸ , Francia e Irlanda	H	420/521	Irlanda 15,5 Francia 16,7	OR: 1,84 (0,8-4,5) OR :4,27 (2,0-9,3)
Markus, Reino Unido	H/M	160/75	1,32	P=0,09

H:Hombres, M: Mujeres

Tabla 4. Estudios randomizados en marcha o recientemente publicados sobre reducción de la homocisteína mediante el empleo de suplementos de ácido fólico y/o combinación con complejos vitamínicos del grupo B en prevención secundaria de enfermedad cardiovascular.

WENBIT	Bergen Vitamin Study	Noruega
CHAOS-2	Cambridge Heart Antioxidant Study	Reino Unido
HOPE-2	Heart Outcomes Prevention Evaluation Study	U.S.A.
NORVIT	Norwegian Study of Homocysteine Lowering with Vitamins in Myocardial Infaction	Noruega
PACIFIC	Prevention with A Combined Inhibitor and Folate in Coronary Heart Disease Study	Australia
SEARCH	Study of the Effectiveness of Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteine	Reino Unido
VISP	Vitamins in Stroke Prevention Trial	U.S.A.
VITATOPS	Vitamins to Prevent Stroke Study	Australia
WACS	Women's antioxidant and Cardiovascular Disease Study	U.S.A.
IST-2	International Strokes Trial Number 2	NuevaZelanda

V. POLIMORFISMO C677T (A222V) DE LA ENZIMA METILTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA Y ENFERMEDAD CORONARIA.

Las mutaciones de genes que codifican enzimas implicadas en el metabolismo de la Hcy (MTHFR, CBS y Metionina sintetasa) han sido indentificadas como factores de riesgo genéticos para la aparición de fenómenos tromboembólicos. Estas mutaciones presentan una distribución heterogénea en diferentes áreas geográficas y en distintos grupos étnicos³⁰¹. Así, el estudio de Chambers y colaboradores encontró que la mutación es poco prevalente entre los hindúes residentes en el Reino Unido en comparación con caucasianos, a pesar de que los primeros presentaron mayores niveles de Hcy, concluyendo que el polimorfismo no influye en los niveles de Hcy, independientemente de los niveles de folatos, y por tanto no influye en la presencia de enfermedad coronaria, estableciendo la posibilidad de diferencias interraciales en la distribución de este polimorfismo y en su influencia sobre la enfermedad coronaria³⁰².

En 1988, Kang y colaboradores^{303;304} describieron que más del 5% de la población presenta una variante heredada termolábil de la enzima MTHFR, que se asociaba a una actividad reducida de dicha enzima. Posteriormente, en 1995, Frost y colaboradores establecieron que el polimorfismo C677T de la MTHFR era el responsable de dicha variante enzimática mutada y que era un factor de riesgo independiente para la enfermedad vascular⁸⁹.

En el polimorfismo C677T, la nueva variante enzimática de la MTHFR se caracteriza por la sustitución de valina por alanina en la cadena polipeptídica, dando lugar a una forma termolábil de ésta, cuya actividad enzimática es menor⁸⁹. Los individuos homocigotos para este polimorfismo parecen asociarse a niveles moderadamente elevados de Hcy en plasma^{89;305} sobre todo en presencia de niveles bajos de folatos³⁰⁶⁻³⁰⁸ y algunos estudios han evidenciado un aumento en la prevalencia de estos homocigotos en pacientes con enfermedad cardiovascular³⁰⁹ mientras que otros no han confirmado dicha relación³¹⁰⁻³²⁰. Un metaanálisis

basado en ocho estudios demostró que la mutación homocigota C677T de la MTHFR estaba presente en 299 de 2476 pacientes con enfermedad cardiovascular (12,1%) y en 257 de 2481 controles sanos (10,4%) con una odds ratio de 1,22 (IC 95% 1,01-1,47)³²¹. Otro metaanálisis realizado sobre 13 estudios no encontró una diferencia significativa entre pacientes (3281) y controles (3218) en la frecuencia de mutación homocigótica (12,2% vs. 13,2%) ni en la prevalencia de heterocigotos (33,7% vs. 35,6%)³¹⁹. El estudio de Meisel y colaboradores no encontró diferencias entre las distintas variantes alélicas de tres polimorfismos de la MTHFR y la presencia de niveles elevados de Hcy plasmática ni tampoco relación con la aparición de enfermedad coronaria³²².

Estos resultados contradictorios podrían deberse a diferentes criterios de selección de los pacientes o también a la inclusión de individuos procedentes de diferentes áreas geográficas o pertenecientes a grupos étnicos distintos: tres de los trabajos que encontraron relación directa entre la presencia de la variante polimórfica mutada y el desarrollo de arteriosclerosis coronaria se realizaron sobre población japonesa^{309;323;324}, mientras que los que obtuvieron resultados contradictorios se realizaron en otras áreas geográficas³²⁵⁻³²⁹. Otra posibilidad es que sea preciso que se produzcan alteraciones moleculares en varias enzimas relacionadas con el metabolismo de la Hcy para que ésta aumente en el plasma. También es de destacar que los estudios que han encontrado una relación entre las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR han incluido con frecuencia a pacientes jóvenes^{309;330;331}. Estos resultados discrepantes de diferentes estudios sugiere que hay interacciones complejas genético-medioambientales en la etiología de la enfermedad coronaria en relación con la hiperhomocisteinemia. En este sentido, el déficit de folatos sería clave en la asociación de las variantes de la MTHFR y arteriosclerosis coronaria, aunque alguno de los estudios realizados no han encontrado aumento del riesgo de cardiopatía isquémica incluso en presencia de déficits de folatos o de vitaminas del grupo B³²⁰.

Mager y colaboradores estudiaron la correlación entre los niveles plasmáticos de Hcy y la edad de inicio de la enfermedad coronaria en diferentes genotipos de MTHFR³³¹ y encontraron una fuerte relación entre los niveles de Hcy y la edad de inicio de la enfermedad coronaria en homocigotos TT y ausencia de asociación en los no-TT, e incluso los pacientes no-TT, en presencia de hiperhomocisteinemia, no se relacionan con la edad de inicio de los síntomas.

Verhoef y colaboradores³³² encontraron una relación entre la variante TT de la MTHFR y la hiperhomocisteinemia, sobre todo si el polimorfismo se asociaba a niveles bajos de folatos intraeritrocitarios pero no demostraron asociación con un mayor riesgo de enfermedad coronaria.

Varios estudios han encontrado una relación positiva entre la variante alélica de la MTHFR y la presencia de niveles reducidos de folatos intraeritrocitarios^{333;334} mientras que otros han encontrado niveles más altos de folatos intraeritrocitarios en los pacientes homocigotos TT^{335;336}.

El estudio de Kosokabe y colaboradores³³⁷ establece una relación entre la variante alélica del polimorfismo C677T y la hiperplasia intimal tras revascularización percutánea con Stent, de manera que los homocigotos TT constituyen un predictor independiente de hiperplasia intimal tras el intervencionismo coronario, a pesar de que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles plasmáticos de Hcy entre las diferentes variantes alélicas.

Un reciente estudio no ha encontrado una relación entre la variante polimórfica y la respuesta al tratamiento con suplementos vitamínicos y ácido fólico aunque sí que existía relación entre dicha variante y los niveles plasmáticos de homocisteína³³⁸. Aunque otros estudios han objetivado una asociación entre la variante homocigota TT y la enfermedad coronaria y dado que dicha variante se asocia a mayores niveles de Hcy cabría esperar una

mayor reducción en sus niveles plasmáticos con la intervención terapéutica que sin embargo no se ha objetivado³³⁹.

El metaanálisis más completo y más reciente estudió la relación entre el polimorfismo C677T de la MTHFR y el riesgo de enfermedad isquémica coronaria sobre un total de 40 estudios observacionales (11162 casos y 12758 controles), encontrando un aumento significativo del riesgo de padecer enfermedad coronaria en aquéllos con el genotipo TT, especialmente en presencia de niveles bajos de folatos (odds ratio 1,16; IC al 95% 1.05-1,28)²⁰², lo cual reforzaría la hipótesis de que las alteraciones del metabolismo del ácido fólico (que dan lugar a elevación de la Hcy plasmática) se relacionarían de forma causal con el riesgo del desarrollo de enfermedad coronaria. En este mismo estudio se objetivó que dicha relación era mayor en los estudios europeos (odds ratio 1,14; IC al 95% 1,01-1,28) que en los americanos (odds ratio 0,87, IC al 95% 0,73-1,05), lo que también se relacionaría con los niveles de folatos.

Recientemente se ha descrito un nuevo polimorfismo de la enzima MTHFR (A1298C) que da lugar a una sustitución de glutamina por alanina y se asocia a disminución de la actividad enzimática *in vitro* pero que no parece asociarse a niveles elevados de Hcy en plasma^{327;340}, ni a un aumento del riesgo cardiovascular³⁴¹. Sin embargo, la presencia de variantes homocigotas de ambos polimorfismos sí parece asociarse a hiperhomocisteinemia³⁴². Aún más reciente es la descripción de un nuevo polimorfismo de la MTHFR (T1317C) que parece no provocar ningún efecto sobre la actividad del enzima y cuyos homocigotos son extremadamente raros entre la población europea³²⁷; así mismo, no se relaciona con la aparición de enfermedad coronaria³²⁷.

HIPÓTESIS

La presencia de determinadas variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR parece relacionarse con niveles plasmáticos basales supranormales de Hcy y podría tener influencia en la aparición y severidad de la arteriosclerosis coronaria y en el pronóstico del SCA. La hiperhomocisteinemia moderada parece jugar un papel en la génesis y progresión de la enfermedad arteriosclerótica coronaria, existiendo gran controversia acerca de su influencia en el pronóstico de los síndromes coronarios. Por otro lado, el déficit de cofactores indispensables para el normal funcionamiento de las rutas metabólicas relacionadas con la Hcy (folatos, vitamina B12) podría dar lugar a una elevación de los niveles plasmáticos de ésta y de manera indirecta y/o directa relacionarse con una peor evolución a medio plazo del SCA. No ha sido estudiada de forma exhaustiva la posible relación de la hiperhomocisteinemia y las alteraciones del metabolismo de este aminoácido con los fenómenos inflamatorios sistémicos, que podrían así mismo justificar su hipotética influencia pronóstica en el SCA.

- 1. Existe una distribución alélica diferente del polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR entre un grupo de pacientes con SCA sometidos a coronariografía y un grupo de controles sin evidencia de enfermedad arteriosclerótica coronaria.*
- 2. Los niveles plasmáticos basales de Hcy y de cofactores relacionados con su metabolismo se encuentran alterados en pacientes con SCA sometidos a coronariografía frente a un grupo de controles sin evidencia de enfermedad arteriosclerótica coronaria.*
- 3. Existe una asociación entre la presencia de alteraciones del metabolismo de la homocisteína y parámetros relacionados con la inflamación en pacientes con SCA sometidos a coronariografía.*
- 4. Existe relación entre la presencia de determinadas variantes alélicas del polimorfismo*

C677T (A222V) de la MTHFR y/o la existencia de alteraciones del metabolismo de la Hcy y la severidad de la enfermedad en pacientes que han sufrido un SCA y que son sometidos a coronariografía.

5. *La presencia de determinadas variantes alélicas del polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR y/o la existencia de alteraciones del metabolismo de la Hcy se relaciona con el pronóstico de pacientes que han sufrido un SCA y que son sometidos a coronariografía.*

OBJETIVOS

1. Establecer la prevalencia de variantes alélicas del polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR, hiperhomocisteinemia, déficit de folatos y vitamina B12 en una cohorte de pacientes con SCA.

2. Determinar si existen diferencias en la distribución de variantes alélicas del polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR y la presencia de alteraciones del metabolismo de la Hcy entre pacientes con SCA y un grupo de controles sin enfermedad arteriosclerótica coronaria.

3. Relacionar los parámetros relacionados con el metabolismo de la Hcy con fenómenos inflamatorios sistémicos que intervienen en la etiopatogénesis del SCA.

4. Determinar si la presencia de determinadas variantes alélicas del polimorfismo C677T (A222V) de la MTHFR se relaciona con la severidad de la patología y con la aparición de eventos cardiovasculares en pacientes con SCA.

5. Establecer si los niveles plasmáticos elevados basales de Hcy se relacionan con la severidad y el pronóstico del SCA.

6. Estudiar la influencia del déficit de folatos y vitamina B12 en la presencia de hiperhomocisteinemia así como sobre la severidad y evolución del SCA.

MATERIAL Y MÉTODO

I. MUESTRA DE ESTUDIO. SELECCIÓN DE CASOS Y CONTROLES.

SELECCIÓN DE CASOS.

Fueron incluidos de manera prospectiva 155 pacientes consecutivos que ingresaron en el Servicio de Cardiología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria de Málaga en relación con SCA entre marzo de 2001 y septiembre de 2002, que fueron sometidos a coronariografía y que dieron su consentimiento informado. En el caso del estudio específico de las alteraciones del estrés oxidativo basal se incluyeron 137 pacientes. El diseño el estudio y los procedimientos cumplieron la Declaración de Helsinki y el protocolo de investigación fue aprobado por el Comité Ético del Hospital. Todos los pacientes eran caucásicos y residentes en Málaga.

SELECCIÓN DE CONTROLES.

Fueron incluidos de manera prospectiva 43 controles, constituidos por un grupo de pacientes consecutivos a los que se realizó coronariografía en el Servicio de Cardiología del Hospital Clínico Universitario de Málaga en el mismo período de tiempo, por causa distinta a la cardiopatía isquémica, en los que no se evidenció enfermedad coronaria arteriosclerótica (valvulopatías, miocardiopatías, enfermedades del pericardio, cardiopatías congénitas), y que dieron su consentimiento informado. Todos los pacientes eran caucásicos y residentes en Málaga.

II. CORONARIOGRAFÍA.

La angiografía coronaria se efectuó por la técnica estándar de Judkins. El cateterismo cardíaco fue realizado en un equipo digital Siemens. Se usó en la totalidad de los casos el abordaje femoral y la evaluación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y de la anatomía coronaria fue realizada mediante las proyecciones oblicua anterior derecha, oblicua anterior izquierda y lateral con angulaciones craneales y caudales. Se determinó y cuantificó la presencia de enfermedad coronaria mediante análisis cuantitativo según sistema Medcom LTD, Telemedicine Technology. Las estenosis fueron analizadas en dos proyecciones ortogonales, midiéndose el diámetro de referencia, el diámetro luminal mínimo y las estenosis porcentuales considerando el diámetro y el área. El valor final fue la media de dos proyecciones ortogonales.

III. RECOGIDA DE DATOS CLÍNICOS.

En cada paciente se recogieron los siguientes datos clínicos:

A. Edad y sexo.

B. Factores de riesgo cardiovascular.

Se evaluó la presencia de factores de riesgo para la enfermedad coronaria:

- HTA: Pacientes con diagnóstico previo o evidencia durante el ingreso de cifras elevadas de presión arterial ($\geq 140/90$).

- Hipercolesterolemia: Pacientes con diagnóstico previo o evidencia durante el ingreso de cifras elevadas de colesterol (≥ 220 mg/dl de colesterol total y/o ≥ 130 mg/dl de LDL-colesterol)

- Tabaquismo: Pacientes fumadores activos o exfumadores de menos de 5 años.

- Diabetes Mellitus: Pacientes con diagnóstico previo o con cifras de glucemia elevada durante el ingreso (criterios de la Sociedad Española de Diabetes).

- Historia familiar de cardiopatía isquémica prematura (IAM o muerte súbita antes de los 55 años en el padre u otro familiar varón de primer grado o antes de los 65 años en la madre u otro familiar de primer grado).

Se estableció un sistema de cuantificación de los factores de riesgo cardiovascular de acuerdo a las normas del comité de expertos del National Heart, Lung and Blood Institute:

Tabla 5. Cuantificación de factores de riesgo cardiovascular

<i>FACTORES DE RIESGO POSITIVOS</i>	<i>FACTORES DE RIESGO NEGATIVOS</i>
Edad: Hombres de más o 45 años y mujeres de más o 55 años o menopausia prematura sin tratamiento hormonal sustitutorio	
Antecedentes familiares de enfermedad coronaria prematura	HDL elevado, más o 60 mg/dl
Consumo actual de cigarrillos	
Hipertensión arterial o tratamiento antihipertensivo	
Colesterol LDL más 130 mg/dl o tratamiento hipolipemiente	
Colesterol HDL menor 35 mg/dl	
Diabetes Mellitus	

Se sumaron el número de factores de riesgo positivos y si el HDL colesterol fue ≥ 60 mg/dl se restó un punto.

C. Historia previa de insuficiencia renal crónica, enfermedad cerebrovascular, arteriopatía periférica, fenómenos tromboticos sistémicos (tromboflebitis de repetición, trombosis venosa profunda, tromboembolismo pulmonar, síndrome de Budd-Chiari).

D. Se realizó el diagnóstico de SCA en base a criterios clínicos (dolor torácico de características isquémicas de nueva aparición o pacientes diagnosticados de cardiopatía isquémica estable en los que disminuyó el umbral de esfuerzo para desencadenar angina),

eléctricos (cambios electrocardiográficos indicativos de lesión, isquemia o necrosis de aparición gradual y consecutiva en dos o más derivaciones contiguas del ECG estándar o bloqueo de rama izquierda de nueva aparición) y enzimáticos (aumento de CPK al menos el doble de su valor de referencia para el laboratorio de nuestro Hospital (195 U/l), aumento de CPK no mayor del doble pero con fracción MB mayor del 10% del total y/o aumento de troponina I por encima de 10 veces su valor de referencia, con desarrollo de curva típica).

Se distinguió entre los pacientes que habían sufrido un SCASEST (angina inestable e IAM no Q) y aquéllos con SCACEST (según la clasificación de la Sociedad Española de Cardiología). Se registró además la localización del IAM (anterior y/o septal, inferior y/o posterior, lateral y/o lateral alto) y la realización o no de fibrinólisis.

E. Cardiopatía isquémica previa al ingreso (y específicamente de IAM, anterior a un mes). Coronariografía previa y lesiones coronarias (número de vasos, afectación de tronco coronario izquierdo).

F. Complicaciones durante el ingreso: Insuficiencia cardíaca, complicación mecánica (disfunción mitral isquémica, rotura del septo interventricular o de pared libre, taponamiento cardíaco), arritmias ventriculares malignas, bradicardia severa con necesidad de marcapasos transitorio/definitivo, fibrilación/flúter auriculares, angina recurrente o postinfarto.

G. Cambios eléctricos: isquemia subepicárdica/subendocárdica, lesión subepicárdica/subendocárdica, bloqueo de rama izquierda, ondas Q patológicas.

H. Indicación para la realización de coronariografía: Angina refractaria, isquemia inducible a baja carga en test de isquemia (preferentemente Ergometría mediante protocolo de

Bruce, equipo Marquette Case 8000, General Electric), SCASEST con criterios de alto riesgo (según la Sociedad Española de Cardiología), IAM complicado.

J. Características angiográficas: número de vasos con lesiones significativas (más del 70% en un vaso coronario principal o secundario o bien más del 50% en el tronco coronario izquierdo [TCI]), localización de las lesiones coronarias, lesión severa en TCI, afectación de la arteria descendente anterior (DA), presencia de enfermedad multivaso, tipo de lesión según clasificación de la AHA/ACC (A, B1, B2, C, de menor a mayor complejidad), características del lecho vascular distal, presencia de material trombótico sobre la lesión coronaria.

K. FEVI. Determinada mediante ventriculografía por planimetría de forma automatizada en proyección oblicua anterior izquierda. Se establecieron los siguientes grupos cualitativos: normal: FEVI > 55%, levemente deprimida: FEVI 45-55%, moderadamente deprimida: FEVI 35-45%, severamente deprimida: FEVI < 35%.

L. Revascularización tras la realización de la coronariografía: de manera percutánea o quirúrgica, completa o parcial, múltiple o monovaso.

M. Tratamiento al alta: antiagregantes plaquetarios (aspirina, triflusal, ticlopidina, clopidogrel), betabloqueantes, inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina (IECAs), antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA-II), calcioantagonistas, estatinas, anticoagulantes, nitratos, diuréticos. Así mismo se registró el empleo de sustancias bloqueantes del receptor plaquetario IIb-IIIa (anti-IIb-IIIa) durante el intervencionismo coronario.

IV. DETERMINACIONES ANALÍTICAS ESPECÍFICAS.

Durante la realización de la coronariografía, tras ayuno de al menos 12 horas, se obtuvo una muestra de sangre arterial a través de la arteria canalizada (mayoritariamente femoral derecha; excepcionalmente femoral izquierda o radiales). Inmediatamente se transfirió a 3 Vacutainer con EDTA y a un Vacutainer para suero y se conservaron en frío. Mediante pipeta automática estéril se transfirieron 50 µl de sangre completa a un Tubo Eppendorf (TE) de 1,5 ml, con 1 ml de ácido ascórbico, en frío y sin contacto con la luz, que inmediatamente se congeló a -20° C (folatos intraeritrocitarios). El resto de la sangre anticoagulada se transfirió a 2 TE y se congeló a -20° C. Los otros dos Vacutainer con sangre anticoagulada se centrifugaron en frío (4° C) a 3000 rpm durante 15 minutos, se realizó una separación inmediata del plasma que se transfirió a 3 TE, para posteriormente congelar a -80° C. Así mismo, se centrifugó a 3000 rpm y en frío el Vacutainer para suero, posteriormente se transfirió a 2 TE y se guardó en frío hasta su congelación a -80° C. Para la determinación de las variantes alélicas del polimorfismo analizado así como de la homocisteína plasmática se utilizaron los protocolos descritos con posterioridad. Hemos de destacar que las concentraciones de Hcy plasmática no están influenciadas de forma significativa por la fase aguda de los SCA³⁴³, por lo que su determinación puede realizarse independientemente del tiempo de evolución del SCA.

V. DETERMINACIONES ANALÍTICAS GENERALES.

A todos los casos y controles se les practicó en un plazo máximo de 24 horas tras la realización del cateterismo cardíaco las determinaciones analíticas rutinarias que figuran en la Tabla 6.

Tabla 6. Determinaciones analíticas generales.

Hematología	Coagulación	Reactantes fase aguda	Bioquímica	
Hemoglobina (Hb)	Actividad de protrombina (AP)	Proteína C reactiva (PCR)	Glucosa (Glu)	GOT
Leucocitos (Leuc)	Tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTA)	Fibrinógeno (F)	Urea	GPT
Plaquetas (Plaq)		Velocidad de sedimentación globular (VSG)	Creatinina (Creat)	LDH
Hb glicosilada (HbA1C)		Dímeros D (DD)	Sodio	CPK
			Potasio	Ácido úrico
			Colesterol total (CT)	
			LDL	
			HDL	
			Triglicéridos (TG)	
			Folatos (Fol)	
			Vitamina B12 (B12)	

VI. DETERMINACIÓN DEL GENOTIPO PARA EL POLIMORFISMO C677T (A222V) DE LA MTHFR.

Se utilizó para cada tubo 1 µl de sangre total sin tratamiento previo. Esta gota de sangre se depositó en el fondo del pocillo y se dejó secar a temperatura ambiente. A continuación se añadieron 40 µl de mezcla de reacción de reacción en cadena de polimerasa (RCP) compuesta de 20 µl de (*QTM SYBR[®] Green Supermix. Bio-Rad*). La determinación del genotipo se basa en una técnica de RCP alelo-específica en la que se utiliza un único tubo por muestra. Este procedimiento es una modificación del método de Gernem e Higuchi basado en el análisis de curvas de meeting usando como intercalador el SYBR Green.³⁴⁴

Se utilizaron 2 tipos distintos de primers sentido, cada uno de ellos contiene una base distinta en el extremo 3' terminal que se corresponde con una de las 2 variantes alélicas del polimorfismo seleccionado, y un primer antisentido que amplifica con ambos alelos.

Para poder discriminar entre los productos de amplificación, se ligó una cola de GC en el extremo 5' a uno de los primers alelo-específicos, esto hizo que el producto amplificado con este primer tuviera una Tm aumentada.

El producto de RCP tendrá una Tm distinta dependiendo de cual de los dos primers sea responsable de la amplificación.

Seguidamente después de la amplificación por RCP, usando un termociclador computerizado a tiempo real modelo *iCycler (Bio-Rad)*, la reacción se calienta lentamente en tramos de 0,5°C comenzando en 70°C hasta 95°C. La desnaturalización de la doble hebra de DNA produce una pérdida de fluorescencia debido a que el fluoróforo (*SYBR-Green*) emite con mayor intensidad cuando las dos hebras están unidas. El análisis de esta pérdida de fluorescencia da como resultado una curva de desnaturalización (*análisis de curvas de meeting de DNA*) que permite saber que alelos han sido amplificados y por tanto el genotipo correspondiente del paciente.³⁴⁵

Primers.

Madre: 20 μ M:

P upper salvaje (10) = 5'-AAGGTGTCTGCGGGAGC-3'

Madre: 13 μ M:

P upper mutado cola (10cc) =

5'-GCGGGCAGGGCGGCGGGGGCGGGGCCAAGGTGTCTGCGGGAGT-3'

Madre: 20 μ M:

P down (11) = 5'-GGAAGAATGTGTCAGCCTCAAAGA-3'

Protocolo de amplificación.

Para 1 μl de sangre seca:	(40 μl)
Master -----	20 μ l
Primer 10 (0.3 μ M) -----	0.6 μ l
Primer 11 (0.3 μ M) -----	0.6 μ l
Primer 10cc (0.2 μ M) -----	0.61 μ l
H ₂ O -----	18.19 μ l

Protocolo del termociclador:

95° C – 3 minutos

45 CICLOS:

94° C – 10 segundos

60.5° C – 40 segundos

72° C – 15 segundos

Melting:

95° C – 1 minuto

70° C – 1 minuto

(X 50) 70° C – 10 segundos . Incrementos de temperatura de 0.5° C.

Resultados.

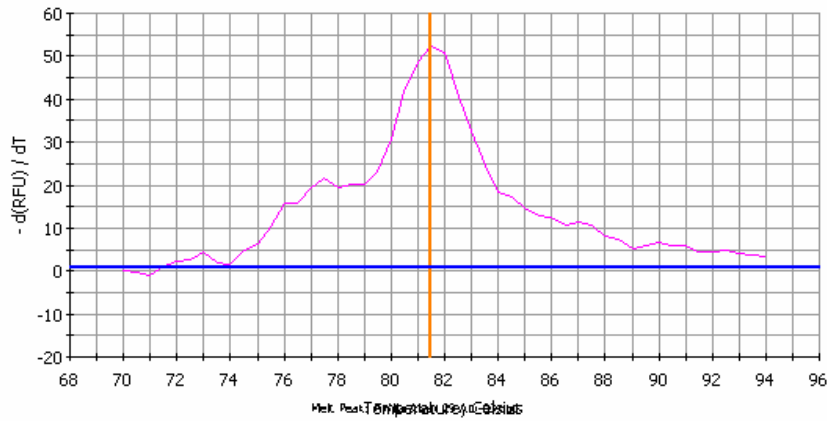


FIG.2 Curva del genotipo homocigótico salvaje (CC) (sangre)

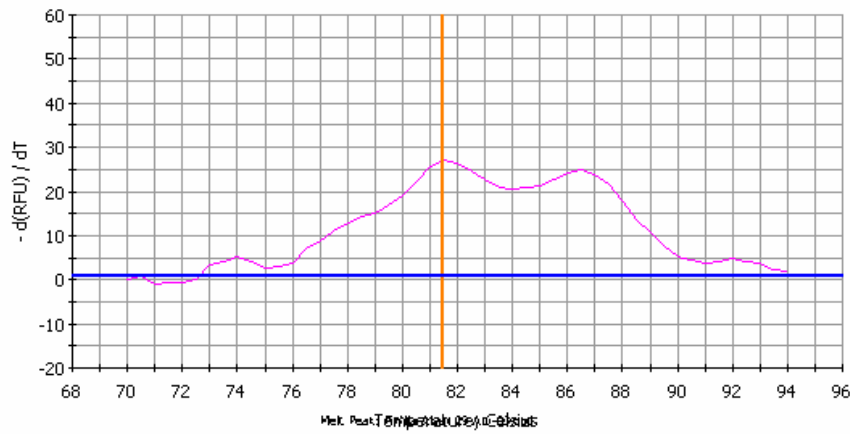


FIG.3 Curva del genotipo heterocigótico (CT) (sangre)

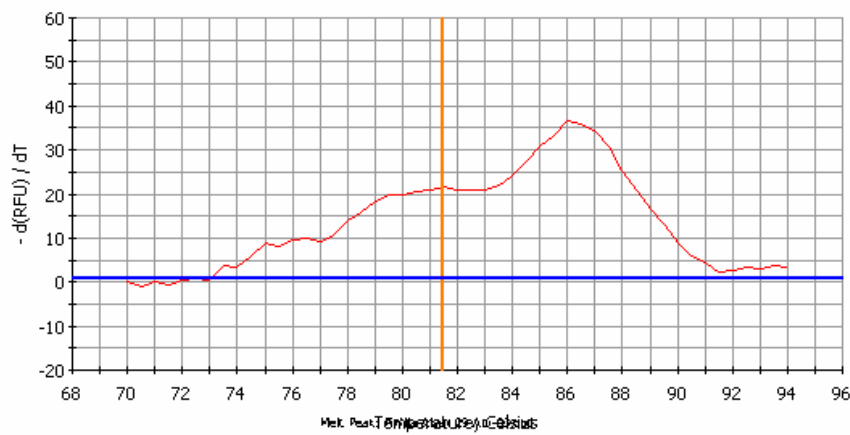


FIG.4 Curva del genotipo homocigótico mutado (TT) (sangre)

VII. DETERMINACIÓN DE LA HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA.

Las muestras para la determinación de la Hcy plasmática fueron recogidas en tubos con EDTA, situadas en hielo y centrifugadas en los primeros 20 minutos tras su extracción a 3000 rpm durante 15 minutos a 4° C. El plasma fue separado y posteriormente congelado a -80 °C hasta el análisis cuantitativo.

La determinación de Hcy se realizó mediante una modificación de la técnica de Cole et al., que consiste en una cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección electroquímica, previa reducción de todas las formas de Hcy con Tris (2-carboxietil) fosfina (TCEP).³⁴⁶

Procedimiento de extracción.

- a. Se añadieron 150 µl de plasma a un tubo de centrifuga de 1.8 ml
- b. Se añadieron 75 µl del agua destilada al plasma.
- c. Se añadieron 25 µl de la solución de TCEP (60 g/L en agua destilada).
- d. Se mezclaron durante 60 segundos en vórtex.
- e. Se dejó reposar durante 10 minutos como mínimo.
- f. Se añadieron 500 µl de solución 0,3 M de ácido perclórico, previamente enfriada.
- g. Se mezcló durante 30 segundos en vórtex.
- h. Se centrifugó a 10.000 rpm durante 10 minutos.
- i. Se recogieron 100µl del sobrenadante y se pusieron en un vial.
- j. Se pincharon 20 µl de la muestra del vial en el puerto de inyección del HPLC.

Preparación de la curva estándar.

Se preparó una solución madre 4 mM de Hcy, disolviendo 54,1 mg en 100 mL de ácido perclórico 0,3 M. Esta solución se almacenó a 4°C y se preparó fresca cada cuatro semanas. En cada jornada de trabajo se diluyó la solución madre a 1:100 con agua destilada

(50 μL de solución madre más 4950 μL de agua), obteniéndose una concentración 40 μM de Hcy.

A partir de esta solución se hicieron diluciones crecientes para construir una curva de calibración de Hcy de 40, 30, 20, 10, 5 y 0 μM . Una vez preparada la curva, se trató cada punto como una muestra más, tal como se detalla en el procedimiento de extracción.

Condiciones cromatográficas y de detección.

Fase móvil: Solución 0.15 M de Fosfato monobásico con 1.0 mM de sodio dodecilsulfato y 10% de acetonitrilo (pH final 2.90 ajustado con ácido ortofosfórico).

Columna: Columna C-18 de fase reversa de 3 μm de diámetro y de 80x4,6 mm de tamaño (ESA[®] HR-80).

Flujo: 1,2 mL/min. Volumen de inyección: 20 mL. Temperatura: Ambiente.

Detector electroquímico: Se utilizó un detector coulumbimétrico ESA[®] II 5200 A con una célula guarda modelo 5020 y una célula analítica modelo 5010. Se establecieron las siguientes condiciones de potencial:

Guard Cell	+800 mV			
Electrodo 1	+ 400 mV	R 5 μA	Filtro: 5 s	Salida: 1 V
Electrodo 2	+ 750 mV	R 5 μA	Filtro: 5 s	Salida: 1 V

Obtención de resultados.

Una vez identificado el pico de la Hcy, se generó una curva de calibración usando el área de los picos de los standards frente a sus respectivas concentraciones y se realiza un ajuste lineal mediante análisis de regresión. Se sustituyen los valores de las áreas de las muestras en la curva para obtener los resultados.

Se obtuvieron unos coeficientes de variación intra e interensayo de 2.0 y 5.8% respectivamente. No se observaron interferencias en las muestras plasmáticas. En el cromatograma aparecen otros picos correspondientes a moléculas con grupos tioles, tales

como la cisteína, cisteín-glicina, glutatión, etc., pero ninguno de ellos se solapó con el pico de la Hcy.

VIII. SEGUIMIENTO CLÍNICO.

Se realizó mediante encuesta telefónica, entrevista personal y consulta de historias clínicas. Se consignaron los siguientes datos:

- Meses de seguimiento.
- Mortalidad de origen cardiovascular.
- Aparición de eventos cardiovasculares mayores:

Muerte de causa cardiovascular.

Reingreso por SCA, Insuficiencia Cardíaca o Arritmia Ventricular.

Necesidad de revascularización coronaria.

IX. PROCESO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos fueron recogidos en una base de datos realizada con el programa FileMaker Pro v.5.0. Con posterioridad fueron procesados con el paquete estadístico SPSS v.11.0 (SPSS Inc.).

Las variables cuantitativas se expresan como media \pm desviación estándar y las cualitativas como porcentajes.

La comparación de diferencias entre las variables cualitativas se realizó mediante el test de la χ^2 o el test exacto de Fischer.

Se comprobó la distribución normal de las variables cuantitativas mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se utilizó el test de la t de Student para comparar las diferencias entre las variables cuantitativas (si seguían una distribución normal). Aquéllas que no seguían una distribución normal fueron analizadas mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney.

El estudio de correlación entre variables cuantitativas continuas se realizó mediante regresión lineal, obteniéndose el valor del coeficiente de correlación (r) de Pearson, que relaciona la variable dependiente con el resto de variables independientes.

El estudio multivariado se realizó mediante regresión logística.

Las curvas de supervivencia global y libre de eventos se analizaron mediante el método de Kaplan-Meier.

El estudio de variables relacionadas con el pronóstico en el seguimiento se realizó utilizando análisis multivariable mediante el método de Regresión de Cox.

El nivel de significación estadística se estableció en los diferentes test empleados para un valor de $p < 0,05$ en sentido bilateral.

RESULTADOS

I. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LA POBLACIÓN

ESTUDIADA.

A. CONTROLES.

EDAD Y SEXO.

La edad media del grupo de controles fue de 62,1 años, con un rango comprendido entre 38 y 79 años, y una desviación típica de 10,86 años.

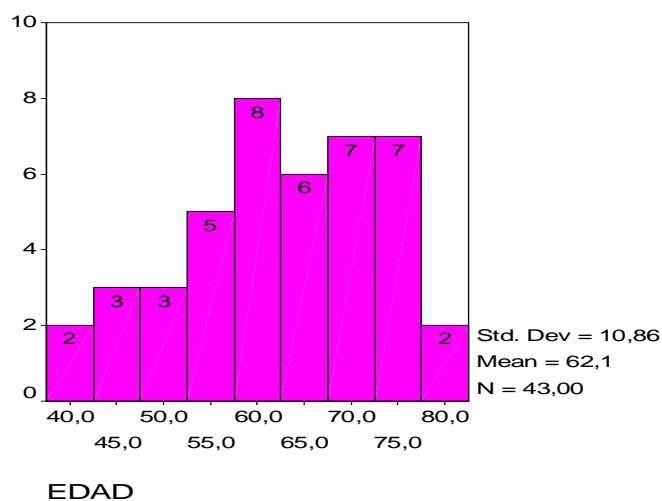


Figura 5. Distribución por edades del grupo de controles.

El 55,8% fueron varones y el 44,2% fueron mujeres ($p < 0,01$).

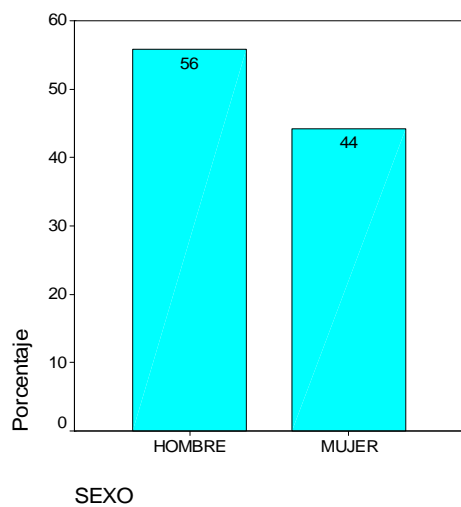


Figura 6. Distribución por sexos del grupo control.

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR (FRCV).

El FRCV más frecuente fue la HTA (51,2%), seguido por el tabaquismo (46,5%), la dislipemia (27,9%) y la diabetes (9,3%). El puntaje medio fue de 2,47, desviación típica 0,9. Ninguno de los controles presentó historia familiar de cardiopatía isquémica ni antecedentes personales de arteriopatía periférica ni de fenómenos trombóticos sistémicos. El 2,3% habían sido diagnosticados de insuficiencia renal crónica. El 2,3% presentaron antecedentes de enfermedad cerebrovascular.

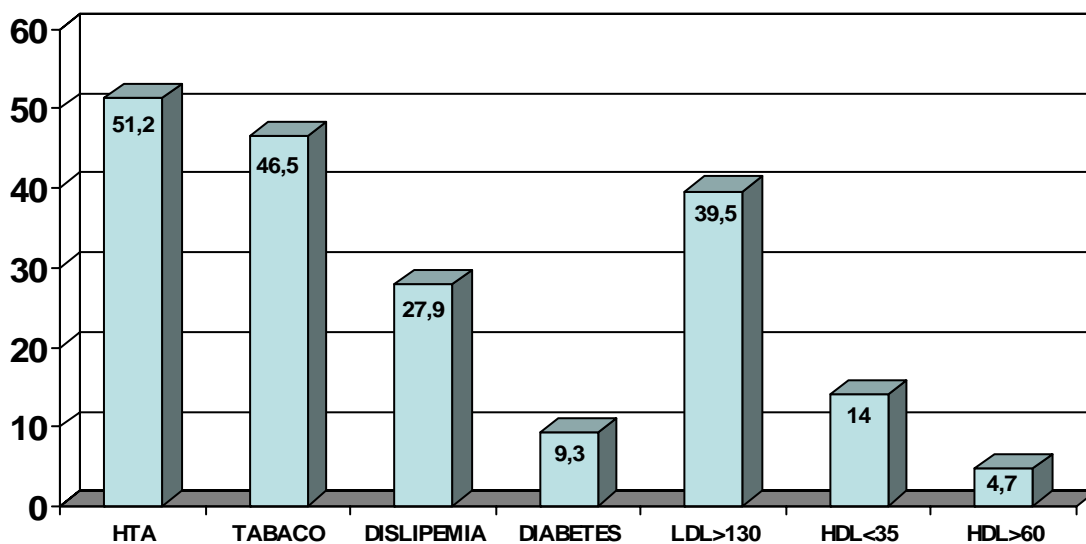


Figura 7. Distribución de FRCV clásicos en el grupo control.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

El 27,9% no tenían antecedentes de cardiopatía previa. El 58,1% tenían antecedentes de cardiopatía valvular, el 2,3% de miocardiopatía y el 7% de cardiopatía isquémica (ninguno había sufrido un IAM previo). Un 2,3% había sido sometido previamente a coronariografía.

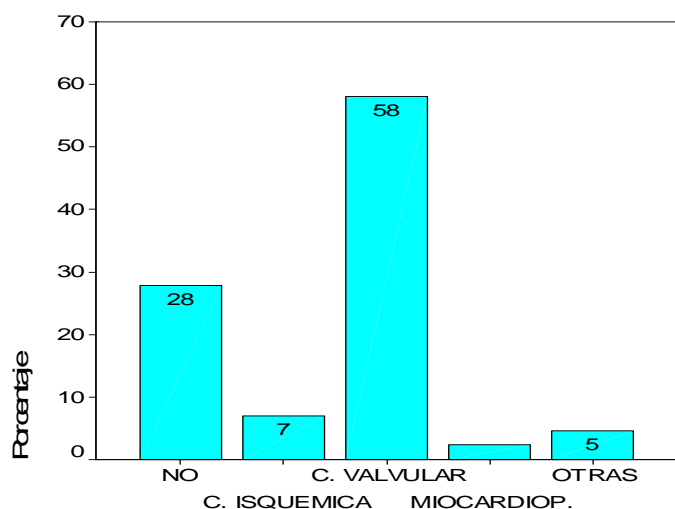


Figura 8. Antecedentes de cardiopatía en el grupo de controles.

El motivo para la realización de coronariografía en este grupo fue mayoritariamente la insuficiencia cardíaca (62,8%), seguida por síntomas anginosos (30,2%) y las arritmias ventriculares (4,7%). No se recogieron complicaciones durante ni después del procedimiento.

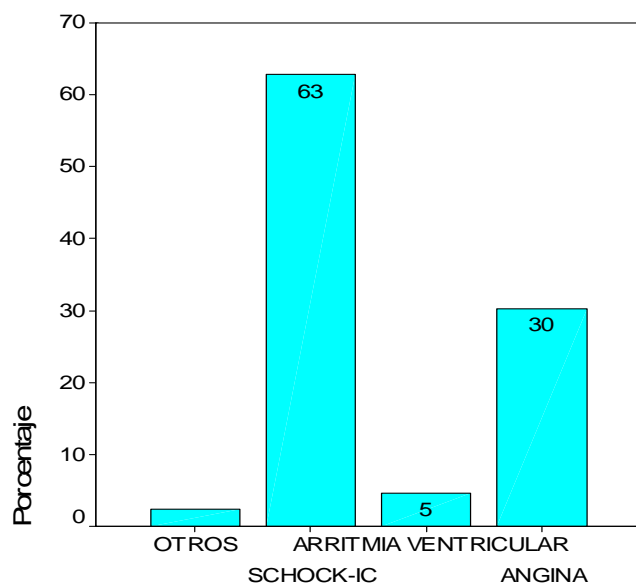


Figura 9. Motivo de realización de coronariografía en el grupo de controles.

La FEVI media fue de 63,2%, desviación típica 10,34, rango 34-83%. El 76,7% presentó FEVI normal. En el 16,3% se apreció una depresión leve de la FEVI.. Encontramos disfunción ventricular moderada en el 4,7% y severa en el 2,3%.

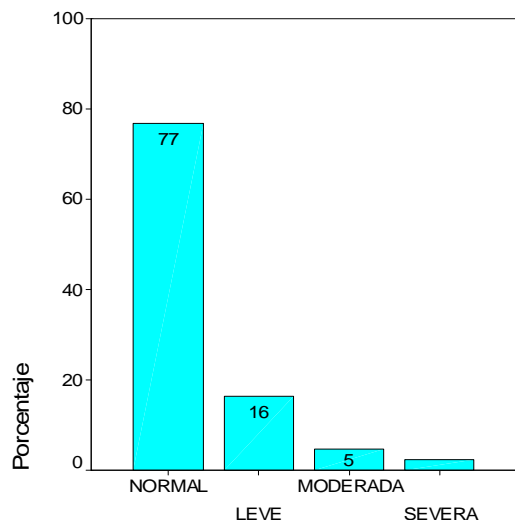


Figura 10. FEVI en el grupo de controles.

TRATAMIENTO AL ALTA

Un 23,3% de los pacientes recibieron tratamiento con antiagregantes, un 9,3% con betabloqueantes, un 16,3% con bloqueantes de los canales del calcio, un 4,7% con nitratos, un 16,3% con anticoagulantes, un 14% con estatinas, un 41,9% con IECAs y un 48,8% con diuréticos.

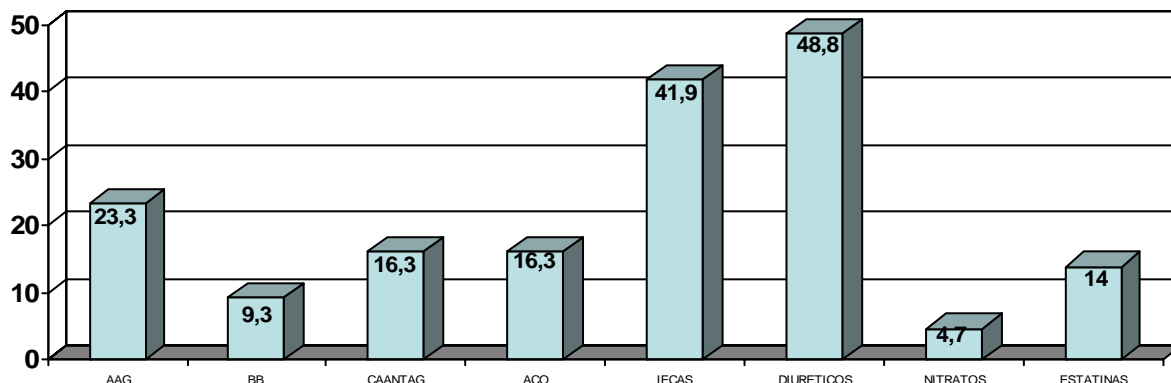
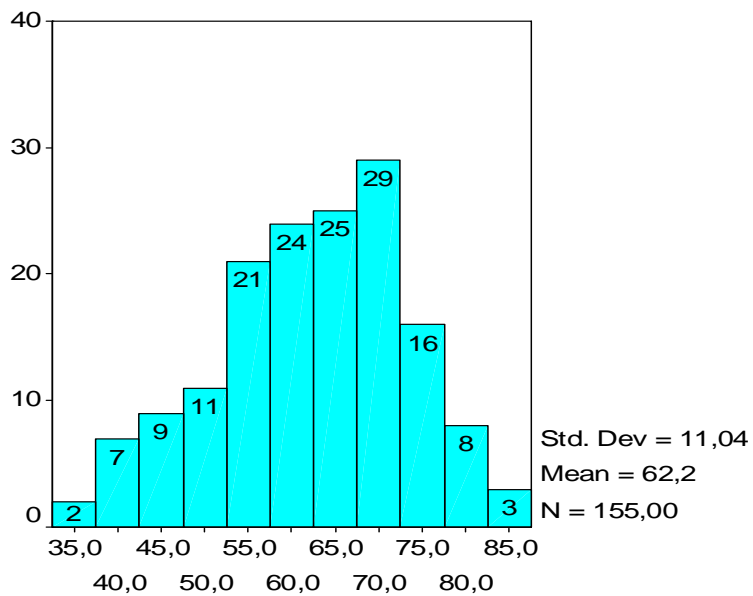


Figura 11. Tratamiento al alta en el grupo de controles.

B. CASOS.

EDAD Y SEXO

La edad media del grupo de casos fue de 62,2 años, con un rango comprendido entre 33 y 87 años, y una desviación típica de 11,0 años.



EDAD

Figura 12. Distribución por edades del grupo de casos.

El porcentaje de varones en el grupo de casos fue del 76,8% (119) y el 23,2% fueron mujeres (36).

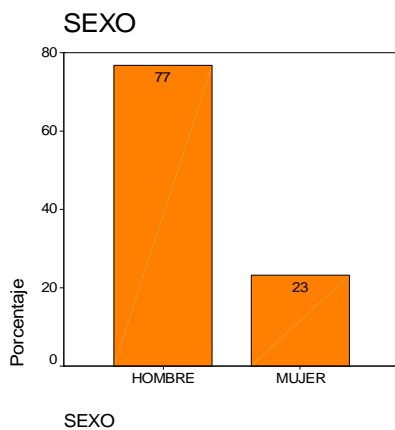


Figura 13. Distribución por sexo del grupo de casos.

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR.

El FRCV más prevalente fue el tabaquismo (61,9%), seguido por la dislipemia (53,5%), la HTA (52,3%) y la diabetes (37,4%). El puntaje medio fue de 3,45, con una desviación típica de 1,01. En el 11% se registró historia familiar de cardiopatía isquémica precoz. 9 pacientes (5,8%) habían sido diagnosticados previamente de insuficiencia renal crónica. Un paciente tenía antecedentes de enfermedad vascular cerebral. 9 pacientes presentaban arteriopatía periférica. Ningún paciente tenía antecedentes de trombosis venosa profunda ni de tromboembolismo pulmonar.

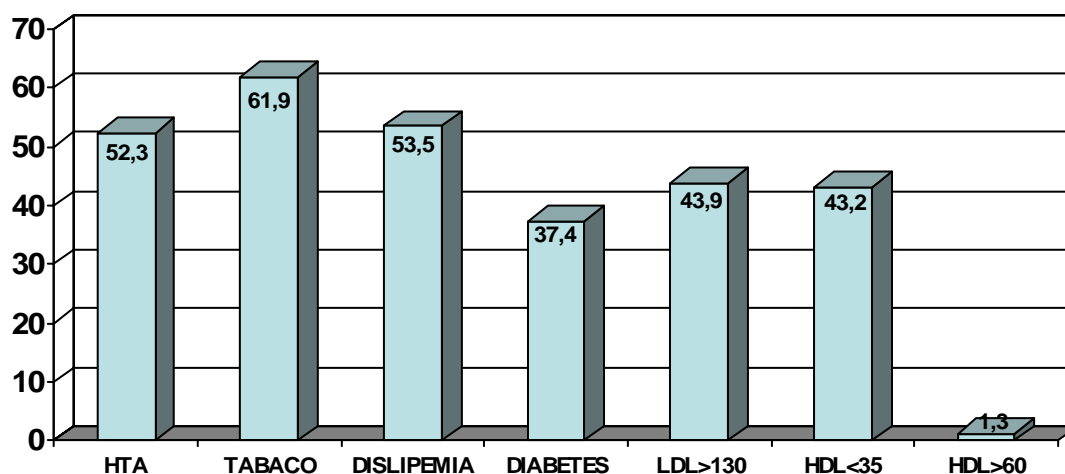


Figura 14. Distribución de FRCV en el grupo de casos.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

Un 49% (76 pacientes) no tenían antecedentes de cardiopatía. 74 pacientes (47,7%) habían sido diagnosticados de cardiopatía isquémica antes del ingreso: 34 por SCACEST (15 IAM anteriores, 19 IAM inferiores), 23 por SCASEST y 17 por angina estable. 2 pacientes estaban diagnosticados de cardiopatía valvular. 1 paciente tenía antecedentes de cardiopatía hipertensiva y otro de miocardiopatía dilatada.

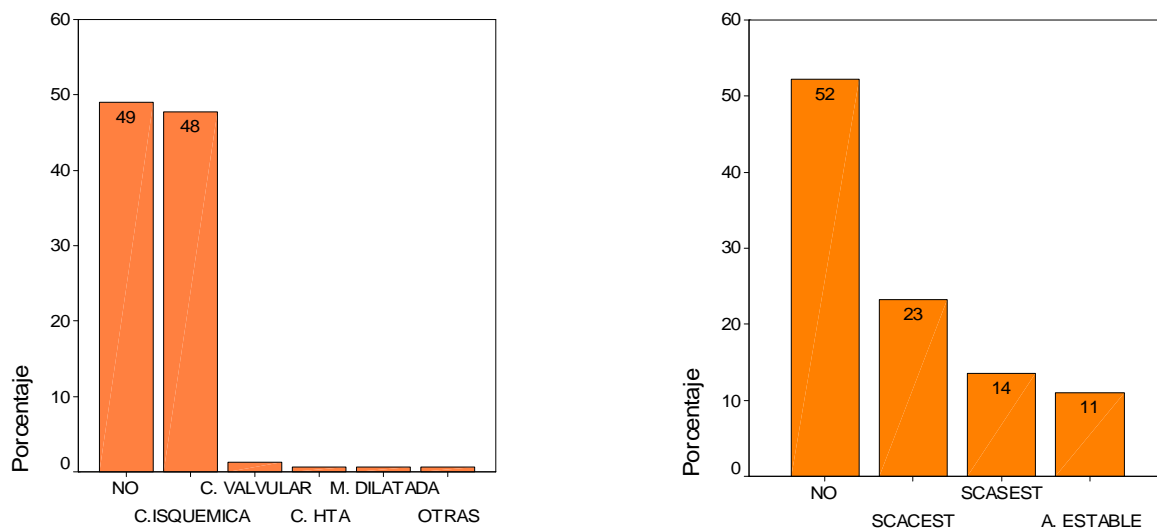


Figura 15. Antecedentes de cardiopatía en general y cardiopatía isquémica en el grupo de casos.

Treinta y cuatro pacientes habían sido sometidos a coronariografía previa: 17 enfermedad monovaso, 11 enfermedad de dos vasos, 5 enfermedad de tres vasos y 1 enfermedad de TCI.

El 71% (109 pacientes) presentaron un SCASEST: 16 IAMNQ (14,7%), 93 angina inestable (85,3%). El 26,5% (41 pacientes) presentaron un SCACEST: 16 IAM anteriores (39%), 23 IAM inferiores/posteriores (56%), 2 laterales (5%). 30 pacientes fueron sometidos a tratamiento fibrinolítico (73,2%). 23 pacientes presentaron angina postIAM (56%). En 4 pacientes el motivo de ingreso fue insuficiencia cardíaca/shock cardiogénico y en un paciente una arritmia ventricular sostenida.

