

Reducción de concentraciones elevadas de homocisteína con ácido fólico y vitaminas B en pacientes con tromboembolia venosa: relación entre respuesta y genotipo C677T de la metilén tetrahidrofólico reductasa (MTHFR)

Ángel José González Ordóñez^a, Jesús María Medina Rodríguez^a, Carmen Rosa Fernández Álvarez^a, Javier Sánchez García^a, José Manuel Fernández Carreira^b, María Victoria Álvarez Martínez^c y Eliecer Coto García^c

^aServicio de Hematología y ^bUnidad de Investigación. Hospital San Agustín. Avilés.

^cLaboratorio de Genética Molecular. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

FUNDAMENTO: Las concentraciones plasmáticas elevadas de homocisteína total (tHcy) se asocian con enfermedad trombótica arterial o venosa. Dependen principalmente del estado nutricional para el ácido fólico y vitaminas B₁₂ o B₆ pero también de la actividad enzimática desarrollada por la metilén tetrahidrofólico reductasa (MTHFR). Evaluamos el grado de respuesta de la hiperhomocisteinemia (HHcy) a un sencillo esquema de suplementación vitamínica respecto al genotipo de MTHFR.

PACIENTES Y MÉTODOS: Se seleccionaron 227 pacientes, diagnosticados de tromboembolia venosa (TEV) y que fueron analizados para tHcy (ayunas) y para el polimorfismo genético MTHFR-C677T. Cuando la tHcy excedió el límite normal (varones = 16 y mujeres = 15 µmol/l), los pacientes recibieron el equivalente a 1 mg de ácido fólico, 0,2 mg de vitamina B₁₂ y 100 mg de vitamina B₆, diariamente durante 6 semanas. Posteriormente fueron reanalizados y la reducción fue comparada por genotipos MTHFR, buscando cualquier diferencia en el grado de respuesta.

RESULTADOS: La tHcy media fue de 12,3 µmol/l (DE = 8). Los 51 pacientes hiperhomocisteinémicos (22%) tenían edad superior (65,1 años) a los no-HHcy (55,0 años) (p = 0,0001). La cumplimentación del tratamiento fue apropiada en 46 pacientes (90%). La tHcy media pretratamiento fue de 23,2 µmol/l (DE = 10,5), y se redujo a 13,0 (DE = 5,9), el 42,1% (p = 0,0001). Por genotipos, los pacientes C/C de 21,0 a 13,2 µmol/l (37%) (n = 18), los C/T de 25,0 a 12,6 µmol/l (46%) (n = 24), y los homocigotos anormales T/T de 22,7 a 14,5 µmol/l (39%) (n = 4), aunque sin evidenciarse diferencias estadísticamente significativas. La respuesta fue completa (normalizándose la tHcy) en el 80% de los casos (37/46). Se observó una correlación negativa (r = -0,471) (p = 0,005) entre edad y respuesta.

CONCLUSIONES: El tratamiento con AF/B₆/B₁₂ reduce en forma sencilla, rápida y eficaz (> 40% en 6 semanas) los valores patológicos de tHcy sin ninguna influencia del genotipo MTHFR. Dado que la HHcy parece relacionarse con las recidivas de trombosis venosa, parece prudente determinar la tHcy sistemáticamente en pacientes con TEV, para intentar su reducción en casos seleccionados.

Palabras clave: Polimorfismo ADN; Gen MTHFR; Metilén tetrahidrofólico reductasa; Trombosis venosa; Homocisteína; Ácido fólico.

Lowering high levels of fasting total homocysteine with folic acid and vitamins B in patients with venous thromboembolism: relationship between response and the C677T methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) genotype

BACKGROUND: High levels of plasma total homocysteine (tHcy) are involved in arterial or venous occlusive diseases. It essentially depends on the nutritional status of folic acid (FA) and vitamins B₁₂ or B₆, but also on the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) enzymatic activity. We aim to evaluate the response of the hyperhomocysteinemia (HHcy) to a standard schedule of vitamin supplementation, according with the MTHFR genotype.

PATIENTS AND METHODS: 227 patients, diagnosed with venous thromboembolism (VTE) were analysed for tHcy (in fasting conditions), and for the MTHFR-C677T gene polymorphism. When the tHcy exceeded the cut-off point (men = 16, women = 15 µmol/l), the patients were supplemented with a dose equivalent to 1 mg FA, 0.2 mg B₁₂ and 100 mg of B₆, daily by 6 weeks. Afterwards they were reanalysed and the reduction was stratified by MTHFR genotype, looking for any difference in the response.

RESULTS: The mean fasting tHcy was 12.3 µmol/l (SD = 8). The 51 hyperhomocysteinemic patients (22%) were older (65.1 y) than the normal ones (55.0 y) (p = 0.0001). The treatment was carried out properly in 46 patients (90%). The pre-treatment mean Hcy was 23.2 (SD = 10.5) µmol/l, and it was reduced to 13.0 (SD = 5.9) (p = 0.0001) (mean reduction = 42.1%). By genotype, the C/C reduced from 21.0 to 13.2 µmol/l (37%) (n = 18), the C/T from 25.0 to 12.6 µmol/l (46%) (n = 24), and the abnormal homozygotes T/T from 22.7 to 14.5 µmol/l (39%) (n = 4), although no statistical significant differences were found. In 80% of cases (37/46), tHcy values normalised. A negative correlation (r = -0.471) (p = 0.005) was observed between age and response.