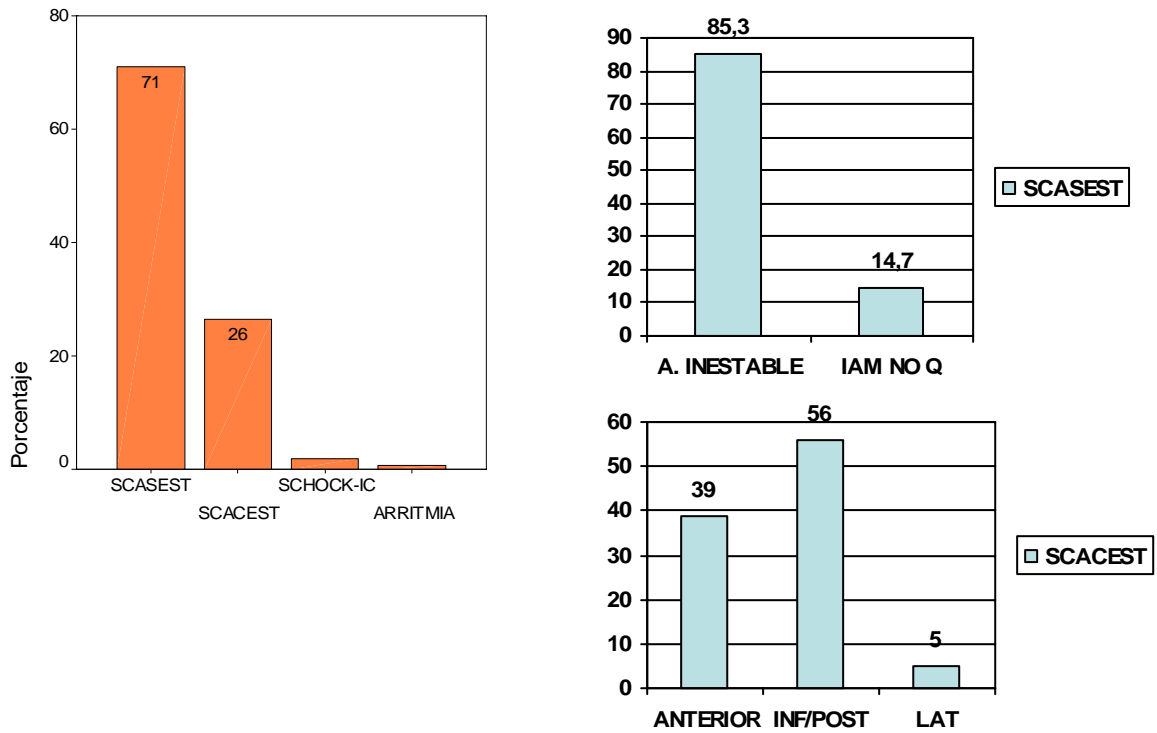


Figura 16. Forma de presentación del SCA en el grupo de casos.

El motivo para la realización de coronariografía fue en la mayoría de los casos SCASEST con criterios de alto riesgo según la Sociedad Española de Cardiología (65,8%), seguido por la isquemia inducible a baja carga (20,6%) y la insuficiencia cardíaca/FEVI deprimida postIAM (9,7%).

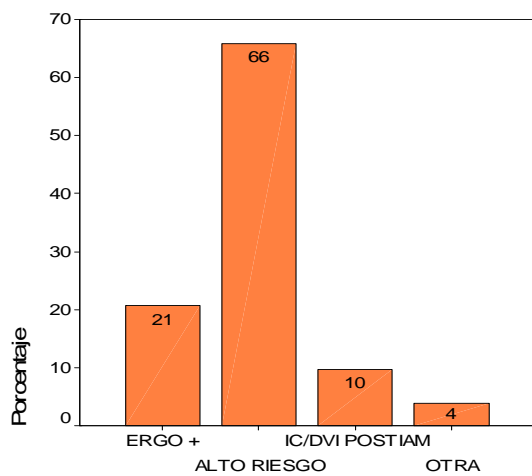


Figura 17. Motivo para la realización de coronariografía en el grupo de casos.

La FEVI media fue de 56,66 con una desviación típica de 15,03. El 59,4% tenían FEVI conservada. El 17,4% presentaban FEVI levemente deprimida y el 14,8% moderadamente deprimida. Sólo el 8,4% mostraron FEVI severamente deprimida.

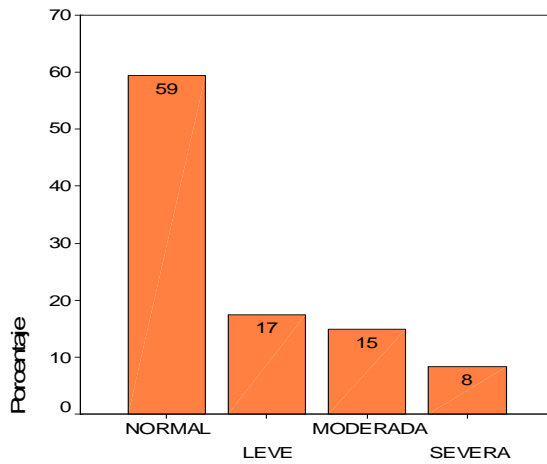


Figura 18. FEVI en el grupo de casos.

El 25,8% (40 pacientes) presentó complicaciones durante la estancia hospitalaria: insuficiencia cardíaca 13 pacientes (8,4%), disfunción mitral 1 paciente (0,6%), 2 arritmias ventriculares malignas (1,3%), 1 fibrilación auricular (0,6%), 23 angina postIAM (14,8%).

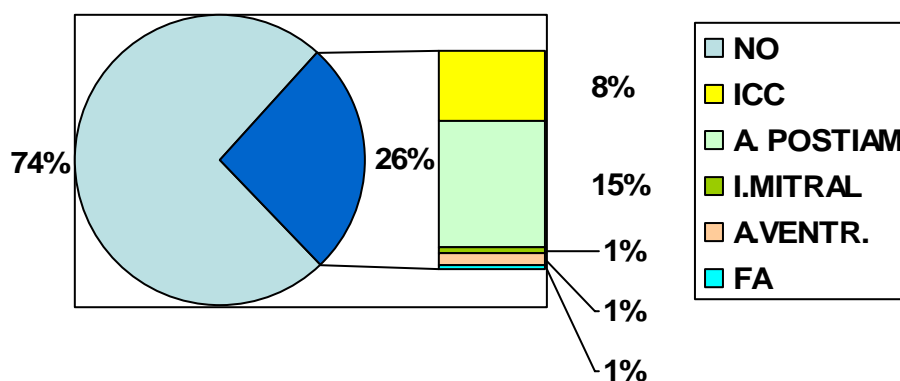


Figura 19. Complicaciones en el grupo de casos.

CARACTERÍSTICAS ANGIOGRÁFICAS.

El número medio de vasos con lesiones significativas fue de 1,75 con una desviación típica de 0,9. El 45,8% (71 pacientes) presentaron enfermedad coronaria monovaso; el 24,5% (38 pacientes), enfermedad de dos vasos; en el 21,3% (33 pacientes) se objetivó enfermedad coronaria de tres vasos y sólo un 4,5% (7 pacientes) presentó lesión severa en el TCI. Se objetivó lesión severa en la DA en el 63,9% (99 pacientes) y afectación multivaso (al menos tres arterias coronarias principales y/o afectación de TCI) en el 25,8% (40 pacientes). El tipo de lesión predominante según la ACC/AHA fue compleja: B2 (45,8%), seguida por la tipo C (34,2%), la B1 (14,8%) y la A (5,2%).

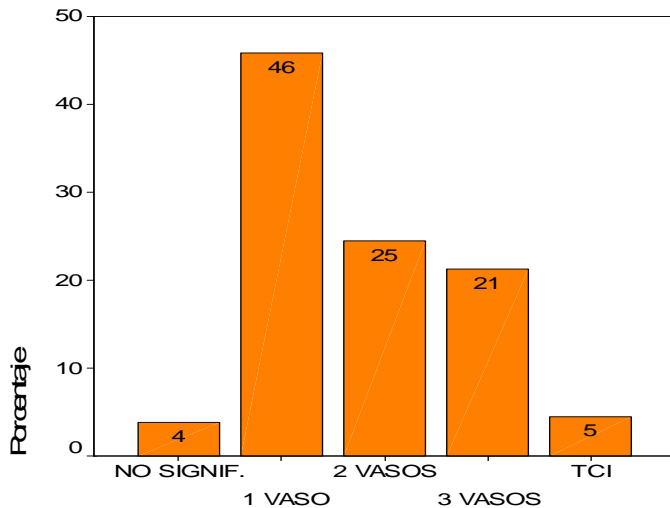


Figura 20. Número de vasos con lesiones significativas en el grupo de casos.

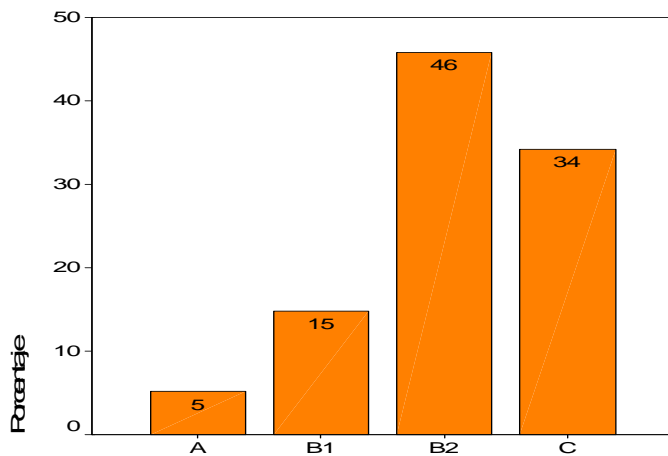


Figura 21. Severidad de la lesión coronaria según ACC/AHA

Se realizó revascularización coronaria en 114 pacientes (73,5%); percutánea en el 60,6% (94 pacientes) y quirúrgica en el 12,9% (20 pacientes). No se realizó revascularización mixta en ningún paciente. La revascularización fue completa en 89 pacientes (78%) y se realizó revascularización múltiple (al menos dos vasos coronarios) en 32 pacientes (28%). En 51 pacientes (32,9%) se objetivó la presencia de trombo arterial en la lesión responsable del SCA.

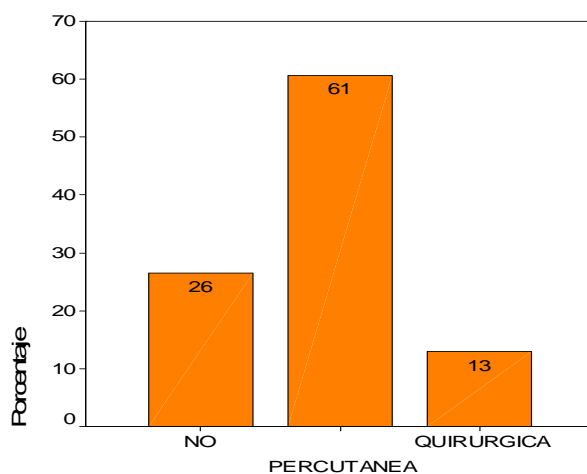


Figura 22. Revascularización coronaria en el grupo de casos.

TRATAMIENTO AL ALTA.

Se realizó tratamiento con anti-IIbIIIa en 45 pacientes (29%). Todos los pacientes recibieron antiagregantes al alta (aspirina, ticlopidina, clopidogrel). El 73,5% (114 pacientes) se fueron de alta con tratamiento betabloqueante y el 18,1% (28 pacientes) con calcioantagonistas. Ningún paciente fue anticoagulado. El 36,8% (57 pacientes) recibieron nitratos (orales o en formulación transdérmica) al alta. El 51,6% (80 pacientes) recibieron estatinas y sólo el 49% (76 pacientes) IECAs. El 14,8% (23 pacientes) se fueron de alta bajo tratamiento diurético.

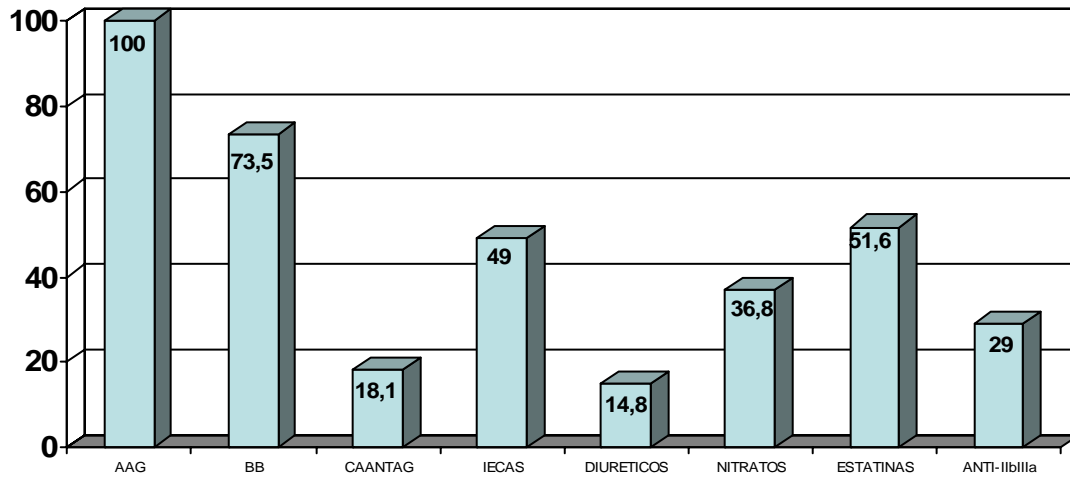


Figura 23. Tratamiento al alta en el grupo de casos.

II. ESTUDIO COMPARATIVO CASOS-CONTROLES.

A. CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR.

No se encontraron diferencias en cuanto a la edad media: $62,12 \pm 10,86$ en el grupo de controles frente a $62,18 \pm 11,04$ en el grupo de casos, $p = 0,97$.

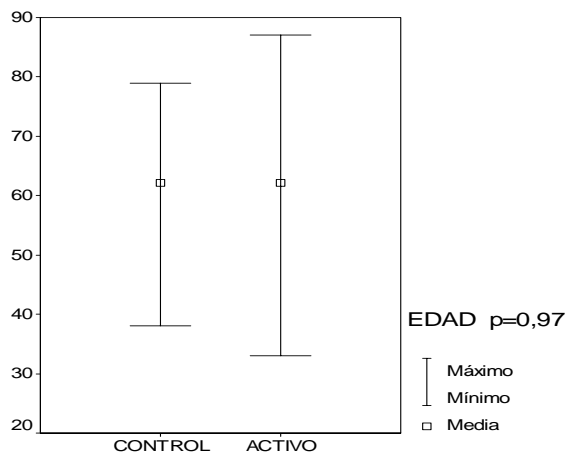


Figura 24. Comparación de la edad media entre los grupos control y activo

En el grupo control se objetivó un mayor porcentaje de mujeres: 44,2% frente a 23,2% en el grupo de casos; $p < 0,01$.

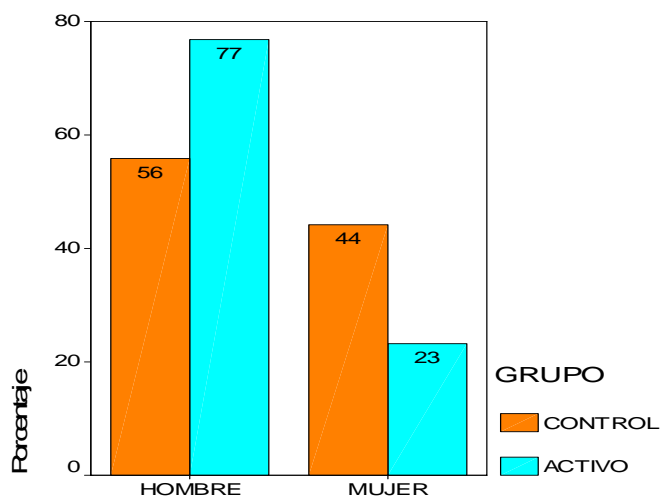


Figura 25. Comparación de sexos entre ambos grupos.

En cuanto a la distribución general de FRCV encontramos que el grupo de casos presentó un mayor puntaje medio que el grupo de controles: $3,45 \pm 1,01$ frente a $2,47 \pm 0,93$, $p < 0,001$.

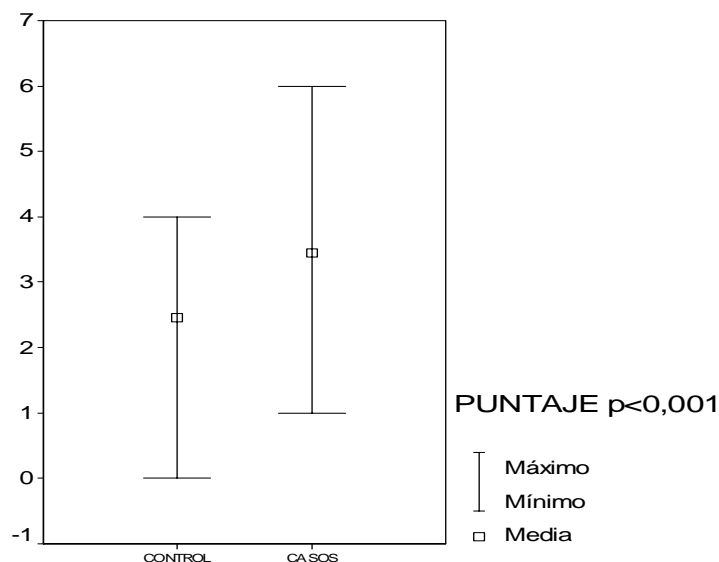


Figura 26. Comparación del puntaje de FRCV entre ambos grupos.

No se encontraron diferencias entre ambos grupos respecto a la prevalencia de HTA: 52,3% en el grupo de casos y 51,2% en el de controles; $p = 0,89$. En el grupo de casos se constató un mayor porcentaje de diabéticos: 37,4% frente a 9,5%, $p = 0,001$; así mismo hubo un mayor porcentaje de pacientes con dislipemia en el grupo de casos: 53,5% frente a 27,9%, $p = 0,003$. Aunque el porcentaje de fumadores en el grupo de casos fue mayor (61,9% frente a 49,5%) esta diferencia no alcanzó significación estadística ($p = 0,11$). En el grupo de casos se encontró antecedentes de cardiopatía isquémica en el 11%, mientras que ningún paciente del grupo control presentaba dichos antecedentes ($p = 0,02$). No encontramos diferencias en la prevalencia de cifras de LDL mayores de 130 mg/dl (43,9% en el grupo de casos frente a 39,5% en el de controles, $p = 0,61$) ni respecto a la prevalencia de HDL mayor de 60 mg/dl (1,3% en el grupo activo frente a 4,7% en el de controles; $p = 0,20$); sin embargo sí encontramos diferencias respecto a la prevalencia de pacientes con HDL inferior a 35 mg/dl

(43,2% en el grupo de casos frente a 14% en el grupo de controles; $p < 0,001$).

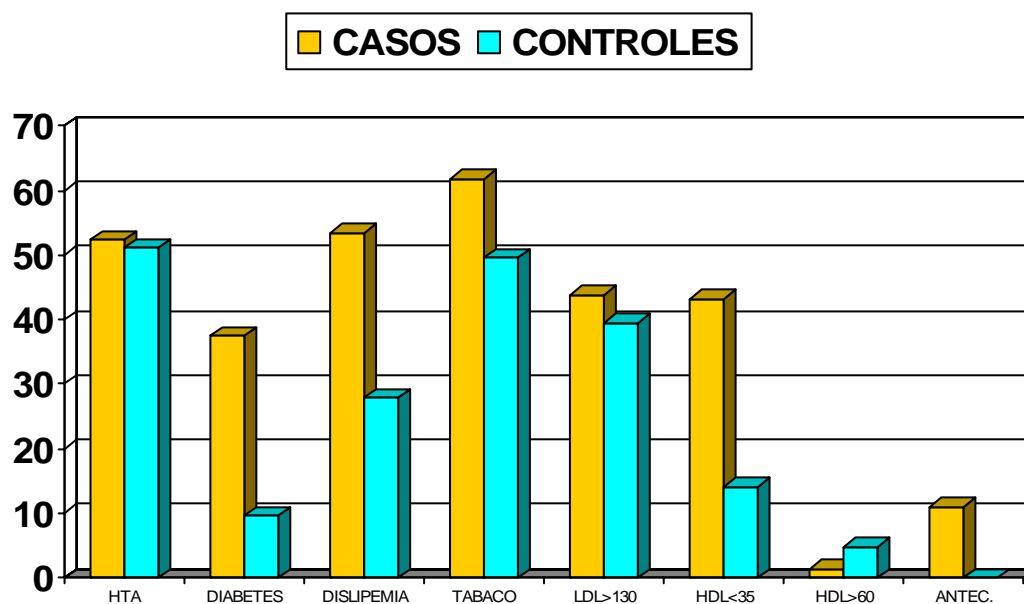


Figura 27. Comparación de FRCV entre ambos grupos.

B. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

No encontramos diferencias entre ambos grupos al analizar los antecedentes de insuficiencia renal crónica (5,8% en el grupo de casos y 2,3% en el de controles; $p = 0,69$), enfermedad cerebrovascular (0,6% en el grupo de casos y 2,6% en el grupo de controles; $p = 0,38$) ni de arteriopatía periférica (5,8% entre los casos y 0% en los controles; $p = 0,21$). No se describieron casos de trombosis venosa profunda/tromboembolismo pulmonar en ninguno de los dos grupos.

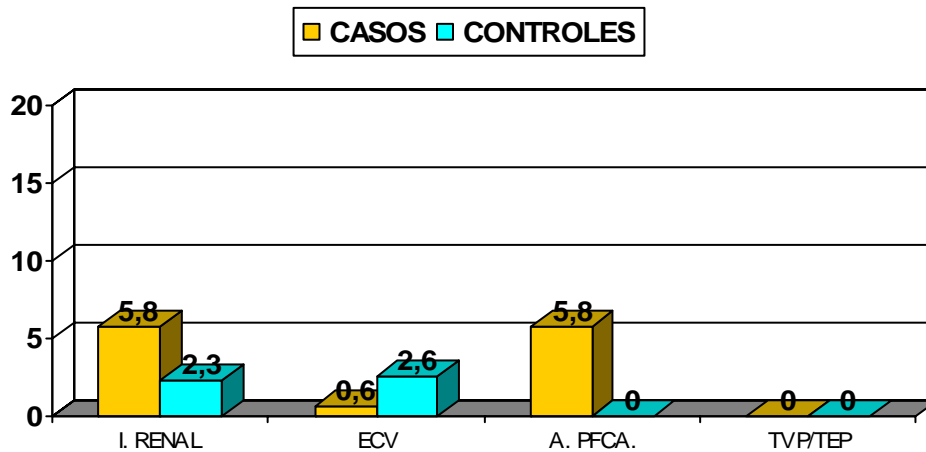


Figura 28. Comparación de patologías previas entre ambos grupos.

Al analizar la presencia de cardiopatía previa sí encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Así, en el grupo de casos existían menos antecedentes en general de enfermedad cardíaca previa (27,9% frente a 49%; $p < 0,001$). La distribución de la cardiopatía también era distinta: en el grupo de casos predominaba la cardiopatía isquémica (74 pacientes, 47,7%), mientras que en el grupo de controles predominaba la cardiopatía valvular (25 pacientes, 58,1%; $p < 0,001$).

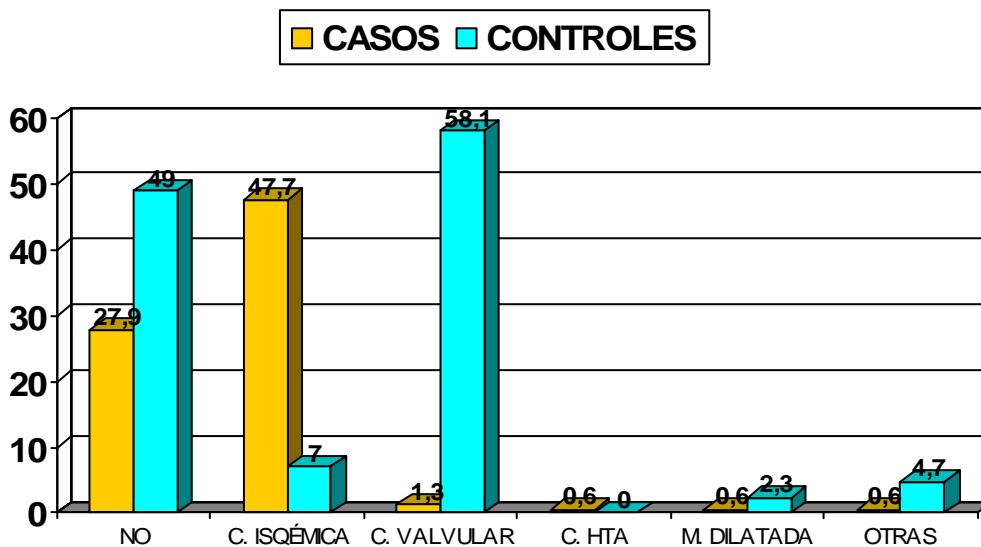


Figura 29. Comparación de cardiopatía previa entre ambos grupos.

El grupo activo tenía también mayor porcentaje de antecedentes de coronariografía previa: 21,9% frente a 2,3%; $p = 0,003$. También encontramos diferencias al analizar la cardiopatía motivo de ingreso: predominaron los SCASEST en el grupo activo (71%) mientras que en los controles predominó la insuficiencia cardíaca (62,8%); $p < 0,001$.

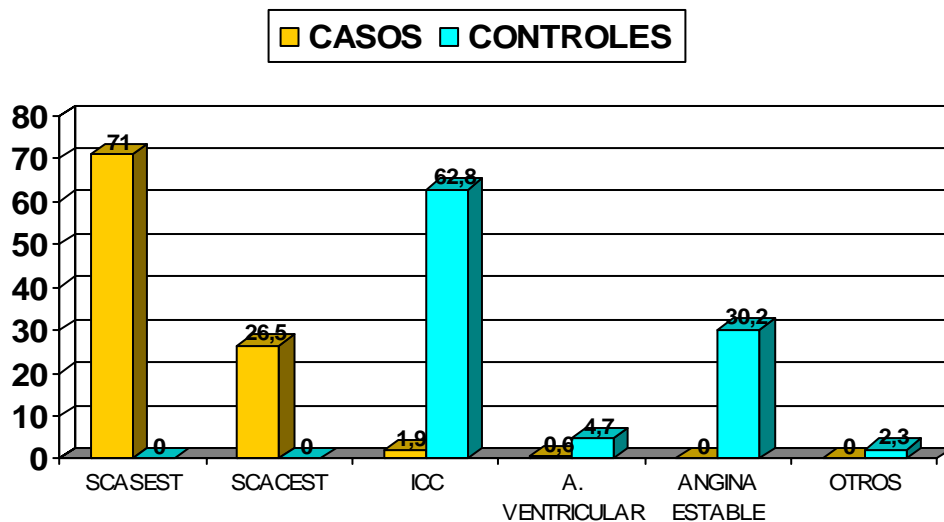


Figura 30. Comparación de cardiopatía actual en ambos grupos.

También encontramos diferencias al analizar el porcentaje de complicaciones entre los dos grupos. Entre los casos se objetivaron complicaciones durante el ingreso en el 25,8% de los pacientes (descritas en el análisis de características clínicas del grupo de casos) mientras que ninguno de los pacientes del grupo control presentó complicaciones, $p < 0,001$.

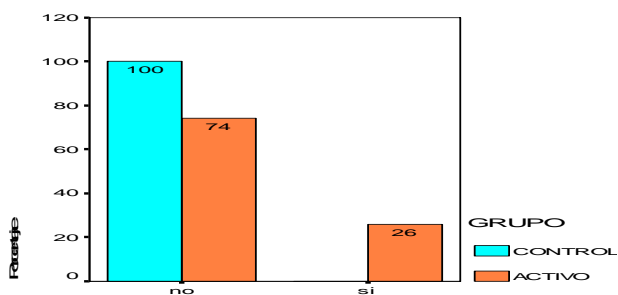


Figura 31. Complicaciones en ambos grupos.

Al analizar el motivo para la realización de la coronariografía también encontramos diferencias entre ambos grupos. El motivo principal para ello en el grupo de casos fueron los criterios de alto riesgo según la Sociedad Española de Cardiología (65,8%) mientras que en el grupo de controles predominó el estudio de la anatomía coronaria en el protocolo previo a cirugía de recambio valvular (88,4%); $p < 0,001$.

La fracción de eyección media fue menor en el grupo de casos que en el de controles: $56,66 \pm 15,03$ frente a $63,21 \pm 10,34$, $p < 0,01$.

En el grupo control encontramos un mayor porcentaje de pacientes con FEVI normal (76,7% frente a 59,4%; $p = 0,03$), mientras que en el grupo de casos hubo un mayor porcentaje de pacientes con FEVI deprimida en grado moderado o severo (23,2% frente a 9,3%; $p = 0,04$).

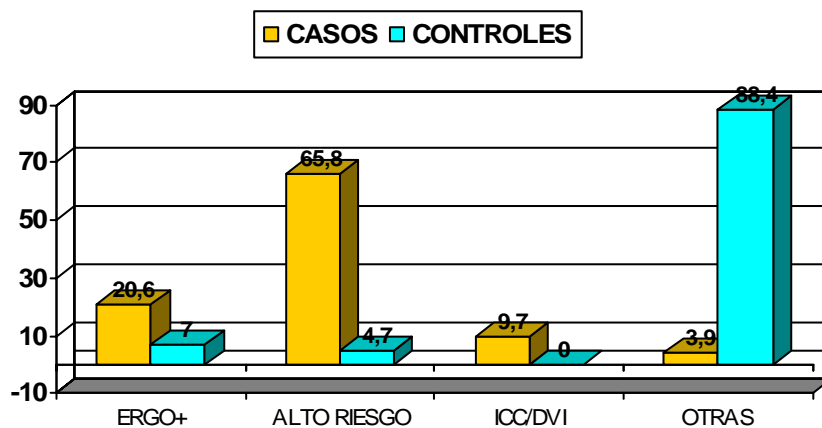


Figura 32. Indicación para la realización de coronariografía.

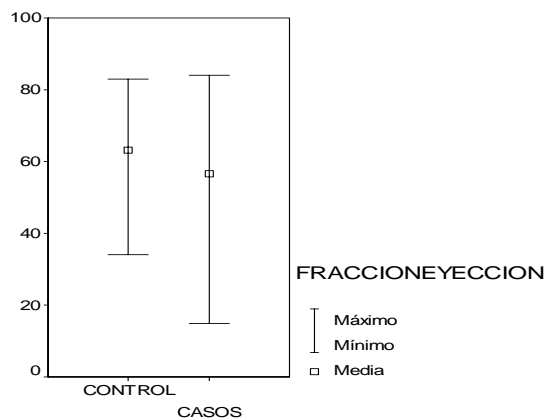


Figura 33. Fracción de eyección media.

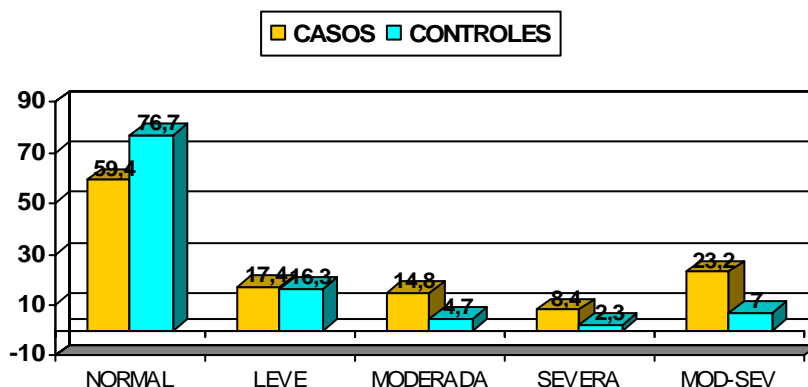


Figura 34. Comparación de FEVI en ambos grupos.

C. TRATAMIENTO AL ALTA.

Un mayor porcentaje de pacientes del grupo de casos fue dado de alta bajo tratamiento con antiagregantes plaquetarios (100% frente a 23,8%, $p < 0,001$), betabloqueantes (73,5% frente a 9,5%, $p < 0,001$), nitratos (36,8% frente a 4,8%, $p < 0,001$) y estatinas (51,6% frente a 14,3%, $p < 0,001$); mientras que un mayor porcentaje de pacientes del grupo control recibió al alta tratamiento con anticoagulantes (16,7% frente a 0%, $p < 0,001$) y diuréticos (50% frente a 14,8%, $p < 0,001$). No se encontraron diferencias en el porcentaje de pacientes bajo tratamiento con calcioantagonistas ni IECAs (18,1% en el grupo de casos frente a 16,7% en el grupo de controles, $p = 0,83$; 49% frente a 42,9%, $p = 0,47$; respectivamente).

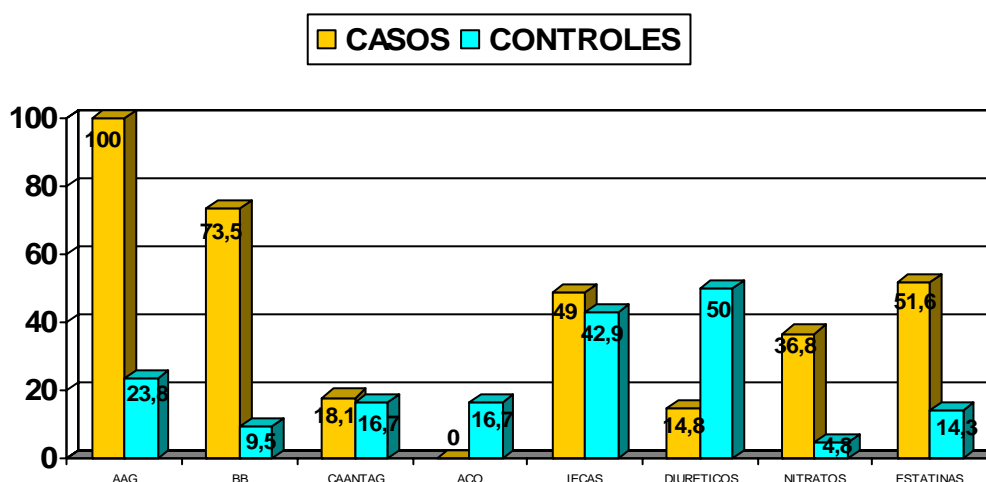


Figura 35. Tratamiento al alta.

D. ESTUDIO ANALÍTICO GENERAL.

En las tablas 7-9 se presentan los resultados de las determinaciones analíticas generales realizadas en cada subgrupo de pacientes y la significación estadística de las diferencias observadas.

Tabla 7. Resultados del estudio hematológico y coagulación.

	Hb g/dl	Leuc 10 ³ /mm ³	Plaq 10 ³ /mm ³	AP %	TPTA Seg	Hb1AC g/dl
Media Casos	13,45	8,31	218,87	90,79	26,29	5,98
Desviación estándar	1,61	2,6	72,84	12,64	4,45	1,40
Media Controles	13,53	8,01	214,13	89,22	25,51	5,37
Desviación estándar	1,90	2,35	59,55	15,25	10,43	0,99
Significación	0,79	0,49	0,69	0,49	0,46	0,008

Tabla 8. Resultados del estudio bioquímico I.

	Glu mg/dl	Urea mg/dl	Creat mg/dl	Úrico mg/dl	GOT UI/l	GPT UI/l
Media Casos	117,50	46,14	1,07	6,37	27,66	41,05
Desviación estándar	37,09	19,14	0,37	5,93	26,08	28,69
Media Controles	110,58	46,58	0,96	5,98	23,33	32,07
Desviación estándar	48,88	19,67	0,18	1,63	13,07	39,28
Significación	0,31	0,89	0,06	0,67	0,29	0,09

Tabla 9. Resultado del estudio bioquímico II.

	Col mg/dl	LDL mg/dl	HDL mg/dl	TG mg/dl	Na mmol/l	K mmol/l
Media Casos	189,50	197,66	39,59	156,21	137,28	4,53
Desviación estándar	46,09	65,76	15,32	75,73	8,62	0,45
Media Controles	188,00	118,70	46,93	114,23	138,28	4,57
Desviación estándar	31,12	29,15	11,02	53,37	2,43	0,47
Significación	0,84	0,59	0,004	0,001	0,45	0,65

De forma resumida sólo encontramos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos al analizar los niveles plasmáticos de hemoglobina glicosilada y triglicéridos (más altos en el grupo de casos) así como los niveles de HDL (más altos en el grupo de controles).

E. REACTANTES DE FASE AGUDA.

En la tabla 10 se presentan los resultados de las determinaciones de reactantes de fase aguda en cada subgrupo así como la significación estadística del análisis bivariado.

Tabla 10. Análisis cuantitativo bivariado reactantes de fase aguda.

	Fibrinógeno g/l	Dímeros D mg/l	PCR mg/dl	VSG mm
Media Casos	4,70	0,47	2,50	34,15
Desviación estándar	0,96	0,72	3,72	24,65
Media Controles	3,80	0,42	1,00	20,40
Desviación estándar	1,37	0,35	1,13	21,38
Significación	<0,001	0,65	0,01	0,001

En el grupo de casos se objetivaron mayores niveles medios de fibrinógeno y PCR así como una mayor VSG. No se encontraron diferencias al analizar los productos de degradación del fibrinógeno (dímeros D).

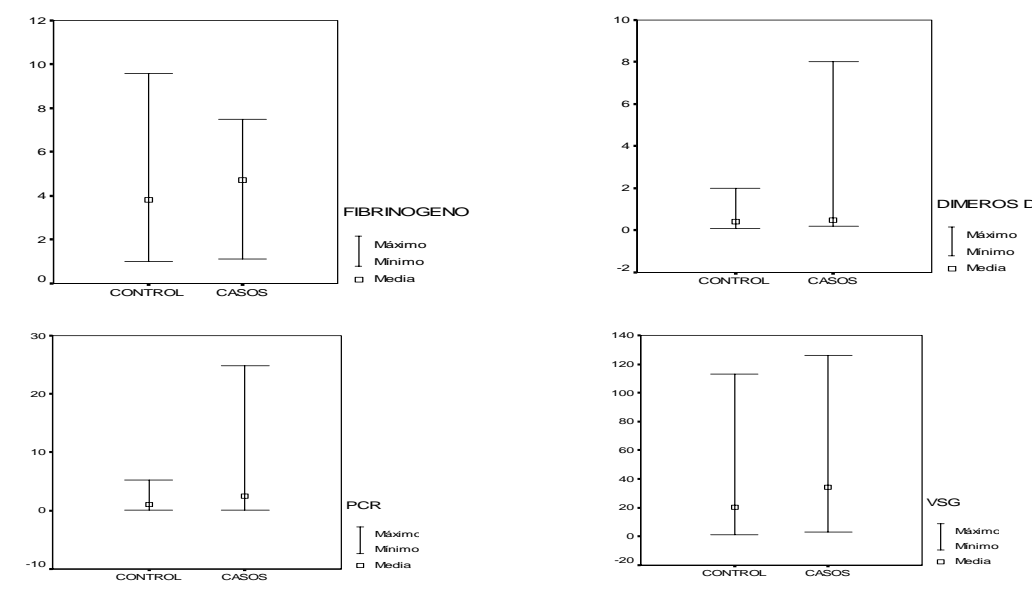


Figura 36. Reactantes de fase aguda. Análisis cuantitativo bivariado.

En la tabla 11 se describe el análisis cualitativo bivariado para los reactantes de fase aguda.

Tabla 11. Análisis cualitativo bivariado reactantes fase aguda.

	Fibrinógeno >4,1 g/l	Dímeros D >0,3 mg/l	PCR >0,8 mg/dl	VSG > 20 mm
Casos	122	123	110	104
%	78,7%	79,4%	71%	67,1%
Controles	16	33	18	16
%	37,2%	76,7%	41,9%	37,2%
Significación	<0,001	0,71	<0,001	<0,001

Destaca que en el grupo de casos se objetivó una mayor prevalencia de pacientes con niveles elevados de fibrinógeno (por encima de 4,1 g/l en nuestro Laboratorio de referencia) y PCR (por encima de 0,8 mg/dl) así como un mayor porcentaje de pacientes con VSG alta (por encima de 20 mm en la primera hora). No se encontraron diferencias en cuanto al porcentaje de pacientes con niveles elevados de Dímeros D (por encima de 0,3 mg/l).

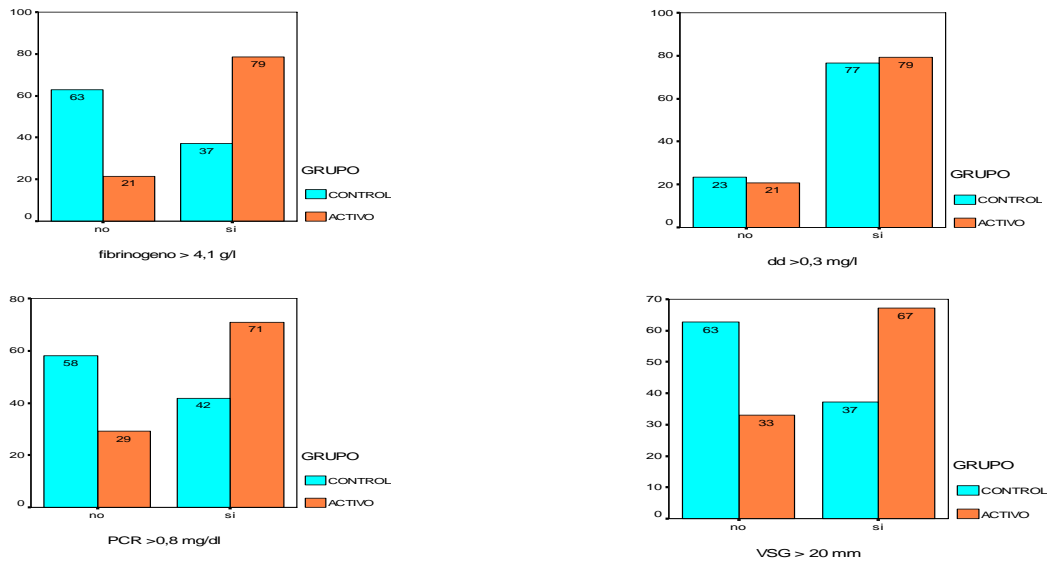


Figura 37. Reactantes de fase aguda. Análisis cualitativo bivariado.

F. METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA.

En la tabla 12 se presentan los resultados de las determinaciones analíticas relacionadas con el metabolismo de la homocisteína (vitamina B12, fólico y homocisteína plasmática) así como la significación estadística del análisis bivariado.

Tabla 12. Determinaciones analíticas relacionadas con el metabolismo de la homocisteína.

	B12 pg/ml	Folatos ng/l	Homocisteína μmol/l
Media Casos	567,63	6,57	12,63
Desviación estándar	279,12	3,37	5,44
Media Controles	546,20	6,96	13,99
Desviación estándar	223,49	3,95	5,52
Significación	0,64	0,51	0,15

Por tanto, no se encontraron diferencias respecto a ninguno de los parámetros analíticos analizados.

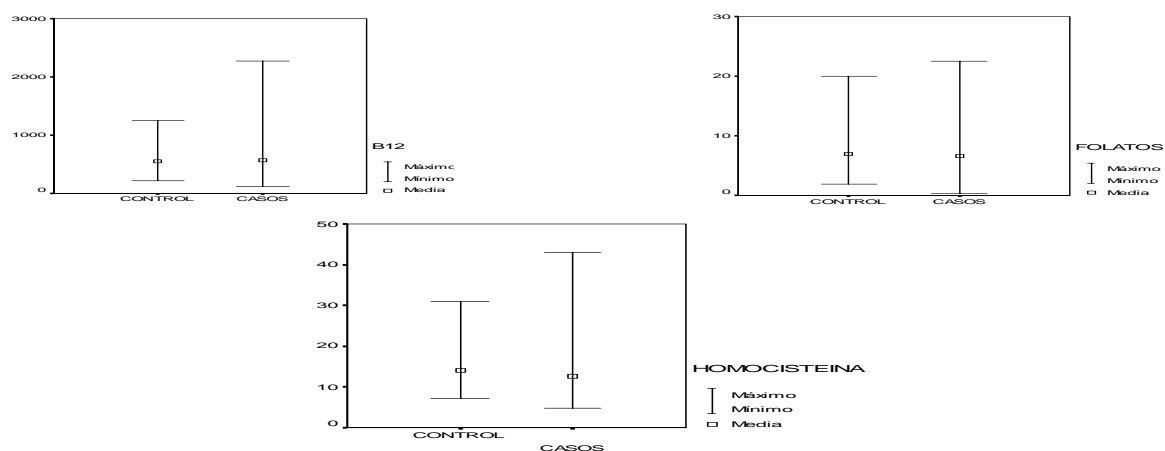


Figura 38. Metabolismo de la Homocisteína. Análisis cuantitativo bivariado.

En la tabla 13 se expresan los resultados del estudio cualitativo bivariado de las variables relacionadas con el metabolismo de la Hcy, así como la distribución de las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR.

Tabla 13. Análisis cualitativo bivariado del metabolismo de la Hcy.

	B12 < 211 pg/ml	Folatos < 3,1 ng/l	Folatos <5,31 ng/ml	Hcy > 10 µmol/l	Hcy > 15 µmol/l	C677T
Casos	5	18	62	100	28	AA 55 (35,5%)
%	3,2%	11,6%	40%	64,5%	18,1%	AV 76 (49%) VV 24 (15,5%)
Controles	0	6	12	32	15	AA 18 (41,9%)
%	0%	14%	27,9%	74,4%	34,9%	AV 19 (44,2%) VV 6 (14%)
Significación	0,58	0,67	0,14	0,22	0,02	0,74

Sólo 5 pacientes en el grupo de casos (3,2%) presentaron niveles de vitamina B12 por debajo del valor de referencia para nuestro Laboratorio (inferiores a 211 pg/ml), por lo que los resultados relacionados con esta variable son poco contundentes. Ningún paciente en el grupo de controles presentó niveles de B12 por debajo del rango de referencia.

En el análisis cualitativo bivariado no se encontraron diferencias entre ambos grupos respecto al porcentaje de pacientes con niveles infranormales de B12 ni de folatos (referencia de normalidad por encima de 5,31 ng/ml, referencia de niveles dudosos entre 5,31 y 3,1 ng/ml). Sorprendentemente al analizar el porcentaje de pacientes con niveles elevados de homocisteína (rango superior > 15 µmol/l) encontramos que éste era mayor en el grupo de controles. Sin embargo cuando empleamos como punto de corte para definir

hiperhomocisteinemia los valores superiores a 10 $\mu\text{mol/l}$ (rango intermedio) no hubo diferencias entre ambos grupos.

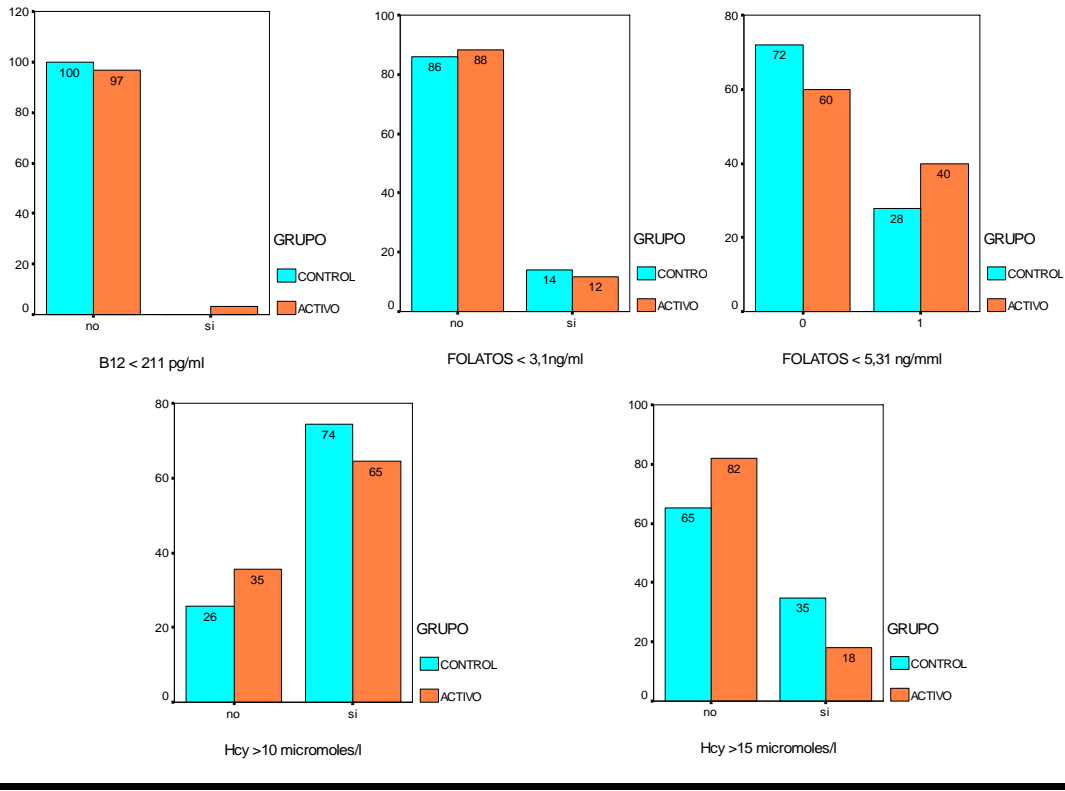


Figura 39. Metabolismo de la Homocisteína. Análisis cualitativo bivariado.

G. POLIMORFISMO C677T (A222V) DE LA MTHFR.

No encontramos diferencias entre los dos grupos al analizar la distribución de cada uno de los alelos del polimorfismo C677T de la MTHFR. Así, el alelo homocigótico dominante (AA, forma salvaje) presentó una prevalencia del 35,5% en el grupo de casos frente a 41,9% en el grupo de controles, $p = 0,44$; el alelo heterocigótico (AV) tuvo una prevalencia del 49% en el grupo de casos frente al 44,2% en el grupo de controles, $p = 0,57$; y la distribución para el alelo homocigótico recesivo (VV, forma mutada) fue del 15,5% entre los casos y 14% entre los controles, $p = 0,80$.

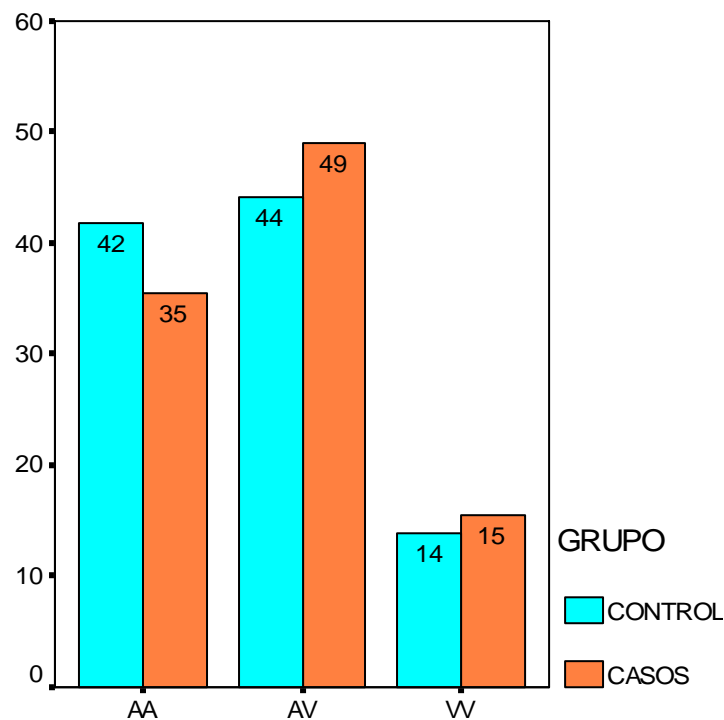


Figura 40. Distribución de alelos de MTHFR entre ambos grupos.

H. ESTUDIO DEL PRONÓSTICO.

Tras un seguimiento medio de $13,8 \pm 7,77$ meses ($13,45 \pm 7,74$ en el grupo de casos frente a $15,23 \pm 7,81$, $p = 0,18$), se produjeron 13 exitus en el grupo de casos y 3 en el grupo de controles (8,4% frente a 7,0%, $p = 1,00$) y se registraron 39 MACEs en el grupo de casos y 6 en el de controles (25,2% frente a 14%, $p = 0,12$).