CONCLUSIONS: The FA/B₆/B₁₂ based therapy reduces in a simple, quick and effective way (> 40% in 6 weeks) the pathologic tHcy levels on a VTE population and this is not influenced by the MTHFR genotype. As HHcy seems related with recurrences of venous thrombosis, we could speculate if it would be useful to analyse routinely the tHcy, attempting reduction in selected cases.

Med Clin (Barc) 2000; 114: 7-12

Correspondencia: Dr. A.J. González Ordóñez.
Servicio de Hematología. Hospital San Agustín.
33400 Avilés. Asturias.
Correo electrónico: jagonzalez@medynet.com

Recibido el 14-6-1999; aceptado para su publicación el 19-10-1999

En la última década, se ha documentado claramente la asociación entre arteriosclerosis (con enfermedad obstructiva coronaria, cerebral o periférica) y altas concentraciones de homocisteína total (tHcy)¹. La implicación de las hiperhomocisteinemias (HHcy) plasmáticas moderadas en la patogenia de la tromboembolia venosa (TEV) no fue, sin embargo, sospechada²⁻⁴ o establecida⁵⁻⁷ hasta hace pocos años.

Los niveles de tHcy son dependientes principalmente del estado nutricional del paciente para diversos micronutrientes, especialmente ácido fólico y vitaminas B₁₂ o B₆⁸. También las concentraciones de tHcy son parcialmente dependientes de la actividad enzimática desarrollada por la 5,10-metilén tetrahidrofólico reductasa (MTHFR). En el gen correspondiente se conocen diversos polimorfismos, la mayoría de ellos silentes. Sin embargo, existe un dimorfismo C/T en el nucleótido 677 de expresividad relevante. La transmisión sigue un patrón autosómico recesivo de modo que la variante homocigótica anormal (T/T), descrita en 1995 por Frosst et al,⁹ sería algo más infrecuente (10% en sujetos de raza blanca). Los portadores de esta variante expresan el aminoácido Val en lugar de Ala en posición 223, lo que les confiere la hipofunción (< 50% a 37 °C) y termolabilidad (46 °C) conocidas desde 1988¹⁰. Pronto se estableció la relación entre concentraciones de folato, polimorfismo genético de MTHFR y tHcy¹¹. La variante termolábil (MTHFR 677TT) puede causar HHcy y también descenso en los niveles de folato cuando su ingesta es baja^{11,12}. Parece demandar un aporte continuado de ácido fólico para desarrollar un funcionamiento adecuado que evite la acumulación de tHcy. El estudio de Hcy e infarto de miocardio desarrollado entre médicos norteamericanos demostró que este defecto genético podía ser ampliamente compensado por una alta ingesta de folatos (equivalente a la presencia de niveles normales o elevados de folato plasmático)¹². También se demostró que entre los varones más jóvenes (< 60



Fig. 1. Electroforesis de los fragmentos de restricción obtenidos tras digestión con *TaqI*. La muestra homocigótica normal presenta una banda gruesa de 200 pb. La muestra con homocigosis T/T presenta una banda gruesa de 145 pb. La muestra con heterocigosis C/T presenta representación de ambas bandas en menor cuantía.

años), la mutación de la MTHFR era el mayor determinante del nivel de tHcy, mientras que entre varones mayores de 60 años, la edad, el tabaquismo actual, la utilización de polivitamínicos y el nivel de folato plasmático eran los determinantes principales de la tHcy¹². Así mismo, se ha demostrado que diversos regímenes de suplementación de ácido fólico podían ser efectivos en reducir la tHcy entre sujetos hiperhomocisteinémicos^{1,13,14}. Las dosis de ácido fólico fueron altamente variables entre los diferentes estudios, así como su eventual asociación con otros suplementos de probada efectividad como la piridoxina (B₆) o la cobalamina (B₁₂)¹⁵⁻¹⁷. Pretendimos evaluar la respuesta a un esquema estándar de suplementación vitamínica muy sencillo, en pacientes afectados de TEV y HHcy, basado en los estudios epidemiológicos previos, como el de Selhub⁸ y en metaanálisis como el de Boushey¹⁶ o el Homocysteine Lowering Trialists' Colaboration¹⁴, en el contexto de nuestro «vademécum» actual. Simultáneamente, quisimos conocer si la respuesta puede estar condicionada por el genotipo de la MTHFR.

Pacientes y métodos

La muestra estudiada incluyó a 227 pacientes (108 varones y 119 mujeres), con una edad media de 57,3 años (intervalo de confianza [IC] del 95%, 55,0-59,6); (rango, 11-89) que habían sido evaluados consecutivamente en nuestro centro por TEV entre junio de 1996 y febrero de 1999. En el diagnóstico se habían usado métodos objetivos (generalmente flebografía o gammagrafía pulmonar).

Todos los sujetos fueron analizados en condiciones de ayuno (sin ingesta de alimentos desde la medianoche previa), habiendo transcurrido una media (DE) de 14 (8) meses desde el último episodio tromboembólico. Las muestras de sangre fueron obtenidas de la vena antecubital en dos tubos de EDTA de 5 ml. La primera fue inmediatamente refrigerada en contacto con hielo para prevenir la liberación de Hcy eritrocitaria. El plasma fue separado en los primeros 30 min, y posteriormente congelado para el posterior

análisis cuantitativo de tHcy por enzimoimmunoanálisis (EIA). El segundo tubo fue utilizado para obtener la capa leucocitaria (*buffy coat*) que fue separada y congelada hasta el análisis. Tras la descongelación, el ADN genómico fue aislado para análisis por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El ADN fue utilizado como molde en combinación con los *primers forward* 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGA-3' y *reverse* 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'. Las condiciones de la PCR fueron: 30 ciclos con desnaturalización durante 40 s a 95 °C, *primer annealing* durante 60 s a 65 °C y extensión durante 40 s a 72 °C. El tamaño del amplificado obtenido fue de 198 pares de bases (pb). La digestión enzimática se efectuó con *Taq I* que reconoce la sustitución de C por T en el nucleótido 677. Los productos de la digestión fueron analizados por una electroforesis en gel que separa los fragmentos (fig. 1).

Se estableció como patológico a efectos de realizar la intervención terapéutica un valor determinado como el P₉₀ (con muestra de 50 sujetos libres de enfermedad vascular) de tHcy en nuestra área, similar al límite de la normalidad mas frecuentemente reflejado en la bibliografía (16 µmol/l en varones y 15 µmol/l en mujeres). Cuando la tHcy excedió aquel valor, el paciente era citado telefónicamente o por correo. Tras una entrevista explicativa, en la que se excluía la toma de polivitamínicos y se obtenía el acuerdo del paciente, se iniciaba la suplementación. Esta consistió en una dosis semanal de 7,5 mg de ácido fólico, 1,5 mg de vitamina B₁₂ y 750 mg de vitaminas B₆ y B₁ (de acuerdo con las posibilidades farmacéuticas del «vademécum» español actual). En todos los casos, la dosis semanal fue repartida en 3 días (Acfol® 1/2 tableta los lunes, miércoles y viernes e Hidroxil® B₁₂, B₆, B₁ una cápsula los martes, jueves y sábados). La duración del tratamiento fue de seis semanas. Se evitó de forma deliberada incluir un grupo placebo con cada variante genética (repartir aproximadamente 50 pacientes en seis grupos hubiera diluido en exceso las conclusiones), tras confirmarse específicamente en la bibliografía la estabilidad de los valores de tHcy para períodos de hasta 6 semanas¹⁷. Tras este tiempo, otra muestra de sangre EDTA fue obtenida también en condiciones de ayuno para repetir la determinación de tHcy. Las concentraciones postratamiento fueron comparadas con las correspondientes pretratamiento y la reducción observada expresada en forma de porcentaje para eliminar la variabilidad de los valores absolutos. Los porcentajes de reducción obtenidos fueron asignados a cada genotipo MTHFR-C677T, para intentar descubrir cualquier diferencia significativa en el grado de respuesta.

Para el análisis estadístico se utilizaron diversas herramientas incluidas en el *software* SPSS 8 para Windows y EpiTable. Se realizaron pruebas de normalidad para las variables en estudio, con el objetivo de aplicar posteriormente pruebas apropiadas a la distribución. Las medias para muestras independientes se

contrastaron usando el test de la t de Student para muestras independientes o el test de la U de Mann-Whitney en el caso de variables cuya distribución no fuese normal. Para comparar las concentraciones de tHcy entre los grupos genotípicos se empleó el análisis ANOVA. En la valoración del descenso de tHcy de forma apareada, se usó la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon. Para estudiar la asociación entre concentraciones iniciales de tHcy y porcentaje de reducción, se utilizó la correlación no paramétrica de Spearman. En los contrastes de hipótesis se aceptaron valores de $p < 0,05$ como estadísticamente significativos. Las estimaciones por IC se realizaron para una seguridad del 95%.

Resultados

Los valores medios de tHcy en condiciones de ayuno fueron 12,3 µmol/l (DE = 8,0) (mediana = 10,50, rango, 2-78) en esta población con TEV (n = 227). En 51 pacientes (27 varones y 24 mujeres) (22%) se observó una tHcy elevada. Presentaban una edad media de 65,1 años (DE = 15,9), significativamente superior a la de los pacientes normohomocisteinémicos con 55,0 años (DE = 17,0); ($p = 0,0004$). El 74% (38/51) se encontraban recibiendo tratamiento anticoagulante oral en el momento de la suplementación vitamínica. En 15/51 pacientes HHcy (29%) se asoció alguna otra anomalía protrombótica hasta un total de 16 (ocho con mutación FV Leiden, dos afectados por la mutación FII G20210A, 3 casos con anticuerpos anticardiolipina o anticoagulante lúpico y 3 casos de déficit de proteínas C o S). Un paciente fue excluido al observar que presentaba una anemia megaloblástica posgastrectomía, dado que venía recibiendo una dosis mensual de vitamina B₁₂. En otros 4/51 pacientes se encontró alguna condición clínica patológica que podría explicar los valores elevados de tHcy: un fallo renal crónico y tres carcinomas (de colon, próstata y mama). Aunque no fueron inicialmente excluidos, dos de ellos presentaron problemas de cumplimiento y no pudieron ser valorados. Otros 2 pacientes fueron perdidos de control al pasar a depender de otro centro. Así, sólo 49 pudieron ser genotipados y 46 (90%) completaron el tratamiento y realizaron el segundo análisis en una forma adecuada. Tras las 6 semanas de suplementación (en las que no se registraron recidivas trombóticas), ningún paciente experimentó un aumento en sus valores de tHcy y sólo dos permanecieron sin cambios significativos (de 21 a 20,2 y de 16,7 a 16,4 µmol/l). El 93% (43/46) presentó una reducción superior al 10% y un 80% (37/46) respondió hasta concentraciones normales (respuesta completa). El valor medio pretratamiento (Hcy-Pre) era de 23,2 µmol/l (DE = 10,1) (IC del 95%, 20,4-26,1) (n = 51). Distribuidos por grupos genéticos fueron: 21,0 µmol/l (DE = 3,9) entre los homocigotos normales C/C (n = 19), 25,0 µmol/l (DE = 13,3)