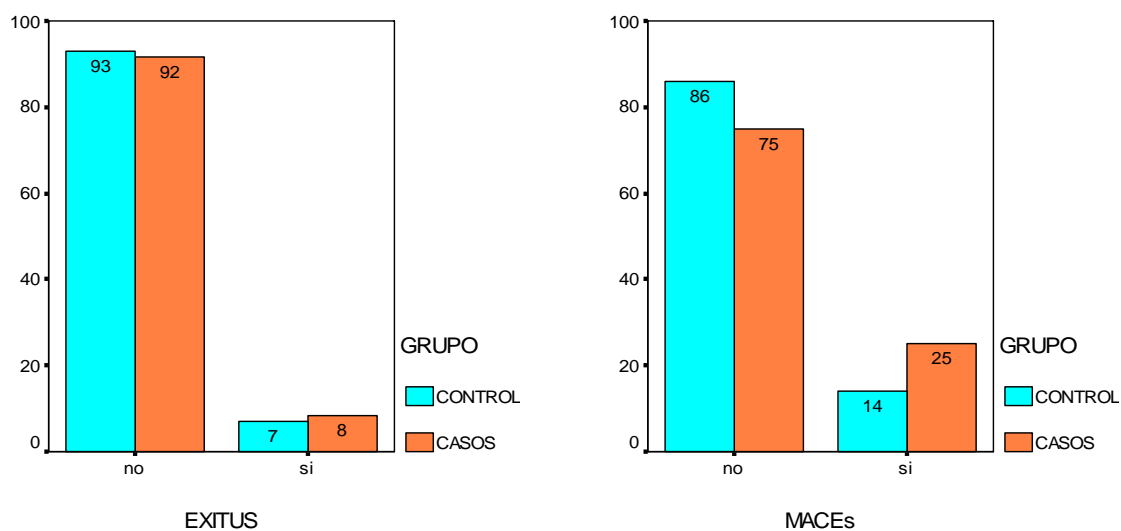


Figura 41. Exitus y MACEs en el seguimiento.

No se encontraron diferencias en la supervivencia total a 12 y 24 meses: 91,30% en el grupo de casos frente a 95,35% en el de controles y 90,80 % frente a 90,81%, respectivamente; $p = 0,69$.

Tampoco se encontraron diferencias en la supervivencia libre de eventos a 12 y 24 meses: 75,49% entre los casos frente a 87,39% entre los controles y 71,86% frente a 83,22%, respectivamente; $p = 0,12$.

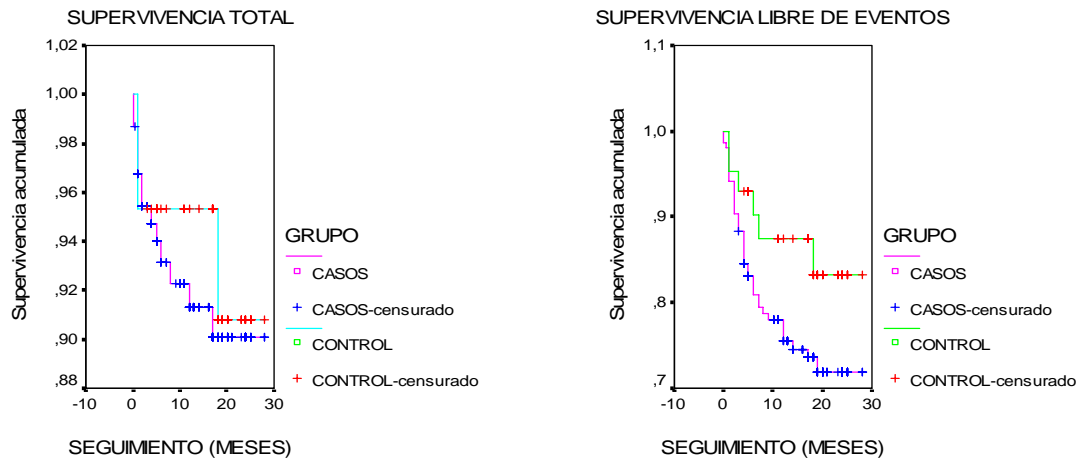


Figura 42. Supervivencia total y libre de eventos en el seguimiento.

III. CORRELACIÓN ENTRE INFLAMACIÓN Y METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA.

A. ANÁLISIS CUANTITATIVO

No se encontraron buenas correlaciones entre vitamina B12 y los parámetros inflamatorios analizados: Fibrinógeno ($r = 0,12$, $p = 0,06$), DD ($r = 0,03$, $p = 0,34$), PCR ($r = -0,12$, $p = 0,06$), VSG ($r = 0,07$, $p = 0,17$).

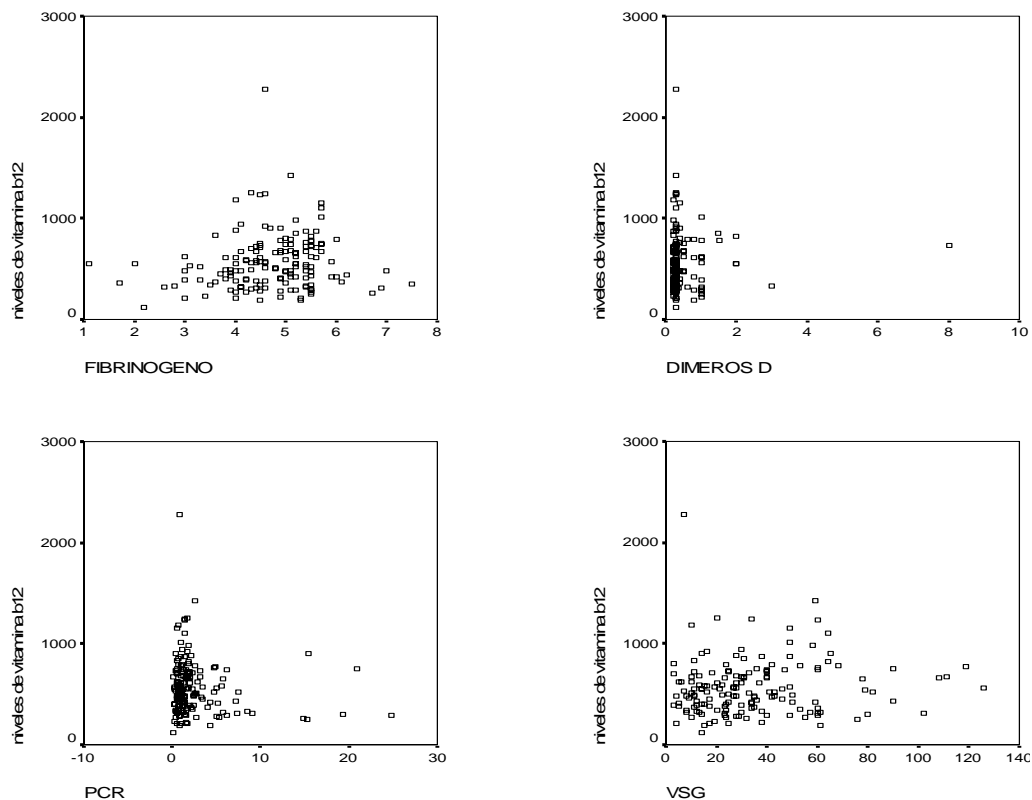


Figura 43. Correlación B12 y: Fibrinógeno, DD, PCR y VSG.

Al analizar los niveles plasmáticos basales de folatos encontramos una débil correlación negativa con los niveles de PCR ($r = -0,18$, $p = 0,01$) y con los de DD ($r = -0,15$; $p = 0,03$). No hallamos correlación con el resto de parámetros inflamatorios: Fibrinógeno ($r = -0,02$, $p = 0,41$), VSG ($r = 0,02$, $p = 0,38$).

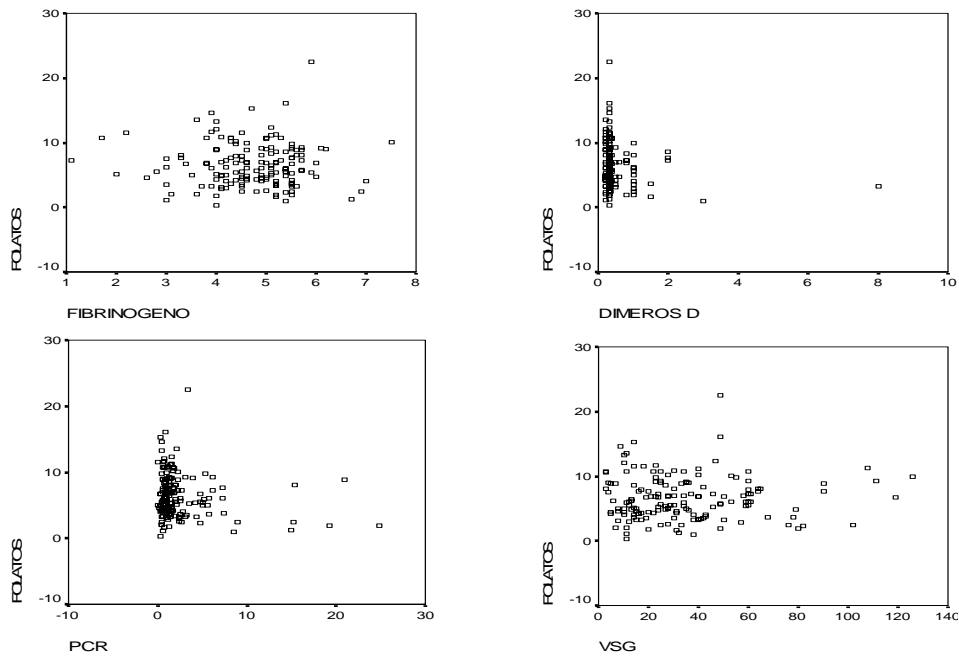


Figura 44. Correlación Folatos y: Fibrinógeno, DD, PCR, VSG.

Los niveles plasmáticos basales de Hcy se correlacionaron de forma débil con la VSG: $r = 0,15$, $p = 0,02$. No hubo correlación con el resto de parámetros inflamatorios analizados: Fibrinógeno ($r = -0,03$, $p = 0,34$), DD ($r = 0,09$, $p = 0,12$), PCR ($r = 0,05$, $p = 0,25$).

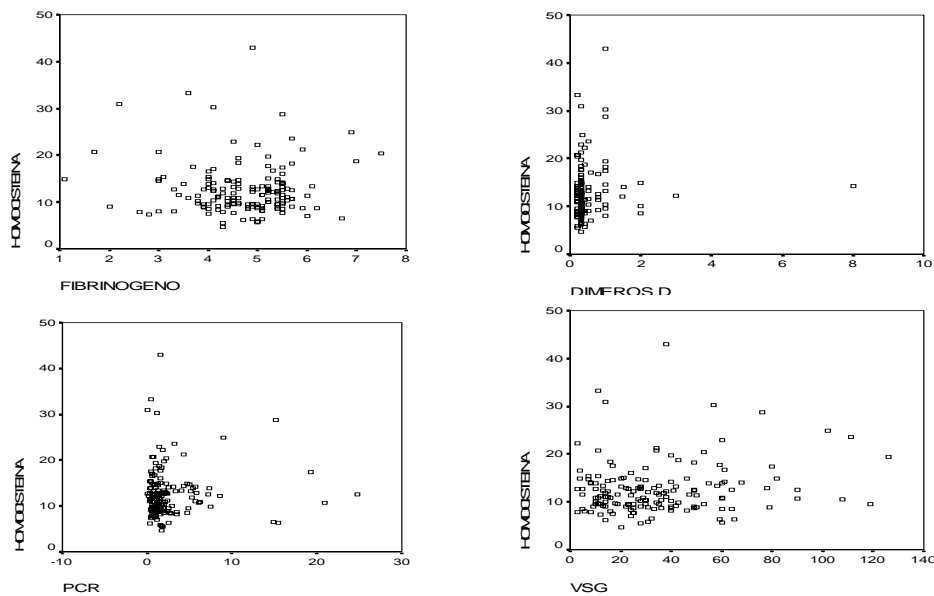


Figura 45. Correlación entre Homocisteína y: Fibrinógeno, DD, PCR y VSG.

En la tabla 14 se resume el análisis cuantitativo bivariado entre las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHF y los parámetros inflamatorios analizados.

Tabla 14. Análisis cuantitativo bivariado polimorfismo C677T-inflamación.

	Fibrinógeno g/l	DD mg/l	PCR mg/dl	VSG mm
AA (media)	4,65	0,44	1,90	36,35
(desviación típica)	0,98	0,42	2,37	27,91
AV (media)	4,68	0,44	2,81	30,58
(desviación típica)	0,81	0,41	4,56	21,29
VV (media)	4,91	0,65	2,89	40,46
(desviación típica)	1,30	1,57	3,19	25,80
Significación	0,51	0,44	0,33	0,16

Al analizar los parámetros inflamatorios entre los distintos genotipos del polimorfismo analizado de la MTHFR no encontramos diferencias en los valores medios de ninguno de ellos.

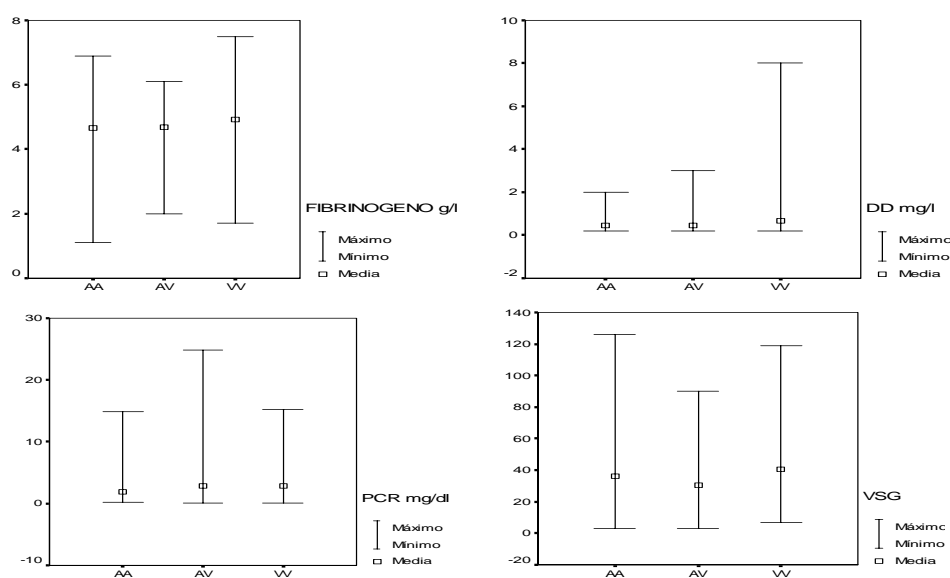


Figura 46. Polimorfismo MTHFR y parámetros inflamatorios.

B. ANÁLISIS CUALITATIVO

No se realizó el análisis cualitativo sobre los pacientes con niveles bajos de B12 (por debajo de 211 pg/ml) al no existir un volumen de muestra suficiente para que los resultados tuvieran valor (sólo 5 pacientes del total de casos).

En la tabla 15 se expresa el análisis cualitativo bivariado respecto a parámetros inflamatorios entre los pacientes con folatos plasmáticos infranormales (por debajo de 3,1 ng/ml) frente a aquéllos con niveles superiores de ácido fólico.

Tabla 15. Análisis cualitativo bivariado Folatos-parámetros inflamatorios I.

	Fibrinógeno >4,1 g/l	DD > 0,3 mg/l	PCR > 0,8 mg/dl	VSG > 20 mm
Folatos < 3,1 ng/ml	13 (72,2%)	15 (83,3%)	12 (66,7%)	12 (66,7%)
Folatos ≥ 3,1 ng/ml	109 (79,6%)	108 (78,8%)	98 (71,5%)	92 (67,2%)
Significación	0,54	1	0,67	0,96

No encontramos una mayor prevalencia de elevación de parámetros inflamatorios entre los pacientes con niveles infranormales de folatos frente a aquéllos con niveles “normales” de folatos.

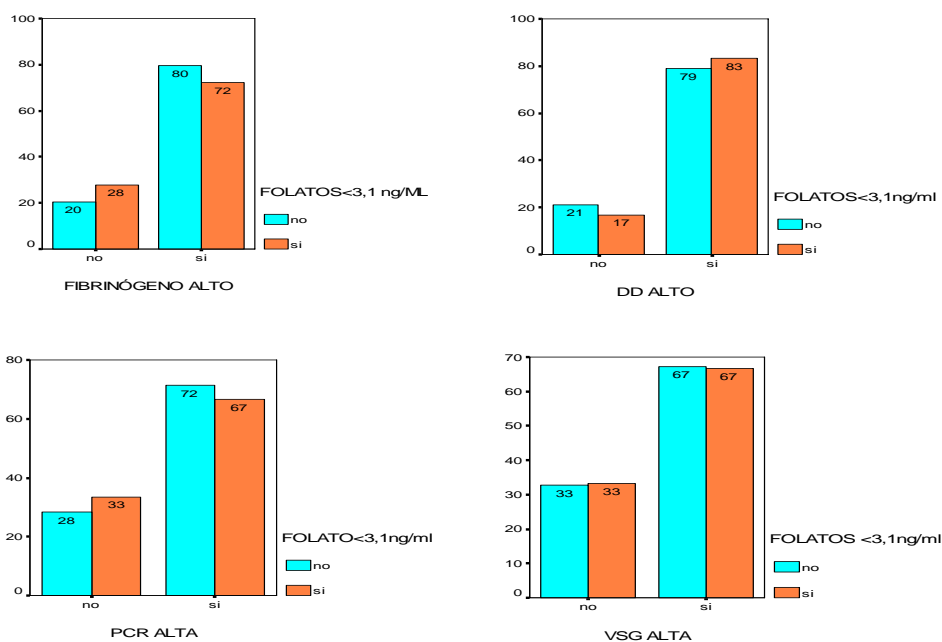


Figura 47. Análisis cualitativo bivariado folatos-inflamación I.

En la tabla 16 se expresa el análisis cualitativo bivariado respecto a parámetros inflamatorios entre los pacientes con folatos plasmáticos infranormales (por debajo de 3,1 ng/ml) y/o dudosos (entre 3,1 ng/ml y 5,31 ng/ml) frente a aquéllos con niveles normales de ácido fólico.

Tabla 16. Análisis cualitativo bivariado Folatos-parámetros inflamatorios II.

	Fibrinógeno >4,1 g/l	DD > 0,3 mg/l	PCR > 0,8 mg/dl	VSG > 20 mm
Folatos < 5,31 ng/ml	49 (79%)	48 (77,4%)	42 (67,7%)	38 (61,3%)
Folatos ≥ 5,31 ng/ml	73 (78,5%)	75 (80,6%)	68 (73,1%)	66 (71%)
Significación	0,93	0,62	0,47	0,21

Tampoco encontramos diferencias al realizar la comparación entre los pacientes con niveles subnormales o dudosos de folatos plasmáticos (por debajo de 5,31 ng/ml) y aquéllos

con niveles normales.

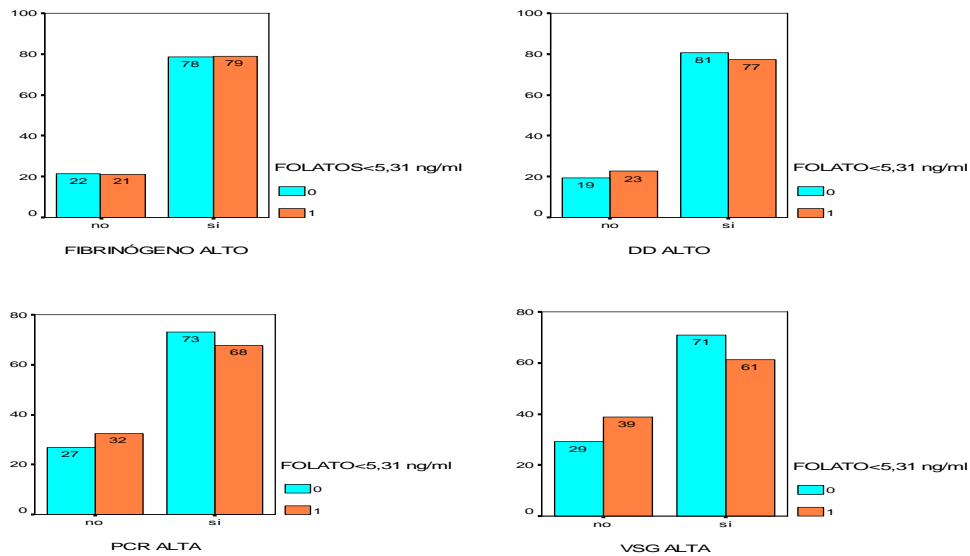


Figura 48. Análisis cualitativo bivariado folatos-inflamación II.

En la tabla 17 se expresa el análisis cualitativo bivariado respecto a parámetros inflamatorios entre los pacientes con Hcy plasmática por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ frente a aquéllos con niveles inferiores de dicha variable.

Tabla 17. Análisis cualitativo bivariado Hcy-parámetros inflamatorios I.

	Fibrinógeno >4,1 g/l	DD > 0,3 mg/l	PCR > 0,8 mg/dl	VSG > 20 mm
Hcy $\geq 10 \mu\text{mol/l}$	79 (79%)	79 (79%)	73 (73%)	66 (66%)
Hcy < 10 $\mu\text{mol/l}$	43 (78,2%)	44 (80%)	37 (67,3%)	38 (69,1%)
Significación	0,90	0,88	0,45	0,69

No encontramos diferencias al comparar respecto a los parámetros inflamatorios a los

pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ respecto a aquéllos con niveles más bajos de Hcy.

En la tabla 18 se expresa el análisis cualitativo bivariado respecto a parámetros inflamatorios entre los pacientes con Hcy plasmática por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$ frente a aquéllos con niveles inferiores de dicha variable.

Tabla 18. Análisis cualitativo bivariado Hcy-parámetros inflamatorios II.

	Fibrinógeno >4,1 g/l	DD > 0,3 mg/l	PCR > 0,8 mg/dl	VSG > 20 mm
Hcy $\geq 15 \mu\text{mol/l}$	20 (71,4%)	24 (85,7%)	19 (67,9%)	19 (67,9%)
Hcy < 15 $\mu\text{mol/l}$	102 (80,3%)	99 (78%)	91 (71,7%)	85 (66,9%)
Significación	0,29	0,35	0,69	0,92

Tampoco encontramos diferencias al realizar la comparación tomando como referencia los niveles de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$.

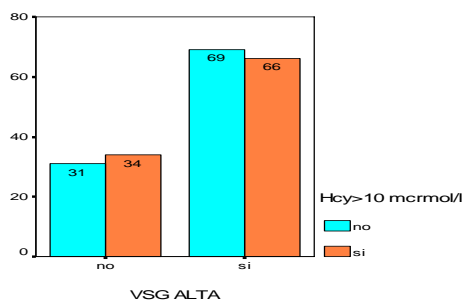
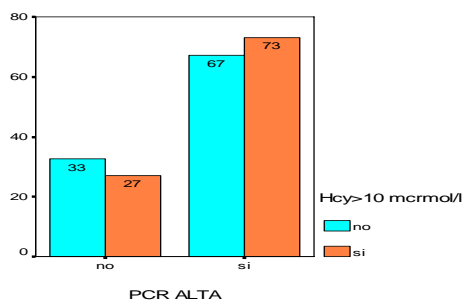
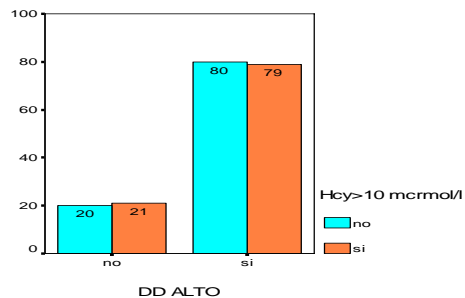
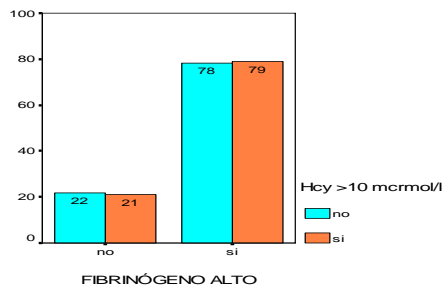


Figura 49. Análisis cualitativo bivariado Hcy-inflamación I.

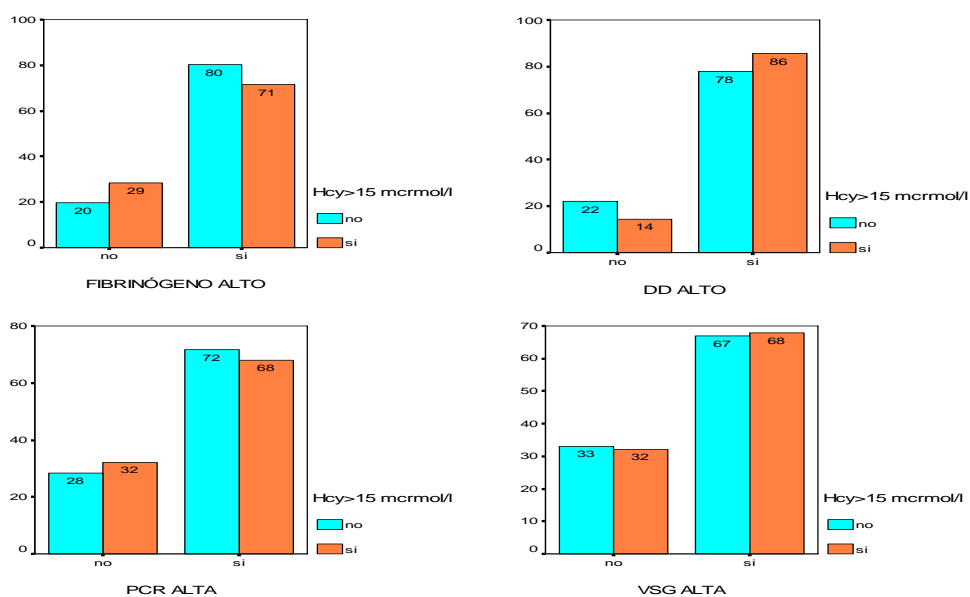


Figura 50. Análisis cualitativo bivariado Hcy-inflamación II.

En la tabla 19 se expresa el análisis cualitativo bivariado respecto a parámetros inflamatorios correspondiente a las tres variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR.

Tabla 19. Análisis cualitativo bivariado polimorfismo C677T-inflamación.

	Fibrinógeno >4,1 g/l	DD > 0,3 mg/l	PCR > 0,8 mg/dl	VSG > 20 mm
AA	43 (78,2%)	45 (81,8%)	40 (72,7%)	39 (70,9%)
AV	60 (78,9%)	60 (78,9%)	51 (67,1%)	46 (60,5%)
VV	19 (79,2%)	18 (75%)	19 (79,2%)	19 (79,2%)
Significación	0,99	0,78	0,49	0,18

Así mismo, al realizar la comparación respecto a la elevación de parámetros inflamatorios entre las tres variantes alélicas del polimorfismo analizado de la MTHFR no encontramos diferencias en su distribución.

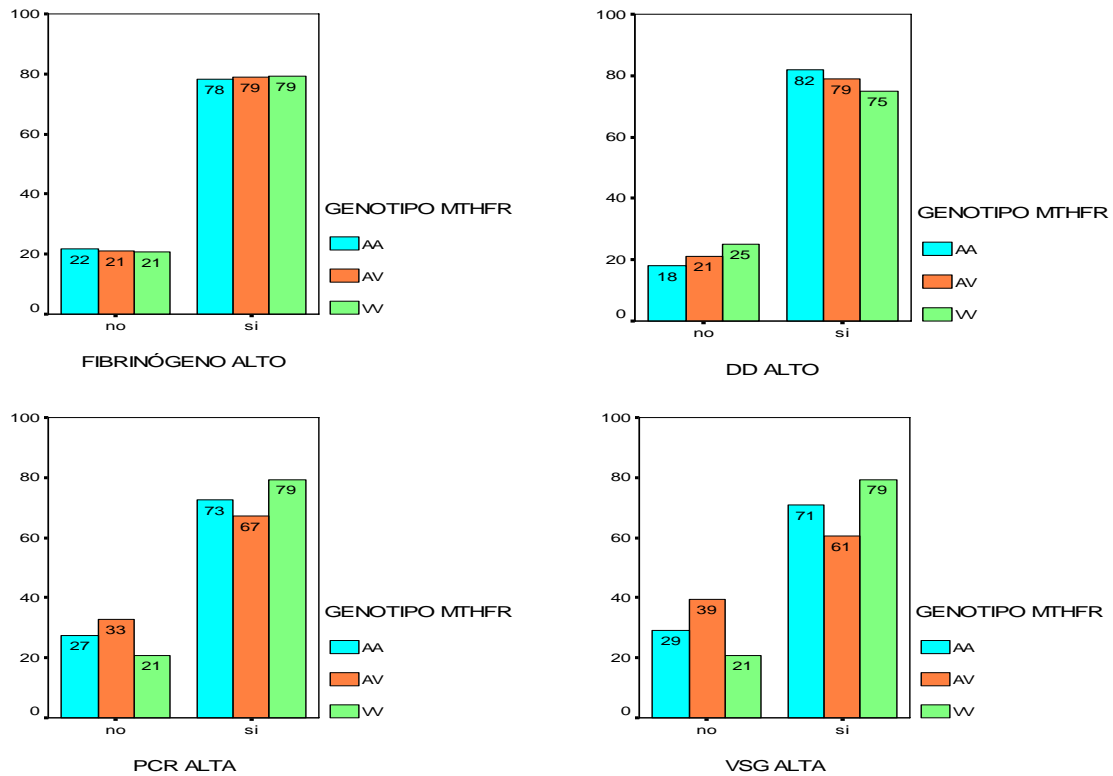


Figura 51. Análisis cualitativo bivariado polimorfismo MTHFR-inflamación.

IV. METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA Y POLIMORFISMO C677T

(A222V) DE LA MTHFR

A. ANÁLISIS CUANTITATIVO.

Encontramos una correlación inversa entre los niveles plasmáticos basales de Hcy y los de folatos ($r = -0,18, p = 0,01$) así como con los de vitamina B12 ($r = -0,17, p = 0,02$).

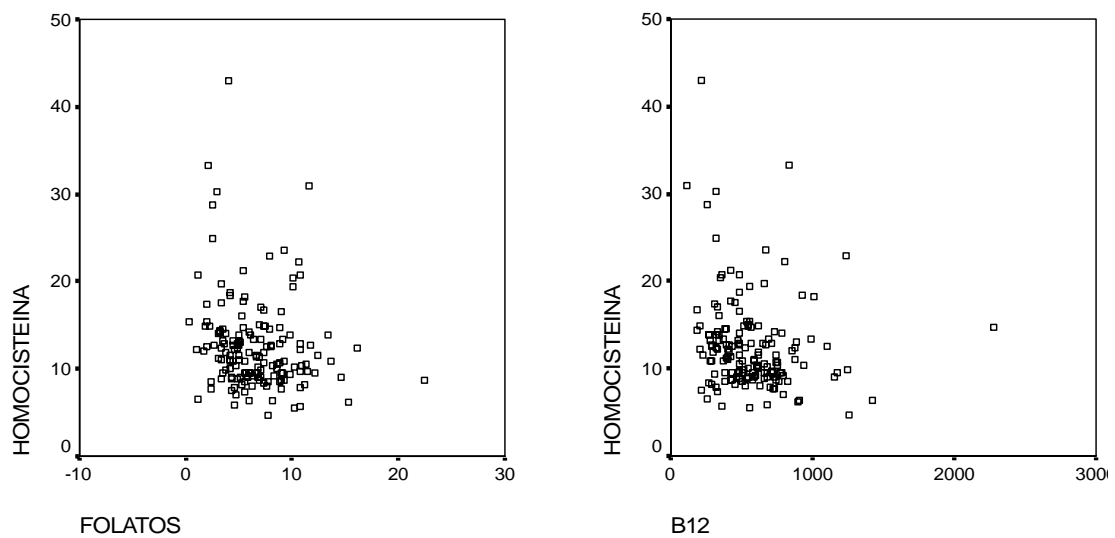


Figura 52. Correlación entre Homocisteína, vitamina B12 y folatos plasmáticos.

En la tabla 20 se resume la distribución de variables relacionadas con el metabolismo de la Hcy entre los distintos alelos del polimorfismo analizado de la MTHFR.

Tabla 20. Análisis cuantitativo bivariado polimorfo C677T-metabolismo de la Hcy.

	Hcy μmol/l	Folatos Ng/ml	B12 pg/ml
AA (media)	12,01	6,60	535,27
(desviación típica)	4,25	2,94	231,38
AV (media)	12,11	6,57	577,46
(desviación típica)	5,40	3,54	250,67
VV (media)	15,72	6,51	611,33
(desviación típica)	6,97	3,20	431,53
Significación	0,01	0,99	0,49

Al estudiar la distribución de las variables relacionadas con el metabolismo de la Hcy entre los distintos genotipos del polimorfismo analizado de la MTHFR encontramos que los homocigotos recesivos VV presentaban mayores niveles de Hcy media que las otras dos variantes. No se encontraron diferencias al analizar los niveles de vitamina B12 ni de folatos.

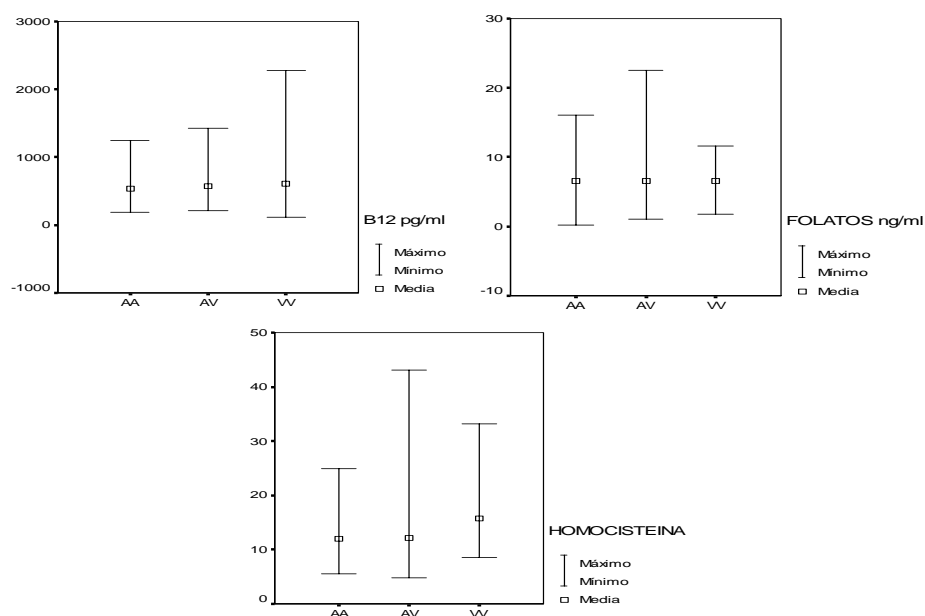


Figura 53. Polimorfismo de la MTHFR y metabolismo de la Homocisteína.

B. ANÁLISIS CUALITATIVO.

En la Tabla 21 se resume el análisis bivariado entre los pacientes con niveles de Hcy plasmática por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$, frente a aquéllos con niveles por debajo de dicho límite, respecto a la prevalencia de niveles de folatos plasmáticos en rango dudoso (entre 3,1 ng/ml y 5,31 ng/ml) o bajo (por debajo de 3,1 ng/ml) así como a la prevalencia de niveles de vitamina B12 infranormales (por debajo de 211 pg/ml).

Tabla 21. Análisis cualitativo bivariado Hcy-folatos y B12 I.

	Folatos <3,1 ng/ml	Folatos < 5,31 ng/ml	B12 < 211 pg/ml
Hcy $\geq 10 \mu\text{mol/l}$	15 (15%)	47 (47%)	5 (5%)
Hcy < 10 $\mu\text{mol/l}$	3 (5,5%)	15 (27,3%)	0 (0%)
Significación	0,07	<0,02	0,16

Los pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ presentaron en mayor proporción niveles de folatos por debajo de 5,31 ng/ml. No encontramos diferencias al analizar las otras variables relacionadas con el metabolismo de la Hcy.

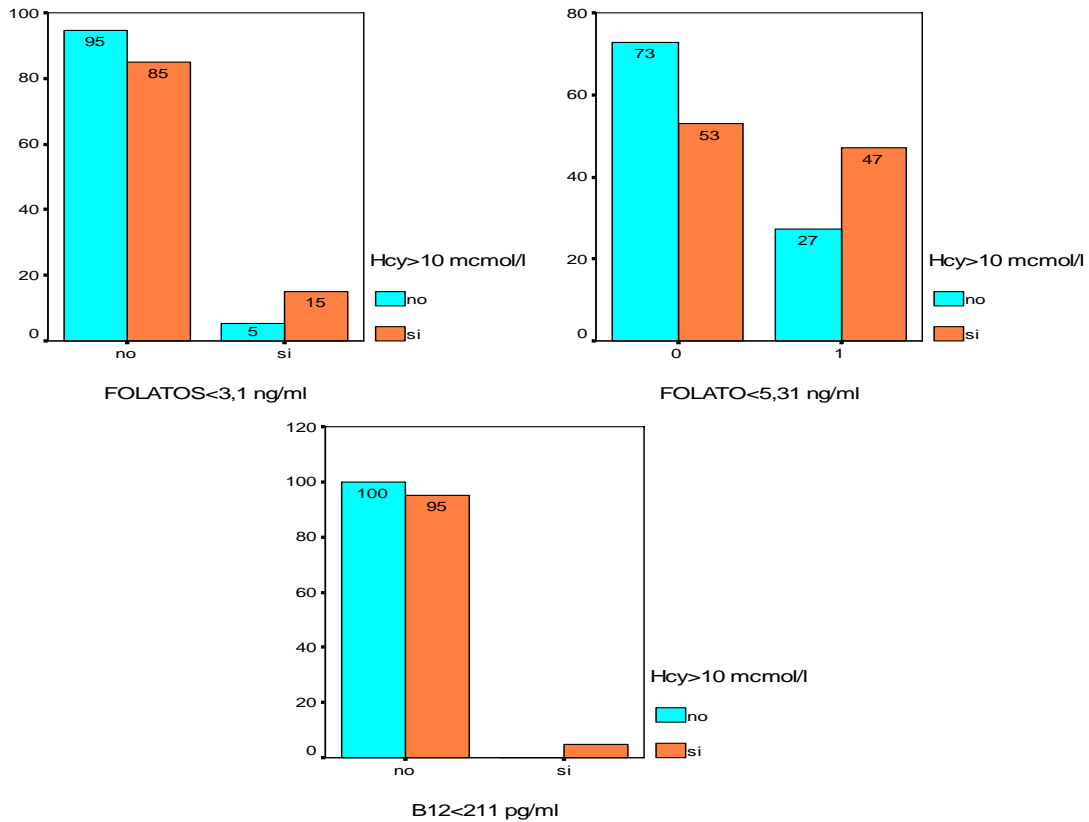


Figura 54. Análisis cualitativo bivariado Hcy-folatos y Hcy-vitamina B12 I.

En la Tabla 22 se resume el análisis bivariado entre los pacientes con niveles de Hcy plasmática por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$, frente a aquéllos con niveles por debajo de dicho límite, respecto a la prevalencia de niveles de folatos plasmáticos en rango dudoso (entre 3,1 ng/ml y 5,31 ng/ml) o bajo (por debajo de 3,1 ng/ml) así como a la prevalencia de niveles de vitamina B12 infranormales (por debajo de 211 pg/ml).

Tabla 22. Análisis cualitativo bivariado Hcy-folatos y vitamina B12 II.

	Folatos <3,1 ng/ml	Folatos < 5,31 ng/ml	B12 < 211 pg/ml
Hcy ≥ 15 μmol/l	7 (25%)	14 (50%)	2 (7,1%)
Hcy < 15 μmol/l	11 (8,7%)	48 (37,8%)	3 (2,4%)
Significación	0,02	0,23	0,22

Los pacientes con niveles de Hcy plasmática por encima de 15 μmol/l presentaron mayor prevalencia de folatos por debajo del rango de normalidad (<3,1 ng/ml) que aquéllos con niveles normales de Hcy. No hubo diferencias al analizar el porcentaje de pacientes con folatos con niveles dudosos (<5,31 ng/ml) o bajos (<3,1 ng/ml) de folatos. No se hallaron diferencias al analizar el porcentaje de pacientes con niveles infranormales de vitamina B12 entre aquéllos con niveles altos o bajos de Hcy.

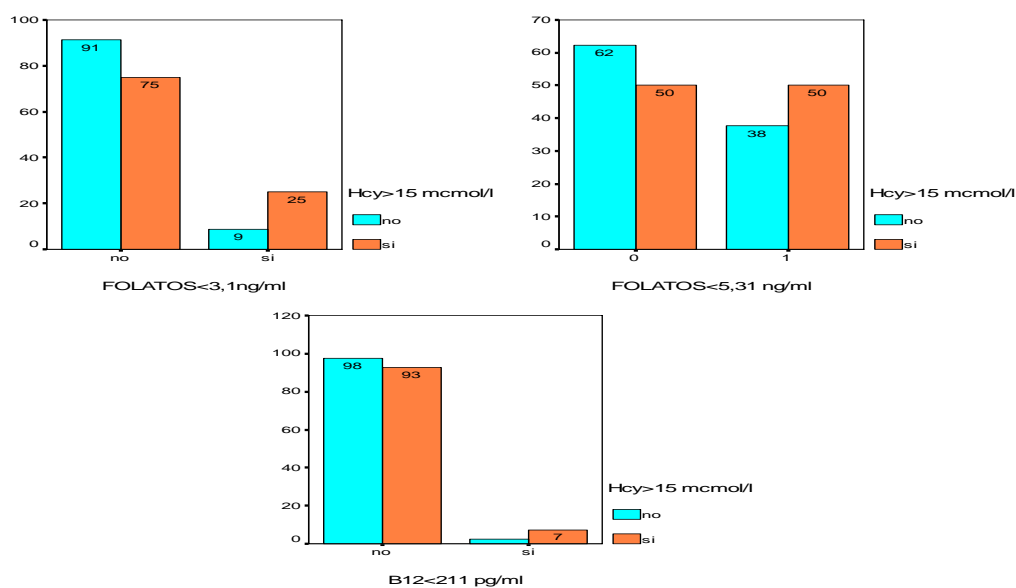


Figura 55. Análisis cualitativo bivariado Hcy-folatos y Hcy-vitamina B12 II.

En la Tabla 23 se describe la comparación entre los tres alelos del polimorfismo C677T de la MTHFR y las variables relacionadas con el metabolismo de la Hcy.

Tabla 23. Análisis cualitativo bivariado polimorfismo C677T-metabolismo de la Hcy.

	B12 <211 pg/ml	Folatos < 3,1 ng/ml	Folatos < 5,31 ng/ml	Hcy ≥ 10 μmol/l	Hcy ≥ 15 μmol/l
AA	2 (3,6%)	5 (9,1%)	17 (30,9%)	34 (61,8%)	9 (16,4%)
AV	1 (1,3%)	9 (11,8%)	35 (46,1%)	47 (61,8%)	12 (15,8%)
VV	2 (8,3%)	4 (16,7%)	10 (41,7%)	19 (79,2%)	7 (29,2%)
Significación	0,23	0,58	0,21	0,26	0,32

No se encontraron diferencias al analizar el porcentaje de pacientes con niveles bajos o dudosos de folatos (< 5,31 ng/ml) entre las tres variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR. Tampoco se encontraron diferencias en cuanto al porcentaje de pacientes con niveles bajos de folatos (<3,1 ng/ml); ni tampoco al analizar el porcentaje de pacientes con niveles infranormales de vitamina B12.

Aunque el porcentaje de pacientes con Hcy por encima de 10 μmol/l fue mayor en la variante homocigota recesiva, esta diferencia no alcanzó significación estadística. Del mismo modo, el porcentaje de pacientes con Hcy por encima de 15 μmol/l fue mayor en la variante homocigota recesiva, pero esta diferencia tampoco alcanzó significación estadística.

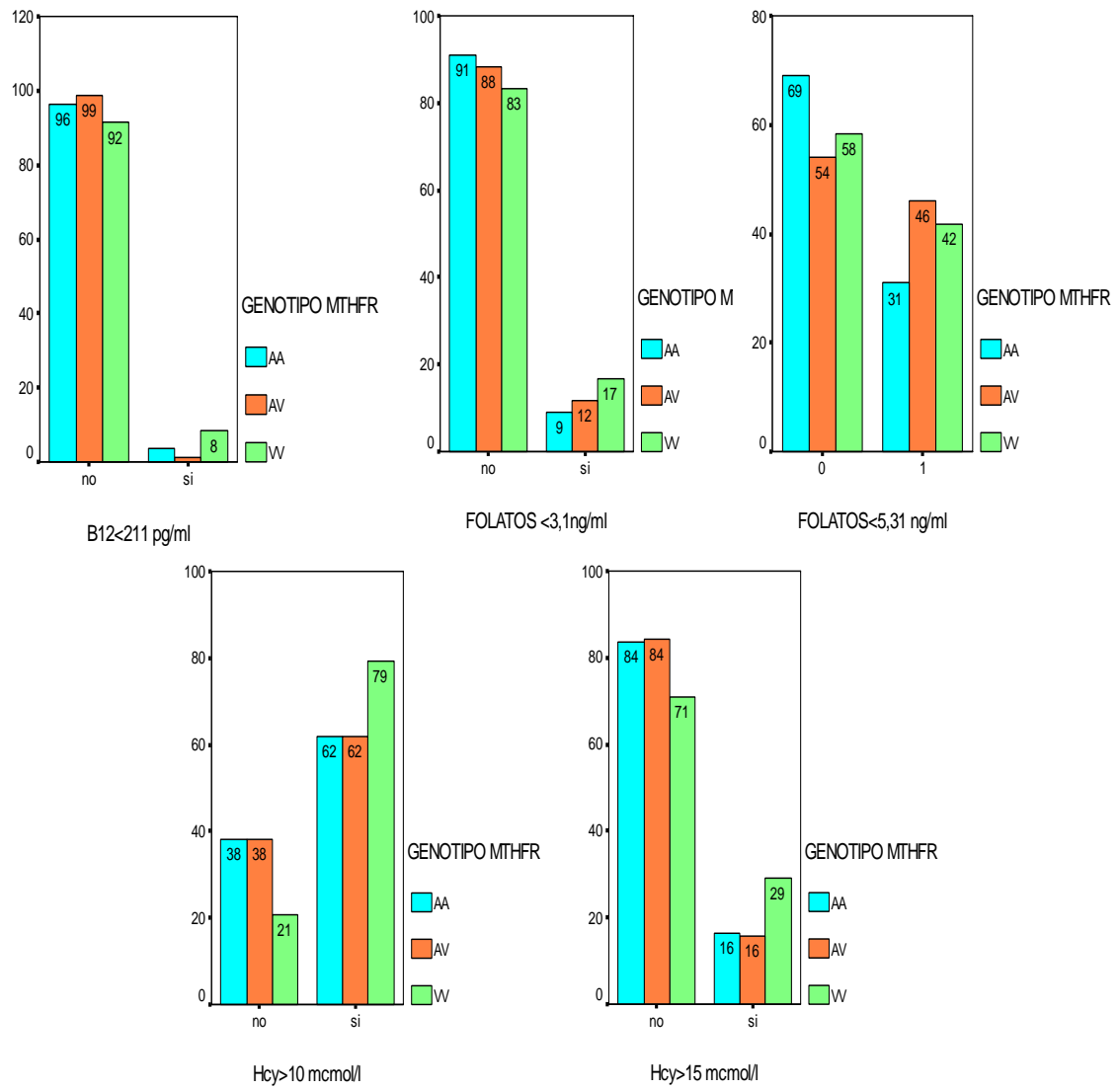


Figura 56. Análisis cualitativo bivariado alelos MTHFR-metabolismo de la Hcy.

V. RELACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO C677T (A222V) DE LA MTHFR
Y EL SÍNDROME CORONARIO AGUDO.

A. EPIDEMIOLOGÍA Y RIESGO CARDIOVASCULAR.

En la Tabla 24 se expresa la distribución por sexos de las tres variantes alélicas analizadas.

Tabla 24. Estudio bivariado polimorfismo C677T-sexo.

	Varones	Mujeres
AA	39 (70,9%)	16 (29,1%)
AV	58 (76,3%)	18 (23,7%)
VV	22 (91,7%)	2 (8,3%)
Significación	0,13	0,13

No encontramos diferencias en la distribución por sexos de los tres alelos analizados, con un predominio de varones en los tres grupos. Si bien en el grupo correspondiente al alelo VV hubo un mayor porcentaje de varones, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (probablemente en relación con el pequeño tamaño de la muestra).

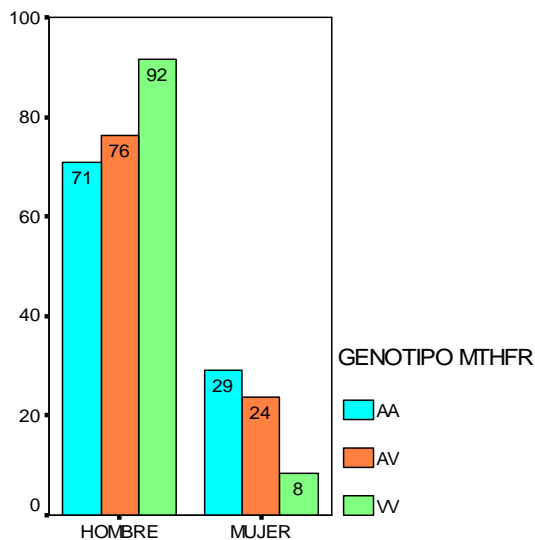


Figura 57. Distribución por sexos para las variantes alélicas del polimorfismo C677T.

En la Tabla 25 se expone la comparación entre cada variante alélica y la distribución de los factores de riesgo cardiovascular clásicos.

Tabla 25. Estudio bivariado Polimorfismo C677T-factores de riesgo cardiovascular.

	HTA	DM	Dislipemia	Tabaco	Historia familiar	LDL>130	HDL< 35	HDL>60
AA	33 (60%)	16 (29,1%)	26 (47,3%)	37 (67,3%)	6 (10,9%)	25 (45,5%)	22 (40%)	1 (1,8%)
AV	36 (47,4%)	29 (38,2%)	44 (57,9%)	44 (57,9%)	10 (13,2%)	33 (43,4%)	29 (38,2%)	1 (1,3%)
VV	12 (50%)	13 (54,2%)	13 (54,2%)	15 (62,5%)	1 (4,2%)	10 (41,7%)	16 (66,7%)	0 (0%)
Significación	0,35	0,10	0,48	0,55	0,47	0,94	0,04	1,00

En resumen, sólo se encontraron diferencias al comparar respecto a la presencia de niveles de HDL por debajo de 35 mg/dl. Así, el grupo correspondiente a la variante VV presentó una mayor prevalencia de HDL baja, respecto a los otros dos polimorfismos analizados.

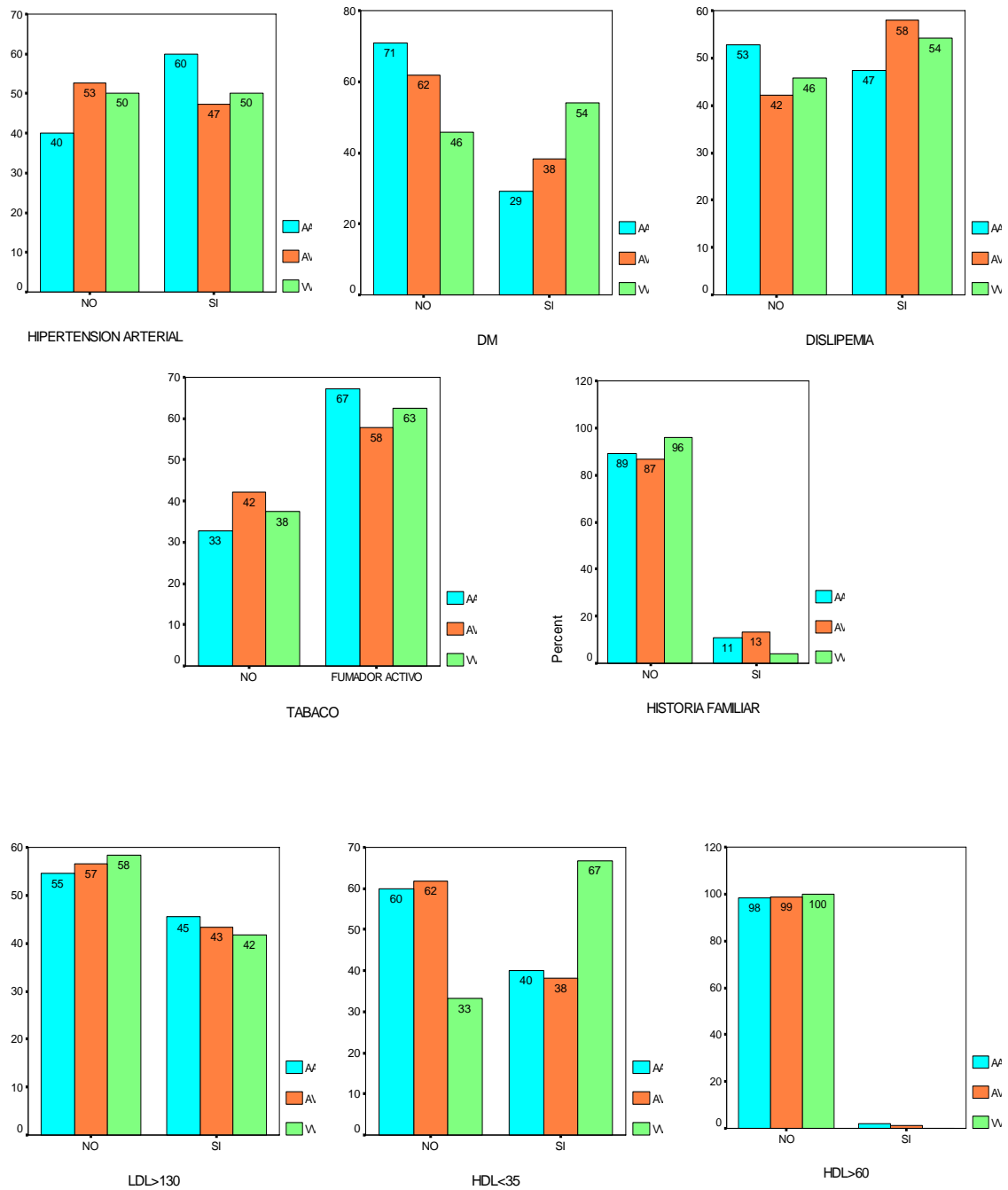


Figura 58. Análisis bivariado Polimorfismo C677T-factores de riesgo.