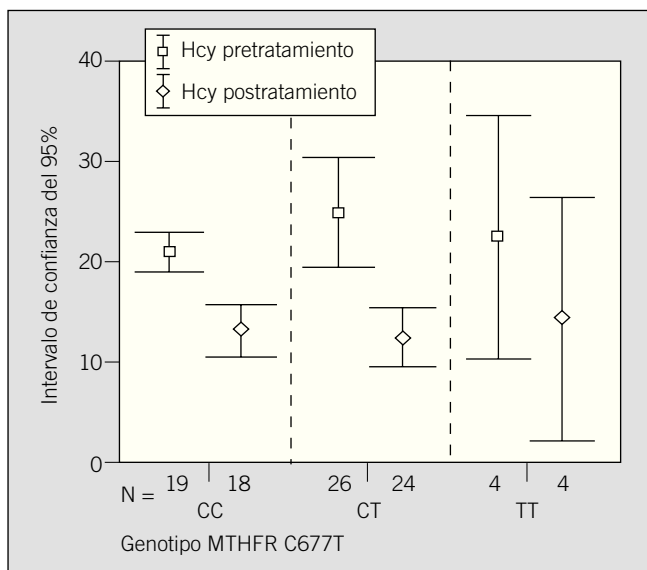


Fig. 2. Concentraciones de tHcy pre y postratamiento de acuerdo al genotipo MTHFR.

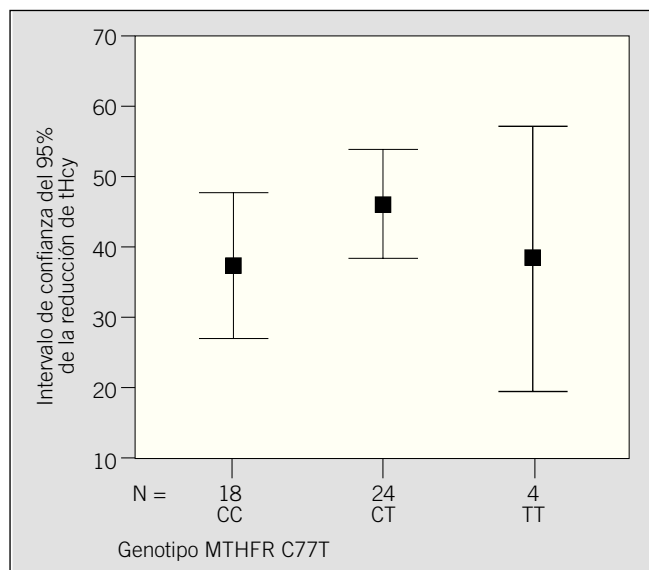


Fig. 3. Reducción de tHcy en relación con los tres grupos genotípicos.

entre los heterocigotos C/T ($n = 26$) y $22,7 \mu\text{mol/l}$ ($\text{DE} = 7,7$) entre los homocigotos anormales T/T ($n = 4$) (tabla 1). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los valores de tHcy entre los distintos grupos genotípicos (análisis ANOVA, 0,44).

El valor medio postratamiento de tHcy (Hcy-Post) fue de $13,0 \mu\text{mol/l}$ ($\text{DE} = 5,9$) ($n = 46$). Por grupos genéticos fue: $13,2 \mu\text{mol/l}$ ($\text{DE} = 4,9$) entre los homocigotos C/C ($n = 18$), $12,6 \mu\text{mol/l}$ ($\text{DE} = 6,6$) entre los C/T ($n = 24$) y $14,5 \mu\text{mol/l}$ ($\text{DE} = 7,6$) entre los homocigotos T/T ($n = 4$) (tabla 1). Tampoco los valores de Hcy-Post presentaron diferencias significativas por genotipos (análisis ANOVA, $p = 0,82$) (fig. 2).

La reducción media fue del 42,2% ($\text{DE} = 18,8$) (IC del 95%, 36,6-47,8%). Para contrastar la hipótesis de la reducción de Hcy con la intervención terapéutica se utilizó el test de Wilcoxon que resultó muy significativo ($p < 0,0001$).

Por grupos genéticos, el mínimo grado de respuesta fue observado en los homocigotos normales C/C (37,4%), que habían presentado los valores de tHcy pretratamiento más bajos ($21,0 \mu\text{mol/l}$). Así mismo, la mayor respuesta (46,4%) se dio entre los heterocigotos que habían tenido la Hcy-Pre más elevada ($25,0 \mu\text{mol/l}$) (tabla 2 y fig. 3). Sin embargo, los diversos grados de respuesta no fueron significativamente diferentes entre los tres genotipos (análisis ANOVA, $p = 0,3$).

Por sexos tampoco observamos diferente respuesta (el 42,9% en varones y el 41,4% en mujeres) (tabla 3). Respecto a la relación entre edad y porcentaje de respuesta se observó una correlación de

Spearman de $-0,471$ ($p=0,005$) (fig. 4). Tienden a responder mejor los jóvenes. Sin embargo las respuestas observadas entre mayores (38,7%) y menores (48,7%) de 60 años no difirieron significativamente ($p = 0,11$) (tabla 3). Hubo también una ligera tendencia a una mayor reducción entre las Hcy-Pre más elevadas (correlación de Spearman de $0,17$), aunque sin alcanzar significación estadística ($p = 0,24$).

Discusión

La Hcy es un aminoácido no proteico azufrado, procedente del aminoácido esencial metionina que se obtiene de la dieta. Puede revertir a metionina por remetilación en dos formas: combinándose con betaina en presencia de vitamina B_{12} , o incorporando un grupo metilo de una metiltransferasa vitamina B_{12} -dependiente (con intervención de la MTHFR y el ci-

TABLA 1

Concentraciones de Hcy plasmática total (tHcy) antes y después de la suplementación vitamínica, agrupadas por los genotipos de la MTHFR (49 valorables pretratamiento y 46 valorables postratamiento)

	Número	Media	IC del 95% para la media (límites inferior-superior)	Desviación estándar	Intervalo (mínimo-máximo)
tHcy pretratamiento MTHFR C677T					
CC	19	21,03	19,14-22,92	3,92	15,80-27,60
CT	26	25,05	19,66-30,44	13,34	15,40-78,00
TT	4	22,75	10,49-35,00	7,70	16,80-33,70
tHcy postratamiento MTHFR C677T					
CC	18	13,23	10,78-15,70	4,93	3,80-22,40
CT	24	12,59	9,81-15,37	6,58	6,60-39,00
TT	4	14,52	2,49-26,56	7,56	7,80-25,30

tHcy: homocisteína total; MTHFR: metilén tetrahidrofólico reductasa.

TABLA 2

Comparación del porcentaje de reducción entre los tres grupos genotípicos

	Número	Porcentaje de reducción, media	IC del 95% para la media (límites inferior-superior)	Desviación estándar	Intervalo (mínimo-máximo)
MTHFR C677T					
CC	18	37,40	27,10-47,69	20,70	2-76
CT	24	46,38	38,83-53,93	17,87	4-71
TT	4	38,65	19,84-57,46	11,82	25-54
Total	46	42,19	36,60-47,78	18,82	2-76

MTHFR: metilén tetrahidrofólico reductasa.

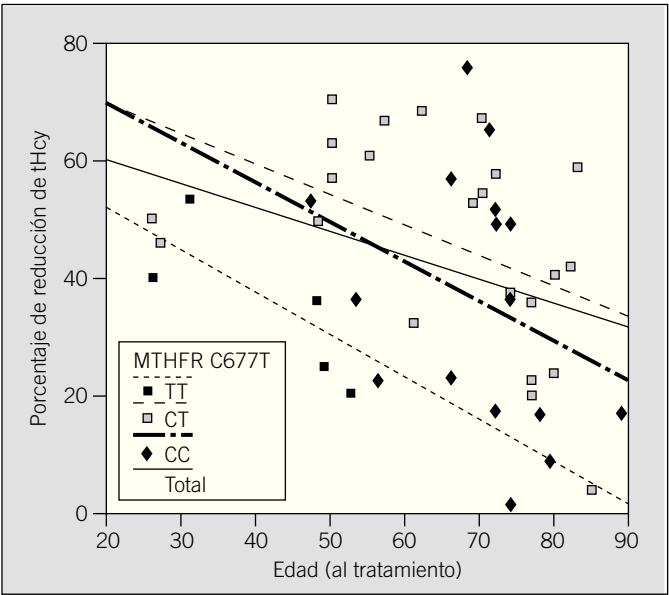


Fig. 4. Relación entre edad al tratamiento (años) y porcentaje de respuesta en los subgrupos genéticos. Diagrama de dispersión y recta de regresión con intervalo de confianza del 95%.

clo del folato). En caso contrario se empleará para producir cisteína y glutatión (transulfuración), requiriendo vitamina B₆. Sus valores plasmáticos oscilan entre 5 y 15 $\mu\text{mol/l}$ en condiciones de ayuno¹⁸. Moderadas HHcy se han relacionado epidemiológicamente con riesgo incrementado de enfermedad vascular oclusiva en el territorio arterial^{1,8,12-14,19,20}. Su asociación definitiva con la TEV se estableció más recientemente^{5,6} (riesgo relativo = 1,7-4,0)^{2,7,21}. Debe recordarse que aún se ignoran sus mecanismos patogénicos (síntesis reducida de trombosmodulina, incremento de factor tisular o de agregación plaquetaria, entre otros)^{7,19}, por lo que reducir tHcy y reducir riesgo vascular no será necesariamente equivalente⁵. El riesgo directamente imputable a la MTHFR termolábil en la TEV parece escaso o nulo en nuestro entorno²²⁻²⁴, a pesar de lo sugerido inicialmente en Brasil²⁵. La asociación entre vasculopatía obstructiva (especialmente arterial) y valores sanguíneos bajos de folato, cobalamina (B₁₂) o piridoxina (B₆) parece bien establecida^{12,16,26}. Así mismo, diversos estudios demuestran reducción de tHcy con aporte de ácido fólico, B₁₂, o ambos^{13,14,16,17}. La reducción fue menor (el 25% con ácido fólico y el 3-10% con vi-