No se encontraron diferencias al analizar el puntaje medio de los factores de riesgo cardiovascular clásicos entre ninguno de los polimorfismos analizados: AA ($3,49 \pm 0,99$ años), AV ($3,33 \pm 1,03$ años), VV ($3,75 \pm 0,94$ años), $p = 0,19$.

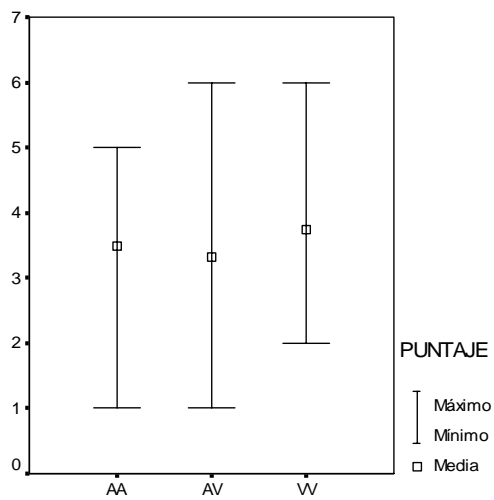


Figura 59. Comparación Polimorfismo C677T-puntaje medio.

Tampoco se encontraron diferencias en cuanto a la edad media entre los tres polimorfismos analizados: AA ($62,40 \pm 11,01$ años), AV ($61,89 \pm 11,67$), VV ($62,58 \pm 9,29$), $p = 0,95$.

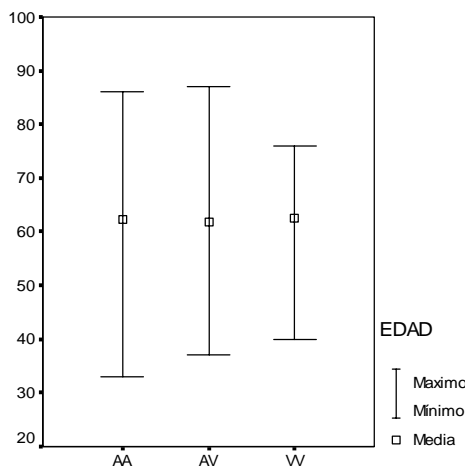


Figura 60. Relación polimorfismo C677T-edad.

B. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

En las Tablas 26 y 27 se resume la comparación entre las tres variantes alélicas respecto a la presencia de cardiopatía isquémica e IAM previos, la realización de coronariografía previa, la forma de presentación clínica al ingreso, así como en la existencia de complicaciones.

Tabla 26. Estudio bivariado polimorfismo C677T-características clínicas.

	Cardiop isquémica previa	IAM previo	Coronariog. previa	SCASEST	Ausencia de cambios ECG	Fibrinólisis	Complicaciones
AA	25 (45,5%)	15 (27,3%)	14 (25,5%)	37 (67,3%)	9 (16,4%)	11/15 (73,3%)	17 (30,9%)
AV	36 (47,4%)	15 (19,7%)	14 (18,4%)	54 (71,1%)	32 (42,1%)	14/20 (70%)	16 (21,1%)
VV	13 (54,2%)	7 (29,2%)	6 (25%)	18 (75%)	10 (41,7%)	5/7 (71,4%)	7 (29,2%)
Significación	0,51	0,78	0,58	0,77	0,07	1,00	0,04

Tabla 27. Estudio bivariado Polimorfismo C677T-localización del IAM.

	No	Anterior	Inf/post	Lateral
AA	38 (69,1%)	7 (12,7%)	9 (16,4%)	1 (1,8%)
AV	58 (76,3%)	7 (9,2%)	10 (13,2%)	1 (1,3%)
VV	18 (75%)	2 (8,3%)	4 (16,7%)	0 (0%)
Significación	0,97	0,97	0,97	0,97

Como se puede observar no se encontraron diferencias en la distribución de ninguna de las variables analizadas.

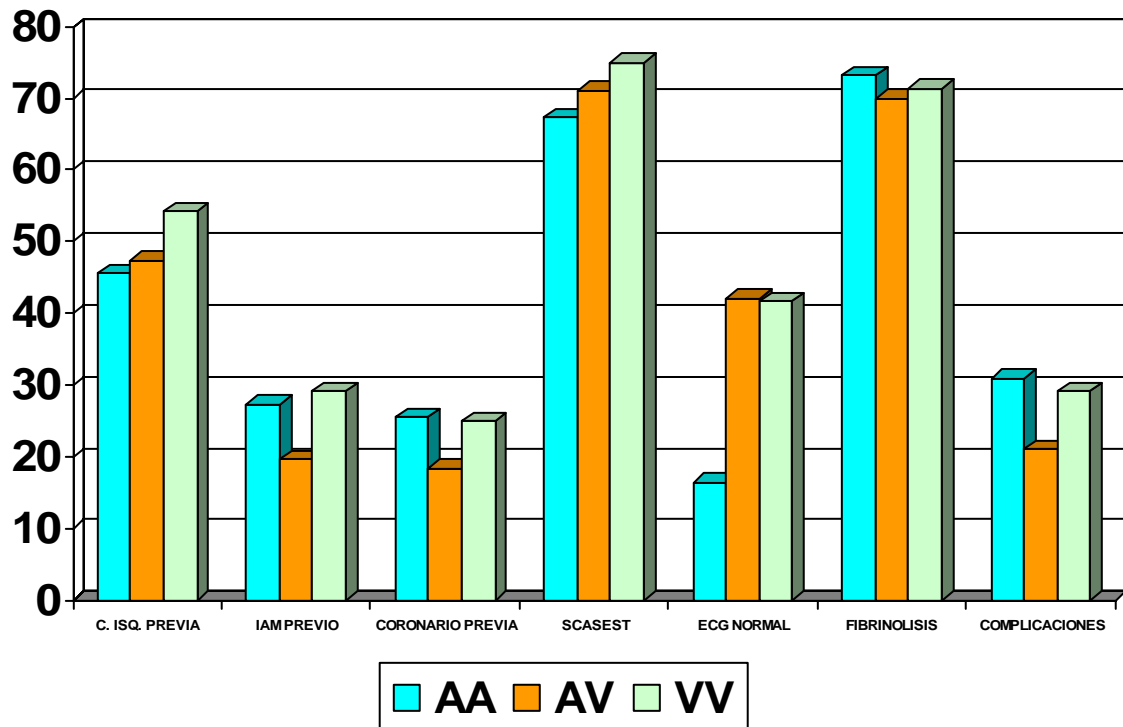


Figura 61. Polimorfismo C677T-características clínicas.

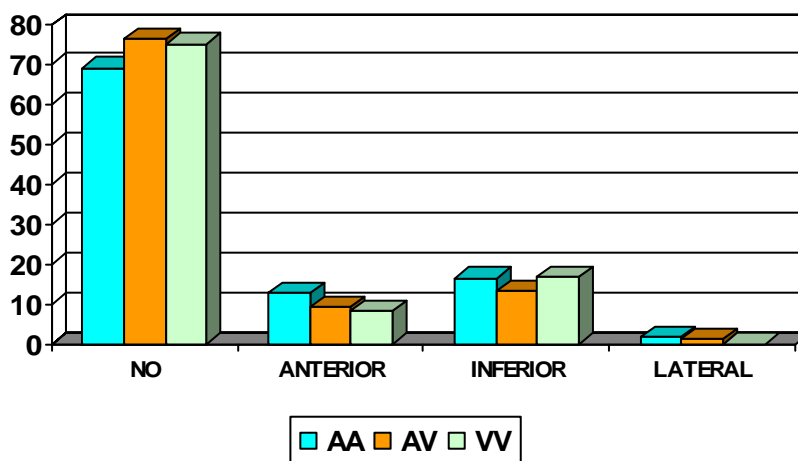


Figura 62. Polimorfismo C677T-localización del IAM.

C. CARACTERÍSTICAS ANGIOGRÁFICAS.

No se encontraron diferencias al analizar la indicación de coronariografía, el número de vasos con lesiones coronarias significativas, la afectación de la arteria DA o del TCI, la realización de tratamiento revascularizador y la presencia de trombo intraarterial (Tablas 28-31) entre las variantes alélicas analizadas.

Tabla 28. Análisis bivariado polimorfismo C677T-indicación de coronariografía.

	Ergo +	Alto riesgo	ICC/DVI	Otra
AA	11 (20%)	34 (61,8%)	9 (16,4%)	1 (1,8%)
AV	16 (21,1%)	52 (68,4%)	4 (5,3%)	4 (5,3%)
VV	5 (20,8%)	16 (66,7%)	2 (8,3%)	1 (4,2%)
Significación	0,50	0,50	0,50	0,50

Tabla 29. Estudio bivariado polimorfismo C677T-Lesiones coronarias.

	No significativas	Monovaso	2 vasos	Multivaso/TCI
AA	4 (7,3%)	19 (34,5%)	17 (30,9%)	4 (7,3%)
AV	2 (2,6%)	39 (51,3%)	15 (19,7%)	3 (3,9%)
VV	0 (0%)	13 (54,2%)	6 (25%)	0 (0%)
Significación	0,41	0,41	0,41	0,41

Tabla 30. Análisis bivariado Polimorfismo C677T-características angiográficas I.

	TCI	DA	FE normal	DVI mod-sev
AA	4 (7,3%)	37 (67,3%)	31 (56,4%)	14 (25,5%)
AV	3 (3,9%)	49 (69,5%)	49 (64,5%)	16 (21,1%)
VV	0 (0%)	13 (54,2%)	12 (50%)	6 (25%)
Significación	0,45	0,53	0,60	0,82

Tabla 31. Análisis bivariado Polimorfismo C677T-características angiográficas II.

	Lesiones B2-C	Trombo	Revascularización	Revasc. percutánea	Revasc. quirúrgica
AA	41 (74,5%)	16 (29,1%)	42 (76,4%)	34 (61,8%)	8 (14,5%)
AV	51 (80,3%)	25 (32,9%)	57 (75%)	47 (61,8%)	10 (13,2%)
VV	22 (91,6%)	10 (41,7%)	15 (62,5%)	13 (54,2%)	2 (8,3%)
Significación	0,68	0,55	0,40	0,76	0,76

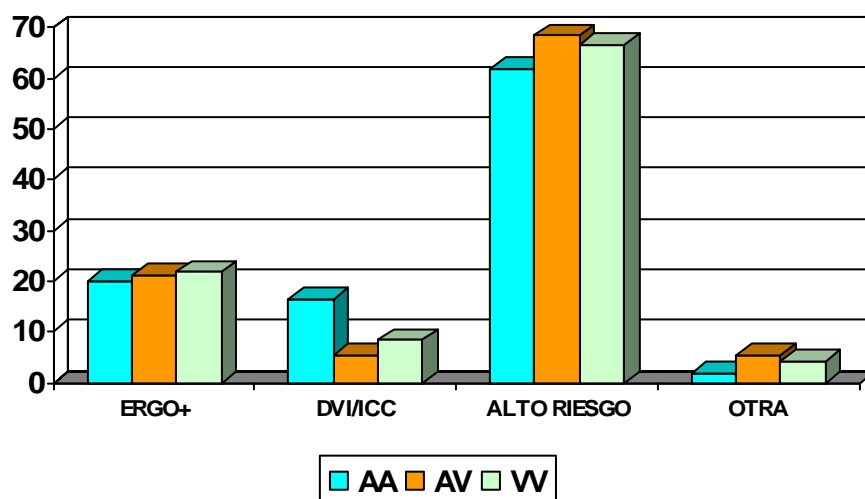


Figura 63. Polimorfismo C677T-indicación de coronariografía.

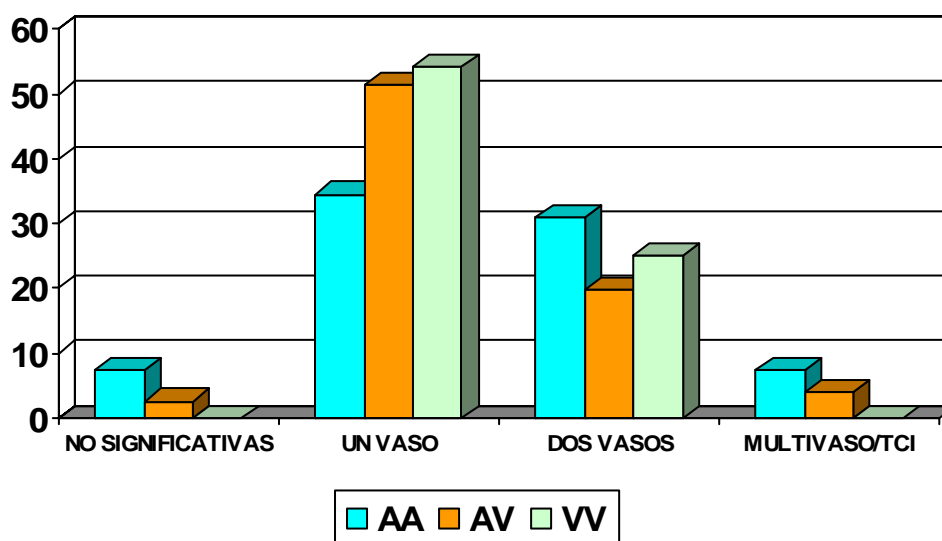


Figura 64. Polimorfismo C677T-número de vasos con lesiones significativas.

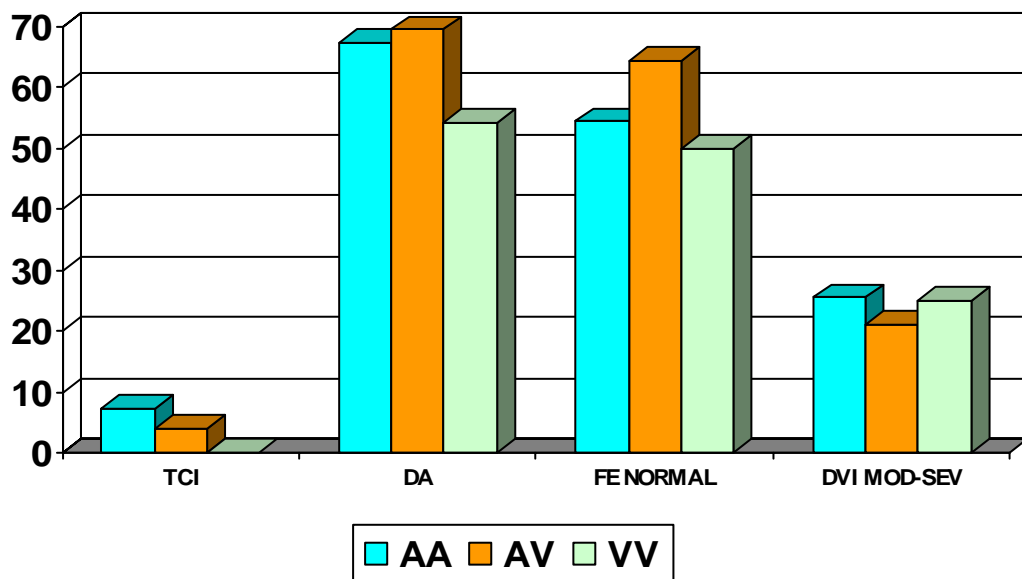


Figura 65. Polimorfismo C677T-características angiográficas I.

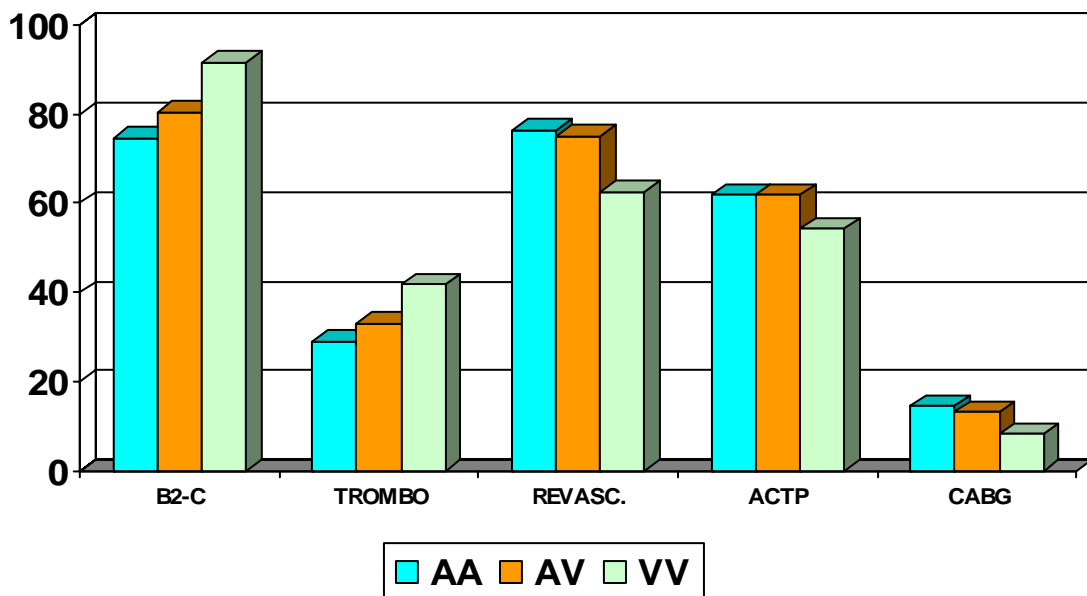


Figura 66. Polimorfismo C677T-características angiográficas II.

D. PRONÓSTICO.

No se hallaron diferencias al analizar el seguimiento medio entre los tres subgrupos de variantes alélicas: AA ($12,98 \pm 8,07$ meses), AV ($13,98 \pm 7,99$ meses), VV ($12,88 \pm 6,16$ meses), $p = 0,71$.

En la Tabla 32 se expresa la comparación entre los tres grupos respecto a la aparición de eventos cardiovasculares mayores y de exitus en el seguimiento.

Tabla 32. Polimorfismo C677T-MACEs en el seguimiento.

	Exitus	MACEs
AA	6 (10,9%)	16 (29,1%)
AV	5 (6,6%)	17 (22,4%)
VV	2 (8,3%)	6 (25%)
Significación	0,63	0,68

Según el método de Kaplan-Meier, no hallamos diferencias al comparar la supervivencia total estimada a uno ni dos años. Tampoco se encontraron diferencias al comparar la supervivencia libre de eventos a 12 y 24 meses entre las tres variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR.

Tabla 33. Supervivencia total a 12 y 24 meses.

	Supervivencia Total 12 meses	Supervivencia Total 24 meses	Supervivencia libre de MACEs 12 meses	Supervivencia libre de MACEs 24 meses
AA	90%	86,2%	73,8%	67,9%
AV	92,9%	92,9%	77,7%	74,6%
VV	88,4%	88,4%	72,5%	72,5%
Significación	0,67	0,67	0,68	0,68

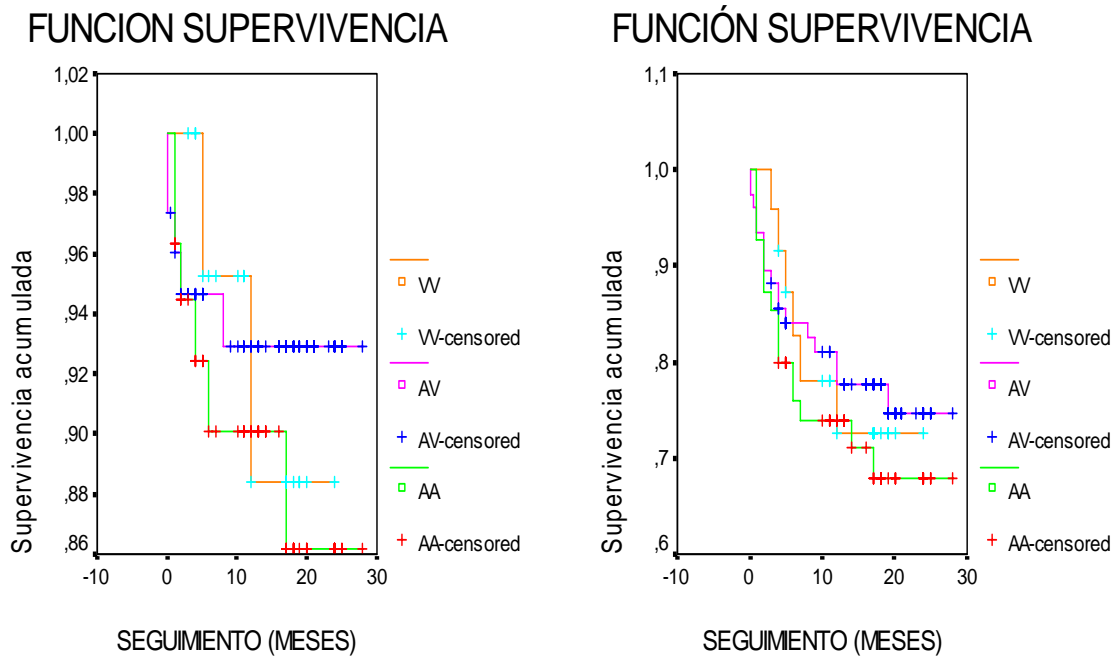


Figura 67. Supervivencia total y libre de eventos en el seguimiento según el método de Kaplan-Meier.

Análisis multivariante. Regresión de Cox.

Con el fin de identificar variables predictoras independientes de exitus en el seguimiento, realizamos un análisis multivariante mediante Regresión de Cox. Tras el mismo, sólo la realización de un tratamiento revascularizador coronario se relacionó de forma inversa con los exitus en el seguimiento; la presencia de la variante alélica homocigótica recesiva no se relacionó de forma independiente con la aparición de muerte cardiovascular en el seguimiento. Ninguna de las variables analizadas fue predictor independiente de la aparición de eventos cardiovasculares mayores en el seguimiento.

Tabla 34. Regresión de Cox Exitus.

	Exp (B)	IC al 95%	p
Edad	1,06	0,99-1,14	0,08
Sexo	1,01	0,24-4,15	0,98
Diabetes	1,11	0,31-3,98	0,86
SCASEST	2,89	0,77-10,79	0,11
TCI	0,13	0,01-1,52	0,10
Multivaso	0,56	0,13-2,37	0,43
DVI	0,99	0,21-4,57	0,99
Revascularización	5,16	1,13-23,45	0,03
VV	0,94	0,16-5,48	0,94

Tabla 35. Regresión de Cox MACEs

	Exp (B)	IC al 95%	p
Edad	1,02	0,98-1,05	0,20
Sexo	0,81	0,38-1,71	0,58
Diabetes	0,90	0,45-1,78	0,77
SCASEST	1,04	0,48-2,28	0,90
TCI	0,55	0,12-2,42	0,43
Multivaso	0,52	0,25-1,09	0,08
DVI	1,03	0,45-2,33	0,94
Revascularización	1,70	0,82-3,53	0,15
VV	0,99	0,38-2,54	0,98

VI. RELACIÓN ENTRE METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA Y EL SÍNDROME CORONARIO AGUDO.

Ante el escaso número de pacientes con niveles bajos de vitamina B12, no se realizó el análisis incluyendo esta variable.

A. EPIDEMIOLOGÍA Y RIESGO CARDIOVASCULAR.

FOLATOS.

No se encontraron diferencias en la edad media entre los pacientes con niveles de folatos por encima o por debajo de la normalidad (menor o mayor de 3,1 ng/ml): $62,11 \pm 11,00$ años y $62,52 \pm 11,59$ años, respectivamente; $p = 0,82$. Tampoco se encontraron diferencias en la edad media cuando la comparación se llevó a cabo sobre la presencia de niveles normales o dudosos de folatos (mayores o menores de 5,31 ng/ml): $61,50 \pm 10,88$ años y $62,63 \pm 11,18$ años, respectivamente; $p = 0,53$.

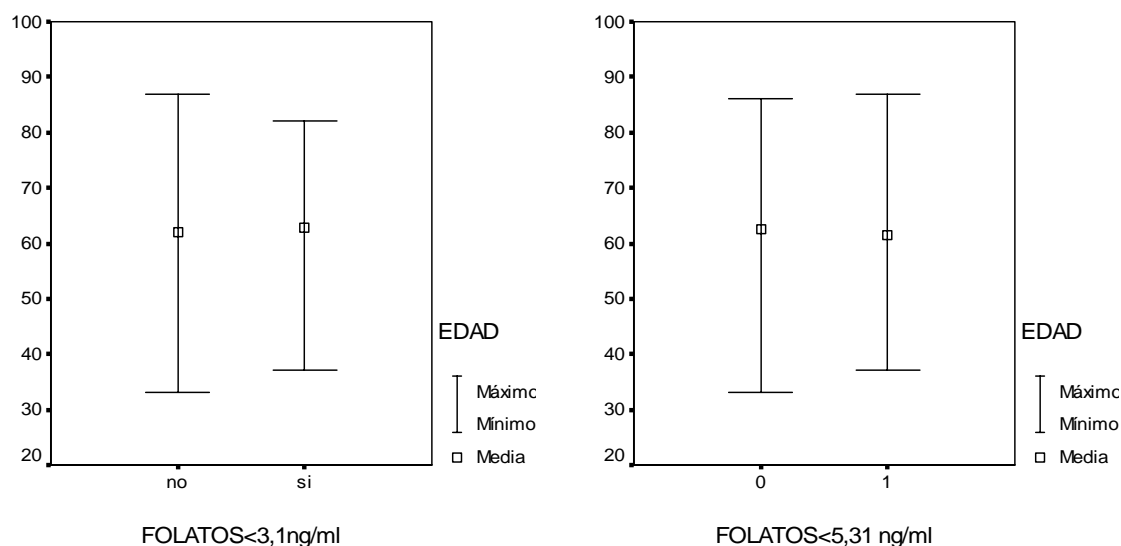


Figura 68. Edad media y folatos.

No encontramos diferencias en la distribución por sexos entre los pacientes con niveles bajos y/o dudosos de folatos y aquéllos con niveles basales normales (Tabla 36).

Tabla 36. Distribución por sexos y niveles de folatos plasmáticos.

	Varones	Mujeres
Folatos ≤ 3,1 ng/ml	15 (83,3%)	3 (16,7%)
Folatos >3,1 ng/ml	105 (75,9%)	33 (24,1%)
Significación	0,76	0,76
Folatos ≤ 5,31 ng/ml	49 (79,0%)	13 (21%)
Folatos > 5,31 ng/ml	70 (75,3%)	23 (24,7%)
Significación	0,58	0,58

La distribución en porcentaje de los FRCV clásicos respecto a la presencia de niveles bajos y/o dudosos de folatos plasmáticos se expresa en la Tabla 37. Destaca que los pacientes con niveles bajos y/o dudosos de folatos plasmáticos presentaron en menor porcentaje diabetes mellitus. No se encontraron diferencias respecto al resto de FRCV clásicos.

Tabla 37. FRCV clásicos y niveles bajos y/o dudosos de folatos plasmáticos.

	HTA	DM	Dislipemia	Tabaco	Historia familiar	LDL>130	HDL<35	HDL>60
Folatos ≤ 3,1 ng/ml	10 (55,6%)	4 (22,2%)	11 (61,1%)	13 (72,2%)	0 (0%)	8 (44,4%)	5 (27,8%)	0 (0%)
Folatos > 3,1 ng/ml	71 (51,8%)	54 (29,4%)	72 (52,6%)	83 (60,6%)	17 (12,4%)	60 (43,8%)	62 (45,3%)	2 (1,5%)
Significación	0,76	0,15	0,49	0,34	0,22	0,95	0,20	1,00
Folatos ≤ 5,31 ng/ml	31 (50%)	15 (24,2%)	32 (51,6%)	44 (71,0%)	6 (9,7%)	27 (43,5%)	21 (33,9%)	0 (0%)
Folatos > 5,31 ng/ml	50 (53,8%)	43 (46,2%)	51 (54,8%)	52 (55,9%)	11 (11,8%)	41 (44,1%)	46 (49,5%)	2 (2,2%)
Significación	0,64	<0,01	0,69	0,06	0,67	0,94	0,05	0,51

No se encontraron diferencias en el puntaje medio según FRCV clásicos: Folatos ≤ 3,1 ng/ml ($3,28 \pm 1,27$) frente a folatos > 3,1 ng/ml ($3,47 \pm 1,00$), $p = 0,44$; folatos ≤ 5,31 ng/ml ($3,35 \pm 1,02$) frente a folatos > 5,31 ng/ml ($3,52 \pm 1,00$), $p = 0,53$.

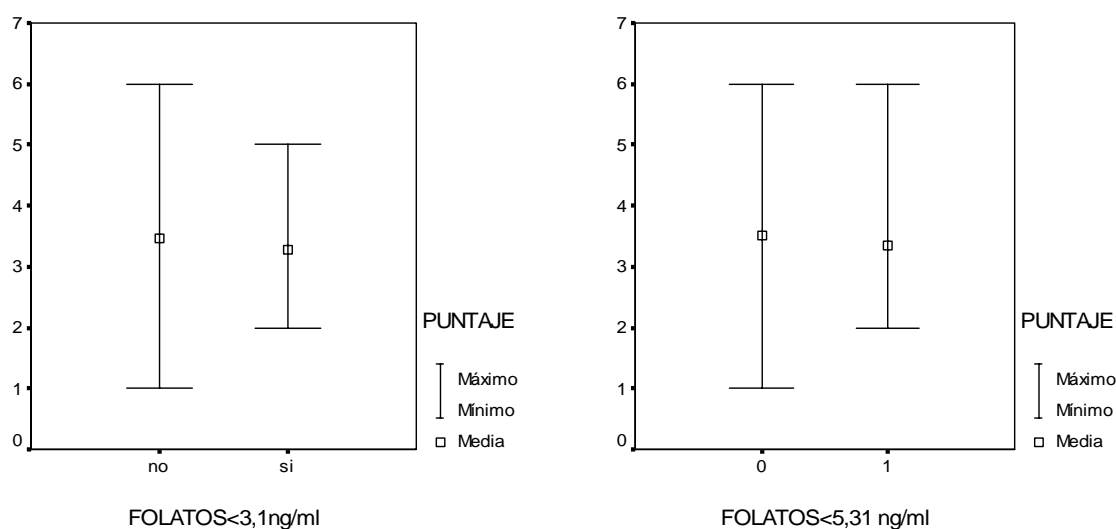


Figura 69. Análisis bivariado folatos y puntaje según FRCV

HOMOCISTEÍNA.

Los pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ presentaron una edad media mayor que aquéllos con niveles de Hcy por debajo de dicha cifra: $64,14 \pm 11,11$ años frente a $58,62 \pm 10,06$ años; $p = 0,003$. Del mismo modo, los pacientes con niveles de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$ también presentaron una mayor edad media que aquéllos con niveles por debajo de dicho límite: $66,39 \pm 13,04$ años frente a $61,25 \pm 10,38$ años; $p = 0,02$.

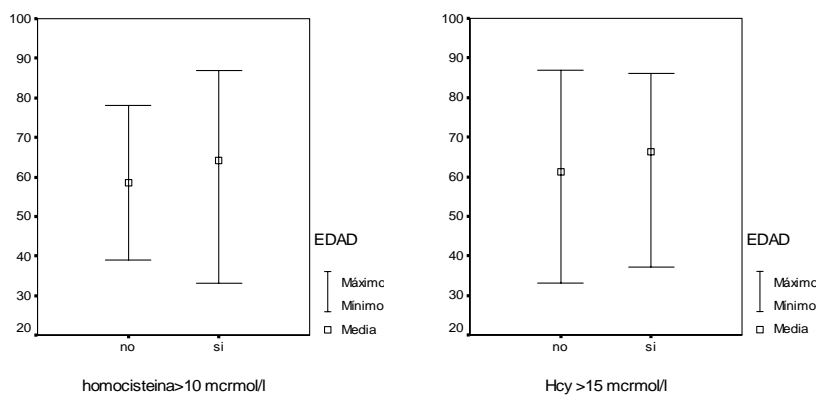


Figura 70. Homocisteína y edad media.

No encontramos diferencias en la distribución por sexos entre los pacientes con niveles elevados de Hcy plasmática frente a aquéllos con niveles basales normales (Tabla 38).

Tabla 38. Comparación entre niveles de Hcy y sexo.

	Varones	Mujeres
Hcy < 10 $\mu\text{mol/l}$	41 (74,5%)	14 (25,5%)
Hcy $\geq 10 \mu\text{mol/l}$	78 (78%)	22 (22%)
Significación	0,62	0,62
Hcy < 15 $\mu\text{mol/l}$	97 (76,4%)	30 (23,6%)
Hcy $\geq 15 \mu\text{mol/l}$	22 (78,6%)	6 (21,4%)
Significación	0,80	0,80

La distribución en porcentaje de los FRCV clásicos respecto a la presencia de niveles de Hcy por encima de 10 o 15 $\mu\text{mol/l}$ se expresa en la Tabla 39. Destaca que los pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ presentaron en menor porcentaje dislipemia. No se encontraron diferencias respecto al resto de FRCV clásicos.

Tabla 39. FRCV clásicos y niveles elevados de Hcy plasmática.

	HTA	DM	Dislipemia	Tabaco	Historia familiar	LDL>130	HDL<35	HDL>60
Hcy ≥ 10 μmol/l	57 (57%)	36 (36%)	46 (46%)	62 (62%)	11 (11%)	42 (42%)	47 (47%)	1 (1%)
Hcy < 10 μmol/l	24 (43,6%)	22 (40%)	37 (67,3%)	34 (61,8%)	6 (10,9%)	26 (47,3%)	20 (36,4%)	1 (1,8%)
Significación	0,11	0,62	0,01	0,98	0,98	0,52	0,20	1,00
Hcy ≥ 15 μmol/l	16 (57,1%)	7 (25%)	11 (39,3%)	19 (67,9%)	2 (7,1%)	15 (53,6%)	15 (53,6%)	0 (0%)
Hcy < 15 μmol/l	65 (51,2%)	51 (40,2%)	72 (56,7%)	77 (60,6%)	15 (11,8%)	53 (41,7%)	52 (40,9%)	2 (1,6%)
Significación	0,56	0,13	0,09	0,47	0,73	0,25	0,22	1,00

No se encontraron diferencias en el puntaje medio según FRCV clásicos: Hcy ≥ 10 μmol/l ($3,48 \pm 1,02$) frente a Hcy < 10 μmol/l ($3,40 \pm 1,01$), $p = 0,64$; Hcy ≥ 15 μmol/l ($3,50 \pm 1,00$) frente a Hcy < 15 μmol/l ($3,44 \pm 1,02$), $p = 0,78$.

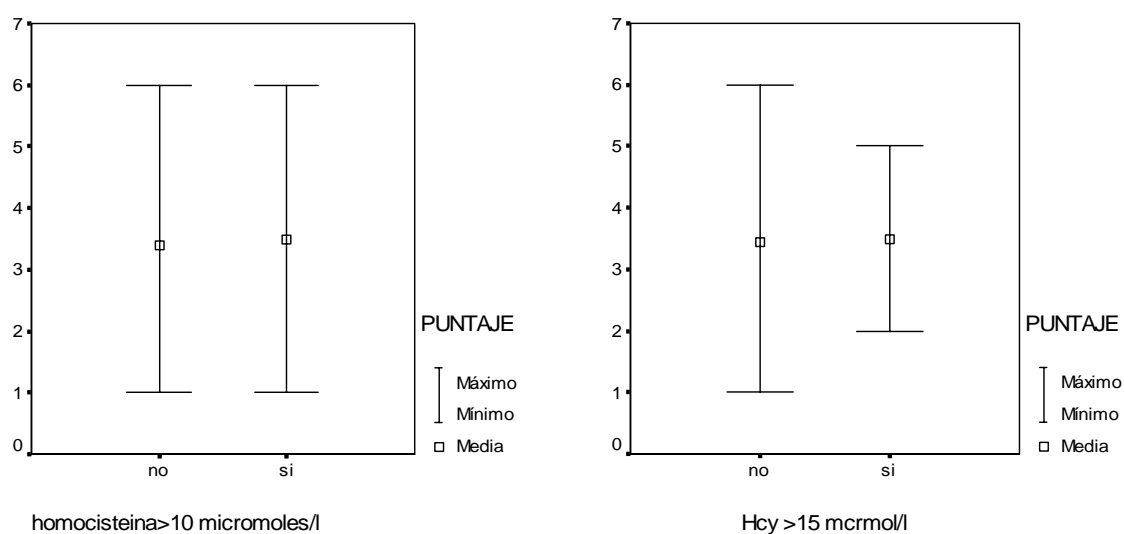


Figura 71. Análisis bivariado Hcy y puntaje según FRCV clásicos.

B. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

FOLATOS

En las Tablas 40 y 41 se resume la comparación entre los pacientes con niveles bajos y/o dudosos de folatos plasmáticos y aquellos con niveles normales respecto a la presencia de cardiopatía isquémica e IAM previos, la realización de coronariografía previa, la forma de presentación clínica al ingreso, así como en la existencia de complicaciones. Tampoco se hallaron diferencias al analizar la localización del IAM.

Como se puede observar no se encontraron diferencias en la distribución de ninguna de las variables analizadas.

Tabla 40. Estudio bivariado Folatos-características clínicas.

	Cardiop isquémica previa	IAM previo	Coronariog. previa	SCASEST	Ausencia de cambios ECG	Fibrinólisis	Complicaciones
Folatos ≤ 3,1 ng/ml	9 (50%)	2 (11%)	3 (16,7%)	10 (55,6%)	3 (16,7%)	6/8 (75,0%)	8 (44,4%)
Folatos > 3,1 ng/ml	65 (47,4%)	35 (25,5%)	31 (22,6%)	99 (72,3%)	48 (35,0%)	24/34 (70,6%)	32 (23,4%)
Significación	0,23	0,34	0,76	0,14	0,47	1,00	0,08
Folatos ≤ 5,31 ng/ml	29 (46,8%)	15 (24,2%)	12 (19,4%)	43 (69,4%)	19 (30,6%)	13/18 (72,2%)	13 (21,0%)
Folatos > 5,31 ng/ml	45 (48,4%)	22 (23,7%)	22 (23,7%)	66 (71%)	32 (34,4%)	17/24 (70,8%)	27 (29,0%)
Significación	0,99	0,30	0,52	0,83	0,27	0,92	0,26

Tabla 41. Estudio bivariado Folatos-localización del IAM.

	No	Anterior	Inf/post	Lateral
Folatos	10	2	5	1
≤ 3,1 ng/ml	(55,6%)	(11,1%)	(27,8%)	(5,6%)
Folatos	104	14	18	1
> 3,1 ng/ml	(75,9%)	(10,2%)	(13,1%)	(0,7%)
Significación	0,07	0,07	0,07	0,07
Folatos	43	5	13	1
≤ 5,31 ng/ml	(69,4%)	(8,1%)	(21%)	(1,6%)
Folatos	71	11	10	1
> 5,31 ng/ml	(76,3%)	(11,8%)	(10,8%)	(1,1%)
Significación	0,28	0,28	0,28	0,28

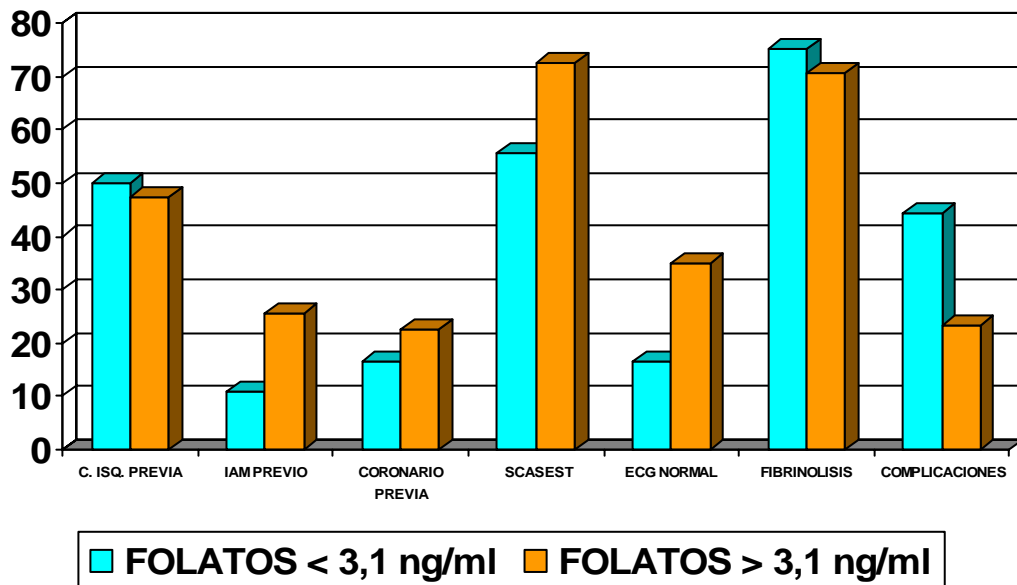


Figura 72. Folatos y características clínicas I.

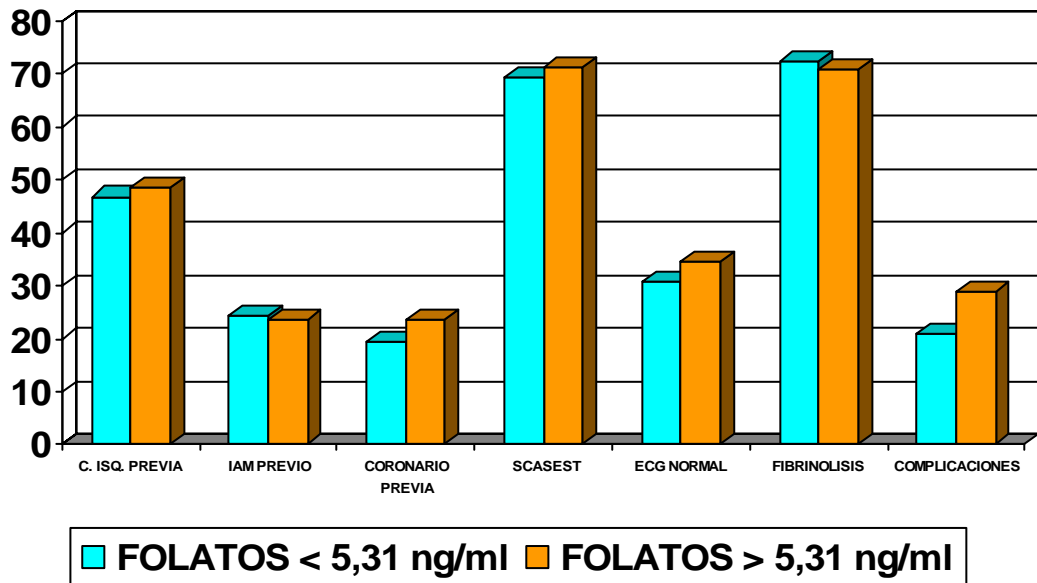


Figura 73. Folatos y características clínicas II.

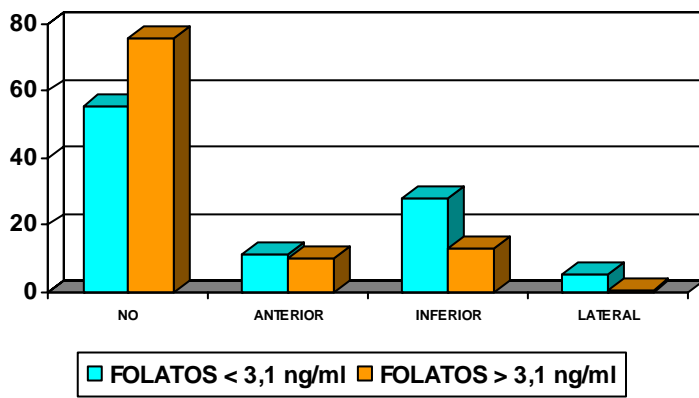


Figura 74. Folatos y localización del IAM I.

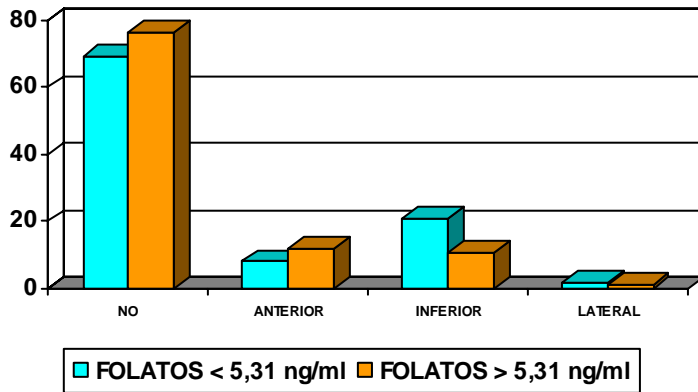


Figura 75. Folatos y localización del IAM II.

HOMOCISTEÍNA

En las Tablas 42 y 43 se expresa el análisis bivariado entre la presencia de niveles elevados de Hcy (2 puntos de corte: 10 y 15 $\mu\text{mol/l}$) y las principales características clínicas de la muestra analizada. No se observaron diferencias entre los pacientes con niveles normales o elevados de Hcy plasmática en ninguna de las variables analizadas.

Tabla 42. Hcy y características clínicas.

	Cardiop isquémica previa	IAM previo	Coronariog. previa	SCASEST	Ausencia de cambios ECG	Fibrinólisis	Complicaciones
Hcy ≥ 15 μmol/l	11 (39,3%)	6 (21,4%)	4 (50,0%)	18 (64,3%)	7 (25,0%)	4/9 (44,4%)	9 (32,1%)
Hcy < 15 μmol/l	63 (49,6%)	31 (24,4%)	29 (67,4%)	91 (71,7%)	44 (34,6%)	26/33 (78,8%)	31 (24,4%)
Significación	0,40	0,83	0,25	0,49	0,72	0,09	0,39
Hcy ≥ 10 μmol/l	48 (48,0%)	25 (25,0%)	22 (61,1%)	70 (70,0%)	34 (34,0%)	17/27 (63,0%)	29 (29,0%)
Hcy < 10 μmol/l	26 (47,3%)	12 (21,8%)	11 (73,3%)	39 (70,9%)	17 (30,9%)	13/15 (86,7%)	11 (20,0%)
Significación	0,87	0,74	0,11	0,90	0,81	0,15	0,22

Tabla 43. Hcy y localización del IAM.

	No	Anterior	Inf/post	Lateral
Hcy ≥ 15 μmol/l	20 (71,4%)	3 (10,7%)	4 (14,3%)	1 (3,6%)
Hcy < 15 μmol/l	94 (74,0%)	13 (10,2%)	19 (15%)	1 (0,8%)
Significación	0,60	0,60	0,60	0,60
Hcy ≥ 10 μmol/l	72 (72%)	9 (9%)	17 (21%)	2 (2%)
Hcy < 10 μmol/l	42 (76,4%)	7 (12,7%)	6 (10,9%)	0 (0%)
Significación	0,54	0,54	0,54	0,54

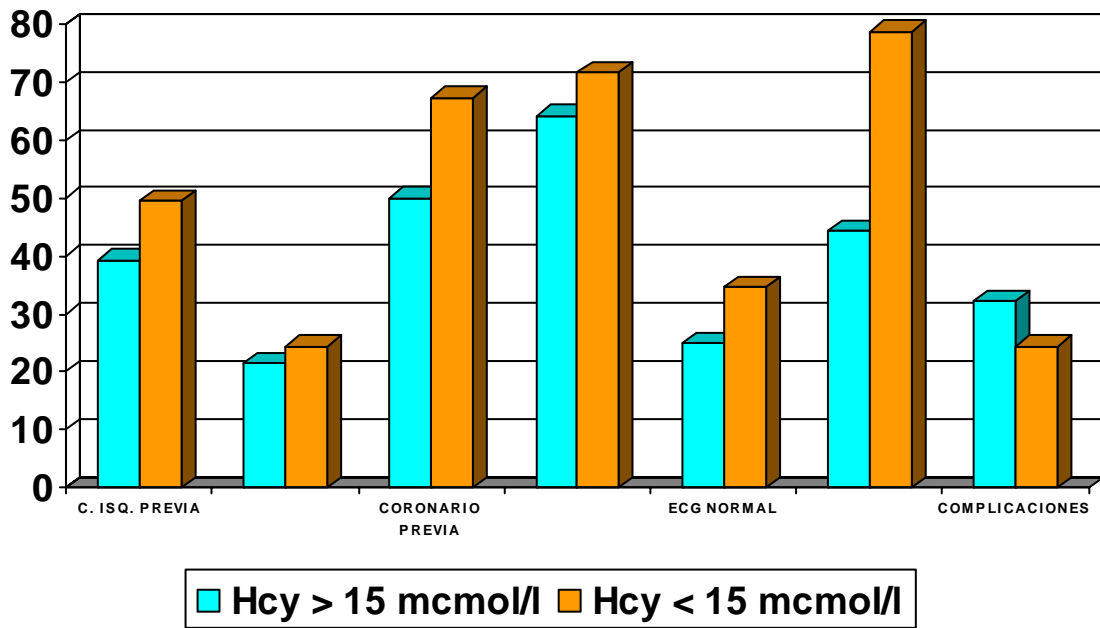


Figura 76. Hcy y características clínicas I.

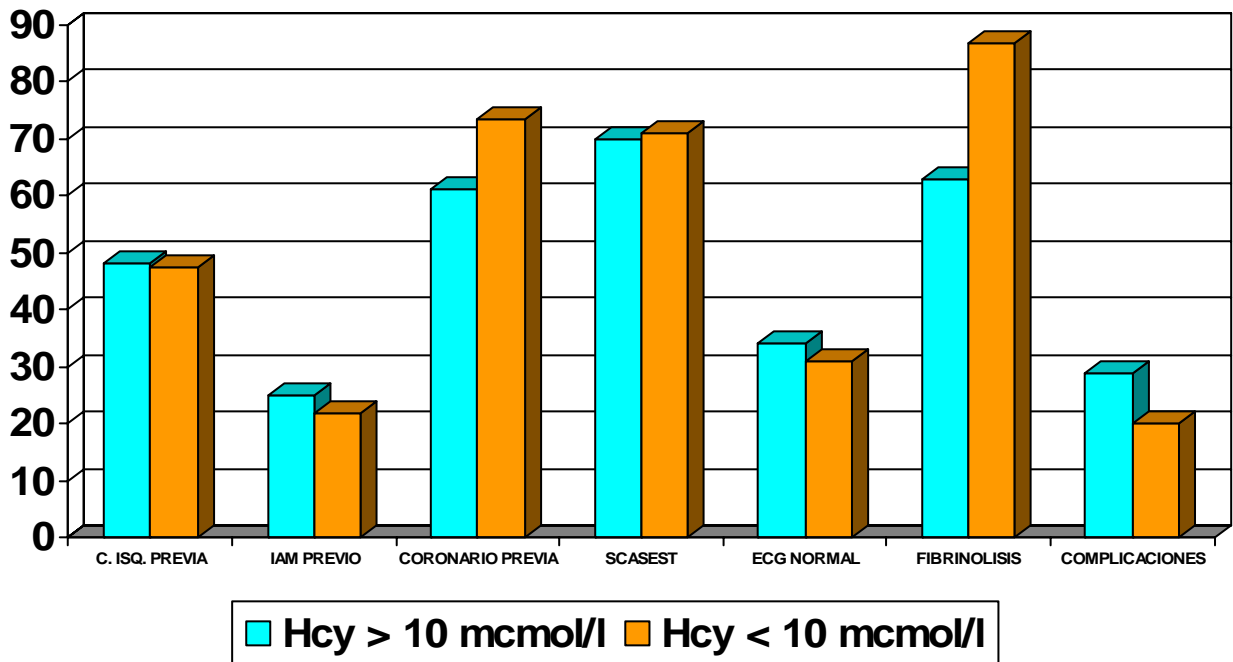


Figura 77. Hcy y características clínicas II.

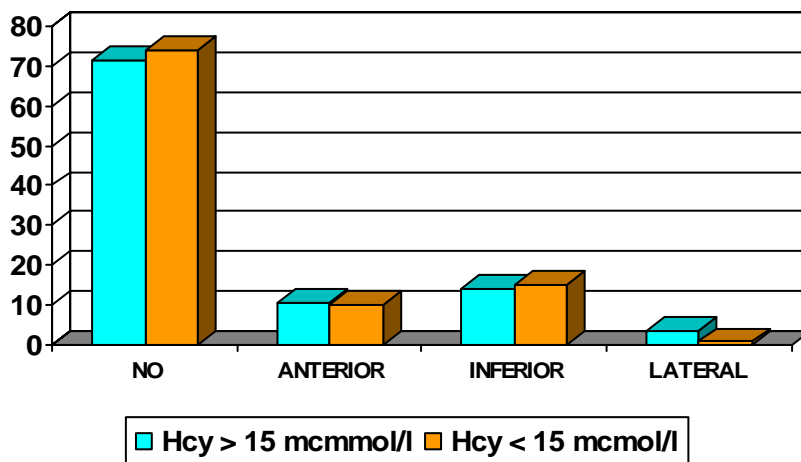


Figura 78. Hcy y localización del IAM I.