tamina B₁₂), si incluían tanto pacientes normales como hiperhomocisteinémicos (tHcy normal desciende 15-20% frente al 35-50% en rango patológico)^{14,17}. Nuestro estudio incluyó sólo a pacientes HHcy por lo que (considerando la aportación menor de la cobalamina), se obtuvo una respuesta (42%) previsible, que equipara enfermedades venosas y arteriales. La vitamina B₆ (transulfuración) reduce la elevación de tHcy tras la sobrecarga oral de metionina aunque en condiciones de ayuno tiene un papel menor^{5,6,8,19}. La vitamina B₁ (carente de efecto significativo) fue incluida en el estudio por acompañar sistemáticamente a las asociaciones de vitamina B₆-B₁₂ en nuestra farmacopea. La bibliografía refleja una gran variabilidad en la dosis diaria de cada micronutriente. Respecto al ácido fólico osciló de 0,25^{27,28} a 5,0 mg/día²⁹, resultando eficaz siempre que superó los 0,5 mg/día (un estudio con 4 semanas de ácido fólico a dosis de 250 $\mu\text{g/día}$ redujo solo el 11% frente al 22% con dosis de 500 $\mu\text{g/día}$)²⁷. Dosis inferiores a 150 $\mu\text{g/día}$ tuvieron una utilidad marginal (con 127 $\mu\text{g/día}$ la tHcy sólo descendió el 3,7%)³⁰. Por el contrario dosis superiores a 1 mg/día no incrementan la reducción³¹, existiendo publicaciones con similares respuestas en el

rango 0,5-5 mg/día^{14,16,29}. Para la vitamina B₁₂ las dosis varían de 0,02³² a 1 mg³³ y para la vitamina B₆ de 5³³ a 50 mg/día²⁹. Las dosis empleadas por nosotros serían habituales para el ácido fólico (1 mg) y cobalamina (0,21 mg), y algo mayores en piridoxina (107 mg). El período de intervención varía entre 3³³ y 12 semanas²⁸ (generalmente 4-6 semanas)^{17,27}, influyendo en los resultados de modo similar a la dosis. Así, una dosis subóptima de ácido fólico (250 $\mu\text{g/día}$) redujo en 4 semanas el 14% pero alcanzó el 22% en 12 semanas²⁸. Con una sola semana de tratamiento, la eficacia podría no superar el 15% aun con 1 mg/día de ácido fólico³⁴ y la interpretación resultaría afectada por la variabilidad de la técnica. Elegimos un período óptimo para este tipo de estudios (6 semanas)¹⁴. Otros grupos determinan también la tHcy postsobrecarga oral de metionina, ya que algunos pacientes presentaron valores patológicos sólo tras este estímulo¹⁹. Así, pudimos haber subestimado la prevalencia de la HHcy en la población de nuestro medio con TEV hasta en un 27%³⁵, aunque este hecho no puede invalidar las conclusiones del estudio. No existe tampoco consenso acerca de cuál debe ser el valor umbral/límite que justifique la intervención terapéutica¹⁹. Los conocimientos provienen de estudios centrados en enfermedad arterial, en la que la concentración de tHcy podría comportarse como un factor de riesgo (independiente) continuo, incluso en el rango de la normalidad. Un metaanálisis clásico (1995) sobre arteriopatías y tHcy refleja un incremento del riesgo ya entre 10 y 15 $\mu\text{mol/l}$ (10%/ $\mu\text{mol/l}$)¹⁶ y un estudio multicéntrico europeo considera toda tHcy superior a 12,1 $\mu\text{mol/l}$ como de riesgo²⁶. Sin embargo, en la afección venosa podría existir un efecto umbral como sugiere el brusco incremento del riesgo con tHcy superior a 18 $\mu\text{mol/l}$ ⁶. Nuestra opción (equidistante) fue tratar únicamente pacientes con TEV y tHcy estadísticamente elevada. La duda metodológica acerca de la HHcy como simple epifenómeno de la vasculopatía pierde validez tras conocerse que las tasas de mortalidad (vascular y global) a 3 años dependen de su aumento (el 5,6 y el 3,6% por $\mu\text{mol/l}$, respectivamente, tras ajuste para hipertensión, hiperlipemia o tabaquismo)³⁶. Demostrada la relación lineal entre mortalidad de pacientes coronarios y valor de tHcy³⁷ y el fallo (en nuestro medio) del genotipo MTHFR para predecir riesgo de muerte³⁸, parece reforzarse la importancia de factores dietéticos (aunque podrían existir variantes genéticas aún desconocidas implicadas en HHcy). La toxicidad de esta terapéutica parece marginal. El ácido fólico lejos de ser tera-

TABLA 3
Porcentaje de reducción de tHcy de acuerdo con el sexo y la edad

	Número	Porcentaje de reducción, media	IC del 95% para la media (límites inferior-superior)	Desviación estándar
Sexo				
Varón	24	42,89	34,87-50,91	19,00
Mujer	22	41,43	32,99-49,87	19,04
Edad (años)				
< 60	16	48,69	41,23-56,15	13,99
≥ 60	30	38,73	31,14-46,31	20,31

tHcy: homocisteína total.

tógeno, reduce los defectos del tubo neural (DTN) como la espina bífida. Se ha demostrado su carencia en arteriopatías²⁶ y podría ser útil en la prevención del cáncer³⁹. Valores bajos de piridoxina se relacionan (aun sin HHcy) con arteriosclerosis y coronariopatías²⁶. Asociar vitamina B₁₂ reduce las consecuencias de enmascarar con ácido fólico una anemia megaloblástica¹⁹.

Insistimos en que esta intervención terapéutica se ha probado menos en la HHcy de la TEV, por su más reciente asociación. El tratamiento de 30 holandeses (no sólo pacientes con TEV sino también voluntarios sanos) afectados por HHcy consiguió normalizar (< 16 µmol/l) a 26 (87%)²⁶, porcentaje similar al obtenido por nosotros (80%). Aún más escasas serían las publicaciones que relacionan la respuesta de tHcy y genotipo MTHFR-C677T. Planificamos nuestro estudio basado en el de Malinow et al quienes comunicaban (en arteriopatías) respuestas condicionadas por el genotipo que no hemos podido confirmar en nuestra población con TEV. La mayor reducción se observó en la variante termolábil T/T (-21%) frente al C/T (-13%) y C/C (-7%), con dependencia también del valor de folato previo.³¹ Nuestras respuestas (el 39, el 46 y el 37%, respectivamente) no se diferenciaron por genotipos (ignoramos si nuestra población dispone de mejores folatemias) y son significativamente mejores. Esto se debe a que usaron sólo ácido fólico (sin vitamina B₁₂), durante 3 semanas y a que trataron todo tipo de sujetos, independientemente del valor de tHcy³¹, condiciones todas ellas que, como referimos, determinan la respuesta¹⁴. Nuestra reducción (42%) es comparable a la obtenida por Ubbink et al (49,8%) con igual selección de pacientes (todos HHcy) y similar tratamiento (ácido fólico/B₆/B₁₂, 6 semanas), aunque desgraciadamente no se conocían los genotipos MTHFR en el momento del estudio (1994)¹⁷. Observamos una menor respuesta entre los sujetos de más de 60 años que podría estar condicionada por procesos intercurrentes. La ligera tendencia (no significativa) a presentar mejor respuesta ante valores más elevados ya había sido descrita¹⁴ y se dio en cada grupo genético. Si el genotipo T/T tiende a presentar valores algo mayores de tHcy²⁴ cabe explicar los resultados de Malinow³¹. Sin embargo, al considerar solo valores patológicos (HHcy), la tHcy fue similar en los tres grupos, lo que predice la respuesta uniforme que observamos. Respecto a las HHcy graves (> 40 µmol/l) un estudio noruego describe una prevalencia del 0,4% (67/18.043 sujetos) refiriendo una llamativa representación de sujetos T/T (73%); con 7 semanas de ácido fólico

consiguen algún grado de respuesta en 35/37 pero sólo logran normalizar a 21/37 sujetos en 7 meses (si seguían HHcy a los 2 años, el 92% eran T/T)⁴⁰. Nuestros 3 casos con tHcy superior a 40 µmol/l fueron C/T (causando tHcy-Pretto mayores en este grupo), consiguiendo la pauta combinada normalizar dos y reducir a la mitad el tercero (de 78 a 39 µmol/l).

Urge demostrar los beneficios clínicos del control de la HHcy tanto a gran escala como en poblaciones de alto riesgo como la presentada, con cualquier pauta y posología que incluya más de 500 µg/día de ácido fólico. ¿Durante cuánto tiempo?; ¿cuánto durará su eficacia? (más de 8 semanas según información reciente)²⁷; ¿sería preferible fortificar la dieta en la población general?¹⁶; fumadores, usuarias de contraceptivos, embarazadas, ancianos o enfermos cardiovasculares, ¿requerirán esquemas intensivos?⁴¹; son cuestiones sin resolver.

Del estudio concluimos que un sencillo esquema terapéutico basado en 2,5 mg de ácido fólico tres veces por semana y dosis bajas de vitamina B₆/B₁₂ pueden normalizar al 80% de los pacientes con TEV hiperhomocisteinémicos en sólo 6 semanas, con una reducción media superior al 40%, independientemente de cuál sea su genotipo MTHFR.

Conocida la alta prevalencia de HHcy en la TEV (20-25%)⁴⁻⁷ y su riesgo de recurrencias (× 2,5-3,0)^{4,5,42} podemos deducir la prevención de casi 1.000 TEV/año por cada año de aplicación de estas medidas sólo en las consultas de anticoagulación del país.

Mientras se obtiene la evidencia necesaria, parece prudente medir tHcy «de rutina» a nuestros pacientes con TEV y en caso de HHcy iniciar alguna pauta similar (dada su sencillez, bajo coste y ausencia de efectos colaterales) para su control en el período seguro (6 meses de cumarínicos). Después bastaría, como mantenimiento, con aumentar el folato dietético para HHcy leves (15-17 µmol/l) (5-6 piezas/día de fruta o vegetales añaden 150-200 µg de ácido fólico a la dieta y podrían reducir tHcy en 3-4 µmol/l)³¹. Sin embargo, probablemente para HHcy superior a 20 µmol/l, la recomendación general de aumentar el consumo vegetal será insuficiente y debemos mantener la suplementación. Se requieren, pues, con urgencia estudios prospectivos controlados comparando estas opciones.