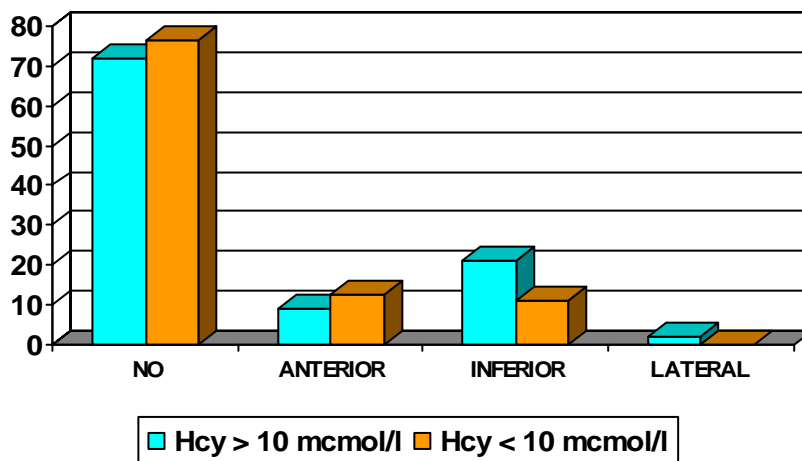


Figura 79. Hcy y localización del IAM II.

C. CARACTERÍSTICAS ANGIOGRÁFICAS

FOLATOS

En las Tablas 44-47 se expresa el análisis bivariado de los pacientes con niveles bajos y/o dudosos de folatos frente a aquéllos pacientes con niveles normales de folatos plasmáticos, respecto a las características angiográficas. No se encontraron diferencias al analizar la indicación de coronariografía, el número de vasos con lesiones coronarias significativas, la afectación de la arteria DA o del TCI, la realización de tratamiento revascularizador y la presencia de trombo intraarterial.

Tabla 44. Análisis bivariado folatos-indicación de coronariografía.

	Ergo +	Alto riesgo	ICC/DVI	Otras
Folatos ≤ 3,1 ng/ml	3 (16,7%)	8 (44,4%)	6 (33,3%)	1 (5,6%)
Folatos > 3,1 ng/ml	29 (21,2%)	94 (68,6%)	9 (6,6%)	5 (3,6%)
Significación	0,25	0,25	0,25	0,25
Folatos ≤ 5,31 ng/ml	14 (22,6%)	38 (61,3%)	8 (12,9%)	2 (3,2%)
Folatos > 5,31 ng/ml	18 (19,4%)	64 (68,8%)	7 (7,5%)	4 (4,3%)
Significación	0,67	0,67	0,67	0,67

Tabla 45. Estudio bivariado folatos-lesiones coronarias.

	No significativas	Monovaso	2 vasos	Multivaso/TCI
Folatos	1	4	6	7
≤ 3,1 ng/ml	(5,6%)	(22,2%)	(33,3%)	(38,9%)
Folatos	5	63	36	33
> 3,1 ng/ml	(3,6%)	(46,0%)	(26,3%)	(24,1%)
Significación	0,38	0,38	0,38	0,38
Folatos	2	30	15	15
≤ 5,31 ng/ml	(3,2%)	(48,4%)	(24,2%)	(24,2%)
Folatos	4	37	27	25
> 5,31 ng/ml	(4,3%)	(39,8%)	(29,0%)	(26,9%)
Significación	0,58	0,58	0,58	0,58

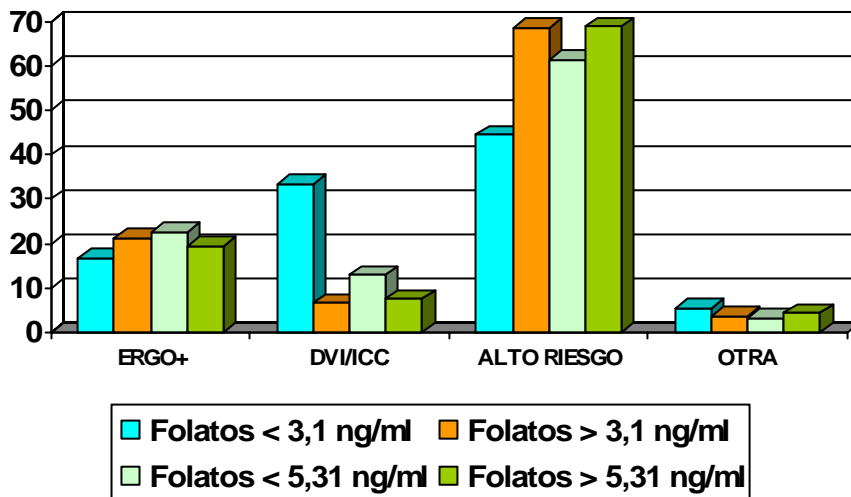


Figura 80 Estudio bivariado Folatos-Indicación de Ergometría.

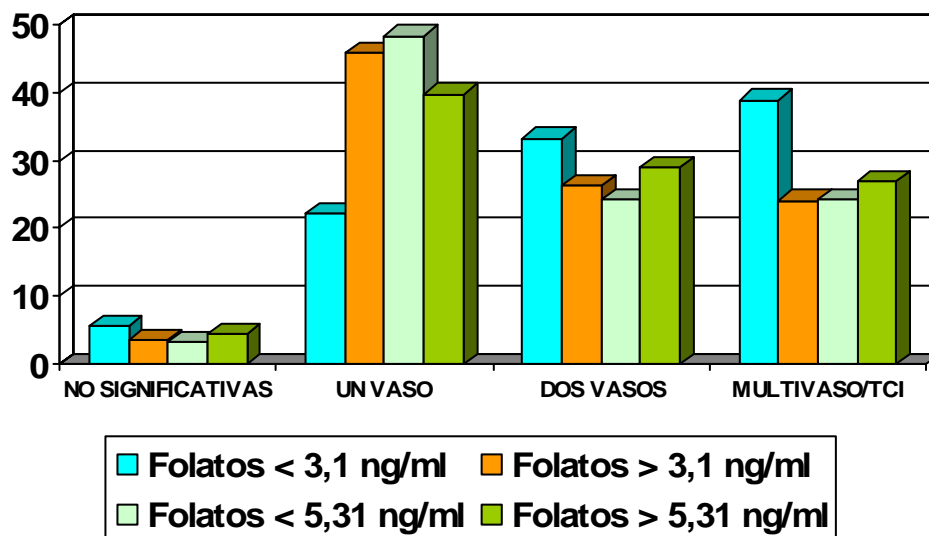


Figura 81. Análisis bivariado Folatos y Número de vasos con lesiones significativas.

Tabla 46. Estudio bivariado folatos-características angiográficas I.

	TCI	DA	FE normal	DVI Mod/Sev
Folatos				
≤ 3,1 ng/ml	1 (5,6%)	10 (55,6%)	11 (61,1%)	3 (16,7%)
Folatos				
> 3,1 ng/ml	6 (4,4%)	89 (65,0%)	81 (59,1%)	33 (24,1%)
Significación	0,82	0,43	0,87	0,48
Folatos				
≤ 5,31 ng/ml		37 (3,2%)	39 (59,7%)	10 (62,9%)
Folatos				
> 5,31 ng/ml	5 (5,4%)	62 (66,7%)	53 (57,0%)	26 (28,0%)
Significación	0,53	0,43	0,46	0,08

Tabla 47. Estudio bivariado Folatos-características angiográficas II.

	Lesiones B2-C	Trombo	Revascularización	Revasc. Percutánea	Revasc. quirúrgica
Folatos	14	5	11	9	2
≤ 3,1 ng/ml	(77,8%)	(27,8%)	(61,1%)	(50,0%)	(11,1%)
Folatos	110	46	103	85	18
> 3,1 ng/ml	(80,3%)	(33,6%)	(75,2%)	(62,0%)	(13,1%)
Significación	0,54	0,62	0,20	0,44	0,44
Folatos	48	17	44	37	7
≤ 5,31 ng/ml	(77,4%)	(27,4%)	(71,0%)	(59,7%)	(11,3%)
Folatos	76	34	70	57	13
> 5,31 ng/ml	(81,7%)	(36,3%)	(75,3%)	(61,3%)	(14,0%)
Significación	0,45	0,23	0,55	0,78	0,78

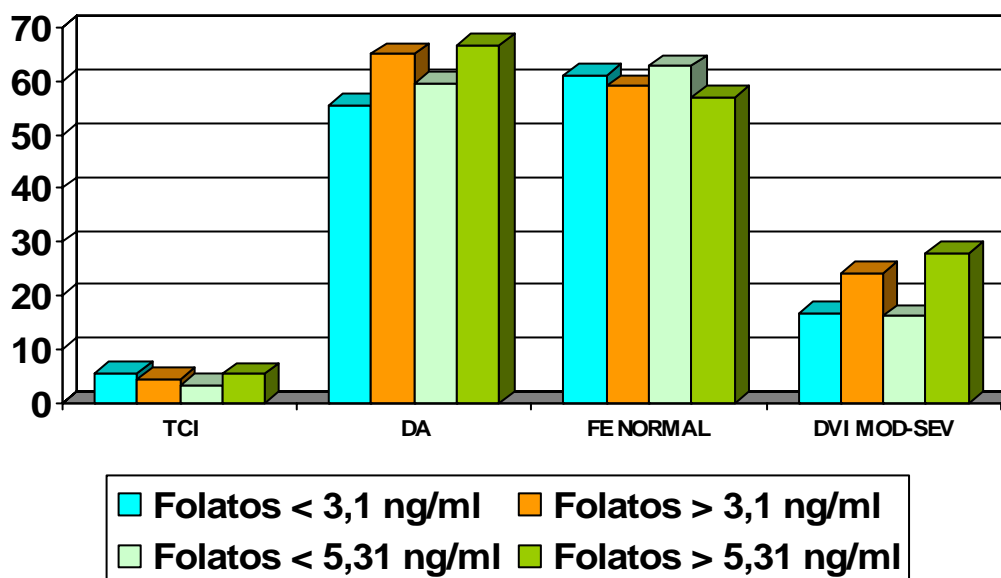


Figura 82. Análisis bivariado Folatos-Características angiográficas I.

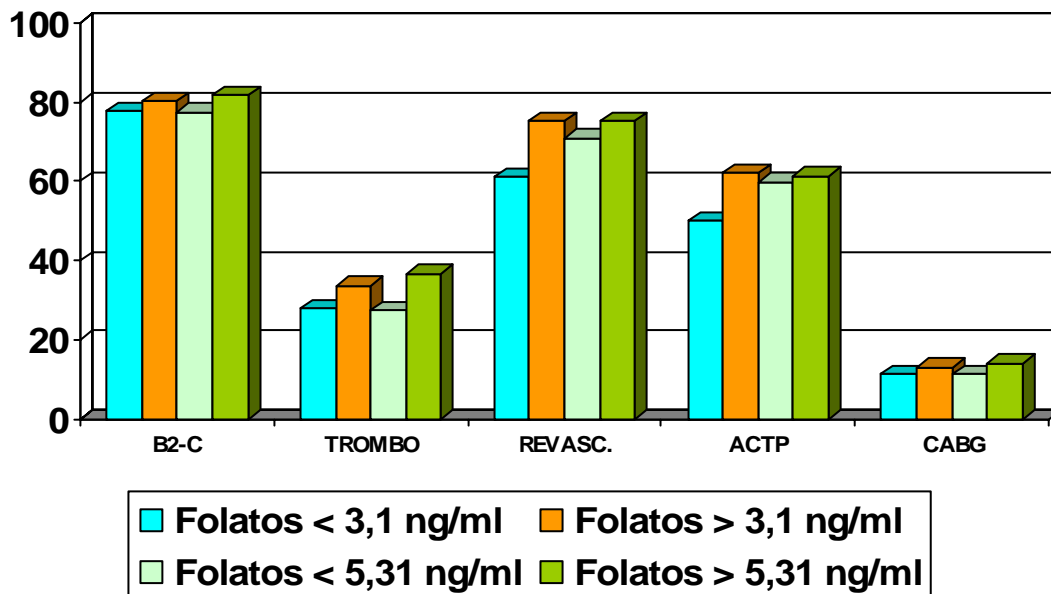


Figura 83. Análisis bivariado Folatos-Características angiográficas II.

HOMOCISTEÍNA

En las Tablas 48-51 se expresa el análisis bivariado de los pacientes con niveles supranormales de Hcy frente a aquéllos pacientes con niveles normales de Hcy plasmática, respecto a las características angiográficas. Los pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ presentaron mayor porcentaje de lesiones de dos vasos y menor porcentaje de lesiones monovaso que el de aquéllos con niveles de Hcy por debajo de 10 $\mu\text{mol/l}$. No se encontraron diferencias al analizar la indicación de coronariografía, la afectación de la arteria DA o del TCI, la realización de tratamiento revascularizador y la presencia de trombo intraarterial.

Tabla 48. Estudio bivariado Hcy-indicación de coronariografía.

	Ergo +	Alto riesgo	DVI/ICC	Otras
Hcy ≥ 15 μmol/l	7 (25,0%)	15 (53,6%)	4 (14,3%)	2 (7,1%)
Hcy < 15 μmol/l	25 (19,7%)	87 (68,5%)	11 (8,7%)	4 (3,1%)
Significación	0,42	0,42	0,42	0,42
Hcy ≥ 10 μmol/l	19 (19%)	63 (63,0%)	13 (13%)	5 (5%)
Hcy < 10 μmol/l	13 (23,6%)	39 (70,9%)	2 (3,6%)	1 (1,8%)
Significación	0,18	0,18	0,18	0,18

Tabla 49. Estudio bivariado Hcy-número de vasos con lesiones.

	No significativas	Monovaso	2 vasos	Multivaso/TCI
Hcy ≥ 15 μmol/l	0 (0%)	13 (46,4%)	6 (21,4%)	9 (32,1%)
Hcy < 15 μmol/l	6 (4,7%)	54 (42,5%)	36 (28,3%)	31 (24,4%)
Significación	0,61	0,61	0,61	0,61
Hcy ≥ 10 μmol/l	2 (2%)	38 (38%)	34 (34%)	26 (26%)
Hcy < 10 μmol/l	4 (7,3%)	29 (52,7%)	8 (14,5%)	14 (25,5%)
Significación	0,43	0,03	0,03	0,82

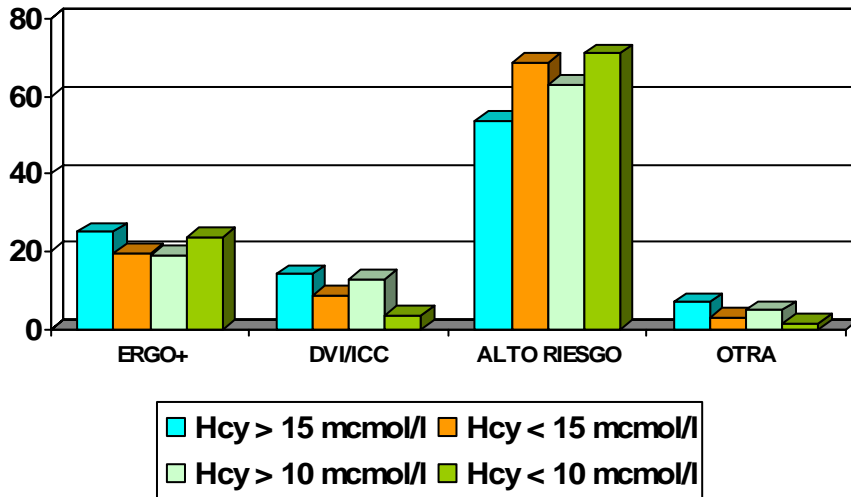


Figura 84. Análisis bivariado Hcy-indicación de coronariografía.

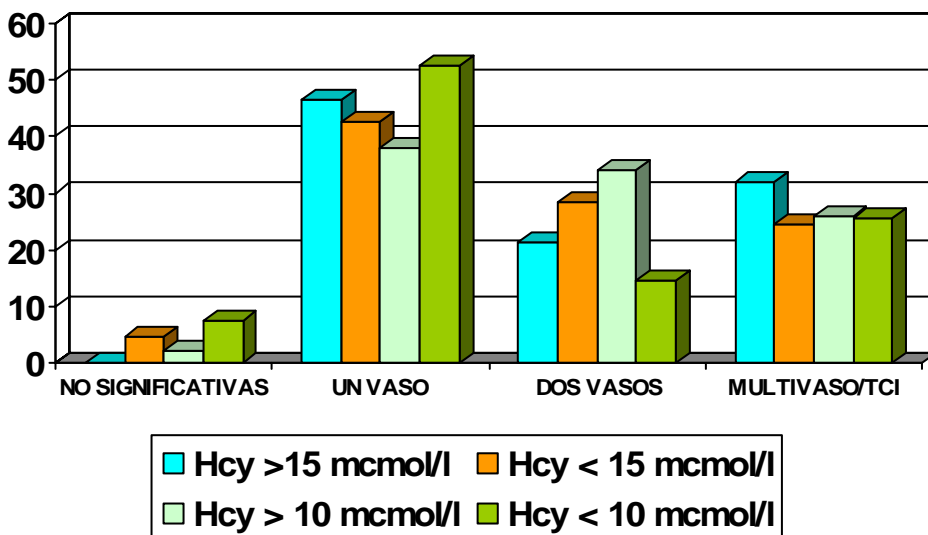


Figura 85. Análisis bivariado Hcy y número de lesiones coronarias

Tabla 50. Estudio bivariado Hcy-características angiográficas I.

	TCI	DA	FE normal	DVI mod/sev
Hcy ≥ 15 μmol/l	3 (10,7%)	18 (64,3%)	17 (60,7%)	8 (28,6%)
Hcy < 15 μmol/l	4 (3,1%)	81 (63,8%)	75 (59,1%)	28 (22,0%)
Significación	0,08	0,96	0,87	0,45
Hcy ≥ 10 μmol/l	5 (5%)	64 (64%)	59 (59%)	26 (26%)
Hcy < 10 μmol/l	2 (3,6%)	35 (63,6%)	33 (60%)	10 (18,2%)
Significación	0,69	0,96	0,90	0,27

Tabla 51. Estudio Bivariado Hcy-características angiográficas II.

	B2-C	Trombo	Revascularización	Revasc. Percutánea	Revasc. Quirúrgica
Hcy ≥ 15 μmol/l	23 (82,1%)	9 (32,1%)	20 (71,4%)	17 (60,7%)	8 (28,6%)
Hcy < 15 μmol/l	101 (79,6%)	42 (33,1%)	94 (74,0%)	77 (60,6%)	28 (22,0%)
Significación	0,57	0,92	0,77	0,91	0,91
Hcy ≥ 10 μmol/l	81 (81,0%)	34 (34,0%)	70 (70%)	60 (60%)	10 (10%)
Hcy < 10 μmol/l	43 (78,1%)	17 (30,9%)	44 (80,0%)	34 (61,8%)	10 (18,2%)
Significación	0,77	0,69	0,17	0,20	0,20

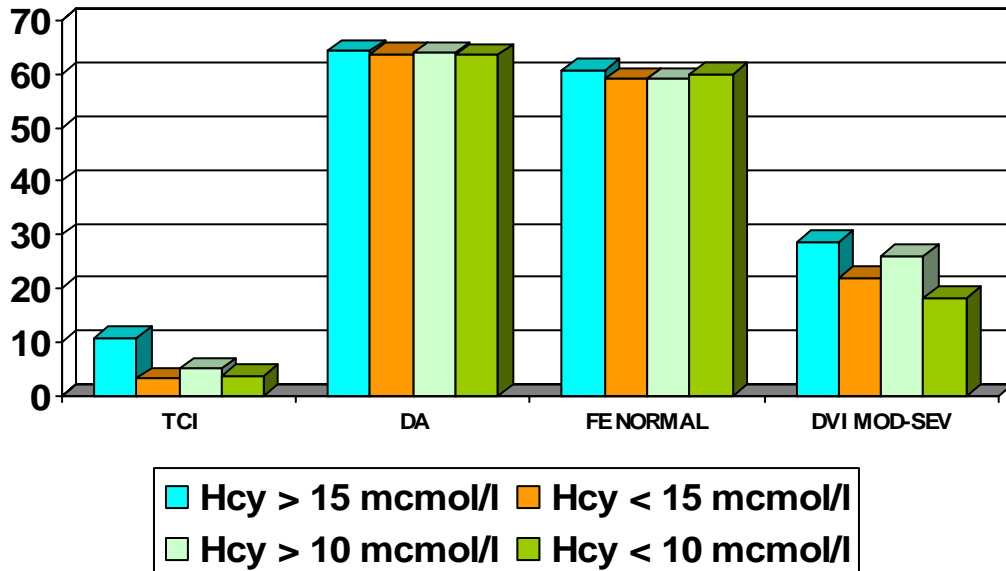


Figura 86. Análisis bivariado Hcy y Características angiográficas I.

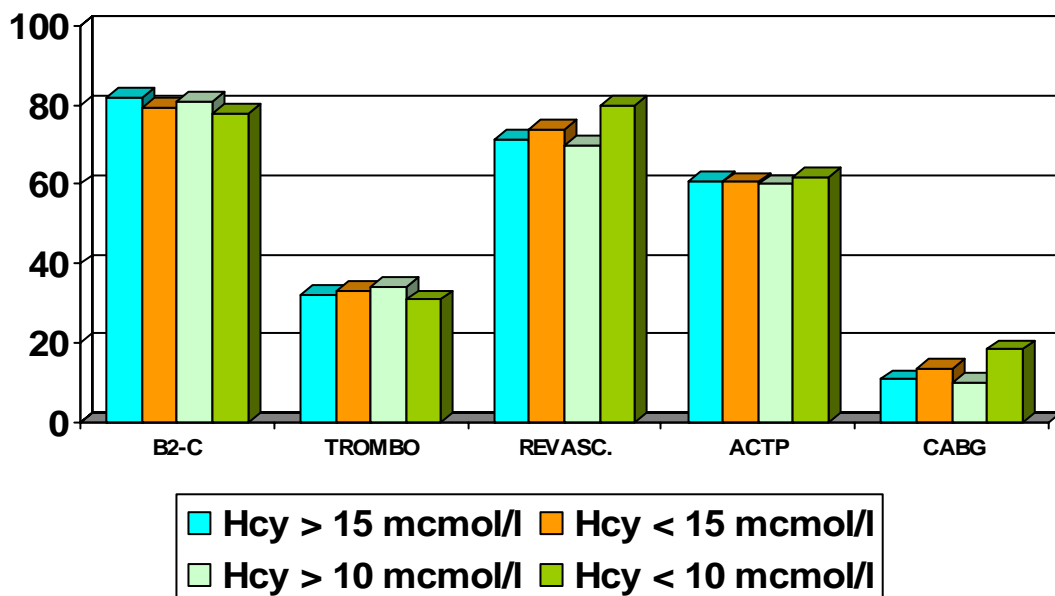


Figura 87. Análisis bivariado Hcy y Características angiográficas II.

D. PRONÓSTICO

FOLATOS

En el grupo de pacientes con niveles de folatos bajos el seguimiento medio fue significativamente menor ($9,06 \pm 7,96$ meses) frente al de aquéllos con niveles de folatos por encima de 3,1 ng/ml ($14,03 \pm 7,55$ meses), $p = 0,01$. No se hallaron diferencias al analizar el seguimiento medio entre los pacientes con niveles bajos y/o dudosos de folatos ($13,01 \pm 8,07$ meses) frente a aquéllos con niveles normales de folatos ($13,75 \pm 7,54$ meses), $p = 0,56$.

En la Tabla 52 se expresa la comparación respecto a la aparición de eventos cardiovasculares mayores y de exitus en el seguimiento.

Tabla 52. Folatos y MACEs en el seguimiento

	Exitus	MACEs
Folatos $\leq 3,1$ ng/ml	6 (33,3%)	8 (44,4%)
Folatos $> 3,1$ ng/ml	7 (5,1%)	31 (22,6%)
Significación	0,001	$< 0,05$
Folatos $\leq 5,31$ ng/ml	9 (14,5%)	15 (24,2%)
Folatos $> 5,31$ ng/ml	4 (4,3%)	24 (25,8%)
Significación	0,02	0,82

Los pacientes con niveles bajos de folatos presentaron una mayor tasa de exitus y de MACEs frente a aquéllos con niveles de folatos por encima de 3,1 ng/ml. Así mismo, los pacientes con niveles bajos y/o dudosos de folatos presentaron una mayor tasa de exitus en el

seguimiento, aunque no se observaron diferencias en la aparición de MACEs.

Según las estimaciones del método de Kaplan-Meier, tanto la supervivencia total como la supervivencia libre de eventos a 12 y 24 meses fue significativamente menor en el grupo de pacientes con niveles de folatos por debajo de 3,1 ng/ml. Así mismo, los pacientes con niveles de folatos por debajo de 5,31 ng/ml presentaron una menor supervivencia total a 12 y 24 meses, aunque no se hallaron diferencias en la comparación respecto a la supervivencia libre de eventos (Tabla 53).

Tabla 53. Supervivencia total a 12 y 24 meses.

	Supervivencia Total 12 meses	Supervivencia Total 24 meses	Supervivencia libre de MACEs 12 meses	Supervivencia libre de MACEs 24 meses
Folatos ≤ 3,1 ng/ml	59,26%	59,26%	50,44%	50,44%
Folatos > 3,1 ng/ml	95,21%	93,85%	78,55%	74,50%
Significación	< 0,001	< 0,001	0,01	0,01
Folatos ≤ 5,31 ng/ml	83,93%	83,93%	76,51%	71,73%
Folatos > 5,31 ng/ml	96,26%	94,02%	74,91%	71,68%
Significación	0,02	0,02	0,99	0,99

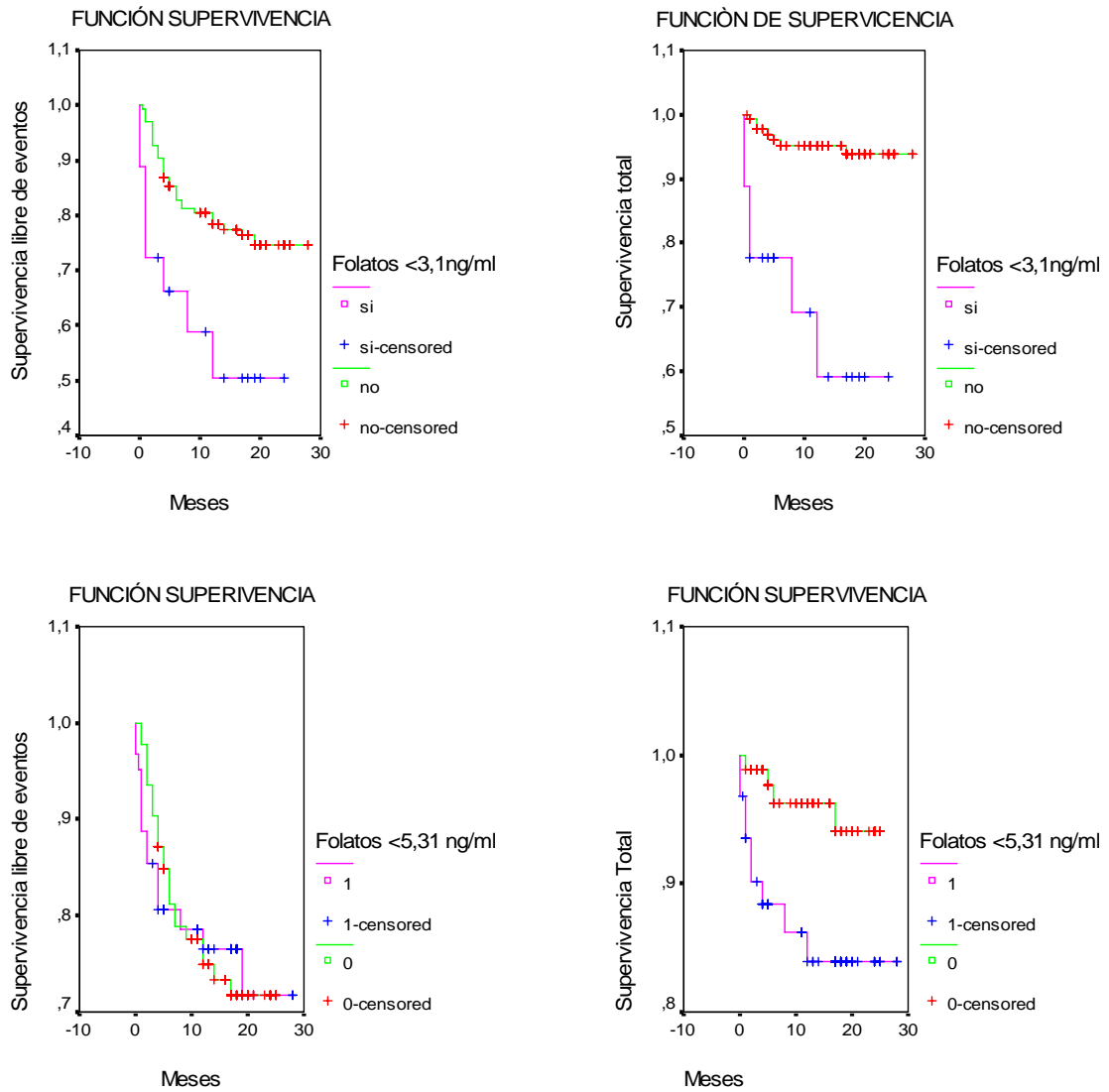


Figura 88. Supervivencia total y libre de eventos en el seguimiento según el método de Kaplan-Meier.

Análisis multivariante. Regresión de Cox.

Con el fin de identificar variables predictoras independientes de exitus en el seguimiento, realizamos un análisis multivariante mediante Regresión de Cox. Tras el mismo, la presencia de niveles de folatos por debajo de 3,1 ng/ml y/o por debajo de 5,31 ng/ml, la realización de revascularización coronaria y la afectación de TCI se identificaron como predictores independientes de exitus en el seguimiento. Sin embargo, ninguna de las variables analizadas se mostró como predictor independiente de MACEs en el seguimiento.

Tabla 54. Regresión de Cox Exitus-Folatos Bajos

	Exp (B)	IC al 95%	p
Edad	1,04	0,97-1,12	0,25
Sexo	0,93	0,22-3,99	0,92
Diabetes	0,75	0,20-2,83	0,67
SCASEST	2,36	0,56-9,87	0,23
TCI	0,08	0,00-1,06	0,05
Multivaso	0,69	0,15-3,11	0,63
DVI	1,44	0,30-6,93	0,64
Revascularización	5,48	1,10-27,25	0,03
Folatos \leq 3,1 ng/ml	0,13	0,03-0,62	0,01

Tabla 55. Regresión de Cox MACEs-Folatos Bajos

	Exp (B)	IC al 95%	p
Edad	1,01	0,98-1,05	0,27
Sexo	0,76	0,37-1,58	0,46
Diabetes	0,81	0,41-1,61	0,55
SCASEST	0,95	0,43-2,11	0,90
TCI	0,51	0,12-2,22	0,37
Multivaso	0,55	0,27-1,15	0,11
DVI	0,93	0,41-2,13	0,87
Revascularización	1,67	0,80-3,47	0,17
Folatos \leq 3,1 ng/ml	0,44	0,17-1,14	0,09

Tabla 56. Regresión de Cox Exitus-Folatos Bajos y/o Dudosos

	Exp (B)	IC al 95%	P
Edad	1,06	0,98-1,14	0,10
Sexo	1,46	0,34-6,30	0,61
Diabetes	0,80	0,22-2,88	0,74
SCASEST	3,60	0,88-14,72	0,07
TCI	0,06	0,00-0,75	0,03
Multivaso	0,50	0,11-2,23	0,36
DVI	0,69	0,16-3,02	0,63
Revascularización	6,85	1,37-34,13	< 0,02
Folatos \leq 5,31 ng/ml	0,16	0,03-0,72	< 0,02

Tabla 57. Regresión de Cox MACEs-Folatos Bajos y/o Dudosos

	Exp (B)	IC al 95%	p
Edad	1,02	0,98-1,06	0,20
Sexo	0,81	0,39-1,68	0,58
Diabetes	0,88	0,44-1,78	0,73
SCASEST	1,05	0,48-2,28	0,90
TCI	0,55	0,13-2,37	0,42
Multivaso	0,53	0,25-1,09	0,08
DVI	1,02	0,45-2,31	0,95
Revascularización	1,70	0,82-3,53	0,15
Folatos \leq 5,31 ng/ml	0,94	0,46-1,93	0,87

HOMOCISTEÍNA

En el grupo de pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ el seguimiento medio fue significativamente menor ($12,45 \pm 7,49$ meses) frente al de aquéllos con niveles de Hcy por debajo de dicha cifra ($15,28 \pm 7,92$ meses), $p = 0,03$. No se hallaron diferencias al analizar el seguimiento medio entre los pacientes con niveles de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$ ($12,25 \pm 6,34$ meses) frente a aquéllos con niveles de Hcy por debajo de dicha cifra ($13,72 \pm 8,01$ meses), $p = 0,36$.

En la Tabla 58 se expresa la comparación respecto a la aparición de eventos cardiovasculares mayores y de exitus en el seguimiento.

Tabla 58. Hcy, Exitus y MACEs en el seguimiento

	Exitus	MACEs
Hcy \geq 10 $\mu\text{mol/ml}$	10 (10%)	31 (31%)
Hcy < 10 $\mu\text{mol/ml}$	3 (5,5%)	8 (14,5%)
Significación	0,33	0,02
Hcy \geq 15 $\mu\text{mol/ml}$	5 (17,9%)	9 (32,1%)
Hcy < 15 $\mu\text{mol/ml}$	8 (6,3%)	30 (23,6%)
Significación	0,04	0,34

Los pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ presentaron una mayor tasa de MACEs en el seguimiento que aquéllos con niveles de Hcy por debajo de dicha cifra. Los pacientes con niveles de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$ presentaron una mayor tasa de exitus que aquéllos con niveles de Hcy por debajo de dicha cifra.

Según las estimaciones del método de Kaplan-Meier, la supervivencia libre de eventos a 12 y 24 meses fue significativamente menor en el grupo de pacientes con niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$. Aunque la supervivencia total fue menor en el grupo de pacientes con niveles de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (Tabla 59).

Tabla 59. Supervivencia total a 12 y 24 meses.

	Supervivencia Total 12 meses	Supervivencia Total 24 meses	Supervivencia libre de MACEs 12 meses	Supervivencia libre de MACEs 24 meses
Hcy \geq 10 $\mu\text{mol/ml}$	89,36%	87,37%	70,37%	64,25%
Hcy $<$ 10 $\mu\text{mol/ml}$	94,41%	94,41%	84,73%	84,73%
Significación	0,29	0,29	0,02	0,02
Hcy \geq 15 $\mu\text{mol/ml}$	82,70%	75,81%	72,70%	62,20%
Hcy $<$ 15 $\mu\text{mol/ml}$	93,16%	93,16%	76,06%	74,20%
Significación	0,05	0,05	0,38	0,38

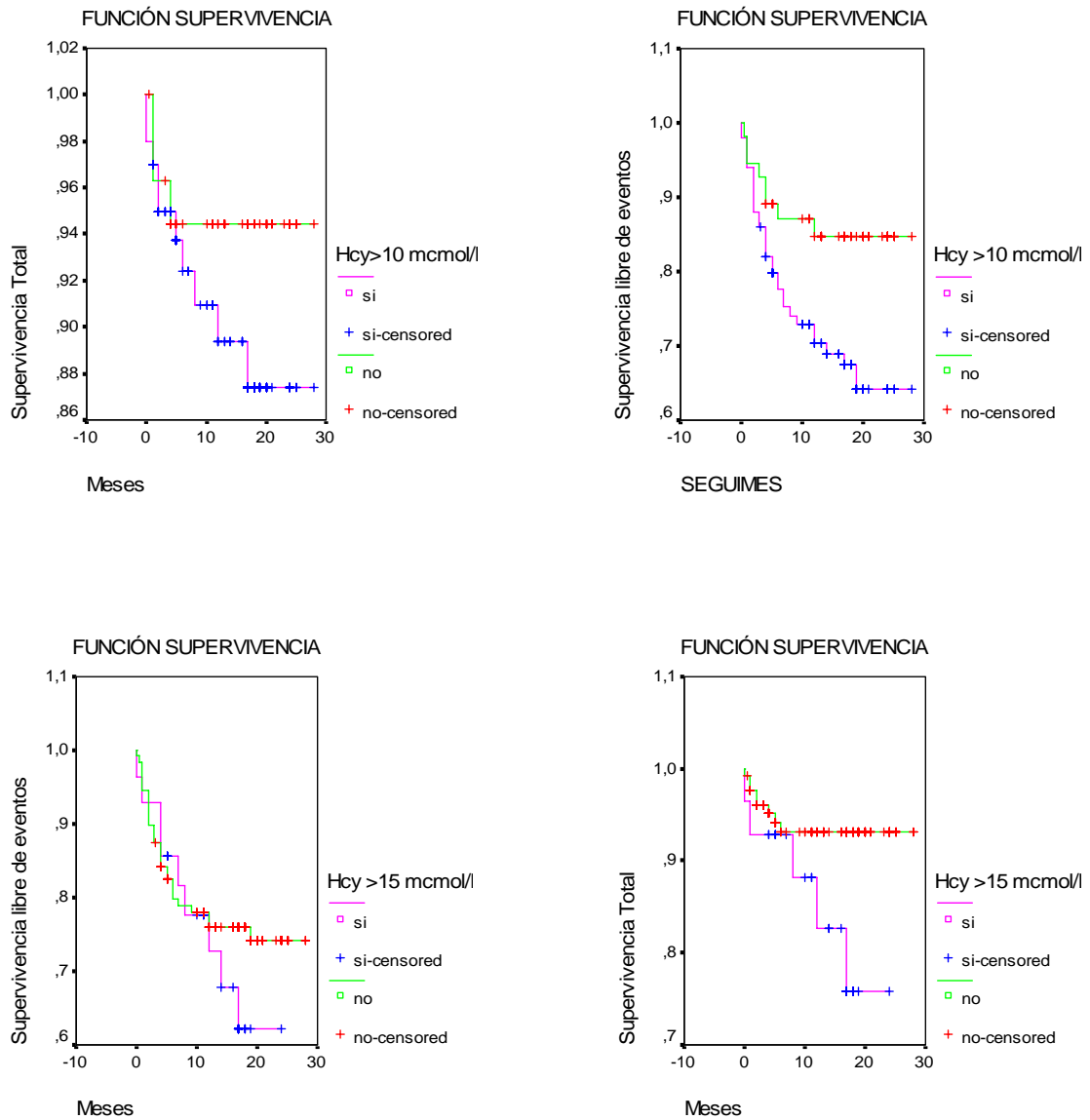


Figura 89. Supervivencia total y libre de eventos en el seguimiento según el método de Kaplan-Meier.

Análisis multivariante. Regresión de Cox.

Con el fin de identificar variables predictoras independientes de exitus en el seguimiento, realizamos un análisis multivariante mediante Regresión de Cox. Tras el mismo, la presencia de niveles de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ y la enfermedad multivaso se identificaron como predictores de MACEs en el seguimiento. De igual modo, la afectación de TCI y la realización de revascularización coronaria fueron identificadas como variables predictoras de exitus de origen cardiovascular en el seguimiento.

Tabla 60. Regresión de Cox Exitus-Hcy $\geq 10 \mu\text{mol/l}$

	Exp (B)	IC al 95%	p
Sexo	0,89	0,23-3,52	0,87
Diabetes	0,91	0,263,17	0,88
SCASEST	2,48	0,67-9,20	0,17
TCI	0,09	0,00-0,93	0,04
Multivaso	0,42	0,10-1,75	0,23
DVI	1,06	0,24-4,68	0,93
Revascularización	5,94	1,36-25,81	0,02
Hcy $\geq 10 \mu\text{mol/ml}$	0,77	0,19-3,01	0,71

Tabla 61. Regresión de Cox MACEs- Hcy ≥ 10 $\mu\text{mol/l}$

	Exp (B)	IC al 95%	p
Sexo	0,75	0,36-1,54	0,43
Diabetes	0,79	0,41-1,55	0,50
SCASEST	0,92	0,42-1,99	0,83
TCI	0,49	0,12-2,05	0,33
Multivaso	0,48	0,23-0,99	< 0,05
DVI	1,06	0,47-2,37	0,89
Revascularización	1,65	0,80-3,40	0,17
Hcy ≥ 10 $\mu\text{mol/ml}$	0,45	0,20-0,98	< 0,05

Tabla 62. Regresión de Cox Exitus- Hcy ≥ 15 $\mu\text{mol/l}$

	Exp (B)	IC al 95%	P
Sexo	0,93	0,23-3,68	0,92
Diabetes	0,85	0,24-3,03	0,80
SCASEST	2,40	0,64-9,00	0,19
TCI	0,11	0,01-1,18	0,07
Multivaso	0,43	0,10-1,75	0,23
DVI	1,07	0,23-4,86	0,92
Revascularización	5,82	1,33-25,43	0,02
Hcy ≥ 15 $\mu\text{mol/ml}$	0,47	0,13-1,71	0,25

Tabla 63. Regresión de Cox MACEs- Hcy \geq 15 μ mol/l

	Exp (B)	IC al 95%	p
Sexo	0,74	0,36-1,53	0,42
Diabetes	0,82	0,42-1,59	0,55
SCASEST	0,96	0,44-2,10	0,93
TCI	0,50	0,11-2,16	0,35
Multivaso	0,48	0,23-1,00	0,05
DVI	1,00	0,44-2,27	0,99
Revascularización	1,75	0,85-3,60	0,12
Hcy \geq 15 μmol/ml	0,79	0,35-1,77	0,57

DISCUSIÓN

I. CONSIDERACIONES GENERALES.

A través de diferentes estudios epidemiológicos se han logrado identificar una serie de factores como la hipercolesterolemia, la HTA, DM, sexo y edad avanzada que se asocian estadísticamente a la aparición de la arteriosclerosis. Paralelamente se ha objetivado que el curso clínico de la enfermedad es tanto más agresivo cuanto mayor número de estos factores de riesgo concurren en un determinado individuo, lo que implica un peor pronóstico en términos de morbimortalidad.

En los últimos años, fruto de nuevos trabajos de investigación, se está desvelando el proceso fisiopatológico por el que estos agentes conducen al desarrollo de la arteriosclerosis, con un papel predominante para los procesos inflamatorios.

Además, numerosos ensayos clínicos han evidenciado que la reducción de los factores de riesgo cardiovascular clásicos se asocia a una disminución de la morbimortalidad tanto en individuos sanos como en aquéllos previamente diagnosticados de enfermedad arteriosclerótica.

Sin embargo, existe un número importante de pacientes en los que la aparición de la arteriosclerosis y más concretamente de la enfermedad coronaria no puede explicarse únicamente por la aparición de los factores y marcadores de riesgo “clásicos”. Por ello tiene gran sentido el estudio de nuevos agentes que pueden relacionarse con el desarrollo, evolución y pronóstico de la CI. Dado que dentro de estas patologías, los SCA se caracterizan por una alta tasa de morbimortalidad asociada, con los altos costes económicos y sociales que conlleva, tiene sentido el análisis de la influencia en su desarrollo y pronóstico de estos nuevos FRCV.

Varios estudios han objetivado que la presencia de variantes alélicas correspondientes a determinados polimorfismos genéticos codificantes de enzimas

implicados en el metabolismo de la Hcy da lugar a un aumento de los títulos plasmáticos de ésta y, dicha elevación, parece relacionarse con el desarrollo y progresión de la placa arteriosclerótica; aunque existen controversias al respecto, fundamentalmente relacionadas con la falta de uniformidad en los criterios de selección de los estudios realizados hasta el momento³⁴⁷.

Dada la relación causal entre estos polimorfismos y la presencia de hiperhomocisteinemia, algunos estudios han encontrado una relación entre los primeros y el desarrollo y progresión de la enfermedad arteriosclerótica general y coronaria en particular; si bien dicha posible asociación no se ha demostrado en posteriores estudios y los metaanálisis realizados han encontrado una asociación pobre; aunque se ha de tener de nuevo en cuenta la heterogeneidad de las muestras analizadas.

Finalmente, también se ha analizado la influencia que los déficits de cofactores implicados en el metabolismo de la Hcy pudiera tener sobre el desarrollo de la arteriosclerosis, con resultados asimismo controvertidos.

Aunque el número de estudios realizados hasta ahora en relación con el metabolismo de la Hcy y el desarrollo de la arteriosclerosis sistémica es elevado, pocos han analizado la existencia de una asociación con el pronóstico de esta enfermedad y, en concreto, con el de los SCA.

Nuestro estudio consta de cuatro partes. En primer lugar un análisis casos-contróles para evaluar la relación entre la presencia del polimorfismo C677T de la MTHFR, la hiperhomocisteinemia y el déficit de folatos, con el desarrollo de cardiopatía isquémica en forma de SCA. En segundo lugar, estudiamos la posible relación entre las alteraciones del metabolismo de la Hcy y el proceso fisiopatológico que conduce al desarrollo del SCA, fundamentalmente abordando la teoría inflamatoria, comparando dichas alteraciones con la presencia de elevación de títulos de reactantes de fase aguda como la PCR, el fibrinógeno y

el aumento de la VSG. En tercer lugar, comparamos las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR con las alteraciones del metabolismo de la Hcy y la hiperhomocisteinemia. Finalmente, analizamos la posible relación entre la presencia de las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR, la hiperhomocisteinemia y el déficit de folatos, con las características clínicas, forma de presentación, características angiográficas y el pronóstico a medio plazo de los pacientes con SCA.

En el presente estudio los criterios de selección de los pacientes fueron fundamentalmente dos:

1. El ingreso reciente por SCA (lo cual confiere a la muestra un perfil de mayor inestabilidad clínica, con peor pronóstico y mayor número de recidivas que la CI en general, donde los pacientes estables presentan un mejor pronóstico).

2. La realización de una coronariografía, lo que nos permite incluir exclusivamente pacientes con enfermedad coronaria arteriosclerótica demostrada, excluyendo formas de presentación del SCA no relacionadas con la arteriosclerosis como la angina vasoespástica, que podrían sesgar los resultados posteriores.

II. ESTUDIO CASOS-CONTROLES.

A. CARACTERÍSTIAS EPIDEMIOLÓGICAS Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR.

No hubo diferencias en la edad media entre ambos grupos, lo que difiere con el metanálisis de Klerk y colaboradores: 56 en casos frente a 51 años en controles, $p < 0,05$ ²⁰². En general, nuestra muestra de estudio presenta una edad superior a la obtenida los dos grandes metaanálisis realizados hasta el momento^{202;209}.

El porcentaje de mujeres en el grupo de controles fue superior a la del grupo de casos (44,2% frente a 23,2%, $p < 0,01$). Este hallazgo es habitual en los estudios relacionados con la cardiopatía isquémica, más prevalente en varones, y el motivo fundamental por el que la extrapolación al sexo femenino de las conclusiones de la mayor parte de los estudios relacionados con la cardiopatía isquémica tiene cuando menos reservas. En este sentido, el estudio de Zylberstein y colaboradores, realizado exclusivamente en mujeres, objetivó un mayor porcentaje de IAM y mortalidad relacionada con éste, en mujeres hiperhomocisteinémicas, sobre una muestra representada exclusivamente por el sexo femenino³⁴⁸. Conseguir un “matching” completo por sexo es tarea difícil, dado el menor número de mujeres ingresadas en relación con un SCA, lo que implicaría aumentar significativamente el período de selección. Comparando con los metaanálisis realizados, el porcentaje de mujeres en el grupo de casos es similar al conjunto de los estudios publicados hasta el momento en relación con el polimorfismo C677T de la MTHFR (23,2% frente a 28%); si bien el porcentaje de mujeres en el grupo de controles es mayor (44,2% frente a 31%)²⁰².

El puntaje de FRCV fue lógica y significativamente mayor en el grupo de casos que

en el de controles (3,45 frente a 2,47, $p < 0,001$), fundamentalmente a expensas de una mayor prevalencia de DM, dislipemia (sobre todo mayor porcentaje de individuos con HDL baja) y antecedentes familiares de CI en el grupo de casos (ver figuras 26 y 27). Cabe destacar el alto porcentaje de hipertensos en el grupo de casos (52,3%), superior al del estudio de Stubbs (26,4%)³⁴⁹ y al del metaanálisis de Klerk (43%)²⁰², pero similar al del estudio de Anderson(54,4%)²²⁴. Así mismo, en nuestro grupo de casos, objetivamos un porcentaje elevado de DM (37,4%), muy superior al de los estudios previamente referenciados: 13,6%³⁴⁹, 16%²⁰² y 18,3%²²⁴. También, la tasa de pacientes dislipémicos en el grupo de casos (53,5%) y de fumadores (61,9%) fue más alta que los estudios previamente publicados: 35,2% de fumadores en el estudio de Stubbs³⁴⁹, 29% de hipercolesterolémicos y 39% de fumadores en el metaanálisis de Klerk²⁰² y 50,9% de dislipémicos y 26,6% de fumadores en el estudio de Anderson²²⁴. Este hecho parece haber conferido a nuestra muestra un perfil de mayor riesgo, con una alta tasa de eventos en el seguimiento, como posteriormente constatamos.

B. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

No existieron diferencias entre ambos grupos respecto a los antecedentes de patologías relacionadas directamente con la arteriosclerosis (enfermedad cerebrovascular, arteriopatía periférica) ni con enfermedades relacionadas con la elevación de la Hcy plasmática, como los fenómenos tromboticos venosos sistémicos, ni tampoco con entidades en las que se ha constatado una elevación de Hcy plasmática (fundamentalmente la insuficiencia renal crónica). Por tanto, desde este punto de vista, la comparabilidad intergrupos no estaría sujeta a sesgos, y la presencia de hiperhomocisteinemia no estaría tampoco influenciada por la presencia de dichas patologías.

Como es lógico, en el grupo de casos hubo un mayor porcentaje de pacientes con

diagnóstico previo de cardiopatía isquémica frente a una mayor prevalencia de pacientes valvulares en el grupo de controles. De hecho, el motivo de ingreso más frecuente en el grupo de casos fueron los SCASEST (71%) mientras que en el grupo de controles fue la insuficiencia cardíaca (62,8%). El hecho de un predominio de pacientes valvulares en el grupo control también permite explicar la diferencia en cuanto al porcentaje de pacientes con antecedentes de cardiopatía, también mayor en el grupo de controles (las patologías valvulares presentan una historia natural con inicio en etapas tempranas de la vida y curso crónico, mientras que la cardiopatía isquémica se desarrolla a partir de etapas más tardías). De forma similar, se objetivó un mayor porcentaje de complicaciones en el grupo de casos (26% frente a 0%, $p < 0,001$), en probable relación con un peor perfil clínico de los pacientes, ingresados en relación con procesos agudos, frente a los controles, generalmente sometidos a coronariografía ambulatoria; junto con un elevado porcentaje de procedimientos de revascularización coronaria (fundamentalmente de forma percutánea) en el grupo de casos.

La FEVI media fue menor en el grupo de casos frente al de controles, con un mayor porcentaje de FEVI deprimida y un menor porcentaje de FEVI normal entre los casos. Estos hallazgos también son coherentes con la selección de la muestra: en el caso de las valvulopatías, la mayor parte de los pacientes conservan la FEVI hasta estadios avanzados de la enfermedad, alcanzando edades considerables, que en muchas ocasiones desaconsejan la intervención quirúrgica, con lo que no se realiza en estos casos coronariografía preoperatoria, por lo que dicho grupo de pacientes, probablemente habría sido excluido de la selección.

C. TRATAMIENTO.

Los individuos del grupo control recibieron en menor medida estrategias

terapéuticas asociadas a aumento de la supervivencia: antiagregantes, betabloqueantes y estatinas (ver figura 35). Esta diferencia, también relacionada con el diferente perfil clínico, podría haber influido en el pronóstico, confiriendo un peor perfil en la evolución del grupo de controles. Sin embargo, como se explicita más adelante, no hubo diferencias estadísticamente significativas en términos de pronóstico entre ambos grupos.

D. ESTUDIO ANALÍTICO GENERAL.

Derivado del distinto perfil epidemiológico de ambas muestras, en el grupo de casos, los niveles de hemoglobina glicosilada en el grupo de casos fueron mayores que en el de controles (si bien en ambos casos se encontró por debajo de lo considerado como control glucémico óptimo: 5,98 g/dl vs 5,37 g/dl [ver tabla 7]); sin embargo no hubo diferencias en los niveles medios de glucemia entre ambos grupos. Cabe destacar, así mismo en relación con la diferente distribución de FRCV clásicos, un diferente perfil lipídico entre ambos grupos, con títulos séricos superiores de triglicéridos en el grupo de casos y de HDL en el grupo de controles (ver tabla 9).

E. REACTANTES DE FASE AGUDA.

Se objetivó una elevación significativa de los parámetros inflamatorios analizados (PCR, fibrinógeno y VSG) en el grupo de casos frente al de controles (ver tablas 10 y 11); lo cual está en consonancia con la teoría inflamatoria aceptada hoy en día para explicar el proceso fisiopatológico que conduce al SCA³⁵⁰; sin embargo este estudio no está diseñado para estudiar este aspecto (hubiera sido preciso un estudio global en CI, incluyendo pacientes estables e inestables junto al grupo de controles, estableciendo comparaciones con cada uno de ellos).

No hubo diferencias entre ambos grupos en cuanto a los niveles de dímero D, factor

relacionado con fenómenos trombóticos e hipercoagulabilidad (ver tablas 10 y 11), por lo que dicho parámetro no parece relacionarse con el proceso fisiopatológico que conduce al desarrollo del SCA, a diferencia de lo que parece ocurrir con el fibrinógeno^{53;351}.

F. METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA.

En primer lugar, cabe destacar el escaso número de pacientes con déficit de vitamina B₁₂ en nuestra muestra de estudio, lo que hace que la comparación entre grupos sea poco contundente (de hecho, ningún individuo del grupo de controles presentó niveles bajos de dicho cofactor). A pesar de que una de las causas más frecuentes de hiperhomocisteinemia moderada sea el déficit de vitaminas del grupo B⁹², actualmente, en nuestro medio, dichos déficits son poco frecuentes, y fundamentalmente se asocian a la ancianidad. El hecho de que la edad media de nuestra muestra no sea muy elevada puede haber contribuido a que dicho déficit sea anecdótico.

No hubo diferencias en los niveles medios de folatos y Hcy entre ambos grupos. Si bien algunos estudios casos-contróles, tras ajustar por otros FRCV potencialmente confusores²⁴⁶, han encontrado que la relación entre la hiperhomocisteinemia y el desarrollo de CI podría estar “contaminada” por otros FRCV clásicos, las diferencias metodológicas podrían explicar la disparidad de resultados en los estudios iniciales, ya que en otros casos dicha relación ha sido establecida, incluso de forma independiente a la variante del polimorfismo C677T de la MTHFR²²⁴. Recientemente, un estudio ha sugerido que la presencia de concentraciones elevadas de folatos en plasma se podría asociar a una menor incidencia de eventos coronarios agudos³⁵². Cuando los resultados son diferentes y las muestras heterogéneas, los resultados de grandes metaanálisis (con las reservas que los estudios *post hoc* presentan) pueden tener su valor. En este sentido, los datos procedentes de los estudios de Boushey²⁰³, Cleophas³⁵³ y el metaanálisis más reciente²⁰⁹, sugieren que

existe una relación entre la hiperhomocisteinemia moderada y el desarrollo de CI, aunque ésta sería más moderada de lo previsto²⁰⁹. Incluso en nuestro caso, encontramos que el porcentaje de individuos con niveles de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$ era superior en el grupo de controles (ver Tabla 13); de hecho los niveles medios de Hcy fueron superiores entre éstos, aunque esta diferencia no alcanzó la significación estadística (ver Tabla 12). Estas diferencias podrían explicarse al incluirse un grupo de controles “no completamente sanos”, ya que aunque libres de enfermedad coronaria, presentaban otras patologías cardíacas, fundamentalmente de origen valvular, cuya relación con la Hcy no ha sido evaluada hasta el momento. La inclusión de un grupo control de sanos tendría sus reservas éticas, dada la necesidad metodológica de realizar coronariografía a todos los individuos incluidos con el fin de descartar arteriosclerosis coronaria, lo cual constituye un test diagnóstico con un riesgo asociado. En cualquier caso, estas diferencias no tuvieron una influencia en el pronóstico como se detalla más adelante. Quizá este último hecho pueda explicarse por la existencia de niveles similares de folatos y de un porcentaje inferior (aunque sin significación estadística) de individuos con niveles de folatos por debajo de 5,31 ng/mml, que habría contrarrestado un supuesto efecto perjudicial de la Hcy sobre el pronóstico.

Por tanto, en nuestro estudio, la presencia de niveles elevados de Hcy plasmática o bajos de folatos plasmáticos no se relacionó con la aparición de SCA.

G. POLIMORFISMO C677T (A222V) DE LA MTHFR.

No se hallaron diferencias al comparar los dos grupos respecto a la distribución de las variantes alélicas del polimorfismo analizado. Comparando nuestro estudio respecto al metaanálisis de Klerk²⁰², cabe destacar un mayor porcentaje en ambos grupos de individuos homocigotos VV (forma mutada): 15,5% frente a 12,3% entre los casos y 14%

frente a 10,7% en los controles; esta diferencia, que no fue estadísticamente significativa en nuestro caso, sí que alcanzó dicha significación en este metaanálisis (teniendo en cuenta que fue realizado sobre 11162 individuos, frente al tamaño muestral más reducido de nuestro caso). En dicho metaanálisis, los individuos con la forma mutada presentaron mayor riesgo para el desarrollo de CI (OR 1,16, IC al 95% 1,05-1,28), pero de forma particular en presencia de niveles bajos de folatos; estos hallazgos son congruentes con el trabajo de Tanis, en el que sobre una población constituida por mujeres, la presencia de la variante alélica TT del polimorfismo C677T de la MTHFR se asoció a un incremento en el riesgo de desarrollar IAM en presencia de déficit de ácido fólico³⁵⁴. En nuestro caso particular, partimos primero de una muestra distinta, al incluir exclusivamente a pacientes ingresados con SCA (en el metaanálisis citado, se incluyen pacientes con CI aguda y crónica así como con enfermedad cerebrovascular) con lo que los resultados de la comparación casos-controles no tiene por qué ser similar. Además, como hemos visto, el porcentaje de pacientes con niveles de folatos bajos en el grupo de casos y controles fue relativamente bajo (11,6% y 14%, respectivamente). Esto haría que la presencia de la variante mutada del polimorfismo no tuviera una influencia tan marcada sobre la expresión clínica en forma de SCA, lo que a su vez explicaría los resultados de nuestro estudio.

Otros estudios no han encontrado relación entre el polimorfismo analizado y el desarrollo de enfermedad coronaria arteriosclerótica, tanto en los realizados a principios de los años 90 y publicados al final de dicha década^{355;356} como en posteriores, realizados tras las medidas poblacionales de fortificación de la dieta con ácido fólico³²⁹. De ello se desprende que la interacción entre el polimorfismo C677T de la MTHFR y los niveles basales de ácido fólico sería determinante para el riesgo de desarrollar arteriosclerosis coronaria, tal y como parece demostrar el trabajo de Girelli³⁵⁷, defendiendo la existencia de una interacción genético-nutricional que confiere un alto riesgo de desarrollo de CI,

determinada por la coexistencia de un déficit de folatos y la presencia de un genotipo específico del polimorfismo C677T de la MTHFR. En el trabajo de Schwartz tampoco se halló relación entre la presencia de esta variante polimórfica y la aparición de IAM en una muestra de mujeres jóvenes³⁵⁸. De igual forma, en el estudio de Mannucci, no se objetivó asociación entre este polimorfismo y la aparición de IAM en un grupo de jóvenes de ambos sexos³⁵⁹. De la misma manera, Schmitz, en un estudio americano no encontró asociación entre la presencia de la variante TT del polimorfismo analizado y el riesgo de desarrollar IAM, independientemente del aporte de ácido fólico en la dieta³⁶⁰. Verhoef, en dos trabajos distintos, encontró que la presencia de la variante TT del polimorfismo C677T no aumentaba el riesgo de presentar enfermedad coronaria, incluso en presencia de un déficit nutricional de folatos o de vitaminas del grupo B^{320;361}. Por el contrario, de los resultados del metaanálisis de Kluijtmans se desprende que la simple presencia de la variante heterocigota confiere mayor riesgo sobre la variante salvaje, lo cual implicaría más riesgo trombótico a la variante CT o bien que la variante CC fuera un factor genético protector de riesgo trombótico³⁶².

Por tanto, en nuestro caso, no parece existir una relación entre la presencia de la variante mutada del polimorfismo C677T de la MTHFR y el desarrollo particular de los SCA.

H. PRONÓSTICO.

No se hallaron diferencias desde el punto de vista pronóstico entre ambos grupos; ni en términos de mortalidad (8,4% en el grupo de casos frente a 7% en el grupo de controles) ni en la aparición de eventos en el seguimiento (25,2% frente a 14%, respectivamente), aunque probablemente la ausencia de significación estadística en este último caso esté en relación con el pequeño tamaño muestral.

En el grupo control las tasas de mortalidad y morbilidad fueron elevadas. De nuevo, incidimos en que estos individuos no son controles sanos sino que presentaban patología cardíaca asociada, mayoritariamente valvular, en muchas ocasiones sometidos a cirugía de recambio valvular, que conlleva una morbimortalidad asociada no despreciable.

III. INFLAMACIÓN Y METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA.

La hipotética actividad proinflamatoria de la Hcy ha sido postulada como causante de los fenómenos vasculares de la Hcy que dan lugar a la génesis y progresión de la placa arteriosclerótica, lo que permitiría formular una hipótesis fisiopatológica en este sentido.

Se ha objetivado que la hiperhomocisteinemia da lugar a disfunción endotelial aguda y crónica, probablemente por un efecto tóxico directo sobre las células endoteliales y por mecanismos indirectos que dan lugar a la migración de neutrófilos hacia el endotelio³⁶³.

Por otro lado, el aumento de la actividad inflamatoria en los SCA parece relacionarse con el proceso fisiopatológico que conduce a su desencadenamiento, lo que los diferencia claramente de la CI crónica³⁶⁴. La existencia de una relación entre dichos fenómenos y las alteraciones del metabolismo de la Hcy podría, por un lado, ratificar la teoría inflamatoria para explicar la génesis del SCA y además, establecer una explicación fisiopatológica para la acción de la hiperhomocisteinemia sobre el lecho vascular promoviendo la arteriosclerosis.

En nuestro trabajo encontramos una correlación positiva, aunque débil, de la Hcy plasmática con la VSG pero no con el fibrinógeno ni la PCR (ver figura 45). Sin embargo, al realizar el análisis cualitativo, no encontramos un mayor porcentaje de pacientes con elevación de la VSG entre aquéllos con Hcy elevada y persistió el resultado del estudio cuantitativo, sin mayor porcentaje de pacientes con fibrinógeno o PCR elevada entre aquéllos con Hcy alta (tablas 17 y 18). Estos datos concuerdan con trabajos publicados, como el de Anderson²²⁴, en el que la Hcy fue predictor de mortalidad en pacientes con enfermedad coronaria establecida, de forma independiente de la PCR, o el de Acevedo²⁶², en el que la hiperhomocisteinemia y el fibrinógeno fueron predictores independientes de

mortalidad en pacientes con alto riesgo cardiovascular (con la salvedad de que los datos procedentes de estos trabajos se pueden comparar con los nuestros sólo de manera indirecta, ya que dichos estudios no fueron diseñados específicamente para correlacionar estos factores, sino con el fin de estudiar su influencia en el pronóstico). En este sentido parece existir una gran controversia al respecto, ya que si bien en los estudios experimentales la hiperhomocisteinemia severa se relaciona con fenómenos proinflamatorios y procoagulantes, los estudios *in vivo*, donde la hiperhomocisteinemia es moderada, no parecen demostrar dichas relaciones³⁶⁵. De hecho, algunos estudios de intervención han demostrado que la reducción de los niveles de Hcy obtenida con suplementos vitamínicos y de ácido fólico, no se acompaña de cambios en los niveles plasmáticos de sustancias proinflamatorias^{126;127}. En cualquier caso, la existencia de vías etiopatogénicas comunes a los parámetros relacionados con la inflamación y la Hcy que pudieran explicar su elevación en relación con la aparición del SCA es otro asunto pendiente de estudiar.

No hallamos correlación entre las distintas variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR y los diferentes parámetros inflamatorios analizados (ver tablas 14 y 19, y figuras 46 y 51). Hasta nuestro conocimiento, no se ha estudiado de forma exhaustiva dicha relación. De hecho, sólo se encontró un estudio, que de forma indirecta, comparó diferentes parámetros inflamatorios (entre los cuales se encontraban el fibrinógeno y la PCR), sin que se objetivase relación entre las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR y los mismos³⁶⁵. En cualquier caso, nuestros hallazgos son compatibles con que el papel de la variante TT del polimorfismo C677T de la MTHFR en la fisiopatología del SCA no parece relacionarse con los fenómenos inflamatorios pero tampoco parece relacionarse con fenómenos trombóticos (dada la ausencia de relación con el fibrinógeno o el DD)

Los niveles plasmáticos de folatos se correlacionaron de forma negativa, pero débil, con la PCR y con el DD pero no se correlacionaron con el fibrinógeno ni con la VSG (ver figura 44). Sin embargo, en el análisis cualitativo, no hallamos un mayor porcentaje de elevación de parámetros inflamatorios entre los pacientes con niveles infranormales o dudosos de folatos frente a aquéllos con niveles normales de los mismos; en este caso tampoco encontramos relación entre el porcentaje de pacientes con niveles bajos/dudosos de folatos plasmáticos y el porcentaje de pacientes con elevación del resto de parámetros inflamatorios analizados. Datos indirectos procedentes de estudios de intervención parecen confirmar también estos resultados, ya que no se ha evidenciado que el suplemento con ácido fólico se asocie a descenso de marcadores proinflamatorios y protrombóticos^{126;127}, aunque sí se asocia a una reducción de eventos³⁶⁶.

No se halló correlación entre los niveles de vitamina B₁₂ y los parámetros analizados (ver figura 43). Al constatar que sólo 5 pacientes presentaron niveles de B₁₂ por debajo del rango de normalidad no se procedió al análisis cualitativo de esta variable.

Por tanto, no encontramos datos de asociación entre las alteraciones del metabolismo de la Hcy y la hiperhomocisteinemia misma con la actividad inflamatoria asociada al SCA. El papel fisiopatológico de la hiperhomocisteinemia en el SCA sigue constituyendo una incógnita y probablemente se relacione más con disfunción endotelial y daño oxidativo que con la inflamación en sí. De hecho, estudios experimentales *in vivo* e *in vitro* han demostrado un deterioro de la función endotelial en primates hiperhomocisteinémicos¹³⁸ así como una mejoría de dicha disfunción tras un suplemento de vitaminas B y ácido fólico¹⁴². Otra hipótesis que surge de nuestros hallazgos es que la hiperhomocisteinemia asociada al SCA sólo sea un marcador del evento isquémico, sin relación causal con éste.

IV. METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA Y POLIMORFISMO C677T

(A222V) DE LA MTHFR

Realizamos un estudio comparativo entre la presencia de las distintas variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR y la presencia de hiperhomocisteinemia y/o de alteraciones de los niveles basales de cofactores relacionados con el metabolismo de la Hcy. Así mismo, correlacionamos los niveles de Hcy con los de sus cofactores.

De manera congruente con lo reportado previamente^{88;309;319;321;324;326;327;329;358;361;367-369}, encontramos que los niveles medios de Hcy fueron superiores en los individuos homocigóticos recesivos para el polimorfismo C677T de la MTHFR (ver tabla 20). Al realizar la comparación de una manera cualitativa dicha diferencia (con una mayor porcentaje de pacientes hiperhomocisteinémicos entre los homocigotos VV) no alcanzó la significación estadística probablemente en relación con el tamaño muestral: se ha de tener en cuenta que las variantes polimórficas son relativamente frecuentes en la población, lo que implica grandes tamaños muestrales para encontrar diferencias estadísticamente significativas. Si bien la existencia de una relación entre la presencia de la variante termolábil de la enzima MTHFR (determinada por la presencia de la variante homocigota recesiva del polimorfismo citado) y el aumento moderado de la Hcy plasmática es un hecho clásicamente aceptado, algún trabajo de reciente publicación sugiere que dicha relación no sería tan estrecha en el momento actual, fundamentalmente en relación con la escasa prevalencia de déficit nutricional de vitaminas del grupo B y de ácido fólico en la población occidental³²⁹. Por tanto, la expresión clínica de dicha variante alélica en el momento actual sería mínima. Así mismo, otros trabajos realizados en grupos poblacionales específicos, como británicos de origen indio³⁷⁰ o coreanos³²⁸, no han hallado relación entre la presencia de la variante mutada del polimorfismo estudiado y la presencia

de hiperhomocisteinemia.

En nuestra muestra, la prevalencia de niveles bajos/dudosos de folatos fue relativamente elevada con lo que su expresión en forma de hiperhomocisteinemia sería más relevante, tal y como se desprende de los resultados obtenidos.

También fueron concordantes con lo conocido hasta ahora las relaciones de la Hcy con los niveles basales de folatos y vitamina B12 (correlación inversa)^{92;93}. De nuevo el tamaño muestral podría haber influido en la falta de significación estadística en alguna de las comparaciones del estudio cualitativo, ya que en todas ellas encontramos un mayor porcentaje de hiperhomocisteinémicos entre aquéllos con niveles bajos/dudosos de folatos (ver tablas 21-22).

Por tanto, nuestros resultados son superponibles a los obtenidos en estudios previos, encontrando una relación inversa entre los niveles de folatos plasmáticos y los niveles de Hcy plasmática. Además, constatamos un porcentaje elevado de pacientes con niveles bajos/dudosos de folatos, lo que habría contribuido a una expresión relativamente elevada de la variante alélica homocigota recesiva del polimorfismo analizado y, por tanto, una relación positiva entre la presencia de dicho polimorfismo y niveles elevados de Hcy plasmática.

V. POLIMORFISMO C677T (A222V) Y SÍNDROME CORONARIO

AGUDO.

A. EPIDEMIOLOGÍA Y RIESGO CARDIOVASCULAR

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en la distribución por sexos para ninguna de las tres variantes alélicas, si bien el porcentaje de varones en el grupo correspondiente la forma mutada fue mayor (ver tabla 24). En este caso, de nuevo, la falta de significación estadística podría atribuirse al pequeño tamaño muestral. Este porcentaje (91,7%) fue algo superior al observado en el metaanálisis de Klerk²⁰², donde se objetivó una prevalencia del sexo masculino del 82% entre los portadores de la variante mutada; además, en dicho trabajo la distribución porcentual por sexos fue similar entre las tres variantes alélicas. La inexistencia de diferencias en la distribución por sexos concuerda con trabajos publicados previamente^{356;371}; aunque el porcentaje de varones fue sensiblemente mayor que en estudios previos: en torno al 80-85%^{356;371-375}.

Tampoco se encontraron diferencias en cuanto a la distribución de los tres grupos en relación con la edad media. Ésta, en general, fue similar a la reportada en trabajos previos, en torno a 60-62 años^{309;372;374;376}. Aunque en algunos estudios la edad media reportada fue mayor para los tres genotipos y particularmente para la variante TT^{373;375}. Cabe destacar el trabajo de Mager³⁷⁷, en el que se objetivó una relación inversa entre los niveles plasmáticos basales de Hcy y la edad de inicio de la enfermedad coronaria en pacientes homocigotos TT frente a una ausencia de asociación en los heterocigotos y los homocigotos CC, concluyendo que la presencia conjunta de hiperhomocisteinemia y homocigosis TT tiene un gran efecto en la patogénesis de la enfermedad coronaria arteriosclerótica y que una elevación marcada (>15 µmol/l) de la Hcy en presencia de homocigosis TT es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad coronaria a edades

tempranas. Nuestros resultados son concordantes con los publicados hasta el momento, ya que en ninguno de ellos se encontraron diferencias en términos de edad media entre las tres variantes alélicas del polimorfismo analizado

En cuanto a la distribución de FRCV clásicos sólo se hallaron diferencias al comparar cada variante alélica frente a la presencia de niveles bajos de HDL (ver tabla 25), objetivándose que los portadores de la variante mutada presentaron en mayor porcentaje HDL baja. Estos resultados se contraponen a los publicados por Morita³⁰⁹; en este trabajo la concentración plasmática de HDL fue similar entre las tres variantes alélicas, aunque la muestra no fue totalmente comparable con la nuestra, ya que incluyó pacientes con diagnóstico de enfermedad coronaria arteriosclerótica (tanto aguda como crónica) mientras que en nuestro caso se incluyeron exclusivamente pacientes ingresados en relación con SCA y además el objetivo del estudio fue diferente: estudios casos-contrroles para estudiar la influencia del polimorfismo C677T de la MTHFR en el desarrollo de la CI. En el mismo sentido se perfiló el estudio de Vulapalli³⁷¹, sobre una muestra de pacientes postIAM, en el que no se incluyó la coronariografía dentro del protocolo. Aunque nuestros resultados son, como vemos, novedosos, no pensamos que afecten al análisis comparativo de los tres grupos. De hecho, no se hallaron diferencias en el porcentaje de pacientes dislipémicos ni frente a la presencia de concentraciones elevadas de LDL y el puntaje medio (con el que medimos la “carga” de FRCV) fue similar entre los tres grupos. En cualquier caso, de nuestros resultados surge la hipótesis de una posible interacción entre la presencia de la variante mutada del polimorfismo y la existencia de HDL baja, que daría pie a nuevos estudios para su confirmación (interacción de polimorfismos genéticos, modificación de la expresividad...). Además, nuestros hallazgos permiten incidir en el “creciente” interés por el papel de la HDL en la fisiopatología y pronóstico de la CI en general y del SCA en particular.

Aunque no se alcanzó significación estadística, cabe destacar un mayor porcentaje de DM en los portadores TT. Además, el porcentaje de DM en nuestra serie fue superior a la reportada en los trabajos publicados hasta la fecha, donde oscila entre el 15-30%, mientras que en nuestra muestra fue del 54% en los homocigotos TT. En estudios previos, no se hallaron diferencias en la distribución de DM entre las tres variantes polimórficas^{309;371}, si bien en algún caso las diferencias se observaron en sentido contrario, con un menor porcentaje de DM en los homocigotos TT³⁷⁷ (sin embargo, en este trabajo, dichas diferencias se sustentan en una muestra pequeña, con un total de 41 pacientes homocigotos TT, y podrían estar por consiguiente sesgadas). Sólo hemos encontrado un estudio que haya evaluado el impacto de las alteraciones del metabolismo de la Hcy en diabéticos³⁷⁸; en este trabajo, realizado sobre una muestra amplia de 746 diabéticos, se obtuvieron resultados interesantes: la presencia de la variante TT del polimorfismo C677T se asoció a concentraciones inferiores de folatos, pero no se relacionó con la elevación de la Hcy plasmática ni con el desarrollo de eventos vasculares. En este sentido, destacamos que en nuestra muestra se objetivó un elevado porcentaje de DM en los tres grupos (en general, este es un hecho inherente a nuestro ámbito geográfico, en el que la prevalencia de DM es elevada), pero especialmente en el de homocigotos TT, con lo que de confirmarse un diferente perfil de la presencia de dicha variante polimórfica en presencia de DM, se podría justificar los resultados del estudio pronóstico en nuestro caso. Sin embargo, nuestro estudio no se realizó exclusivamente en diabéticos ni los objetivos del mismo se centraron en el desarrollo de CI, ya que partimos de una mayor selección de los pacientes, por lo que estas conclusiones no hacen más que incidir en la necesidad de nuevos trabajos al respecto. Aunque no estableció comparaciones con un grupo control (lo que metodológicamente hace que las conclusiones sean cuestionables) puede establecer nuevas hipótesis a contrastar: ¿existen diferencias etiopatogénicas y fisiopatológicas ante la presencia de

niveles elevados de Hcy en DM? ¿es que la DM es capaz de “solapar” el efecto aterogénico de la hiperhomocisteinemia o es que en los diabéticos existen vías de escape para que no se produzca hiperhomocisteinemia en presencia de la variante mutada del polimorfismo analizado?, ¿son los diabéticos “inmunes” al efecto aterogénico de la hiperhomocisteinemia?, ¿pueden existir interacciones entre variantes polimórficas y el metabolismo del ácido fólico?

El porcentaje de fumadores fue similar en los tres grupos, de forma congruente con los estudio publicados hasta el momento, algo menor que en los resultados obtenidos en los estudios japoneses^{309;372} pero mayor que en otros trabajos previos³⁷³⁻³⁷⁵. En cualquier caso, esta alta prevalencia, común a los tres grupos, influiría por igual a cada uno de ellos, y sólo repercutiría en la tasa de eventos globales, dado que hasta el momento no se han confirmado interacciones entre el tabaquismo y las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR. En efecto, sólo un estudio, recientemente publicado, ha analizado este aspecto³⁷⁹: basándose en que el óxido nítrico inhibe el catabolismo de ácido fólico y dado que la actividad de la sintetasa de óxido nítrico endotelial está reducida en fumadores, estos autores postularon que el hábito tabáquico podría modificar el impacto de la presencia de las variantes alélicas del polimorfismo C677T de la MTHFR en las concentraciones de Hcy plasmática, encontrando que la hiperhomocisteinemia de los homocigotos TT fumadores era consecuencia de una deficiencia intracelular de folato secundaria a una reducción de la actividad de la sintetasa de óxido nítrico 3, que a su vez se exacerbaba en presencia de niveles bajos de folatos plasmáticos. Son necesarios más trabajos en este sentido y estudios pronósticos para confirmar estos hallazgos y otorgarles relevancia desde el punto de vista clínico.

La acumulación de FRCV fue similar en los tres grupos, con un puntaje medio similar (ver figura 59). Con los datos previos, referentes a distribución de variables

epidemiológicas, en nuestro estudio los tres grupos fueron en todo momento homogéneos y comparables.

B. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

No se encontraron diferencias de interés en la comparación de las características clínicas analizadas para ninguna de las tres variantes alélicas (ver tablas 26 y 27). Sólo la tasa de complicaciones durante el ingreso fue algo menor en el grupo de heterocigotos. También cabe destacar una mayor tasa de presencia de cambios ECG en los portadores de la variante salvaje, aunque estas diferencias no alcanzaron la significación estadística (de nuevo en probable relación con el tamaño muestral). Estos hallazgos permiten establecer nuevas hipótesis a contrastar, mediante estudios especialmente diseñados al respecto. Hasta ahora, ningún trabajo publicado, ha comparado la tasa de complicaciones, la presencia o ausencia de cambios ECG al ingreso o la localización del IAM, entre las tres variantes alélicas analizadas. En cualquier caso, la ausencia de diferencias en el perfil clínico también nos permite realizar las comparaciones pronósticas posteriores sin que existan potenciales variables confusoras a controlar. La comparación de características clínicas es poco reportada en la bibliografía analizada, sólo tres estudios aportan datos referentes a este tipo de variables. Así, en el estudio de Koch la tasa de IAM previo fue similar a la reportada en nuestro caso en el grupo de homocigotos recesivos: 28,9% frente a 29,2% en nuestro trabajo, si bien la tasa de SCA fue significativamente menor: 28,9% frente a un 75% en nuestro estudio, a pesar de ser un estudio realizado exclusivamente en pacientes sometidos a intervencionismo coronario percutáneo³⁷³. En el trabajo de Botto, también sobre pacientes sometidos a revascularización coronaria percutánea, la tasa de pacientes con antecedentes de IAM previo fue superior a la objetivada en nuestro estudio: 57,2% frente a 29,2%, no aportando datos al respecto de otras variables clínicas analizadas en

nuestro trabajo³⁷⁴. Finalmente, Vulapalli reporta una tasa de IAM previo del 24%, cifra que se aproxima a la nuestra, en un estudio de pronóstico sobre una muestra de pacientes con IAM³⁷¹.

C. CARACTERÍSTICAS ANGIOGRÁFICAS.

Tampoco se objetivaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los tres grupos frente a diferentes características angiográficas (ver tablas 28-31). Sin embargo, destacamos que las variantes heterocigota y homocigota recesiva presentaron una tendencia hacia un mayor porcentaje de afectación monovaso. No hubo diferencias en términos de disfunción ventricular. Existió una tendencia a un peor perfil angiográfico en los portadores de la variante homocigota recesiva, con un mayor porcentaje de lesiones complejas y con mayor presencia de trombo coronario; este hecho podría haber incidido en la tendencia a mayores tasas de revascularización en los portadores heterocigotos u homocigotos dominantes.

Las diferencias en el perfil angiográfico y en términos de FEVI tampoco han sido evaluadas de forma exhaustiva en la literatura, existiendo pocos datos al respecto y mayoritariamente procedentes del análisis indirecto de estudios relacionados con el pronóstico clínico y con las tasas de reestenosis en pacientes sometidos a procedimientos de revascularización coronaria percutánea. En el estudio de Morita³⁰⁹, se encontró una mayor tasa de pacientes con lesiones severas de tres vasos en los individuos portadores de la variante TT, si bien se estableció en relación con la existencia o no de una estenosis crítica ($\geq 99\%$), mientras que en nuestro caso, empleamos una definición más acorde con la tendencia actual de definir severidad sobre estenosis funcionalmente significativas ($>70\%$); además dicho estudio no fue diseñado para estudiar las variables angiográficas sino la aparición o no de enfermedad coronaria. El trabajo de Koch³⁷³, que estudió la tasa de

reestenosis tras stenting coronario, encontró una alta prevalencia de afectación multivaso entre los homocigotos recesivos (41,1%) que contrasta con nuestros hallazgos (0%), si bien no encontró diferencias en la distribución del número de vasos afecto entre las tres variantes polimórficas; también destaca un porcentaje inferior al nuestro en cuanto a afectación de la DA (45,6% frente a 54,2%); sin embargo, el porcentaje de lesiones complejas fue elevado, aunque en nuestro caso los portadores de la variante TT presentaron una tasa de lesiones B2-C superior (91,6% frente a 81,1%) probablemente en relación con una mayor tasa de SCA en nuestro caso; no encontró, de forma congruente con nuestros hallazgos, diferencias en términos de FEVI. El estudio de Vulapalli³⁷¹, también prospectivo, sobre pacientes infartados, no analiza las características angiográficas, aunque sí la FEVI, no encontrando diferencias en la distribución de tasas de disfunción ventricular entre ninguna de las variantes polimórficas, de forma concordante con nuestros resultados, aunque con tasas de disfunción ventricular izquierda severa inferiores a nuestros hallazgos (14% frente a 25%). El estudio de Kosokabe³⁷² tampoco encontró diferencias en la distribución de arterias afectadas o perfil de gravedad de la lesión entre las tres variantes polimórficas analizadas. Por último, el estudio de Kolling³⁷⁵, tampoco halló diferencias en el número de vasos afectados para las tres variantes polimórficas, aunque con una tasa de afectación multivaso para el genotipo TT inferior a la observada en nuestro trabajo (11,5%)

En contraposición a estos estudios, donde no se objetiva relación del polimorfismo analizado y la extensión de la enfermedad coronaria, Tokgozoglu y colaboradores³⁸⁰, mediante la utilización del índice de Leaman para cuantificar la extensión de la afectación coronaria³⁸¹, encuentran una relación entre la presencia de la variante polimórfica TT y una mayor afectación coronaria, si bien esta relación se establece en presencia de niveles bajos de folatos y en el trabajo no constan las características angiográficas de la muestra. El

estudio de Gardemann³⁷⁶ también establece una relación entre la presencia de la variante mutada del polimorfismo y la extensión de la afectación coronaria, aunque sólo en concurrencia con alto riesgo de enfermedad coronaria y en este caso utilizando el *score* de Gensini³⁸².

D. PRONÓSTICO.

A pesar de que en los últimos 10 años se han publicado gran número de trabajos que han estudiado la relación entre el polimorfismo C677T de la MTHFR y la CI, la mayor parte de ellos han sido estudios casos-controles, en los que se ha tratado de objetivar una asociación entre dicho polimorfismo y el desarrollo de enfermedad coronaria arteriosclerótica. Sin embargo, tras revisar la literatura, no se ha encontrado ningún trabajo que haya estudiado la relación entre las variantes alélicas de este polimorfismo y el pronóstico del grupo concreto de pacientes con SCA. De hecho, sólo dos publicaciones han estudiado aspectos similares pero en muestras distintas de pacientes: en un caso³⁷¹ se estudió la recurrencia de eventos coronarios en una cohorte de pacientes tras IAM. y en el otro³⁷⁴ la tasa de eventos adversos en una cohorte de pacientes sometidos a revascularización coronaria. En otros dos casos^{372;373} se estudió la influencia del polimorfismo analizado en la tasa de reestenosis tras stenting coronario.

En nuestro trabajo no se objetivaron diferencias entre las tres variantes polimórficas analizadas al comparar la tasa de exitus de origen cardiovascular y la tasa de eventos cardiovasculares mayores en el seguimiento (ver tablas 32 y 33). Así mismo, realizando una estimación de la supervivencia libre de eventos, tampoco se observaron diferencias, ni a 12 ni a 24 meses de la inclusión en el estudio (ver figura 67). En un modelo de análisis multivariante en el que se incluyeron aquéllas variables que se ha constatado en grandes estudios previos que presentan influencia en el pronóstico de los pacientes con SCA, sólo

la realización de tratamiento revascularizador se asoció a la supervivencia total, mientras que el resto de variables, incluida la presencia de la variante mutada del polimorfismo C677T de la MTHFR, no se relacionaron con la supervivencia total o libre de eventos en el seguimiento (ver tablas 34 y 35).

El estudio más similar en diseño al nuestro es el de Vulapalli y colaboradores³⁷¹, si bien se trata de un subanálisis realizado con los datos procedentes del estudio THROMBO³⁸³; este protocolo incluyó 1045 pacientes entre 1994 y 1998. En el subanálisis el objetivo primario se definió como el exitus debido a CI o bien la existencia de un IAM recurrente no fatal y el objetivo secundario asoció además la necesidad de ingreso por AI. Como vemos, los criterios de selección no fueron exactamente los mismos (en nuestro caso se generalizó al SCA mientras que en este caso sólo se incluyeron pacientes postIAM), con lo que los resultados no tienen por qué ser comparables; en cualquier caso, dada la originalidad de nuestro trabajo, realizaremos una breve comparación. Sí que existe cierta comparabilidad en relación a la definición de eventos cardiovasculares. Sin embargo la distribución alélica no fue similar a la encontrada en nuestro estudio; mientras que en nuestro caso dicha distribución fue: CC 35,5%, CT 49%, TT 15,5%, en este trabajo fue: CC 66%, CT 25% y TT 9%; como vemos, el porcentaje de homocigotos dominante fue muy superior a nuestro caso donde predominaron los heterocigotos y, además, el porcentaje de homocigotos recesivos también fue menor; por tanto, la comparabilidad de resultados puede estar sesgada además por la definición de la muestra. Además las tasas de DM fueron mayores en nuestro caso (oscilando entre 29,1% para la variante CC y un 54,2% para la TT frente a 21% en CC y 13% en TT en el estudio de Vulapalli) mientras que no se observaron diferencias significativas respecto al resto de FRCV. Por otro lado, en nuestro trabajo, el porcentaje de pacientes con FEVI severamente deprimida fue mayor en el grupo de homocigotos TT: 25% frente a 14%. Otro hecho a tener en cuenta es que la

tasa de eventos en el grupo TT fue inferior en el análisis de Vulapalli: 17% , frente a un 25% en nuestro estudio; en este sentido hemos de tener en cuenta que el mayor porcentaje de DM en nuestra muestra, junto a una población de mayor riesgo (alto porcentaje de SCASEST en nuestro caso) y una mayor tasa de FEVI deprimida podría haber influido en que la tasa de eventos fueran mayor en nuestro estudio. Al igual que en nuestro trabajo, tampoco se encontraron diferencias en cuanto a supervivencia libre de eventos en el seguimiento. Por tanto, y a pesar de que las muestras no son homogéneas, nuestro estudio parece corroborar los datos procedentes del subanálisis del THROMBO, en el sentido de que ante un grupo de pacientes con aparente más riesgo de desarrollar eventos (lo cual puede en cierto modo contrarrestar los efectos sobre la significación estadística de una muestra más reducida) los resultados son similares: ausencia de influencia pronóstica de la variante polimórfica TT en pacientes con SCA.

Botto y colaboradores³⁷⁴, realizaron un análisis de 159 pacientes sometidos a revascularización coronaria (72 percutánea y 87 quirúrgica). En este estudio no se define el motivo de ingreso por lo que suponemos que se incluyeron pacientes con CI aguda y crónica. Tampoco se especifica si la revascularización percutánea se realizó con stenting ni si la cirugía de by-pass aortocoronario incluyó injertos arteriales. Por tanto, metodológicamente tiene limitaciones (derivadas de la heterogeneidad de la muestra) y además difiere a nuestro trabajo. De nuevo, existe un menor porcentaje de DM respecto a nuestro estudio: 23,9% para toda la muestra. La realización de un mayor porcentaje de procedimientos de revascularización quirúrgica se explica por una mayor tasa de enfermedad de tres vasos (34,6% frente a 25,8% en nuestro estudio). La tasa de eventos (definidos de forma similar a nuestro estudio) en el grupo correspondiente a la variante TT fue superponible al nuestro (25,9%); probablemente el teórico perfil de “menos” riesgo debido a una menor presencia de DM y de SCA se podría haber contrarrestado con una

mayor morbimortalidad derivada de una mayor tasa de procedimientos de revascularización quirúrgica (de hecho, la tasa de exitus duplicó a la del resto de eventos). Sin embargo, estos autores encontraron que la supervivencia libre de eventos fue significativamente inferior en el grupo correspondiente al polimorfismo TT, si bien la FEVI fue inferior en el grupo TT (43,9% frente a 49,7%, $p=0,017$) y, además, la tasa de eventos también fue mayor en el grupo de pacientes sometido a revascularización percutánea (18,1% frente a 6,2%, $p=0,02$). Dada la existencia de estos potenciales factores confusionales, los autores realizaron un análisis multivariable, donde, la existencia de FEVI $<40\%$, la revascularización percutánea y la presencia de la variante TT del polimorfismo C677T de la MTHFR fueron predictores independientes de eventos. Estos resultados difieren de los derivados de nuestro estudio, si bien hemos de tener en cuenta que partimos de dos muestras distintas, con lo que las conclusiones teóricamente serían únicamente extrapolables a poblaciones similares.

De los dos estudios realizados en pacientes sometidos a stenting coronario, uno de ellos evaluó exclusivamente el desarrollo de hiperplasia intimal en 62 pacientes en los que se implantaron 93 stents de Palmaz-Schatz³⁷². En primer lugar se ha de tener en cuenta que este tipo de stent actualmente no se utiliza, al haber sido sustituido por dispositivos con una tasa de reestenosis menor. En este estudio, no hubo diferencias en la concentración de Hcy entre los pacientes portadores de la variante TT y los demás, sin embargo, el desarrollo de hiperplasia intimal (medida por ecografía intracoronaria) fue mayor en el grupo TT; tras un análisis multivariante, el único predictor independiente para el desarrollo de hiperplasia intimal fue el número de alelos T. A pesar de esto, se ha de tener en cuenta que tras el implante, el área de la membrana elástica externa y el área de la placa fue superior en los TT, lo que podría haber influido en un mayor desarrollo de hiperplasia intimal. El hecho de que sólo el número de alelos T fuese un factor pronóstico independiente y que otras

variables que han demostrado relación con la hiperplasia intimal (longitud de la lesión, área luminal postintervención, área de placa postintervención) no lo fueran puede restar valor a las conclusiones ya que induce a pensar en algún error de método.

El segundo de los estudios realizados en pacientes sometidos a intervencionismo percutáneo analizó 800 pacientes sometidos a stenting coronario entre 2000 y 2001³⁷³. En este caso, la tasa de reestenosis medida mediante angiografía (análisis cuantitativo en equipo digital) fue el objetivo primario del estudio (en el caso anterior la estimación de la hiperplasia intimal se realizó de manera indirecta y utilizando un método subjetivo como es la ecografía intracoronaria). No se encontraron diferencias en la tasa de reestenosis clínica (CC 19,5%, CT 17,1% y TT 23,3%) ni angiográfica (CC 26%, CT 23,5%, TT 26,9%) si bien no se realizó un análisis multivariable para confirmar los hallazgos.

Por tanto, existen pocos estudios que hayan analizado la posible influencia de la variante TT del polimorfismo C677T de la MTHFR sobre el pronóstico de pacientes con CI. Los pocos trabajos publicados ofrecen resultados contradictorios aunque hemos de tener en cuenta la heterogeneidad de los criterios de inclusión y de la definición de objetivos. Hasta la fecha, ningún estudio de este tipo ha analizado estas relaciones en pacientes con SCA por lo que tiene interés desde el punto de vista científico. Sin embargo, los resultados de nuestro trabajo se deben de tomar con cautela y deben ser contrastados con nuevos estudios realizados en grupos más amplios.

VI. METABOLISMO DE LA HOMOCISTEÍNA Y SÍNDROME CORONARIO AGUDO.

A. EPIDEMIOLOGÍA Y RIESGO CARDIOVASCULAR.

FOLATOS.

No se objetivaron diferencias en términos de edad ni de distribución por sexos entre los pacientes con concentraciones normales de folatos plasmáticos frente a aquéllos con concentraciones infranormales y/o dudosas de los mismos (ver figura 68 y tabla 36).

En cuanto a la distribución de FRCV clásicos destacamos que el porcentaje de DM entre los pacientes con una concentración de folatos plasmáticos superior a 5,31 ng/ml fue superior a aquéllos con niveles bajos/dudosos de éstos (46,2% frente a 24,2%, $p < 0,01$, ver tabla 37). También se objetivó una tendencia no significativa hacia un mayor porcentaje de fumadores entre los pacientes con concentraciones bajas de folatos (71% frente a 55,9%, $p = 0,06$, ver tabla 37) así como hacia un menor porcentaje de pacientes con HDL baja (33,9% frente a 49,5%, $p = 0,05$). Este último hallazgo, junto con un alto porcentaje de DM en nuestra muestra de estudio, podría justificar una igualación del riesgo entre los pacientes con niveles bajos o normales de folatos plasmáticos y, por tanto, un pronóstico similar; sin embargo, este hecho no se produjo como veremos más adelante. En cualquier caso el perfil de riesgo se cuantificó mediante la escala de puntuación previamente referida (ver tabla 5) y la comparabilidad de los pacientes con concentración normal frente a aquéllos con niveles infranormales/dudosos se mantuvo gracias a una distribución homogénea según el *score* de puntuación para FRCV clásicos (ver figura 69).

HOMOCISTEÍNA.

En el análisis de edad, destaca que los pacientes con Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ o

15 $\mu\text{mol/l}$ presentaron una edad media superior a aquéllos con Hcy por debajo de dichos puntos de corte (ver figura 70). El hecho de que las concentraciones de Hcy plasmática aumenten con la edad justifica nuestros hallazgos³⁸⁴. En cualquier caso, la edades medias de los distintos grupos de estudio se mantuvo por debajo de los 65 años, por lo que pensamos que las diferencias de edad no justificarían las diferencias pronósticas que se observaron posteriormente.

No se encontraron diferencias en la distribución por sexos (ver tabla 38).

Los pacientes con Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ presentaron un menor porcentaje de dislipemia en comparación con aquéllos con niveles normales de Hcy plasmática (46% frente a 67,3%, $p=0,01$, ver tabla 39). Este hecho justificaría en cualquier caso un mejor pronóstico en este grupo que tampoco se objetivó en el análisis posterior. No se encontraron diferencias respecto a la distribución del resto de FRCV clásicos en concordancia con publicaciones previas²⁰⁹. De nuevo la comparabilidad de los grupos se garantizó por un *score* similar en la distribución de FRCV clásicos (ver figura 71).

B. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

FOLATOS.

No se encontraron diferencias en la distribución de las características clínicas entre los pacientes con concentración normal o baja de folatos plasmáticos (ver tablas 40 y 41); no habiéndose encontrado ningún estudio que analice de manera primaria la existencia de diferencias clínicas entre pacientes isquémicos según las concentraciones plasmáticas de folatos. Destacamos una tendencia a un mayor porcentaje de complicaciones entre los pacientes con concentraciones bajas de folatos (44,4% frente a 23,4%, $p=0,08$) probablemente en relación con una prevalencia baja de concentraciones infranormales de folatos en nuestra muestra. Así mismo, se constató una tendencia no significativa a un

mayor porcentaje de IAM inferoposteriores en el grupo de folatos bajos (27,8% frente a 13,1%, $p=0,07$) lo que podría conferir un distinto perfil pronóstico a este grupo (teóricamente los IAM inferoposteriores provocan menor reducción de la FEVI al afectar a una zona menor del miocardio, con lo que el pronóstico final es mejor que el de aquéllos con IAM anteriores); en cualquier caso este mejor perfil pronóstico no se constató en el estudio de supervivencia como se analiza más adelante.

La ausencia de diferencias en las variables clínicas analizadas permite que la comparabilidad de los grupos para el análisis pronóstico posterior sea más preciso y menos controvertido, confiriendo mayor validez al estudio de supervivencia y al análisis multivariable.

La mayor parte de los datos referentes a la influencia de los niveles bajos de folatos sobre el desarrollo de cardiopatía isquémica proceden de análisis indirectos que han tenido a la Hcy y a los polimorfismos de la MTHFR como objetivo principal, no habiéndose realizado ningún estudio sobre la existencia de diferencias en las características clínicas de los pacientes y menos aún en el caso del SCA, por lo que nuestro trabajo (a pesar de un tamaño muestral reducido comparado con los grandes ensayos clínicos de intervención) tiene interés para demostrar una ausencia de diferencias en el perfil clínico de los pacientes con SCA independientemente de los niveles plasmáticos de folatos.

HOMOCISTEÍNA.

Tampoco se objetivaron diferencias de perfil clínico ni en la localización del IAM tras la división de la muestra según los dos puntos de corte para las concentraciones plasmáticas de Hcy (ver tablas 42 y 43).

El análisis del perfil clínico en pacientes isquémicos hiperhomocisteinémicos tampoco ha sido objeto de análisis exhaustivo en los estudios publicados hasta el momento.

Probablemente la ausencia de diferencias en la distribución de las principales variables clínicas recogidas en estudios prospectivos y de intervención ha provocado que este hecho no haya sido analizado de manera pormenorizada.

En nuestro trabajo cabe destacar una tendencia no significativa a un menor porcentaje de fibrinólisis en los pacientes con niveles elevados de Hcy (para los dos puntos de corte). Esta diferencia no está justificada por el resto de variables ya que la principal razón sería un mayor porcentaje de SCACEST en el grupo de pacientes hiperhomocisteinémicos, que no se objetivó en el análisis. El estudio de Matetzky y colaboradores³⁸⁵ no encontró diferencias en términos de revascularización farmacológica ni percutánea en un grupo de paciente hiperhomocisteinémicos frente a otro de normohomocisteinémicos, si bien con un punto de corte de hiperhomocisteina mayor que en nuestro caso. En este estudio cabe destacar un mayor porcentaje de DM entre los no hiperhomocisteinémicos (como en nuestro caso) y un porcentaje similar al nuestro de antecedentes de IAM; aunque se ha de tener en cuenta que el grupo de análisis no fue completamente similar al nuestro ya que sólo incluyó a pacientes postIAM.

Tras una revisión bibliográfica exhaustiva, éste es el único trabajo publicado en el que se analizan determinadas características clínicas respecto a la distribución según niveles de Hcy plasmática. Por tanto, nuestros hallazgos son bastante originales en ese sentido y demuestran la ausencia de diferencias en el perfil clínico entre individuos hiperhomocisteinémicos frente a aquéllos con concentraciones normales de Hcy, en el caso concreto de los SCA.

C. CARACTERÍSTICAS ANGIOGRÁFICAS.

FOLATOS.

A pesar de que no se encontraron diferencias en la distribución de las diferentes

características angiográficas analizadas ni en términos de FEVI entre los pacientes con concentraciones normales de folatos plasmáticos y aquellos con concentraciones bajas de ácido fólico, destacamos una tendencia a una mayor indicación de coronariografía debido a ICC/FEVI baja en el grupo de folatos bajos (ver tablas 44-47). Sin embargo, este hallazgo no se sostiene ya que no hubo diferencias en el porcentaje de pacientes con FEVI normal o con FEVI deprimida.

También se objetivó un mayor porcentaje de pacientes con enfermedad multivaso entre aquéllos con niveles bajos de folatos, y un mayor porcentaje de individuos con enfermedad monovaso entre aquéllos con niveles normales de folatos plasmáticos, aunque tampoco se alcanzó la significación estadística (probablemente en relación con el tamaño muestral). Estos hallazgos son concordantes con el estudio de Kölling y colaboradores, donde no se hallaron diferencias en la concentración media de folatos plasmáticos en una muestra de pacientes, independientemente del número de vasos coronarios afectados³⁷⁵. Aunque en nuestro trabajo los pacientes con concentraciones bajas de folatos plasmáticos fueron revascularizados en menor porcentaje, esta diferencia no alcanzó la significación estadística. Así mismo, no hubo diferencias en términos de perfil angiográfico de las lesiones.

De nuevo, la mayor parte de los trabajos publicados se centran en las relaciones de la Hcy y la extensión de la enfermedad coronaria pero en la mayoría de ellos los niveles de folatos plasmáticos no han sido analizados o no se dispone del estudio comparativo del perfil angiográfico según la concentración plasmática de folatos.

De nuestro estudio se desprende, por tanto, que no existen diferencias en el perfil angiográfico ni en la FEVI en los pacientes con concentraciones bajas o normales de folatos plasmáticos. Tampoco existen diferencias en términos de revascularización coronaria (percutánea o quirúrgica) que pudieran interferir con el estudio pronóstico final.

HOMOCISTEÍNA.

De nuevo destacamos, al igual que ocurrió con las concentraciones de folatos, que en los grupos de pacientes hiperhomocisteinémicos el porcentaje de pacientes que fue sometido a coronariografía por FEVI baja/ICC fue superior frente a aquéllos con una concentración normal de Hcy, aunque esta diferencia no alcanzó la significación estadística (ver tabla 48). Aunque en el grupo de hiperhomocisteinémicos el porcentaje de afectación monovaso fue menor que en aquéllos con niveles normales de Hcy, esta diferencia no se explicó por una mayor afectación multivaso/TCI sino por mayor afectación de dos vasos en los hiperhomocisteinémicos (ver tabla 49). También se encontró una mayor afectación de la FEVI en los grupos de hiperhomocisteinémicos, aunque de nuevo no se alcanzó significación estadística (ver tabla 50).

No se hallaron diferencias respecto a un peor perfil angiográfico (lesiones tipo B2-C o presencia de trombo intracoronario) ni respecto a la realización de tratamiento revascularizador (ver tabla 51). Nuestros hallazgos son en parte compatibles con el estudio de Nikfardjam y colaboradores³⁸⁶, que no encontró relación entre la hiperhomocisteinemia y la extensión de la enfermedad coronaria, con lo que el mecanismo fisiopatológico para explicar la relación con la cardiopatía isquémica podría tener más que ver con la trombosis coronaria aguda que con el desarrollo de arteriosclerosis coronaria. Sin embargo, en nuestro caso no existió relación con la presencia de trombo intracoronario. En este sentido, hemos de tener en cuenta, que en un estudio se ha relacionado la hiperhomocisteinemia con la muerte súbita de origen cardíaco debido a la presencia de placas ateroscleróticas fibrosas, pobres en lípidos, en ausencia de trombosis coronaria aguda³⁸⁷; mientras que otros sí han encontrado relación entre la hiperhomocisteinemia y la presencia de trombo intracoronario en el contexto de los SCA³⁸⁸. Quizá en nuestro caso, el período de inclusión y el tratamiento coadyuvante con antitrombóticos (en prácticamente todos los pacientes y

desde el ingreso hospitalario, en ausencia de contraindicación) podría haber favorecido la disolución del trombo antes de la realización de la coronariografía. Un estudio reciente ha evidenciado una correlación entre la concentración plasmática de Hcy y la extensión de la enfermedad coronaria tras aplicar el *score* de Sullivan mientras que no encontró correlación con el porcentaje de estenosis coronaria ni con el número de vasos³⁸⁹; en este caso la existencia de correlación sólo con el *score* utilizado pero no con el resto de parámetros le resta validez a los resultados; se ha de tener en cuenta además, que el mismo grupo, había publicado previamente datos procedentes de la misma serie en que obtenían resultados absolutamente contrapuestos³⁹⁰. Otro estudio de reciente publicación también ha correlacionado la concentración plasmática de Hcy con el número de vasos coronarios con lesiones significativas³⁹¹, aunque existen diferencias epidemiológicas respecto a nuestra muestra: sólo se incluyeron individuos de menos de 55 años y presentaban enfermedad coronaria estable. Finalmente, el estudio de Kölling y colaboradores no halló diferencias en las concentraciones medias de Hcy en los pacientes con diferente número de vasos coronarios afectados³⁷⁵.

D. PRONÓSTICO.

FOLATOS.

Tal y como se desprende del análisis del pronóstico, los pacientes con concentraciones bajas de folatos plasmáticos (menores de 3,1 ng/ml) presentaron una mayor tasa tanto de exitus de origen cardiovascular como de MACEs en el seguimiento, con una estimación de supervivencia total y libre de eventos (a 12 y 24 meses) menor que para los pacientes con una concentración plasmática normal de folatos (ver tablas 52 y 53). En el caso de tomar como punto de corte los niveles de folatos por debajo de 5,31 ng/ml sólo se objetivó una mayor tasa de exitus cardiovascular en los pacientes con

concentraciones inferiores a dicho punto de corte, con menor supervivencia total a 12 y 24 meses; no encontrándose diferencias en cuanto a la tasa de aparición de MACEs (ver tablas 52 y 53).

Se ha de tener en cuenta que apenas existieron diferencias en la distribución de variables epidemiológicas, clínicas o angiográficas entre los individuos con niveles bajos o normales de folatos plasmáticos (sólo en la distribución de DM) por lo que los grupos son comparables y las estimaciones del análisis de supervivencia bastante aproximadas a la realidad. En cualquier caso, para que no existieran interferencias fruto del efecto confusor procedente de la interrelación de variables, diseñamos un modelo de análisis multivariable donde se incluyeron aquellas variables que presentaron una distribución diferente entre los dos grupos en el análisis univariado así como aquéllas que han demostrado en grandes estudios su relación con el pronóstico en los pacientes con SCA. En este análisis objetivamos que la presencia de concentraciones de folatos por debajo de 3,1 ng/ml junto a la realización de revascularización coronaria se relacionó de forma independiente e inversa con la supervivencia total mientras que la afectación de TCI casi alcanzó la significación estadística (ver tabla 54); sin embargo, ninguna de las variables incluidas en el modelo se relacionó de forma independiente con la supervivencia libre de eventos (ver tabla 55). Así mismo, tras incluir en el modelo la existencia de niveles de folatos plasmáticos por debajo de 5,31 ng/ml, éstos junto a la realización de revascularización coronaria y la afectación de TCI se relacionaron de forma independiente con la supervivencia total mientras que el ingreso por SCASEST casi alcanzó la significación estadística en este sentido (ver tabla 56). De nuevo ninguna variable se relacionó de forma independiente con la supervivencia libre de MACEs en el seguimiento (ver tabla 57).

No existen estudios en la literatura revisada que hayan analizado de forma directa la relación entre la presencia de déficit plasmático de folatos y el pronóstico de pacientes con

CI y, en concreto con SCA. La mayor parte de los datos al respecto proceden del análisis indirecto de los resultados de grandes estudios sobre el polimorfismo C677T de la MTHFR así como de grandes ensayos clínicos sobre la utilización de suplementos dietéticos de ácido fólico y complejos vitamínicos del grupo B para la prevención del desarrollo de CI.

Así, tras los estudios que relacionaron la presencia de hiperhomocisteinemia moderada con un mayor riesgo de desarrollar enfermedad coronaria arteriosclerótica, en una serie de trabajos se objetivó que el suplemento dietético con ácido fólico, vitaminas del grupo B e incluso vitaminas C ó E lograba disminuir la Hcy plasmática, con lo que un hipotético suplemento dietético con dichos agentes en una estrategia de prevención primaria o secundaria conseguiría disminuir la incidencia y la prevalencia de la CI así como de los eventos en el seguimiento de los pacientes isquémicos. En este sentido el trabajo de Malinow y colaboradores demostró que la fortificación de los cereales del desayuno con ácido fólico permitía disminuir la concentración plasmática de Hcy en pacientes con enfermedad coronaria demostrada, si bien eran cautos a la hora de aplicar dichos resultados, requiriendo más ensayos clínicos sobre todo para determinar la influencia en prevención primaria de los suplementos con ácido fólico²⁸⁸. En el mismo sentido se posicionó el estudio de Lobo y colaboradores, objetivando que una dosis baja de ácido fólico junto a vitaminas del grupo B permitía disminuir la concentración de Hcy en pacientes con enfermedad coronaria manifiesta²⁷⁴. El estudio PACIFIC, doble ciego, randomizó a 723 individuos con CI a recibir 2 mg diarios de ácido fólico, 0,2 mg diarios de ácido fólico o placebo, objetivándose una reducción significativa de la Hcy plasmática con los suplementos de ácido fólico³⁹². Probablemente el mero hecho de suplementar los alimentos con ácido fólico (como de hecho se realiza en algunos países, con el fin de disminuir la incidencia de defectos congénitos del tubo neural) permita reducir los niveles de Hcy a nivel poblacional³⁹³; además este hecho tiene importantes implicaciones sobre el

poder estadístico de los ensayos clínicos que pudieran analizar la reducción de eventos aterotrombóticos en relación con la disminución de la concentración plasmática de Hcy³⁹⁴. Otro trabajo experimental desarrollado por Woodside y colaboradores objetivó que el efecto del ácido fólico y las vitaminas del grupo B sobre la reducción de la concentración plasmática de Hcy no se debía a un efecto antioxidante, en un ensayo clínico de comparación frente a ácido ascórbico, alfatocoferol y betacarotenos sobre la resistencia a la oxidación de las LDL, aunque sí provocaban una reducción de los niveles de Hcy, por lo que concluyeron que el efecto sobre la reducción del riesgo cardiovascular era independiente de ese efecto antioxidante³⁹⁵. El estudio de Bunout y colaboradores evidenció tanto una reducción de la Hcy plasmática como de la oxidación de LDL *in vitro* en pacientes con enfermedad coronaria tras un suplemento de ácido fólico, vitamina B₁₂, ácido ascórbico y alfatocoferol³⁹⁶, si bien no establecieron comparación de subgrupos y todos los pacientes recibieron el suplemento de manera global, a diferencia que en el estudio anterior, en el que se randomizó a los pacientes a recibir placebo, antioxidantes o ácido fólico-vitaminas B. Es posible que el presunto efecto “cardioprotector” de los suplementos de ácido fólico se debiera a otro mecanismo fisiopatológico; así, el trabajo de Title y colaboradores demostró que el ácido fólico permitía mejorar la función endotelial en pacientes con enfermedad coronaria, si bien concluyeron que eran necesarios ensayos clínicos para demostrar si los suplementos de ácido fólico podrían reducir los eventos cardiovasculares³⁹⁷. En el mismo sentido, Thambyrajah y colaboradores, en un estudio randomizado y doble ciego, objetivaron que la reducción de la Hcy plasmática provocada por el suplemento de ácido fólico se asociaba a una tendencia hacia la mejora de la función endotelial en pacientes con enfermedad coronaria arteriosclerótica³⁹⁸. En dos estudios de confección muy elegante, llevados a cabo por Doshi y colaboradores se evidenció que el suplemento de ácido fólico disminuía la concentración de Hcy y mejoraba la función

endotelial, si bien esta mejoría (medida por dilatación arterial mediada por flujo) no se correlacionaba con la reducción de la Hcy; además no se objetivó modificación de marcadores relacionados con el estrés oxidativo (malonildialdehído y capacidad antioxidante plasmática total), lo que sugeriría que el mecanismo de mejora de la función endotelial sería independiente de la reducción de la Hcy y de los fenómenos hiperoxidantes^{399,400}. Más reciente es el estudio de Stanger y colaboradores que evidenció una reducción de la Hcy así como una mejoría de la reactividad de los vasos de resistencia sin cambios en el estado antioxidante tras 6 semanas de suplementación de ácido fólico en una cohorte de pacientes con enfermedad coronaria⁴⁰¹. También se objetivó un efecto similar en el estudio de Willems y colaboradores tras suplemento con ácido fólico y vitamina B₁₂ en pacientes sometidos a revascularización coronaria percutánea, esta vez midiendo directamente flujo coronario para establecer la función endotelial¹⁴².

En trabajos posteriores se estudió si el suplemento de ácido fólico permitiría reducir la progresión de la enfermedad arteriosclerótica coronaria. Así, el estudio de Vermeulen y colaboradores objetivó que el aporte suplementario de ácido fólico y vitamina B₆ a un grupo de pacientes con enfermedad atrombótica prematura permitía mejorar la tolerancia al esfuerzo, medida en ergometría, lo que relacionaban de forma indirecta con una disminución del riesgo de eventos coronarios³⁶⁶. El Swiss Heart Study, un ensayo clínico randomizado doble-ciego, evaluó el efecto del tratamiento reductor de la Hcy (ácido fólico, vitaminas B₆ y B₁₂) en el pronóstico tras el intervencionismo coronario percutáneo en una cohorte de 553 pacientes⁴⁰²; objetivándose una disminución del end-point combinado (muerte, IAM no fatal y necesidad de nueva revascularización) a 1 año en los pacientes sometidos a tratamiento reductor de la Hcy (15,4% frente a 22,8%, riesgo relativo 0,68, IC al 95% 0,48-0,96, p=0,03), fundamentalmente en relación con una disminución de la necesidad de nueva revascularización coronaria (9,9% frente a 16%, riesgo relativo 0,62,

IC al 95% 0,40-0,97, $p=0,03$); en cualquier caso en este estudio no se publicaron los datos referentes a las concentraciones basales y postratamiento de folatos plasmáticos, y este hecho no fue analizado con posterioridad, lo que impide obtener conclusiones acerca de la influencia pronóstica de la existencia de un déficit basal de fólico: ¿el beneficio observado se debió fundamentalmente al efecto del suplemento en pacientes con concentraciones basales reducidas de folatos plasmáticos o fue independiente de la concentración basal de folatos? Recientemente se ha publicado el estudio VISP, randomizado y doble ciego, que analizó si el tratamiento con ácido fólico, vitamina B₆ y vitamina B₁₂ reducía el riesgo de ictus recurrente en un grupo de 3680 pacientes que habían sufrido un ictus isquémico; en este caso, se objetivó una reducción significativa de la concentración de Hcy en el grupo de intervención, que no se asoció a una reducción de eventos cardiovasculares en el seguimiento⁴⁰³. También es reciente el estudio de Liem y colaboradores que ha analizado la eficacia de añadir ácido fólico al tratamiento con estatinas en prevención secundaria de pacientes hipercolesterolémicos postIAM, sin encontrar efecto beneficioso aditivo de éste en términos de reducción de eventos en el seguimiento⁴⁰⁴; este mismo grupo había reportado hallazgos similares en otro estudio más amplio realizado en pacientes con enfermedad coronaria estable⁴⁰⁵. En el último Congreso de la Sociedad Europea de Cardiología (Estocolmo 2005) se presentaron los resultados del estudio NORVIT; este ensayo clínico, multicéntrico, randomizado y doble ciego, realizado en 35 hospitales noruegos, randomizó a 3749 pacientes que habían sufrido un IAM a recibir un complejo vitamínico (en el que se incluían ácido fólico y vitamina B₆), ácido fólico exclusivamente, vitamina B₆ exclusivamente o placebo, durante un período de tres años; a pesar de una reducción muy significativa de la concentración de Hcy en los grupos de intervención, no se encontraron diferencias al comparar el objetivo primario (combinación de IAM fatal/no fatal e ictus isquémico fatal/no fatal); es más, el grupo que recibió la terapia combinada

presentó un mayor riesgo de presentar IAM o ictus y se observó una tendencia no significativa a un mayor porcentaje de cáncer en los tratados con la terapia combinada (¿en relación con el efecto favorecedor del ácido fólico sobre la replicación de células cancerosas?)⁴⁰⁶.

Todos estos estudios de intervención se desarrollaron a partir de la publicación de una serie de estudios casos-control en los que se objetivaba una relación entre los niveles de folatos plasmáticos y el desarrollo de CI. En 1996 Morrison y colaboradores publicaron un trabajo retrospectivo sobre una cohorte de 5056 canadienses, en el que demostraron una relación entre la presencia de niveles bajos folatos plasmáticos (menores de 3 ng/ml) y el desarrollo de enfermedad coronaria fatal⁴⁰⁷. Sin embargo, estos hallazgos no fueron confirmados en el estudio de Chasan-Taber y colaboradores, realizado sobre una cohorte de más de 13000 médicos estadounidenses²⁴². Los sucesivos análisis del registro de Kuopio también han hallado relación entre la presencia de concentraciones elevadas de folatos plasmáticos y una reducción en la aparición de SCA^{352;408;409}. De forma similar, los datos provenientes del estudio ARIC también relacionan de forma inversa la concentración plasmática de folatos con el desarrollo de enfermedad coronaria, predominantemente en mujeres³¹⁶. Estos hallazgos también se confirman en el estudio de Giles y colaboradores, pero en este caso el efecto protector de los niveles plasmáticos de folatos son particularmente relevantes en el grupo de edad comprendido entre 35-55 años⁴¹⁰. Los datos provenientes del estudio de de Bree y colaboradores también relacionan la presencia de niveles elevados de folatos plasmáticos con un efecto protector sobre el desarrollo de enfermedad coronaria, especialmente en mujeres⁴¹¹. Sin embargo, un estudio amplio (1419 varones, 1531 mujeres) con un seguimiento de 29 años, no encontró relación entre la concentración de folatos plasmáticos e intraeritrocitarios y la aparición de muerte cardiovascular en el seguimiento⁴¹².

Como vemos, se desprende de la mayor parte de estudios casos-control que parece existir una relación entre la presencia de un déficit basal de folatos plasmáticos y un aumento del riesgo de presentar enfermedad coronaria, pero hasta hasta el momento ningún estudio ha analizado la relación de dicho déficit con el pronóstico en pacientes isquémicos y menos aún en el grupo concreto de pacientes con SCA. Por ello, los resultados de nuestro trabajo, que confieren un peor pronóstico vital a los pacientes con concentraciones bajas de folatos plasmáticos que han sufrido un SCA, abren nuevas hipótesis que tendrán que ser contrastadas en futuros estudios. La existencia de resultados contradictorios en los estudios de intervención con suplementos de ácido fólico hace que pensemos en nuevas hipótesis de trabajo: ¿el efecto beneficioso de los suplementos de ácido fólico sólo se produce en los pacientes con una concentración baja de folatos? y, en este caso, ¿es preciso realizar una determinación de la concentración basal de folatos plasmáticos en los pacientes con SCA para así dirigir una hipotética actitud terapéutica basada en el suplemento de ácido fólico? O bien, como hemos visto al analizar la influencia del polimorfismo C677T de la MTHFR³⁵⁷, ¿la coexistencia de la variante mutada de este polimorfismo junto a un déficit asociado de folatos plasmáticos confiere un mayor riesgo cardiovascular y son estos pacientes los que más se beneficiarían de una estrategia de suplementación dietética con ácido fólico?

HOMOCISTEÍNA.

Los pacientes con concentraciones de Hcy por encima de 10 $\mu\text{mol/l}$ presentaron un mayor porcentaje de MACEs en el seguimiento y aunque el porcentaje de exitus también fue mayor, esta diferencia no alcanzó la significación estadística, probablemente por el pequeño tamaño muestral (ver tabla 58). De hecho, la estimación de supervivencia total y libre de eventos a 12 y 24 meses fue inferior en los individuos con Hcy elevada, aunque

sólo se alcanzó la significación estadística en el caso de la supervivencia libre de MACEs (ver tabla 59). Sin embargo, los pacientes con una concentración plasmática de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$ presentaron un mayor porcentaje de exitus cardiovascular mientras que la diferencia en la presentación de MACEs no alcanzó la significación estadística (ver tabla 58). De nuevo, la estimación de supervivencia objetivó un peor pronóstico en los pacientes con Hcy elevada, rozando la significación estadística en el caso de la supervivencia total (ver tabla 59).

Dado que los pacientes hiperhomocisteinémicos presentaron una edad media superior las diferencias en la tasa de eventos podría haber sido interferida por esta variable. Por ellos, finalmente, mediante un análisis multivariable (diseñando un modelo en el que se excluyó deliberadamente la variable edad) analizamos la relación independiente con el pronóstico, objetivando que la presencia de una concentración de Hcy superior a 10 $\mu\text{mol/l}$ junto a la existencia de afectación multivaso se relacionaban de forma independiente e inversa con la supervivencia libre de MACEs (ver tabla 61).

Como vimos en el análisis casos-contrroles han sido muchos los trabajos que han analizado la relación de la hiperhomocisteinemia con el desarrollo de la CI, sobre todo en edades tempranas y en ausencia de otros FRCV^{209;209;316;348;355;358;387;413}, aunque los últimos datos publicados parecen conferir un efecto perjudicial aditivo al riesgo cardiovascular en algunos subgrupos poblacionales, como es el caso de los diabéticos^{209;414}. Sin embargo, a pesar de que tras establecerse la relación inversa entre la concentración plasmática de folatos y de Hcy se han puesto en marcha numerosos estudios de intervención con suplementos de ácido fólico y complejos vitamínicos del grupo B, existen pocos estudios que hayan analizado el papel pronóstico de la hiperhomocisteinemia en sí misma y sólo tres de ellos han estudiado su influencia pronóstica en pacientes con SCA. La acción protrombótica de la Hcy y su influencia sobre la función endotelial podría dar lugar a que

en los pacientes hiperhomocisteinémicos el curso de la enfermedad tras el alta hospitalaria fuera más agresivo, dando lugar a mayores tasas de MACEs en el seguimiento.

El primer estudio pronóstico en pacientes hiperhomocisteinémicos se debe a Nygard y colaboradores²²³, aunque fue realizado en pacientes con enfermedad coronaria estable, todos los pacientes fueron sometidos a coronariografía (con lo que se confirmó la existencia de enfermedad coronaria) a diferencia de los estudios posteriores, objetivando que los pacientes hiperhomocisteinémicos presentaban un peor pronóstico vital en el seguimiento, pero la correlación entre la concentración de Hcy y la extensión de la enfermedad coronaria fue sólo débil (de acuerdo con nuestros hallazgos)

El primero de los estudios realizados en pacientes con SCA (y el que más se aproxima a nuestro diseño) se debe a Stubbs y colaboradores que analizaron de forma prospectiva la influencia en la incidencia de muerte cardiovascular y/o (re)IAM de la concentración basal de Hcy en 440 pacientes ingresados en relación con un SCA (204 AI y 236 IAM) tanto a corto (28 días) como a largo plazo (mediana 2,5 años)³⁴⁹. Si bien la concentración de Hcy plasmática no se relacionó con el pronóstico a corto plazo, en el seguimiento a largo plazo se objetivó un aumento del riesgo de presentar eventos cardiovasculares de 2,6 veces (IC al 95% 1,5-4,3, $p < 0,001$) para los individuos con una concentración basal de Hcy superior a 12,2 $\mu\text{mol/l}$. Curiosamente el aumento de riesgo no fue tan llamativo para los pacientes con concentraciones de Hcy en el último cuartil de distribución (a semejanza con nuestro análisis en el que las concentraciones de Hcy por encima de 15 $\mu\text{mol/l}$ no se asociaron con los MACEs aunque sí con la muerte cardiovascular). Estos hallazgos ya fueron sugeridos por el estudio MRFIT, en el que la hiperhomocisteinemia parecía ser más un factor de riesgo para la recurrencia de eventos que para la aparición de un primer evento cardiovascular²⁴⁵. Otro hecho importante y concordante con nuestro trabajo es que este efecto “deletéreo” de la hiperhomocisteinemia

se mantiene a pesar de que se realizó revascularización a un porcentaje considerable de pacientes (en este caso bastante mayor en nuestro trabajo, probablemente en relación con un mayor número de ingresos por SCASEST que en el trabajo de Stubbs, donde prácticamente el 50% de los pacientes ingresaron en relación con un IAM, con lo que gran parte de ellos habrían sido sometidos a fibrinolisis) que a su vez también se objetivó en el estudio de Nygard²²³.

El segundo estudio fue realizado por Omland y colaboradores, sobre una muestra de 579 pacientes con SCA (163 pacientes con IAM Q, 210 pacientes con IAMNQ y 206 pacientes con AI)^{209;415}. Tras el seguimiento medio (aproximadamente 2 años) se observó que la concentración media de Hcy fue inferior en el grupo que no presentó el *end-point* del estudio (mortalidad total, n=65), objetivándose un riesgo relativo de muerte de 2,4 (IC al 95% 1,5-4,0) para los pacientes con concentración de Hcy en el cuarto cuartil de la muestra, que disminuyó a 1,69 (IC al 95% 1,02-2,80) tras ajustar por variables confusoras; además, en un análisis multivariable, los niveles de Hcy fueron un predictor independiente de eventos (junto a la edad, la DM y el uso de diuréticos). La definición de un *end-point* muy duro dió mayor calidad al trabajo, aunque quizá hubiera sido preferible definir un *end-point* que incluyese sólo eventos cardiovasculares, ya que la posibilidad de un sesgo relacionado con una mayor mortalidad no cardiovascular en el grupo de hiperhomocisteinémicos podría no haber sido controlada.

El tercer estudio es un trabajo más reciente de Matetzky y colaboradores, realizado en 157 pacientes con IAM. De nuevo, el pronóstico a corto plazo (en este caso, intrahospitalario) no difirió entre los individuos hiperhomocisteinémicos frente a aquéllos con niveles normales de Hcy (en este caso se estratificó a la muestra en dos grupos, por encima y por debajo de 20 $\mu\text{mol/l}$ de Hcy plasmática) pero tras un seguimiento medio de 30 meses los pacientes hiperhomocisteinémicos presentaron una mayor tasa de eventos

(definidos como isquemia recurrente, reIAM, ICC, fibrilación auricular y arritmias ventriculares malignas): 36% frente a 17%, $p=0,04$, y un mayor porcentaje de muerte (18% frente a 5%, $p<0,05$); objetivándose que la hiperhomocisteinemia fue un predictor independiente de eventos coronarios tras ajustar por variables confusoras (OR 3,8, IC al 95% 1,3-11). En este estudio no se realizó coronariografía a todos los pacientes, con lo que la existencia de enfermedad coronaria no pudo ser confirmada en el 100% de los casos. De forma concordante con nuestros datos los pacientes presentaron una alta tasa de eventos en el seguimiento aunque la tasa de mortalidad fue superior a la nuestra

Por tanto, el efecto protrombótico, proinflamatorio y sobre la función endotelial de la hiperhomocisteinemia podría dar lugar a un aumento del riesgo de eventos coronarios recurrentes en pacientes isquémicos, especialmente tras sufrir un SCA, de forma independiente de la extensión de la enfermedad coronaria subyacente. Nuestro trabajo, por tanto, se muestra concordante con los estudios previamente citados y probablemente la falta de significación estadística en las diferencias observadas cuando se realizó el análisis tomando como punto de corte $15 \mu\text{mol/l}$ de Hcy puedan ser explicadas por un tamaño muestral pequeño.

VII. LIMITACIONES.

1. El pequeño tamaño muestral nos hace incidir en una interpretación cautelosa de nuestros resultados, ya que en muchos casos es posible que las comparaciones no alcanzasen la significación estadística debido a este hecho.

2. Sólo se incluyeron los pacientes con SCA que fueron sometidos a coronariografía. Aunque este hecho permitió conocer con exactitud la extensión de la enfermedad coronaria, es probable que los pacientes de bajo riesgo (con menor tasa de recurrencia posterior) y aquéllos que con frecuencia son descartados para la realización de técnicas de diagnóstico invasivo como los ancianos o los pacientes pluripatológicos (con peor pronóstico) no fueran incluidos, lo que podría haber sesgado los resultados.

3. Se tomaron dos puntos de corte para definir la hiperhomocisteinemia que difieren respecto a estudios previos. Dicho punto de corte no está definido en población estándar, ya que si bien algunos trabajos lo establecen por encima de 20 $\mu\text{mol/l}$, otros grupos son más laxos y lo llevan hasta los 10 $\mu\text{mol/l}$. Este hecho sería determinante a la hora del análisis de los resultados, si bien en la bibliografía existen multitud de estudios realizados con diferentes puntos de corte. En nuestro caso, tomamos los puntos de corte que nuestro laboratorio de referencia utiliza, en base a estudios previamente realizados en el mismo.

4. El seguimiento clínico no pudo realizarse por entrevista personal en todos los casos, con lo que fue necesario en alguno de ellos recurrir a la revisión de historias clínicas. Dada la peculiaridad de nuestro sistema sanitario, la no existencia de una base de datos de exitus acoplada al sistema de historias clínicas, hace que se pueda perder

información al respecto. De igual forma, en caso de pacientes que hayan cambiado de área sanitaria, el seguimiento se hizo complicado. De todos modos, se consiguió el seguimiento en todos los pacientes incluidos en el estudio.

5. La determinación de la concentración de Hcy plasmática se realizó durante la coronariografía y no de forma inmediata tras el ingreso hospitalario. Aunque podría ser considerada una limitación, existen estudios que han demostrado una variabilidad pequeña en la concentración de Hcy en los primeros 6 meses que siguen a un evento coronario agudo³⁴³.

6. No se realizó un seguimiento estrecho del tratamiento de los pacientes. Sólo se constató el tratamiento recibido al alta. Si se produjeron cambios en el mismo (debido a intolerancia o a otras razones médicas) éstos no pudieron ser controlados, lo cual también pudo influir en el pronóstico de los pacientes.

CONCLUSIONES

1. La presencia de la variante mutada del polimorfismo C677T de la MTHFR no se relacionó con el desarrollo de Síndrome Coronario Agudo.
2. La presencia de una concentración elevada de Hcy en plasma y/o la existencia de una concentración baja de folatos plasmáticos no se relacionó con el desarrollo de Síndrome Coronario Agudo.
3. No se objetivó una relación entre la hiperhomocisteinemia, el déficit basal de folatos plasmáticos y la presencia de la variante mutada del polimorfismo C677T de la MTHFR y la actividad inflamatoria en sujetos ingresados en relación con Síndrome coronario agudo.
4. Los pacientes con Síndrome coronario agudo, portadores de la variante alélica mutada (TT) del polimorfismo C677T de la MTHFR, presentan concentraciones superiores de Hcy que aquéllos portadores de la variante alélica salvaje (CC) o los heterocigotos (CT).
5. Existe una relación inversa entre la concentración de Hcy y folatos en plasma de pacientes con Síndrome coronario agudo.
6. No se objetivaron diferencias en el perfil clínico ni angiográfico de los pacientes con Síndrome coronario agudo portadores de la variante alélica TT del polimorfismo C677T de la MTHFR frente a los homocigotos dominantes (CC) ni a los individuos heterocigotos (CT).
7. El pronóstico de los pacientes con Síndrome coronario agudo portadores de la variante alélica homocigota recesiva (TT) no difiere del de los pacientes heterocigotos (CT) ni de

los portadores de la variante salvaje (CC).

8. El perfil clínico y angiográfico de los pacientes con Síndrome coronario agudo no se relacionó con la presencia de concentraciones elevadas de Hcy en plasma ni con la existencia de una concentración baja de folatos plasmáticos.

9. En pacientes con Síndrome coronario agudo, la coexistencia de concentraciones bajas de folatos en plasma confiere un peor pronóstico, con una menor supervivencia total y libre de eventos cardiovasculares en el seguimiento a medio plazo.

10. En pacientes con Síndrome coronario agudo, la existencia de una concentración baja de folatos plasmáticos se relaciona de forma independiente con la supervivencia total.

11. La presencia de una concentración elevada de Hcy en plasma se relaciona con un peor pronóstico cardiovascular en pacientes con Síndrome coronario agudo, con una menor supervivencia libre de eventos en el seguimiento a medio plazo.

12. En pacientes con Síndrome coronario agudo, la existencia de una concentración elevada de Hcy plasmática se relaciona de forma independiente con la supervivencia libre de eventos cardiovasculares

ABREVIATURAS

AI: Angina inestable.

BHMT: Betaina-homocisteína metiltransferasa.

CBS: Cistationina β -sintetasa.

CI: Cardiopatía isquémica.

DA: Arteria descendente anterior.

DD: Dímero D.

DE: Desviación estándar.

DM: Diabetes mellitus.

ECG: Electrocardiograma.

FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

FRCV: Factor/es de riesgo cardiovascular/es.

Hcy: Homocisteína.

HDL: Lipoproteínas de alta densidad.

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución.

HTA: Hipertensión arterial.

IAM: Infarto agudo de miocardio.

IAMNQ: IAM sin onda Q.

IC: Intervalo de confianza.

ICC: Insuficiencia cardíaca.

IECAs: Inhibidores de la enzima conversiva de la aldosterona.

LDL: Lipoproteínas de baja densidad.

MACEs: Eventos cardiovasculares mayores.

MS: Metionina sintetasa.

MTHFR: Metiltetrahidrofolato reductasa.

NO: Óxido nítrico.

NOS: Óxido nítrico sintetasa.

OR: Odds ratio

RCP: Reacción en cadena de la polimerasa

RR: Riesgo relativo.

SCA: Síndrome coronario agudo.

SCACEST: Síndrome Coronario Agudo con elevación de segmento ST.

SCASEST: Síndrome Coronario Agudo sin elevación de segmento ST.

TCI: Tronco coronario izquierdo.

TE: Tubo Eppendorf

BIBLIOGRAFÍA

1. OECD Health Data 2000. Texts, statistical databases, tables, graphics, health system diagrams. Paris: OECD Publications Service, 2000.
2. Murray CJ, Lopez AD. Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1269-76.
3. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1498-504.
4. Saez T, Suarez C, Blanco F, Gabriel R. [Epidemiology of cardiovascular diseases in the Spanish elderly population]. *Rev.Esp.Cardiol.* 1998;51:864-73.
5. Uemura K, Pisa Z. Trends in cardiovascular disease mortality in industrialized countries since 1950. *World Health Stst Q* 1988 1988;41:155-78.
6. Detailed diagnosis and procedures. National Hospital Discharge Survey 1989. Vital and Health Statistics. Vital and Health Statistics . 1990.
Ref Type: Journal (Full)
7. Kannel WB. Prevalence, incidence and mortality of coronary artery disease, In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, editors. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 15-26.
8. Levy D, Thom TJ. Death rates from coronary disease--progress and a puzzling paradox. *N.Engl.J.Med* 1998;339:915-17.
9. Rosamond WD, Chambless LE, Folsom AR, Cooper LS, Conwill DE, Clegg L *et al.* Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease, 1987 to 1994. *N.Engl.J.Med* 1998;339:861-67.
10. McGovern PG, Pankow JS, Shahar E, Doliszny KM, Folsom AR, Blackburn H *et al.* Recent trends in acute coronary heart disease--mortality, morbidity, medical care, and risk factors. The Minnesota Heart Survey Investigators. *N.Engl.J.Med* 1996;334:884-90.
11. Gil M, Marrugat J, Sala J, Masia R, Elosua R, Albert X *et al.* Relationship of therapeutic improvements and 28-day case fatality in patients hospitalized with acute myocardial infarction between 1978 and 1993 in the REGICOR study, Gerona, Spain. The REGICOR Investigators. *Circulation* 1999;99:1767-73.
12. Tunstall-Pedoe H, Vanuzzo D, Hobbs M, Mahonen M, Cepaitis Z, Kuulasmaa K *et al.* Estimation of contribution of changes in coronary care to improving survival, event rates, and coronary heart disease mortality across the WHO MONICA Project populations. *Lancet* 2000;355:688-700.
13. Martínez de Aragón MV, Llacer A. Mortalidad en España 1997. *Boletín Epidemiológico Semanal* 2000;253-64.

14. Farme JA, Gotto AM. Dyslipemia and other risk factors for coronary artery disease, In: Braunwald, editor. Heart disease: a textbook cardiovascular medicine. Philadelphia: WB Saunders; 1997. p. 1126-60.
15. Johnson CL, Rifkind BM, Sempos CT, Carroll MD, Bachorik PS, Briefel RR *et al.* Declining serum total cholesterol levels among US adults. The National Health and Nutrition Examination Surveys. JAMA 1993;269:3002-08.
16. Morbidity and mortality chartbook on cardiovascular, lung and blood diseases. Washington: US Department of Health and Human Services; 1990.
17. Banegas JR, Rodriguez AF, Rodriguez PP, Martin Moreno JM, Villar F. Recent coronary heart disease mortality trends in Spain. Int.J.Epidemiol. 1990;19:761-62.
18. Esnaola S, Errezola M, Bereciartua JM. [The evolution of mortality from ischemic heart disease in Basque Country 1975-1990]. Med Clin.(Barc.) 1992;99:721-24.
19. Brotons C, Rue M, Rivero E, Perez G. [Tendencies of mortality from cardiovascular diseases in Catalonia: 1975-1992]. Med Clin.(Barc.) 1993;101:604-08.
20. Villar Álvarez F, Banegas Banegas J. Objetivo 9. Reducir las enfermedades cardiovasculares., In: Álvarez Dardet A, Peiró S, editors. Informe SESPAS 2000. La Salud Pública ante los desafíos de un nuevo siglo.. Granada: Escuela Andaluza de Salud Pública; 2000.
21. Banegas B, Jr., Villar AF, Martin Moreno JM, Rodriguez AF, Gonzalez EJ. [The relevance of mortality due to circulatory system diseases in Spain]. Rev.Clin.Esp. 1992;190:321-27.
22. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Amouyel P, Arveiler D, Rajakangas AM, Pajak A. Myocardial infarction and coronary deaths in the World Health Organization MONICA Project. Registration procedures, event rates, and case-fatality rates in 38 populations from 21 countries in four continents. Circulation 1994;90:583-612.
23. Perez G, Pena A, Sala J, Roset P, Masia R, Marrugat J. Acute myocardial infarction case fatality, incidence and mortality rates in a population registry in Gerona, Spain, 1990-1992. REGICOR Investigators. Int.J.Epidemiol. 1998;27:599-604.
24. Kuulasmaa K, Tunstall-Pedoe H, Dobson A, Fortmann S, Sans S, Tolonen H *et al.* Estimation of contribution of changes in classic risk factors to trends in coronary-event rates across the WHO MONICA Project populations. Lancet 2000;355:675-87.
25. Marrugat, Sala J, Masía R, Elosua R, Rohflz I, Gil M. Tendencias en la incidencia y letalidad del infarto agudo de miocardio en Gerona entre 1990 y 1997. Rev Esp Cardiol 2000;53 :31.

26. Marrugat J, Elosua R, Marti H. [Epidemiology of ischaemic heart disease in Spain: estimation of the number of cases and trends from 1997 to 2005]. *Rev.Esp.Cardiol.* 2002;55:337-46.
27. Kannel WB. Silent myocardial ischemia and infarction: insights from the Framingham Study. *Cardiol.Clin.* 1986;4:583-91.
28. Sala, J, Marrugar, J, Masià, R, Elosua R, Roflhz I, and Pena A. Tasa de incidencia y mortalidad poblacional y hospitalaria del infarto agudo de miocardio en los mayores de 74 años en Gerona. *Rev.Esp.Cardiol.* 53(Supl 2), 71. 2000.

Ref Type: Abstract

29. Sala J, Marrugat J, Masia R, Porta M. Improvement in survival after myocardial infarction between 1978-85 and 1986-88 in the REGICOR study. (Registre Gironi del COR) registry. *Eur.Heart J.* 1995;16:779-84.
30. Hernandez JM, Goicolea J, Duran JM, Auge JM. Spanish Registry on Cardiac Catheterization Interventions. 11th Official Report of the Working Group on Cardiac Catheterization and Interventional Cardiology of the Spanish Society of Cardiology (years 1990-2001). *Rev.Esp.Cardiol.* 2002;55:1173-84.
31. Hernandez JM, Goicolea J, Duran JM, Auge JM. [Registry of the Activity of the Section of Hemodynamics and Interventional Cardiology of the Spanish Society of Cardiology for the year 2000]. *Rev.Esp.Cardiol.* 2001;54:1426-38.
32. Stamler J. Epidemiology, established major risk factors, and the primary prevention of coronary heart disease, In: Chatterjee K, Cheitlin M, Karlines J, editors. *Cardiology: An illustrated text/reference.* JB Lippincott; 1991. p. 1-12.
33. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N.Engl.J.Med* 1999;340:115-26.
34. Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G *et al.* Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia. Intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. *J.Clin.Invest* 1997;100:2680-90.
35. Moncada S, Herman AG, Higgs EA, Vane JR. Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI₂) by layers of the arterial wall. An explanation for the anti-thrombotic properties of vascular endothelium. *Thromb.Res.* 1977;11:323-44.
36. Gimbrone MA, Jr., Alexander RW. Angiotensin II stimulation of prostaglandin production in cultured human vascular endothelium. *Science* 1975;189:219-20.
37. Jaffe EA, Hoyer LW, Nachman RL. Synthesis of antihemophilic factor antigen by cultured human endothelial cells. *J.Clin.Invest* 1973;52:2757-64.
38. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y *et al.* A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial

- cells. *Nature* 1988;332:411-15.
39. Nagel T, Resnick N, Atkinson WJ, Dewey CF, Jr., Gimbrone MA, Jr. Shear stress selectively upregulates intercellular adhesion molecule-1 expression in cultured human vascular endothelial cells. *J.Clin.Invest* 1994;94:885-91.
 40. Resnick N, Collins T, Atkinson W, Bonthron DT, Dewey CF, Jr., Gimbrone MA, Jr. Platelet-derived growth factor B chain promoter contains a cis-acting fluid shear-stress-responsive element. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1993;90:7908.
 41. Lin MC, Almus-Jacobs F, Chen HH, Parry GC, Mackman N, Shyy JY *et al.* Shear stress induction of the tissue factor gene. *J.Clin.Invest* 1997;99:737-44.
 42. Springer T, Cybulsky M. Traffic signals on endothelium for leukocytes in health, inflammation and atherosclerosis, In: Fuster V, Ross R, Topol E, editors. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 511-38.
 43. Giachelli CM, Lombardi D, Johnson RJ, Murry CE, Almeida M. Evidence for a role of osteopontin in macrophage infiltration in response to pathological stimuli in vivo. *Am.J.Pathol.* 1998;152:353-58.
 44. Hajjar DP, Haberland ME. Lipoprotein trafficking in vascular cells. Molecular Trojan horses and cellular saboteurs. *J.Biol.Chem.* 1997;272:22975-78.
 45. Stopeck AT, Nicholson AC, Mancini FP, Hajjar DP. Cytokine regulation of low density lipoprotein receptor gene transcription in HepG2 cells. *J.Biol.Chem.* 1993;268:17489-94.
 46. Han J, Hajjar DP, Febbraio M, Nicholson AC. Native and modified low density lipoproteins increase the functional expression of the macrophage class B scavenger receptor, CD36. *J.Biol.Chem.* 1997;272:21654-59.
 47. Griending KK, Alexander RW. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Circulation* 1997;96:3264-65.
 48. Chobanian A, Dzau V. Renin angiotensin system and atherosclerotic vascular disease., In: Fuster V, Ross R, Topol E, editors. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Pippincott-Raven; 1996. p. 237-42.
 49. Assoian RK, Grotendorst GR, Miller DM, Sporn MB. Cellular transformation by coordinated action of three peptide growth factors from human platelets. *Nature* 1984;309:804-06.
 50. Bombeli T, Schwartz BR, Harlan JM. Adhesion of activated platelets to endothelial cells: evidence for a GPIIb/IIIa-dependent bridging mechanism and novel roles for endothelial intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), alphavbeta3 integrin, and GPIIb/IIIa. *J.Exp.Med* 1998;187:329-39.
 51. Libby P, Ross R. Cytokines and growth regulatory molecules, In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, editors. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Pippincott-Raven; 1996. p. 539-55.

52. Raines E, Rosenfeld ME, Ross R. The role of macrophages, In: Fuster V, Ross R, Topol EJ, editors. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p. 511-38.
53. Fuster V, Lewis A. Conner Memorial Lecture. Mechanisms leading to myocardial infarction: insights from studies of vascular biology. *Circulation* 1994;90:2126-46.
54. Lee RT, Libby P. The unstable atheroma. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:1859-67.
55. Stary HC. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis* 1989;9:119-132.
56. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Jr., Rosenfeld ME *et al.* A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1994;89:2462-78.
57. Davies MJ. The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart* 2000;83:361-66.
58. Braunwald E. Unstable angina: an etiologic approach to management. *Circulation* 1998;98:2219-22.
59. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;92:657-71.
60. Alderman EL, Corley SD, Fisher LD, Chaitman BR, Faxon DP, Foster ED *et al.* Five-year angiographic follow-up of factors associated with progression of coronary artery disease in the Coronary Artery Surgery Study (CASS). CASS Participating Investigators and Staff. *J.Am.Coll.Cardiol* 1993;22:1141-54.
61. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). *N.Engl.J.Med* 1992;326:310-18.
62. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1). *N.Engl.J.Med* 1992;326:242-50.
63. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2000;20:1262-75.
64. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:365-72.
65. Farb A, Burke AP, Tang AL, Liang TY, Mannan P, Smialek J *et al.* Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation* 1996;93:1354-63.

66. Arbustini E, Dal Bello B, Morbini P, Burke AP, Bocciarelli M, Specchia G *et al.* Plaque erosion is a major substrate for coronary thrombosis in acute myocardial infarction. *Heart* 1999;82:269-72.
67. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N.Engl.J.Med* 1997;336:1276-82.
68. Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. The Paul Dudley White Lecture 1995. *Circulation* 1996;94:2013-20.
69. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995;91:2844-50.
70. Moreno PR, Bernardi VH, Lopez-Cuellar J, Newell JB, McMellon C, Gold HK *et al.* Macrophage infiltration predicts restenosis after coronary intervention in patients with unstable angina. *Circulation* 1996;94:3098-102.
71. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, Piek JJ, Koch KT, Becker AE *et al.* Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J.Am.Coll.Cardiol* 1998;32:606-12.
72. Arbustini E, De Servi S, Bramucci E, Porcu E, Costante AM, Grasso M *et al.* Comparison of coronary lesions obtained by directional coronary atherectomy in unstable angina, stable angina, and restenosis after either atherectomy or angioplasty. *Am.J.Cardiol* 1995;75:675-82.
73. Toschi V, Gallo R, Lettino M, Fallon JT, Gertz SD, Fernandez-Ortiz A *et al.* Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1997;95:594-99.
74. Topol EJ, Yadav JS. Recognition of the importance of embolization in atherosclerotic vascular disease. *Circulation* 2000;101:570-80.
75. Willerson JT, Golino P, Eidt J, Campbell WB, Buja LM. Specific platelet mediators and unstable coronary artery lesions. Experimental evidence and potential clinical implications. *Circulation* 1989;80:198-205.
76. Bruschke AV, Kramer JR, Jr., Bal ET, Haque IU, Detrano RC, Goormastic M. The dynamics of progression of coronary atherosclerosis studied in 168 medically treated patients who underwent coronary arteriography three times. *Am.Heart J.* 1989;117:296-305.
77. Flugelman MY, Virmani R, Correa R, Yu ZX, Farb A, Leon MB *et al.* Smooth muscle cell abundance and fibroblast growth factors in coronary lesions of patients with nonfatal unstable angina. A clue to the mechanism of transformation from the stable to the unstable clinical state. *Circulation* 1993;88:2493-500.
78. Davies MJ, Bland JM, Hangartner JR, Angelini A, Thomas AC. Factors influencing the presence or absence of acute coronary artery thrombi in sudden ischaemic death. *Eur.Heart J.* 1989;10:203-08.

79. 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.
80. Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin.Chem.* 1995;41:340-42.
81. Still RA, McDowell IF. ACP Broadsheet No 152: March 1998. Clinical implications of plasma homocysteine measurement in cardiovascular disease. *J.Clin.Pathol.* 1998;51:183-88.
82. Malinow MR, Bostom AG, Krauss RM. Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation* 1999;99:178-82.
83. Seshadri N, Robinson K. Homocysteine and coronary risk. *Curr.Cardiol Rep.* 1999;1:91-98.
84. Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur.J.Pediatr.* 1998;157 Suppl 2:S40-S44.
85. Mudd SH, Levy HL, Scobvy F. Disorders of transufuration, In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, editors. *The metabolic basis of inherited disease*, 6^a ed. New York: McGraw-Hill; 1989. p. 693-734.
86. Mudd SH, Skovby F, Levy HL, Pettigrew KD, Wilcken B, Pyeritz RE *et al.* The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am.J.Hum.Genet.* 1985;37:1-31.
87. Kraus JP. Biochemistry and molecular genetics of cystathionine beta-synthase deficiency. *Eur.J.Pediatr.* 1998;157 Suppl 2:S50-S53.
88. Kang SS, Wong PW, Bock HG, Horwitz A, Grix A. Intermediate hyperhomocysteinemia resulting from compound heterozygosity of methylenetetrahydrofolate reductase mutations. *Am.J.Hum.Genet.* 1991;48:546-51.
89. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG *et al.* A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat.Genet.* 1995;10:111-13.
90. Malinow MR, Nieto FJ, Kruger WD, Duell PB, Hess DL, Gluckman RA *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;17:1157-62.
91. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol.Genet.Metab* 1998;64:169-72.
92. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population.

- JAMA 1993;270:2693-98.
93. Kang SS, Wong PW, Norusis M. Homocysteinemia due to folate deficiency. *Metabolism* 1987;36:458-62.
 94. Naurath HJ, Joosten E, Riezler R, Stabler SP, Allen RH, Lindenbaum J. Effects of vitamin B12, folate, and vitamin B6 supplements in elderly people with normal serum vitamin concentrations. *Lancet* 1995;346:85-89.
 95. Bostom AG, Rosenberg IH, Silbershatz H, Jacques PF, Selhub J, D'Agostino RB *et al.* Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. *Ann.Intern.Med* 1999;131:352-55.
 96. Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW *et al.* Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998;97:138-41.
 97. Stanger OH, Semmelrock HJ, Rehak P, Tiran B, Meinitzer A, Rigler B *et al.* Hyperhomocyst(e)inemia and Chlamydia pneumoniae IgG seropositivity in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2002;162:157-62.
 98. Tonstad S, Refsum H, Ose L, Ueland PM. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene predisposes to hyperhomocysteinemia in children with familial hypercholesterolemia treated with cholestyramine. *J.Pediatr.* 1998;132:365-68.
 99. Leonard JP, Desager JP, Beckers C, Harvengt C. In vitro binding of various biological substances by two hypocholesterolaemic resins. Cholestyramine and colestipol. *Arzneimittelforschung.* 1979;29:979-81.
 100. Ubbink JB, van der MA, Delport R, Allen RH, Stabler SP, Riezler R *et al.* The effect of a subnormal vitamin B-6 status on homocysteine metabolism. *J.Clin.Invest* 1996;98:177-84.
 101. Basu TK, Mann S. Vitamin B-6 normalizes the altered sulfur amino acid status of rats fed diets containing pharmacological levels of niacin without reducing niacin's hypolipidemic effects. *J.Nutr.* 1997;127:117-21.
 102. Miller JW, Shukitt-Hale B, Villalobos-Molina R, Nadeau MR, Selhub J, Joseph JA. Effect of L-Dopa and the catechol-O-methyltransferase inhibitor Ro 41-0960 on sulfur amino acid metabolites in rats. *Clin.Neuropharmacol.* 1997;20:55-66.
 103. Arnadottir M, Hultberg B, Vladov V, Nilsson-Ehle P, Thysell H. Hyperhomocysteinemia in cyclosporine-treated renal transplant recipients. *Transplantation* 1996;61:509-12.
 104. Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study. *Am.J.Clin.Nutr.* 1998;67:263-70.
 105. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and

- cardiovascular disease. *Annu.Rev Med* 1998;49:31-62.
106. Guttormsen AB, Schneede J, Fiskerstrand T, Ueland PM, Refsum HM. Plasma concentrations of homocysteine and other aminothiols are related to food intake in healthy human subjects. *J.Nutr.* 1994;124:1934-41.
 107. Hankey GJ, Eikelboom JW. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999;354:407-13.
 108. Refsum H, Fiskerstrand T, Guttormsen AB, Ueland PM. Assessment of homocysteine status. *J.Inherit.Metab Dis.* 1997;20:286-94.
 109. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM *et al.* Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997;277:1775-81.
 110. Garg UC, Zheng ZJ, Folsom AR, Moyer YS, Tsai MY, McGovern P *et al.* Short-term and long-term variability of plasma homocysteine measurement. *Clin.Chem.* 1997;43:141-45.
 111. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat.Med* 1996;2:386-89.
 112. Malinow MR, Duell PB, Hess DL, Anderson PH, Kruger WD, Phillipson BE *et al.* Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *N.Engl.J.Med* 1998;338:1009-15.
 113. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am.J.Pathol.* 1969;56:111-28.
 114. Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J.Clin.Invest* 1976;57:1079-82.
 115. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2015-22.
 116. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J.Clin.Invest* 1991;88:1906-14.
 117. Harpel PC, Zhang X, Borth W. Homocysteine and hemostasis: pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis. *J.Nutr.* 1996;126:1285S-9S.
 118. Midorikawa S, Sanada H, Hashimoto S, Watanabe T. Enhancement by homocysteine of plasminogen activator inhibitor-1 gene expression and secretion from vascular endothelial and smooth muscle cells. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 2000;272:182-85.
 119. Khajuria A, Houston DS. Induction of monocyte tissue factor expression by homocysteine: a possible mechanism for thrombosis. *Blood* 2000;96:966-72.
 120. Durand P, Lussier-Cacan S, Blache 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.
121. Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB, Fitzgerald LA, Rodgers GM. Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells. *Arterioscler.Thromb.* 1993;13:1327-33.
 122. Rodgers GM, Kane WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J.Clin.Invest* 1986;77:1909-16.
 123. Graeber JE, Slott JH, Ulane RE, Schulman JD, Stuart MJ. Effect of homocysteine and homocystine on platelet and vascular arachidonic acid metabolism. *Pediatr.Res.* 1982;16:490-93.
 124. Harpel PC, Chang VT, Borth W. Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of lipoprotein(a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis, and sulfhydryl compound metabolism. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1992;89:10193-97.
 125. Hajjar KA, Mauri L, Jacovina AT, Zhong F, Mirza UA, Padovan JC *et al.* Tissue plasminogen activator binding to the annexin II tail domain. Direct modulation by homocysteine. *J.Biol.Chem.* 1998;273:9987-93.
 126. Baliga BS, Reynolds T, Fink LM, Fonseca VA. Hyperhomocysteinemia in type 2 diabetes mellitus: cardiovascular risk factors and effect of treatment with folic acid and pyridoxine. *Endocr.Pract.* 2000;6:435-41.
 127. Undas A, Domagala TB, Jankowski M, Szczeklik A. Treatment of hyperhomocysteinemia with folic acid and vitamins B12 and B6 attenuates thrombin generation. *Thromb.Res.* 1999;95:281-88.
 128. Schnyder G, Roffi M, Pin R, Flammer Y, Lange H, Eberli FR *et al.* Decreased rate of coronary restenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *N.Engl.J.Med* 2001;345:1593-600.
 129. Bozkurt E, Erol MK, Keles S, Acikel M, Yilmaz M, Gurlertop Y. Relation of plasma homocysteine levels to intracoronary thrombus in unstable angina pectoris and in non-Q-wave acute myocardial infarction. *Am.J.Cardiol* 2002;90:413-15.
 130. Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE. Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. *Thromb.Res.* 1980;18:113-21.
 131. de Groot PG, Willems C, Boers GH, Gonsalves MD, van Aken WG, van Mourik JA. Endothelial cell dysfunction in homocystinuria. *Eur.J.Clin.Invest* 1983;13:405-10.
 132. Wang H, Yoshizumi M, Lai K, Tsai JC, Perrella MA, Haber E *et al.* Inhibition of growth and p21ras methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. *J.Biol.Chem.* 1997;272:25380-85.

133. Dudman NP, Temple SE, Guo XW, Fu W, Perry MA. Homocysteine enhances neutrophil-endothelial interactions in both cultured human cells and rats *In vivo*. *Circ.Res.* 1999;84:409-16.
134. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D *et al.* Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J.Clin.Invest* 1993;91:308-18.
135. Hladovec J. Experimental homocystinemia, endothelial lesions and thrombosis. *Blood Vessels* 1979;16:202-05.
136. McCully KS, Ragsdale BD. Production of arteriosclerosis by homocysteinemia. *Am.J.Pathol.* 1970;61:1-11.
137. Rolland PH, Friggi A, Barlatier A, Piquet P, Latrille V, Faye MM *et al.* Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. Captopril-hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. *Circulation* 1995;91:1161-74.
138. Lentz SR, Malinow MR, Piegors DJ, Bhopatkar-Teredesai M, Faraci FM, Heistad DD. Consequences of hyperhomocyst(e)inemia on vascular function in atherosclerotic monkeys. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:2930-34.
139. Lentz SR, Malinow MR, Piegors DJ, Bhopatkar-Teredesai M, Faraci FM, Heistad DD. Consequences of hyperhomocyst(e)inemia on vascular function in atherosclerotic monkeys. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:2930-34.
140. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M, Robinson J, Thomas O, Leonard JV *et al.* Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J.Am.Coll.Cardiol* 1993;22:854-58.
141. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT, Creager MA. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation* 1997;95:1119-21.
142. Willems FF, Aengevaeren WR, Boers GH, Blom HJ, Verheugt FW. Coronary endothelial function in hyperhomocysteinemia: improvement after treatment with folic acid and cobalamin in patients with coronary artery disease. *J.Am.Coll.Cardiol* 2002;40:766-72.
143. Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999;100:1161-68.
144. Meigs JB, Jacques PF, Selhub J, Singer DE, Nathan DM, Rifai N *et al.* Fasting plasma homocysteine levels in the insulin resistance syndrome: the Framingham offspring study. *Diabetes Care* 2001;24:1403-10.
145. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J.Clin.Invest* 1986;77:1370-

76.

146. Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A. The role of sulfur-containing amino acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J.Biol.Chem.* 1987;262:10098-103.
147. Upchurch GR, Jr., Welch GN, Fabian AJ, Freedman JE, Johnson JL, Keaney JF, Jr. *et al.* Homocyst(e)ine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. *J.Biol.Chem.* 1997;272:17012-17.
148. Hultberg B, Andersson A, Isaksson A. The cell-damaging effects of low amounts of homocysteine and copper ions in human cell line cultures are caused by oxidative stress. *Toxicology* 1997;123:33-40.
149. McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat.Med* 1996;2:386-89.
150. Loscalzo J. The oxidant stress of hyperhomocyst(e)inemia. *J.Clin.Invest* 1996;98:5-7.
151. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Obeid OA, Kooner JS. Demonstration of rapid onset vascular endothelial dysfunction after hyperhomocysteinemia: an effect reversible with vitamin C therapy. *Circulation* 1999;99:1156-60.
152. Nappo F, De Rosa N, Marfella R, De Lucia D, Ingrosso D, Perna AF *et al.* Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA* 1999;281:2113-18.
153. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O, Rabbani LE, Mullins M, Singel D *et al.* Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J.Clin.Invest* 1993;91:308-18.
154. Harker LA, Slichter SJ, Scott CR, Ross R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *N.Engl.J.Med* 1974;291:537-43.
155. Starkebaum G, Harlan JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. *J.Clin.Invest* 1986;77:1370-76.
156. Misra HP. Generation of superoxide free radical during the autoxidation of thiols. *J.Biol.Chem.* 1974;249:2151-55.
157. Mansoor MA, Ueland PM, Aarsland A, Svoldal AM. Redox status and protein binding of plasma homocysteine and other aminothiols in patients with homocystinuria. *Metabolism* 1993;42:1481-85.
158. Blom HJ, Engelen DP, Boers GH, Stadhouders AM, Sengers RC, de Abreu R *et al.* Lipid peroxidation in homocysteinemia. *J.Inherit.Metab Dis.* 1992;15:419-22.
159. Dudman NP, Wilcken DE, Stocker R. Circulating lipid hydroperoxide levels in human hyperhomocysteinemia. Relevance to development of arteriosclerosis.

- Arterioscler.Thromb. 1993;13:512-16.
160. Blom HJ, Kleinveld HA, Boers GH, Demacker PN, Hak-Lemmers HL, Te Poele-Pothoff MT *et al.* Lipid peroxidation and susceptibility of low-density lipoprotein to in vitro oxidation in hyperhomocysteinaemia. *Eur.J.Clin.Invest* 1995;25:149-54.
 161. Cordoba-Porras A, Sanchez-Quesada JL, Gonzalez-Sastre F, Ordonez-Llanos J, Blanco-Vaca F. Susceptibility of plasma low- and high-density lipoproteins to oxidation in patients with severe hyperhomocysteinemia. *J.Mol.Med* 1996;74:771-76.
 162. Sevanian A, Hochstein P. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. *Annu.Rev Nutr.* 1985;5:365-90.
 163. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1990;186:421-31.
 164. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic.Biol.Med* 1991;11:81-128.
 165. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. *Chem.Phys.Lipids* 1987;45:337-51.
 166. Ventura P, Panini R, Verlatto C, Scarpetta G, Salvioli G. Peroxidation indices and total antioxidant capacity in plasma during hyperhomocysteinemia induced by methionine oral loading. *Metabolism* 2000;49:225-28.
 167. Toborek M, Kopieczna-Grzebieniak E, Drozdz M, Wieczorek M. Increased lipid peroxidation as a mechanism of methionine-induced atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 1995;115:217-24.
 168. Huang RF, Hsu YC, Lin HL, Yang FL. Folate depletion and elevated plasma homocysteine promote oxidative stress in rat livers. *J.Nutr.* 2001;131:33-38.
 169. Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL, Allaman M, Knapp HR, Haynes WG. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation* 1999;100:1161-68.
 170. Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Novembrino C *et al.* Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. *Clin.Chem.* 2001;47:887-92.
 171. Voutilainen S, Morrow JD, Roberts LJ, Alfthan G, Alho H, Nyysönen K *et al.* Enhanced in vivo lipid peroxidation at elevated plasma total homocysteine levels. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1999;19:1263-66.
 172. Jacobsen DW. Hyperhomocysteinemia and oxidative stress: time for a reality check? *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2000;20:1182-84.
 173. Wang XL, Duarte N, Cai H, Adachi T, Sim AS, Cranney G *et al.* Relationship

- between total plasma homocysteine, polymorphisms of homocysteine metabolism related enzymes, risk factors and coronary artery disease in the Australian hospital-based population. *Atherosclerosis* 1999;146:133-40.
174. Brown JC, Rosenquist TH, Monaghan DT. ERK2 activation by homocysteine in vascular smooth muscle cells. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* 1998;251:669-76.
 175. Tang L, Mamotte CD, Van Bockxmeer FM, Taylor RR. The effect of homocysteine on DNA synthesis in cultured human vascular smooth muscle. *Atherosclerosis* 1998;136:169-73.
 176. Dalton ML, Gadson PF, Jr., Wrenn RW, Rosenquist TH. Homocysteine signal cascade: production of phospholipids, activation of protein kinase C, and the induction of c-fos and c-myc in smooth muscle cells. *FASEB J.* 1997;11:703-11.
 177. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R *et al.* Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1994;91:6369-73.
 178. Nishio E, Watanabe Y. Homocysteine as a modulator of platelet-derived growth factor action in vascular smooth muscle cells: a possible role for hydrogen peroxide. *Br.J.Pharmacol.* 1997;122:269-74.
 179. Southern FN, Cruz N, Fink LM, Cooney CA, Barone GW, Eidt JF *et al.* Hyperhomocysteinemia increases intimal hyperplasia in a rat carotid endarterectomy model. *J.Vasc.Surg.* 1998;28:909-18.
 180. Charpiot P, Bescond A, Augier T, Chareyre C, Fraternali M, Rolland PH *et al.* Hyperhomocysteinemia induces elastolysis in minipig arteries: structural consequences, arterial site specificity and effect of captopril-hydrochlorothiazide. *Matrix Biol.* 1998;17:559-74.
 181. Zhou J, Moller J, Danielsen CC, Bentzon J, Ravn HB, Austin RC *et al.* Dietary supplementation with methionine and homocysteine promotes early atherosclerosis but not plaque rupture in ApoE-deficient mice. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2001;21:1470-76.
 182. Malinow MR, Nieto FJ, Szklo M, Chambless LE, Bond G. Carotid artery intimal-medial wall thickening and plasma homocyst(e)ine in asymptomatic adults. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation* 1993;87:1107-13.
 183. Smilde TJ, van den Bergmolen FW, Boers GH, Wollersheim H, de Boo T, van Langen H *et al.* Carotid and femoral artery wall thickness and stiffness in patients at risk for cardiovascular disease, with special emphasis on hyperhomocysteinemia. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1998;18:1958-63.
 184. Voutilainen S, Alfthan G, Nyyssonen K, Salonen R, Salonen JT. Association between elevated plasma total homocysteine and increased common carotid artery wall thickness. *Ann.Med* 1998;30:300-06.

185. McQuillan BM, Beilby JP, Nidorf M, Thompson PL, Hung J. Hyperhomocysteinemia but not the C677T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase is an independent risk determinant of carotid wall thickening. The Perth Carotid Ultrasound Disease Assessment Study (CUDAS). *Circulation* 1999;99:2383-88.
186. Suwelack B, Gerhardt U, Witta J, Rahn KH, Hohage H. Effect of homocysteine on carotid intima-media thickness after renal transplantation. *Clin.Transplant.* 2000;14:555-60.
187. Sutton-Tyrrell K, Bostom A, Selhub J, Zeigler-Johnson C. High homocysteine levels are independently related to isolated systolic hypertension in older adults. *Circulation* 1997;96:1745-49.
188. Fiorina P, Lanfredini M, Montanari A, Peca MG, Veronelli A, Mello A *et al.* Plasma homocysteine and folate are related to arterial blood pressure in type 2 diabetes mellitus. *Am.J.Hypertens.* 1998;11:1100-07.
189. Sutton-Tyrrell K, Bostom A, Selhub J, Zeigler-Johnson C. High homocysteine levels are independently related to isolated systolic hypertension in older adults. *Circulation* 1997;96:1745-49.
190. Berg K, Malinow MR, Kierulf P, Upson B. Population variation and genetics of plasma homocyst(e)ine level. *Clin.Genet.* 1992;41:315-21.
191. Franken DG, Boers GH, Blom HJ, Cruysberg JR, Trijbels FJ, Hamel BC. Prevalence of familial mild hyperhomocysteinemia. *Atherosclerosis* 1996;125:71-80.
192. Hopkins PN, Wu LL, Wu J, Hunt SC, James BC, Vincent GM *et al.* Higher plasma homocyst(e)ine and increased susceptibility to adverse effects of low folate in early familial coronary artery disease. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1995;15:1314-20.
193. Tonstad S, Refsum H, Sivertsen M, Christophersen B, Ose L, Ueland PM. Relation of total homocysteine and lipid levels in children to premature cardiovascular death in male relatives. *Pediatr.Res.* 1996;40:47-52.
194. Gerhard GT, Malinow MR, DeLoughery TG, Evans AJ, Sexton G, Connor SL *et al.* Higher total homocysteine concentrations and lower folate concentrations in premenopausal black women than in premenopausal white women. *Am.J.Clin.Nutr.* 1999;70:252-60.
195. Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B *et al.* Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N.Engl.J.Med* 1991;324:1149-55.
196. Mudd SH, Havlik R, Levy HL, McKusick VA, Feinleib M. A study of cardiovascular risk in heterozygotes for homocystinuria. *Am.J.Hum.Genet.* 1981;33:883-93.
197. Kozich V, Kraus E, de Franchis R, Fowler B, Boers GH, Graham I *et al.*

- Hyperhomocysteinemia in premature arterial disease: examination of cystathionine beta-synthase alleles at the molecular level. *Hum.Mol.Genet.* 1995;4:623-29.
198. de Franchis R, Mancini FP, D'Angelo A, Sebastio G, Fermo I, de S, V *et al.* Elevated total plasma homocysteine and 677C-->T mutation of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase gene in thrombotic vascular disease. *Am.J.Hum.Genet.* 1996;59:262-64.
 199. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. A case-control study. *Circulation* 1996;94:1812-14.
 200. Kluijtmans LA, Kastelein JJ, Lindemans J, Boers GH, Heil SG, Brusckhe AV *et al.* Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1997;96:2573-77.
 201. Mangoni AA, Jackson SH. Homocysteine and cardiovascular disease: current evidence and future prospects. *Am.J.Med* 2002;112:556-65.
 202. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR 677C-->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2023-31.
 203. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.
 204. Cleophas TJ, Hornstra N, van Hoogstraten B, van der MJ. Homocysteine, a risk factor for coronary artery disease or not? A meta-analysis. *Am.J.Cardiol* 2000;86:1005-9, A8.
 205. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM *et al.* Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997;277:1775-81.
 206. Dalery K, Lussier-Cacan S, Selhub J, Davignon J, Latour Y, Genest J, Jr. Homocysteine and coronary artery disease in French Canadian subjects: relation with vitamins B12, B6, pyridoxal phosphate, and folate. *Am.J.Cardiol* 1995;75:1107-11.
 207. Robinson K, Mayer EL, Miller DP, Green R, van Lente F, Gupta A *et al.* Hyperhomocysteinemia and low pyridoxal phosphate. Common and independent reversible risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1995;92:2825-30.
 208. Malinow MR, Ducimetiere P, Luc G, Evans AE, Arveiler D, Cambien F *et al.* Plasma homocyst(e)ine levels and graded risk for myocardial infarction: findings in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1996;126:27-34.
 209. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis.

- JAMA 2002;288:2015-22.
210. Nikkari ST, Kalela A, Koivu TA, Koivula T, Alho H, Jokela H *et al.* Serum homocysteine does not associate with uncomplicated coronary heart disease. *Eur.J.Clin.Invest* 2001;31:581-85.
 211. Nielsen NE, Brattstrom L, Hultberg B, Landgren F, Swahn E. Plasma total homocysteine levels in postmenopausal women with unstable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000;151:423-31.
 212. Burke AP, Fonseca V, Kolodgie F, Zieske A, Fink L, Virmani R. Increased serum homocysteine and sudden death resulting from coronary atherosclerosis with fibrous plaques. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2002;22:1936-41.
 213. Selhub J, Jacques PF, Bostom AG, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ *et al.* Association between plasma homocysteine concentrations and extracranial carotid-artery stenosis. *N.Engl.J.Med* 1995;332:286-91.
 214. Verhoef P, Kok FJ, Kruyssen DA, Schouten EG, Witteman JC, Grobbee DE *et al.* Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:989-95.
 215. Montalescot G, Ankri A, Chadeaux-Vekemans B, Blacher J, Philippe F, Drobinski G *et al.* Plasma homocysteine and the extent of atherosclerosis in patients with coronary artery disease. *Int.J.Cardiol* 1997;60:295-300.
 216. Konecky N, Malinow MR, Tunick PA, Freedberg RS, Rosenzweig BP, Katz ES *et al.* Correlation between plasma homocyst(e)ine and aortic atherosclerosis. *Am.Heart J.* 1997;133:534-40.
 217. Tribouilloy CM, Peltier M, Iannetta Peltier MC, Trojette F, Andrejak M, Lesbre JP. Plasma homocysteine and severity of thoracic aortic atherosclerosis. *Chest* 2000;118:1685-89.
 218. van den BM, Stehouwer CD, Bierdrager E, Rauwerda JA. Plasma homocysteine and severity of atherosclerosis in young patients with lower-limb atherosclerotic disease. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1996;16:165-71.
 219. Arnesen E, Refsum H, Bonna KH, Ueland PM, Forde OH, Nordrehaug JE. Serum total homocysteine and coronary heart disease. *Int.J.Epidemiol.* 1995;24:704-09.
 220. 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.
 221. Wald NJ, Watt HC, Law MR, Weir DG, McPartlin J, Scott JM. Homocysteine and ischemic heart disease: results of a prospective study with implications regarding prevention. *Arch.Intern.Med* 1998;158:862-67.
 222. Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke

- in middle-aged British men. *Lancet* 1995;346:1395-98.
223. Nygard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N.Engl.J.Med* 1997;337:230-36.
 224. Anderson JL, Muhlestein JB, Horne BD, Carlquist JF, Bair TL, Madsen TE *et al.* Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation* 2000;102:1227-32.
 225. Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, Hoes AW, Hofman A, Witteman JC *et al.* Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: the Rotterdam Study. *Arch.Intern.Med* 1999;159:38-44.
 226. Stehouwer CD, Weijenberg MP, van den BM, Jakobs C, Feskens EJ, Kromhout D. Serum homocysteine and risk of coronary heart disease and cerebrovascular disease in elderly men: a 10-year follow-up. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1998;18:1895-901.
 227. Ridker PM, Hennekens CH, Selhub J, Miletich JP, Malinow MR, Stampfer MJ. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. *Circulation* 1997;95:1777-82.
 228. Stubbs PJ, Al Obaidi MK, Conroy RM, MusB, Collinson PO, MRCPath *et al.* Effect of plasma homocysteine concentration on early and late events in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2000;102:605-10.
 229. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women. *JAMA* 1999;281:1817-21.
 230. Knekt P, Alfthan G, Aromaa A, Heliovaara M, Marniemi J, Rissanen H *et al.* Homocysteine and major coronary events: a prospective population study amongst women. *J.Intern.Med* 2001;249:461-65.
 231. Zylberstein DE, Bengtsson C, Bjorkelund C, Landaas S, Sundh V, Thelle D *et al.* Serum homocysteine in relation to mortality and morbidity from coronary heart disease: a 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. *Circulation* 2004;109:601-06.
 232. Petri M, Roubenoff R, Dallal GE, Nadeau MR, Selhub J, Rosenberg IH. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1996;348:1120-24.
 233. Bostom AG, Shemin D, Verhoef P, Nadeau MR, Jacques PF, Selhub J *et al.* Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:2554-58.
 234. Jungers P, Chauveau P, Bandin O, Chadeaux B, Aupetit J, Labrunie M *et al.* Hyperhomocysteinemia is associated with atherosclerotic occlusive arterial

- accidents in predialysis chronic renal failure patients. *Miner.Electrolyte Metab* 1997;23:170-73.
235. Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW *et al.* Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998;97:138-41.
236. Ducloux D, Motte G, Challier B, Gibey R, Chalopin JM. Serum total homocysteine and cardiovascular disease occurrence in chronic, stable renal transplant recipients: a prospective study. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2000;11:134-37.
237. Lazzarini PE, Capecchi PL, Maccherini M, Diciolla F, Massai MR, Guideri F *et al.* Early and delayed increase in plasma homocysteine levels in heart transplanted patients. *Transplant.Proc.* 2002;34:1275-78.
238. Miner SE, Cole DE, Evrovski J, Verma A, Daly PA, Ross HJ. Hyperhomocysteinemia and transplant coronary artery disease in cardiac transplant recipients. *Clin.Transplant.* 2001;15:258-62.
239. Stehouwer CD, Gall MA, Hougaard P, Jakobs C, Parving HH. Plasma homocysteine concentration predicts mortality in non-insulin-dependent diabetic patients with and without albuminuria. *Kidney Int.* 1999;55:308-14.
240. Hoogeveen EK, Kostense PJ, Jakobs C, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ *et al.* Hyperhomocysteinemia increases risk of death, especially in type 2 diabetes : 5-year follow-up of the Hoorn Study. *Circulation* 2000;101:1506-11.
241. Vollset SE, Refsum H, Tverdal A, Nygard O, Nordrehaug JE, Tell GS *et al.* Plasma total homocysteine and cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Hordaland Homocysteine Study. *Am.J.Clin.Nutr.* 2001;74:130-36.
242. Chasan-Taber L, Selhub J, Rosenberg IH, Malinow MR, Terry P, Tishler PV *et al.* A prospective study of folate and vitamin B6 and risk of myocardial infarction in US physicians. *J.Am.Coll.Nutr.* 1996;15:136-43.
243. Verhoef P, Hennekens CH, Allen RH, Stabler SP, Willett WC, Stampfer MJ. Plasma total homocysteine and risk of angina pectoris with subsequent coronary artery bypass surgery. *Am.J.Cardiol* 1997;79:799-801.
244. Alfthan G, Pekkanen J, Jauhiainen M, Pitkaniemi J, Karvonen M, Tuomilehto J *et al.* Relation of serum homocysteine and lipoprotein(a) concentrations to atherosclerotic disease in a prospective Finnish population based study. *Atherosclerosis* 1994;106:9-19.
245. Evans RW, Shaten BJ, Hempel JD, Cutler JA, Kuller LH. Homocyst(e)ine and risk of cardiovascular disease in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:1947-53.
246. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH *et al.* 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;98:204-

- 10.
247. Fallon UB, Ben Shlomo Y, Elwood P, Ubbink JB, Smith GD. Homocysteine and coronary heart disease in the Caerphilly cohort: a 10 year follow up. *Heart* 2001;85:153-58.
248. Thogersen AM, Nilsson TK, Dahlen G, Jansson JH, Boman K, Huhtasaari F *et al.* Homozygosity for the C677-->T mutation of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase and total plasma homocyst(e)ine are not associated with greater than normal risk of a first myocardial infarction in northern Sweden. *Coron.Artery Dis.* 2001;12:85-90.
249. Knekt P, Reunanen A, Alfthan G, Heliovaara M, Rissanen H, Marniemi J *et al.* Hyperhomocystinemia: a risk factor or a consequence of coronary heart disease? *Arch.Intern.Med* 2001;161:1589-94.
250. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR, Kok FJ, Willett WC, Stampfer MJ. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of ischemic stroke. *Stroke* 1994;25:1924-30.
251. Ridker PM, Shih J, Cook TJ, Clearfield M, Downs JR, Pradhan AD *et al.* Plasma homocysteine concentration, statin therapy, and the risk of first acute coronary events. *Circulation* 2002;105:1776-79.
252. Zairis MN, Ambrose JA, Manousakis SJ, Stefanidis AS, Papadaki OA, Bilianou HI *et al.* The impact of plasma levels of C-reactive protein, lipoprotein (a) and homocysteine on the long-term prognosis after successful coronary stenting: The Global Evaluation of New Events and Restenosis After Stent Implantation Study. *J.Am.Coll.Cardiol* 2002;40:1375-82.
253. Stangl K, Cascorbi I, Stangl V, Laule M, Dschietzig T, Richter C *et al.* Hyperhomocysteinaemia and adverse events complicating coronary catheter interventions. *Int.J.Cardiol* 2000;76:211-17.
254. Schnyder G, Flammer Y, Roffi M, Pin R, Hess OM. Plasma homocysteine levels and late outcome after coronary angioplasty. *J.Am.Coll.Cardiol* 2002;40:1769-76.
255. Marcucci R, Prisco D, Brunelli T, Pepe G, Gori AM, Fedi S *et al.* Tissue factor and homocysteine levels in ischemic heart disease are associated with angiographically documented clinical recurrences after coronary angioplasty. *Thromb.Haemost.* 2000;83:826-32.
256. Kumbasar SD, Dincer I, Ertas F, Gulec S, Erol C, Akyurek O *et al.* Hyperhomocysteinemia and restenosis. *J.Cardiovasc Risk* 2001;8:9-13.
257. Schnyder G, Roffi M, Pin R, Flammer Y, Lange H, Eberli FR *et al.* Decreased rate of coronary restenosis after lowering of plasma homocysteine levels. *N.Engl.J.Med* 2001;345:1593-600.
258. Genser D, Prachar H, Hauer R, Halbmayer WM, Mlczoch J, Elmadfa I. Relation of homocysteine, vitamin B(12), and folate to coronary in-stent restenosis.

- Am.J.Cardiol 2002;89:495-99.
259. Landgren F, Israelsson B, Lindgren A, Hultberg B, Andersson A, Brattstrom L. Plasma homocysteine in acute myocardial infarction: homocysteine-lowering effect of folic acid. *J.Intern.Med* 1995;237:381-88.
 260. Egerton W, Silberberg J, Crooks R, Ray C, Xie L, Dudman N. Serial measures of plasma homocyst(e)ine after acute myocardial infarction. *Am.J.Cardiol* 1996;77:759-61.
 261. Lindgren A, Brattstrom L, Norrving B, Hultberg B, Andersson A, Johansson BB. Plasma homocysteine in the acute and convalescent phases after stroke. *Stroke* 1995;26:795-800.
 262. Acevedo M, Pearce GL, Kottke-Marchant K, Sprecher DL. Elevated fibrinogen and homocysteine levels enhance the risk of mortality in patients from a high-risk preventive cardiology clinic. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2002;22:1042-45.
 263. Okada E, Oida K, Tada H, Asazuma K, Eguchi K, Tohda G *et al.* Hyperhomocysteinemia is a risk factor for coronary arteriosclerosis in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:484-90.
 264. Liaugaudas G, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH, Bostom AG. Renal insufficiency, vitamin B(12) status, and population attributable risk for mild hyperhomocysteinemia among coronary artery disease patients in the era of folic acid-fortified cereal grain flour. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2001;21:849-51.
 265. Montalescot G, Ankri A, Chadeaux-Vekemans B, Blacher J, Philippe F, Drobinski G *et al.* Plasma homocysteine and the extent of atherosclerosis in patients with coronary artery disease. *Int.J.Cardiol* 1997;60:295-300.
 266. Tsai WC, Li YH, Tsai LM, Chao TH, Lin LJ, Chen TY *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.
 267. Nikfardjam M, Graf S, Hornykewycz S, Zorn G, Huber-Beckmann R, Wojta J *et al.* Homocysteine plasma levels in young patients with coronary artery disease. Relation to history of acute myocardial infarction and anatomical extent of disease. *Thromb.Res.* 2001;103 Suppl 1:S35-S39.
 268. Chao CL, Tsai HH, Lee CM, Hsu SM, Kao JT, Chien KL *et al.* The graded effect of hyperhomocysteinemia on the severity and extent of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999;147:379-86.
 269. Schnyder G, Pin R, Roffi M, Flammer Y, Hess OM. Association of plasma homocysteine with the number of major coronary arteries severely narrowed. *Am.J.Cardiol* 2001;88:1027-30.
 270. Nagai Y, Tasaki H, Miyamoto M, Nihei S, Kobayashi K, Yamashita K *et al.* Plasma level of homocysteine is inversely-associated with the development of

- collateral circulation in patients with single-vessel coronary artery disease. *Circ.J.* 2002;66:158-62.
271. Genest JJ, Jr., McNamara JR, Salem DN, Wilson PW, Schaefer EJ, Malinow MR. Plasma homocyst(e)ine levels in men with premature coronary artery disease. *J.Am.Coll.Cardiol* 1990;16:1114-19.
 272. Kawashiri M, Kajinami K, Nohara A, Yagi K, Inazu A, Koizumi J *et al.* Plasma homocysteine level and development of coronary artery disease. *Coron.Artery Dis.* 1999;10:443-47.
 273. Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattstrom L, Boers G, Ueland P *et al.* Low circulating folate and vitamin B6 concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European COMAC Group. *Circulation* 1998;97:437-43.
 274. Lobo A, Naso A, Arheart K, Kruger WD, Abou-Ghazala T, Alsous F *et al.* Reduction of homocysteine levels in coronary artery disease by low-dose folic acid combined with vitamins B6 and B12. *Am.J.Cardiol* 1999;83:821-25.
 275. Malinow MR, Duell PB, Hess DL, Anderson PH, Kruger WD, Phillipson BE *et al.* Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *N.Engl.J.Med* 1998;338:1009-15.
 276. Vermeulen EG, Stehouwer CD, Twisk JW, van den BM, de Jong SC, Mackaay AJ *et al.* Effect of homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;355:517-22.
 277. Ward M, McNulty H, McPartlin J, Strain JJ, Weir DG, Scott JM. Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. *QJM.* 1997;90:519-24.
 278. Woo KS, Chook P, Lolin YI, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocystinemia. *J.Am.Coll.Cardiol.* 1999;34:2002-06.
 279. Verhaar MC, Wever RM, Kastelein JJ, van Dam T, Koomans HA, Rabelink TJ. 5-methyltetrahydrofolate, the active form of folic acid, restores endothelial function in familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1998;97:237-41.
 280. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Payne N, Durrant HJ, Lewis MJ *et al.* Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering. *Circulation* 2002;105:22-26.
 281. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Lang D, Newcombe RG, Kredan MB *et al.* Folate improves endothelial function in coronary artery disease: an effect mediated by reduction of intracellular superoxide? *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2001;21:1196-202.
 282. Stanger O, Semmelrock HJ, Wonisch W, Bos U, Pabst E, Wascher TC. Effects

- of folate treatment and homocysteine lowering on resistance vessel reactivity in atherosclerotic subjects. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2002;303:158-62.
283. Thambyrajah J, Landray MJ, Jones HJ, McGlynn FJ, Wheeler DC, Townend JN. A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease. *J.Am.Coll.Cardiol* 2001;37:1858-63.
284. Chambers JC, Ueland PM, Obeid OA, Wrigley J, Refsum H, Kooner JS. Improved vascular endothelial function after oral B vitamins: An effect mediated through reduced concentrations of free plasma homocysteine. *Circulation* 2000;102:2479-83.
285. Title LM, Cummings PM, Giddens K, Genest JJ, Jr., Nassar BA. Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *J.Am.Coll.Cardiol* 2000;36:758-65.
286. Jacques PF, Selhub J, Bostom AG, Wilson PW, Rosenberg IH. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N.Engl.J.Med* 1999;340:1449-54.
287. Bostom AG, Jacques PF, Liaugaudas G, Rogers G, Rosenberg IH, Selhub J. Total homocysteine lowering treatment among coronary artery disease patients in the era of folic acid-fortified cereal grain flour. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2002;22:488-91.
288. Malinow MR, Duell PB, Hess DL, Anderson PH, Kruger WD, Phillipson BE *et al.* Reduction of plasma homocyst(e)ine levels by breakfast cereal fortified with folic acid in patients with coronary heart disease. *N.Engl.J.Med* 1998;338:1009-15.
289. Jang Y, Lee JH, Kim OY, Park HY, Lee SY. Consumption of whole grain and legume powder reduces insulin demand, lipid peroxidation, and plasma homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease: randomized controlled clinical trial. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2001;21:2065-71.
290. Anderson JL, Horne BD, Carlquist JF, Bair TL, Habashi J, Hart NI *et al.* Effect of implementation of folic acid fortification of food on homocysteine concentrations in subjects with coronary artery disease. *Am.J.Cardiol* 2002;90:536-39.
291. Jenkins DJ, Kendall CW, Jackson CJ, Connelly PW, Parker T, Faulkner D *et al.* Effects of high- and low-isoflavone soyfoods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. *Am.J.Clin.Nutr.* 2002;76:365-72.
292. Mark L, Erdei F, Markizay J, Kondacs A, Katona A. Effect of treatment with folic acid and vitamin B6 on lipid and homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease. *Nutrition* 2002;18:428-29.
293. Peterson JC, Spence JD. Vitamins and progression of atherosclerosis in hyper-

- homocyst(e)inaemia. *Lancet* 1998;351:263.
294. Neal B, MacMahon S, Ohkubo T, Tonkin A, Wilcken D. Dose-dependent effects of folic acid on plasma homocysteine in a randomized trial conducted among 723 individuals with coronary heart disease. *Eur.Heart J.* 2002;23:1509-15.
 295. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ *et al.* Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:565-75.
 296. Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM. Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B12, and vitamin B6 on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:973-79.
 297. Bleie O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE, Guttormsen AB, Nexø E *et al.* Changes in basal and postmethionine load concentrations of total homocysteine and cystathionine after B vitamin intervention. *Am.J.Clin.Nutr.* 2004;80:641-48.
 298. Ali A, Mehra MR, Lavie CJ, Malik FS, Murgu JP, Lohmann TP *et al.* Modulatory impact of cardiac rehabilitation on hyperhomocysteinemia in patients with coronary artery disease and "normal" lipid levels. *Am.J.Cardiol* 1998;82:1543-5, A8.
 299. Bostom AG, Silbershatz H, Rosenberg IH, Selhub J, D'Agostino RB, Wolf PA *et al.* Nonfasting plasma total homocysteine levels and all-cause and cardiovascular disease mortality in elderly Framingham men and women. *Arch.Intern.Med* 1999;159:1077-80.
 300. Ducloux D, Motte G, Challier B, Gibey R, Chalopin JM. Serum total homocysteine and cardiovascular disease occurrence in chronic, stable renal transplant recipients: a prospective study. *J.Am.Soc.Nephrol.* 2000;11:134-37.
 301. Franco RF, Araujo AG, Guerreiro JF, Elion J, Zago MA. Analysis of the 677 C->T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups. *Thromb.Haemost.* 1998;79:119-21.
 302. Chambers JC, Ireland H, Thompson E, Reilly P, Obeid OA, Refsum H *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C->T mutation and coronary heart disease risk in UK Indian Asians. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2000;20:2448-52.
 303. Kang SS, Wong PW, Zhou JM, Sora J, Lessick M, Ruggie N *et al.* Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in patients with coronary artery disease. *Metabolism* 1988;37:611-13.
 304. Kang SS, Zhou J, Wong PW, Kowalisyn J, Strokosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am.J.Hum.Genet.* 1988;43:414-21.

305. Tsai MY, Bignell M, Yang F, Welge BG, Graham KJ, Hanson NQ. Polygenic influence on plasma homocysteine: association of two prevalent mutations, the 844ins68 of cystathionine beta-synthase and A(2756)G of methionine synthase, with lowered plasma homocysteine levels. *Atherosclerosis* 2000;149:131-37.
306. Mainou CC, Garcia GN, Vilaseca Busca MA, Ferrer C, I, Meco Lopez JF, Mainou PA *et al.* [Hyperhomocystinemia and 677C T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism as a cardiovascular risk factor in childhood]. *An.Esp Pediatr.* 2002;56:402-08.
307. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH *et al.* Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
308. Harmon DL, Woodside JV, Yarnell JW, McMaster D, Young IS, McCrum EE *et al.* The common 'thermolabile' variant of methylene tetrahydrofolate reductase is a major determinant of mild hyperhomocysteinaemia. *QJM.* 1996;89:571-77.
309. Morita H, Taguchi J, Kurihara H, Kitaoka M, Kaneda H, Kurihara Y *et al.* Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) as a risk factor for coronary artery disease. *Circulation* 1997;95:2032-36.
310. Deloughery TG, Evans A, Sadeghi A, McWilliams J, Henner WD, Taylor LM, Jr. *et al.* Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease. *Circulation* 1996;94:3074-78.
311. van Bockxmeer FM, Mamotte CD, Vasikaran SD, Taylor RR. Methylenetetrahydrofolate reductase gene and coronary artery disease. *Circulation* 1997;95:21-23.
312. Kim CH, Hwang KY, Choi TM, Shin WY, Hong SY. The methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in Koreans with coronary artery disease. *Int.J.Cardiol* 2001;78:13-17.
313. Pinto X, Vilaseca MA, Garcia-Giralt N, Ferrer I, Pala M, Meco JF *et al.* Homocysteine and the MTHFR 677C-->T allele in premature coronary artery disease. Case control and family studies. *Eur.J.Clin.Invest* 2001;31:24-30.
314. Wang XL, Duarte N, Cai H, Adachi T, Sim AS, Cranney G *et al.* Relationship between total plasma homocysteine, polymorphisms of homocysteine metabolism related enzymes, risk factors and coronary artery disease in the Australian hospital-based population. *Atherosclerosis* 1999;146:133-40.
315. Tsai MY, Welge BG, Hanson NQ, Bignell MK, Vessey J, Schwichtenberg K *et al.* Genetic causes of mild hyperhomocysteinemia in patients with premature occlusive coronary artery diseases. *Atherosclerosis* 1999;143:163-70.
316. Folsom AR, Nieto FJ, McGovern PG, Tsai MY, Malinow MR, Eckfeldt JH *et al.* 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;98:204-10.
317. Vulapalli R, Liang C, Zareba W, Moss AJ. Recurrent coronary events are not increased in postinfarction patients with methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism. *Am.J.Cardiol* 2001;87:1289-92.
 318. Rothenbacher D, Fischer HG, Hoffmeister A, Hoffmann MM, Marz W, Bode G *et al.* Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase genotype: association with risk of coronary heart disease and relation to inflammatory, hemostatic, and lipid parameters. *Atherosclerosis* 2002;162:193-200.
 319. Brattstrom L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* 1998;98:2520-26.
 320. Verhoef P, Rimm EB, Hunter DJ, Chen J, Willett WC, Kelsey K *et al.* A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and risk of coronary heart disease: results among U.S. men. *J.Am.Coll.Cardiol* 1998;32:353-59.
 321. Kluijtmans LA, Kastelein JJ, Lindemans J, Boers GH, Heil SG, Brusckhe AV *et al.* Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. *Circulation* 1997;96:2573-77.
 322. Meisel C, Cascorbi I, Gerloff T, Stangl V, Laule M, Muller JM *et al.* Identification of six methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotypes resulting from common polymorphisms: impact on plasma homocysteine levels and development of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2001;154:651-58.
 323. Ou T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T, Amemiya H, Fujiwara H, Kawata K *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase and apolipoprotein E polymorphisms are independent risk factors for coronary heart disease in Japanese: a case-control study. *Atherosclerosis* 1998;137:23-28.
 324. Morita H, Kurihara H, Sugiyama T, Hamada C, Kurihara Y, Shindo T *et al.* Polymorphism of the methionine synthase gene : association with homocysteine metabolism and late-onset vascular diseases in the Japanese population. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1999;19:298-302.
 325. Zhang G, Dai C. Gene polymorphisms of homocysteine metabolism-related enzymes in Chinese patients with occlusive coronary artery or cerebral vascular diseases. *Thromb.Res.* 2001;104:187-95.
 326. Pinto X, Vilaseca MA, Garcia-Giralt N, Ferrer I, Pala M, Meco JF *et al.* Homocysteine and the MTHFR 677C-->T allele in premature coronary artery disease. Case control and family studies. *Eur.J.Clin.Invest* 2001;31:24-30.
 327. Meisel C, Cascorbi I, Gerloff T, Stangl V, Laule M, Muller JM *et al.* Identification of six methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotypes resulting from common polymorphisms: impact on plasma homocysteine levels

- and development of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2001;154:651-58.
328. Kim CH, Hwang KY, Choi TM, Shin WY, Hong SY. The methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in Koreans with coronary artery disease. *Int.J.Cardiol* 2001;78:13-17.
 329. Brilakis ES, Berger PB, Ballman KV, Rozen R. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T and methionine synthase reductase (MTRR) 66A>G polymorphisms: association with serum homocysteine and angiographic coronary artery disease in the era of flour products fortified with folic acid. *Atherosclerosis* 2003;168:315-22.
 330. Gallagher PM, Meleady R, Shields DC, Tan KS, McMaster D, Rozen R *et al.* Homocysteine and risk of premature coronary heart disease. Evidence for a common gene mutation. *Circulation* 1996;94:2154-58.
 331. Mager A, Lalezari S, Shohat T, Birnbaum Y, Adler Y, Magal N *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and early-onset coronary artery disease. *Circulation* 1999;100:2406-10.
 332. Verhoef P, Kok FJ, Kluijtmans LA, Blom HJ, Refsum H, Ueland PM *et al.* The 677C-->T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: associations with plasma total homocysteine levels and risk of coronary atherosclerotic disease. *Atherosclerosis* 1997;132:105-13.
 333. Molloy AM, Daly S, Mills JL, Kirke PN, Whitehead AS, Ramsbottom D *et al.* Thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications for folate intake recommendations. *Lancet* 1997;349:1591-93.
 334. Zittoun J, Tonetti C, Bories D, Pignon JM, Tulliez M. Plasma homocysteine levels related to interactions between folate status and methylenetetrahydrofolate reductase: a study in 52 healthy subjects. *Metabolism* 1998;47:1413-18.
 335. van der Put NM, Steegers-Theunissen RP, Frosst P, Trijbels FJ, Eskes TK, van den Heuvel LP *et al.* Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. *Lancet* 1995;346:1070-71.
 336. Kaye JM, Stanton KG, McCann VJ, Vasikaran SD, Burke V, Taylor RR *et al.* Homocysteine, folate, methylene tetrahydrofolate reductase genotype and vascular morbidity in diabetic subjects. *Clin.Sci.(Lond)* 2002;102:631-37.
 337. Kosokabe T, Okumura K, Sone T, Kondo J, Tsuboi H, Mukawa H *et al.* Relation of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation and plasma homocysteine with intimal hyperplasia after coronary stenting. *Circulation* 2001;103:2048-54.
 338. Mark L, Erdei F, Markizay J, Kondacs A, Katona A. Effect of treatment with folic acid and vitamin B6 on lipid and homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease. *Nutrition* 2002;18:428-29.
 339. Wu AH, Tsongalis GJ. Correlation of polymorphisms to coagulation and

- biochemical risk factors for cardiovascular diseases. *Am.J.Cardiol* 2001;87:1361-66.
340. Hanson NQ, Aras O, Yang F, Tsai MY. C677T and A1298C polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: incidence and effect of combined genotypes on plasma fasting and post-methionine load homocysteine in vascular disease. *Clin.Chem.* 2001;47:661-66.
341. Meisel C, Cascorbi I, Gerloff T, Stangl V, Laule M, Muller JM *et al.* Identification of six methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotypes resulting from common polymorphisms: impact on plasma homocysteine levels and development of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2001;154:651-58.
342. van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK *et al.* A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am.J.Hum.Genet.* 1998;62:1044-51.
343. Al Obaidi MK, Stubbs PJ, Amersey R, Noble MI. Acute and convalescent changes in plasma homocysteine concentrations in acute coronary syndromes. *Heart* 2001;85:380-84.
344. Germer S, Higuchi R. Single-tube genotyping without oligonucleotide probes. *Genome Res.* 1999;9:72-78.
345. Ririe KM, Rasmussen RP, Wittwer CT. Product differentiation by analysis of DNA melting curves during the polymerase chain reaction. *Anal.Biochem.* 1997;245:154-60.
346. Cole DE, Lehotay DC, Evrovski J. Simplified simultaneous assay of total plasma homocysteine and methionine by HPLC and pulsed integrated amperometry. *Clin.Chem.* 1998;44:188-90.
347. Kim RJ, Becker RC. Association between factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations and events of the arterial circulatory system: a meta-analysis of published studies. *Am.Heart J.* 2003;146:948-57.
348. Zylberstein DE, Bengtsson C, Bjorkelund C, Landaas S, Sundh V, Thelle D *et al.* Serum homocysteine in relation to mortality and morbidity from coronary heart disease: a 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. *Circulation* 2004;109:601-06.
349. Stubbs PJ, Al Obaidi MK, Conroy RM, MusB, Collinson PO, MRCPATH *et al.* Effect of plasma homocysteine concentration on early and late events in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2000;102:605-10.
350. Chyu KY, Shah PK. Role of inflammation in atherothrombosis. *Drug News Perspect.* 2001;14:101-09.
351. Ridker PM. Novel risk factors and markers for coronary disease. *Adv.Intern.Med* 2000;45:391-418.

352. Voutilainen S, Virtanen JK, Rissanen TH, Alfthan G, Laukkanen J, Nyyssonen K *et al.* Serum folate and homocysteine and the incidence of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Am.J.Clin.Nutr.* 2004;80:317-23.
353. Cleophas TJ, Hornstra N, van Hoogstraten B, van der MJ. Homocysteine, a risk factor for coronary artery disease or not? A meta-analysis. *Am.J.Cardiol* 2000;86:1005-9, A8.
354. Tanis BC, Blom HJ, Bloemenkamp DG, van den Bosch MA, Algra A, van der GY *et al.* Folate, homocysteine levels, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C --> T variant, and the risk of myocardial infarction in young women: effect of female hormones on homocysteine levels. *J.Thromb.Haemost.* 2004;2:35-41.
355. Ma J, Stampfer MJ, Hennekens CH, Frosst P, Selhub J, Horsford J *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. *Circulation* 1996;94:2410-16.
356. Van Bockxmeer FM, Mamotte CD, Vasikaran SD, Taylor RR. Methylenetetrahydrofolate reductase gene and coronary artery disease. *Circulation* 1997;95:21-23.
357. Girelli D, Martinelli N, Pizzolo F, Friso S, Olivieri O, Stranieri C *et al.* The interaction between MTHFR 677 C-->T genotype and folate status is a determinant of coronary atherosclerosis risk. *J.Nutr.* 2003;133:1281-85.
358. Schwartz SM, Siscovick DS, Malinow MR, Rosendaal FR, Beverly RK, Hess DL *et al.* Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation* 1997;96:412-17.
359. No evidence of association between prothrombotic gene polymorphisms and the development of acute myocardial infarction at a young age. *Circulation* 2003;107:1117-22.
360. Schmitz C, Lindpaintner K, Verhoef P, Gaziano JM, Buring J. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction. A case-control study. *Circulation* 1996;94:1812-14.
361. Verhoef P, Kok FJ, Kluijtmans LA, Blom HJ, Refsum H, Ueland PM *et al.* The 677C-->T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: associations with plasma total homocysteine levels and risk of coronary atherosclerotic disease. *Atherosclerosis* 1997;132:105-13.
362. Kluijtmans LA, Whitehead AS. Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and predisposition to atherothrombotic disease; evidence that all three MTHFR C677T genotypes confer different levels of risk. *Eur.Heart J.* 2001;22:294-99.
363. Thambyrajah J, Townend JN. Homocysteine and atherothrombosis--mechanisms for injury. *Eur.Heart J.* 2000;21:967-74.

364. Bodi V, Sanchis J, Llacer A, Facila L, Nunez J, Pellicer M *et al.* Indicadores pronósticos del síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST. *Rev Esp Cardiol* 2003;56:857-64.
365. Rothenbacher D, Fischer HG, Hoffmeister A, Hoffmann MM, Marz W, Bode G *et al.* Homocysteine and methylenetetrahydrofolate reductase genotype: association with risk of coronary heart disease and relation to inflammatory, hemostatic, and lipid parameters. *Atherosclerosis* 2002;162:193-200.
366. Vermeulen EG, Stehouwer CD, Twisk JW, van den BM, de Jong SC, Mackaay AJ *et al.* Effect of homocysteine-lowering treatment with folic acid plus vitamin B6 on progression of subclinical atherosclerosis: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;355:517-22.
367. DeLoughery TG, Evans A, Sadeghi A, McWilliams J, Henner WD, Taylor LM, Jr. *et al.* Common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Correlation with homocysteine metabolism and late-onset vascular disease. *Circulation* 1996;94:3074-78.
368. Tsai MY, Welge BG, Hanson NQ, Bignell MK, Vessey J, Schwichtenberg K *et al.* Genetic causes of mild hyperhomocysteinemia in patients with premature occlusive coronary artery diseases. *Atherosclerosis* 1999;143:163-70.
369. Hanson NQ, Aras O, Yang F, Tsai MY. C677T and A1298C polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: incidence and effect of combined genotypes on plasma fasting and post-methionine load homocysteine in vascular disease. *Clin.Chem.* 2001;47:661-66.
370. Chambers JC, Ireland H, Thompson E, Reilly P, Obeid OA, Refsum H *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C-->T mutation and coronary heart disease risk in UK Indian Asians. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2000;20:2448-52.
371. Vulapalli R, Liang C, Zareba W, Moss AJ. Recurrent coronary events are not increased in postinfarction patients with methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism. *Am.J.Cardiol* 2001;87:1289-92.
372. Kosokabe T, Okumura K, Sone T, Kondo J, Tsuboi H, Mukawa H *et al.* Relation of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation and plasma homocysteine with intimal hyperplasia after coronary stenting. *Circulation* 2001;103:2048-54.
373. Koch W, Ndrepepa G, Mehilli J, Braun S, Burghartz M, Lengnick H *et al.* Homocysteine status and polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase are not associated with restenosis after stenting in coronary arteries. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2003;23:2229-34.
374. Botto N, Andreassi MG, Rizza A, Berti S, Bevilacqua S, Federici C *et al.* C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a risk factor of adverse events after coronary revascularization. *Int.J.Cardiol* 2004;96:341-45.
375. Kolling K, Ndrepepa G, Koch W, Braun S, Mehilli J, Schomig A *et al.*

- Methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T and A1298C polymorphisms, plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels and the extent of coronary artery disease. *Am.J.Cardiol* 2004;93:1201-06.
376. Gardemann A, Weidemann H, Philipp M, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW *et al.* The TT genotype of the methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism is associated with the extent of coronary atherosclerosis in patients at high risk for coronary artery disease. *Eur.Heart J.* 1999;20:584-92.
 377. Mager A, Battler A, Birnbaum Y, Magal N, Shohat M. Plasma homocysteine, methylenetetrahydrofolate reductase genotypes, and age at onset of symptoms of myocardial ischemia. *Am.J.Cardiol* 2002;89:919-23.
 378. Kaye JM, Stanton KG, McCann VJ, Vasikaran SD, Burke V, Taylor RR *et al.* Homocysteine, folate, methylene tetrahydrofolate reductase genotype and vascular morbidity in diabetic subjects. *Clin.Sci.(Lond)* 2002;102:631-37.
 379. Brown KS, Kluijtmans LA, Young IS, Murray L, McMaster D, Woodside JV *et al.* The 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism interacts with smoking to increase homocysteine. *Atherosclerosis* 2004;174:315-22.
 380. Tokgozoglu SL, Alikasifoglu M, Unsal, Atalar E, Aytemir K, Ozer N *et al.* Methylene tetrahydrofolate reductase genotype and the risk and extent of coronary artery disease in a population with low plasma folate. *Heart* 1999;81:518-22.
 381. Leaman DM, Brower RW, Meester GT, Serruys P, van den BM. Coronary artery atherosclerosis: severity of the disease, severity of angina pectoris and compromised left ventricular function. *Circulation* 1981;63:285-99.
 382. Gensini GG. A more meaningful scoring system for determining the severity of coronary heart disease. *Am.J.Cardiol* 1983;51:606.
 383. Moss AJ, Goldstein RE, Marder VJ, Sparks CE, Oakes D, Greenberg H *et al.* Thrombogenic factors and recurrent coronary events. *Circulation* 1999;99:2517-22.
 384. Aronow WS. Homocysteine. The association with atherosclerotic vascular disease in older persons. *Geriatrics* 2003;58:22-28.
 385. Matetzky S, Freimark D, Ben Ami S, Goldenberg I, Leor J, Doolman R *et al.* Association of elevated homocysteine levels with a higher risk of recurrent coronary events and mortality in patients with acute myocardial infarction. *Arch.Intern.Med* 2003;163:1933-37.
 386. Nikfardjam M, Graf S, Hornykewycz S, Zorn G, Huber-Beckmann R, Wojta J *et al.* Homocysteine plasma levels in young patients with coronary artery disease. Relation to history of acute myocardial infarction and anatomical extent of disease. *Thromb.Res.* 2001;103 Suppl 1:S35-S39.
 387. Burke AP, Fonseca V, Kolodgie F, Zieske A, Fink L, Virmani R. Increased

- serum homocysteine and sudden death resulting from coronary atherosclerosis with fibrous plaques. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2002;22:1936-41.
388. Bozkurt E, Erol MK, Keles S, Acikel M, Yilmaz M, Gurlertop Y. Relation of plasma homocysteine levels to intracoronary thrombus in unstable angina pectoris and in non-Q-wave acute myocardial infarction. *Am.J.Cardiol* 2002;90:413-15.
389. Bozkurt E, Keles S, Acikel M, Islek M, Atesal S. Plasma homocysteine level and the angiographic extent of coronary artery disease. *Angiology* 2004;55:265-70.
390. Bozkurt A, Toyaksi H, Acarturk E, Tuli A, Cayli M. The effects of hyperhomocysteinemia on the presence, extent, and severity of coronary artery disease. *Jpn.Heart J.* 2003;44:357-68.
391. Skibinska E, Sawicki R, Lewczuk A, Prokop J, Musial W, Kowalska I *et al.* Homocysteine and progression of coronary artery disease. *Kardiol.Pol.* 2004;60:197-205.
392. Neal B, MacMahon S, Ohkubo T, Tonkin A, Wilcken D. Dose-dependent effects of folic acid on plasma homocysteine in a randomized trial conducted among 723 individuals with coronary heart disease. *Eur.Heart J.* 2002;23:1509-15.
393. Anderson JL, Horne BD, Carlquist JF, Bair TL, Habashi J, Hart NI *et al.* Effect of implementation of folic acid fortification of food on homocysteine concentrations in subjects with coronary artery disease. *Am.J.Cardiol* 2002;90:536-39.
394. Bostom AG, Jacques PF, Liaugaudas G, Rogers G, Rosenberg IH, Selhub J. Total homocysteine lowering treatment among coronary artery disease patients in the era of folic acid-fortified cereal grain flour. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2002;22:488-91.
395. Woodside JV, Young IS, Yarnell JW, Roxborough HE, McMaster D, McCrum EE *et al.* Antioxidants, but not B-group vitamins increase the resistance of low-density lipoprotein to oxidation: a randomized, factorial design, placebo-controlled trial. *Atherosclerosis* 1999;144:419-27.
396. Bunout D, Garrido A, Suazo M, Kauffman R, Venegas P, de la MP *et al.* Effects of supplementation with folic acid and antioxidant vitamins on homocysteine levels and LDL oxidation in coronary patients. *Nutrition* 2000;16:107-10.
397. Title LM, Cummings PM, Giddens K, Genest JJ, Jr., Nassar BA. Effect of folic acid and antioxidant vitamins on endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease. *J.Am.Coll.Cardiol* 2000;36:758-65.
398. Thambyrajah J, Landray MJ, Jones HJ, McGlynn FJ, Wheeler DC, Townend JN. A randomized double-blind placebo-controlled trial of the effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid on endothelial function in patients with coronary artery disease. *J.Am.Coll.Cardiol* 2001;37:1858-63.

399. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Lang D, Newcombe RG, Kredan MB *et al.* Folate improves endothelial function in coronary artery disease: an effect mediated by reduction of intracellular superoxide? *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2001;21:1196-202.
400. Doshi SN, McDowell IF, Moat SJ, Payne N, Durrant HJ, Lewis MJ *et al.* Folic acid improves endothelial function in coronary artery disease via mechanisms largely independent of homocysteine lowering. *Circulation* 2002;105:22-26.
401. Stanger O, Semmelrock HJ, Wonisch W, Bos U, Pabst E, Wascher TC. Effects of folate treatment and homocysteine lowering on resistance vessel reactivity in atherosclerotic subjects. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 2002;303:158-62.
402. Schnyder G, Roffi M, Flammer Y, Pin R, Hess OM. Effect of homocysteine-lowering therapy with folic acid, vitamin B12, and vitamin B6 on clinical outcome after percutaneous coronary intervention: the Swiss Heart study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:973-79.
403. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ *et al.* Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:565-75.
404. Liem AH, van Boven AJ, Veeger NJ, Withagen AJ, Robles de Medina RM, Tijssen JG *et al.* Efficacy of folic acid when added to statin therapy in patients with hypercholesterolemia following acute myocardial infarction: a randomised pilot trial. *Int.J.Cardiol* 2004;93:175-79.
405. Liem A, Reynierse-Buitenwerf GH, Zwinderman AH, Jukema JW, van Veldhuisen DJ. Secondary prevention with folic acid: effects on clinical outcomes. *J.Am.Coll.Cardiol* 2003;41:2105-13.
406. Bonna, K. H. and on behalf of the NORVIT investigators. The Norwegian vitamin trial (NORVIT study). *Eur.Heart J. European Society of Cardiology Abstract Book.* 2005.
407. Morrison HI, Schaubel D, Desmeules M, Wigle DT. Serum folate and risk of fatal coronary heart disease. *JAMA* 1996;275:1893-96.
408. Voutilainen S, Lakka TA, Porkkala-Sarataho E, Rissanen T, Kaplan GA, Salonen JT. Low serum folate concentrations are associated with an excess incidence of acute coronary events: the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study. *Eur.J.Clin.Nutr.* 2000;54:424-28.
409. Voutilainen S, Rissanen TH, Virtanen J, Lakka TA, Salonen JT. Low dietary folate intake is associated with an excess incidence of acute coronary events: The Kuopio Ischemic Heart Disease Risk Factor Study. *Circulation* 2001;103:2674-80.
410. Giles WH, Kittner SJ, Croft JB, Anda RF, Casper ML, Ford ES. Serum folate and risk for coronary heart disease: results from a cohort of US adults.

Ann.Epidemiol. 1998;8:490-96.

411. de Bree A, Verschuren WM, Blom HJ, Nadeau M, Trijbels FJ, Kromhout D. Coronary heart disease mortality, plasma homocysteine, and B-vitamins: a prospective study. *Atherosclerosis* 2003;166:369-77.
412. Hung J, Beilby JP, Knuiman MW, Divitini M. Folate and vitamin B-12 and risk of fatal cardiovascular disease: cohort study from Busselton, Western Australia. *BMJ* 2003;326:131.
413. Ridker PM, Shih J, Cook TJ, Clearfield M, Downs JR, Pradhan AD *et al.* Plasma homocysteine concentration, statin therapy, and the risk of first acute coronary events. *Circulation* 2002;105:1776-79.
414. Soinio M, Marniemi J, Laakso M, Lehto S, Ronnema T. Elevated plasma homocysteine level is an independent predictor of coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ann.Intern.Med* 2004;140:94-100.
415. Omland T, Samuelsson A, Hartford M, Herlitz J, Karlsson T, Christensen B *et al.* Serum homocysteine concentration as an indicator of survival in patients with acute coronary syndromes. *Arch.Intern.Med* 2000;160:1834-40.