Agradecimiento

Los autores quieren reconocer la labor técnica efectuada por las Sras. M.ª Luz López González, Ana Arias García, Emilia Adán Miguel y Celia Ríos González.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia: a common and easily reversible risk factor for occlusive atherosclerosis. *Circulation* 1990; 81: 2004-2006.
- Brattström L, Tengborn L, Lagerstedt C, Israelsson B, Hultberg B. Plasma homocysteine in venous thromboembolism. *Haemostasis* 1991; 21: 51-57.
- Falcon CR, Cattaneo M, Panzeri D, Martinelli I, Mannucci PM. High prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with juvenile venous thrombosis. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1080-1083.
- Fermo I, D'Angelo SV, Paroni R, Mazzola G, Calori G, D'Angelo A. Prevalence of moderate hyperhomocysteinemia in patients with early-onset venous and arterial occlusive disease. *Ann Intern Med* 1995; 123: 747-753.
- Den Heijer M, Blom HJ, Gerrits WBJ, Rosendaal FR, Wijkman PW, Bos GMJ. Is hyperhomocysteinemia a risk factor for recurrent venous thrombosis? *Lancet* 1995; 345: 882-885.
- Den Heijer M, Koster T, Blom HJ, Bos GMJ, Briët E, Reitsma PH et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 759-762.
- Simioni P, Prandoni P, Burlina A, Tormene D, Sardella C, Ferrari V et al. Hyperhomocysteinemia and deep-vein thrombosis: a case-control study. *Thromb Haemost* 1996; 76: 883-886.
- Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in elderly patients. *JAMA* 1993; 270: 2693-2698.
- Frosst P, Bloom 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: 111-113.
- Kang S-S, Zhou J, Wong PWK, Kowalysyn J, Strosch G. Intermediate homocysteinemia: a thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 414-421.
- 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.
- 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: 2410-2416.
- Landgren F, Israelsson B, Lindgren A, Hultberg B, Anderson A, Brattström L. Plasma homocysteine in acute myocardial infarction: homocysteine-lowering effect of folic acid. *J Intern Med* 1995; 237: 381-388.
- Homocysteine Lowering Trialists' Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomised trials. *Br Med J* 1998; 316: 894-898.
- Van der Berg M, Franken DG, Boers GHJ, Blom HJ, Jakobs C, Stehouwer CDA et al. Combined vitamin B6 and folic acid therapy in young patients arteriosclerosis and hyperhomocysteinemia. *J Vasc Surg* 1994; 20: 933-940.
- Boushey CJ, Beresford SAA, 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: 1049-1057.
- Ubbink JB, Vermaak WJH, Van der Merwe A, Becker PJ, Delport R, Potgieter HC. Vitamin requirements for the treatment of hyperhomocysteinemia in humans. *J Nutr* 1994; 10: 1927-1933.
- Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39: 1764-1779.
- Córdoba Porras A, Blanco Vaca F, González Sastre F. Hiperhomocisteinemia, un nuevo marcador de riesgo vascular: territorios vasculares afectados, papel en la patogénesis de la arteriosclerosis.

- clerosis y la trombosis y tratamiento. *Med Clin (Barc)* 1997; 109: 715-725.
20. Vila N, Deulofeu R, Chamorro A, Piera C. Concentraciones plasmáticas de homocisteína en pacientes con infarto cerebral isquémico. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 605-608.
21. González Y, Souto JC, Mateo J, Córdoba A, Blanco-Vaca F, Fontcuberta J. Moderate hyperhomocysteinemia is a highly prevalent defect in Spanish patients with venous thromboembolic disease. *Haematologica* 1998; 83: 1126-1127.
22. Tosetto A, Missiaglia E, Frezzato M, Rodeghiero F. The VITA project: C677T mutation in methylenetetrahydrofolate reductase gene and risk of venous thromboembolism. *Br J Haematol* 1997; 97: 804-806.
23. Kluijtmans LAJ, Den Heijver M, Reitsma PH, Heil SG, Blom HJ, Rosendaal FR. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase and factor V Leiden in the risk of deep-vein thrombosis. *Thromb Haemost* 1998; 79: 254-258.
24. González-Ordóñez AJ, Fernández-Álvarez CR, Medina-Rodríguez JM, Coto E, Álvarez MV. Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase and venous thromboembolism: a case-control study. *Haematologica* 1999; 84: 190-191.
25. Arruda VR, Von Zuben PM, Chiaparin LC, Annichino-Bizzacchi JM, Costa FF. The mutation Ala677 to Val in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. *Thromb Haemost* 1997; 77: 818-821.
26. Robinson K, Arheart K, Refsum H, Brattström 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: 437-443.
27. Brouwer IA, Dusseldorp M, Thomas CM, Duran M, Hautvast JG, Eskes TK et al. Low-dose folic acid supplementation decreases plasma homocysteine concentrations: a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 99-104.
28. Aarsand AK, Carlsen SM. Folate administration reduces circulating homocysteine levels in NIDDM patients on long-term metformin treatment. *J Intern Med* 1998; 244: 169-174.
29. Den Heijer M, Brouwer IA, Bos GMJ, Blom HJ, Van der Put NM, Spaans AP et al. Vitamin supplementation reduces blood homocysteine levels: a controlled trial in patients with venous thrombosis and healthy volunteers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 356-361.
30. 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: 1009-1015.
31. 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: 1157-1162.
32. Woodside JV, Yarnell JWG, Young IS, McCrum EE, Patterson CC, Gey F et al. The effects of oral vitamin supplementation on cardiovascular risk factors. *Proc Nutr Soc* 1997; 56: 479-488.
33. NaurathHJ, 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.
34. Santhosh-Kumar CR, Deutsch JC, Ryder JW, Kolhouse JF. Unpredictable intra-individual variations in serum homocysteine levels on folic acid supplementation. *Eur J Clin Nutr* 1997; 51: 188-192.
35. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattström LE, Ueland PM et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997; 277: 1775-1781.
36. Kato I, Dnistrian AM, Schwartz M, Toniolo P, Koenig K, Shore RE et al. Serum folate, homocysteine and colorectal cancer risk in women: a nested case-control study. *Br J Cancer* 1999; 79: 1917-1922.
37. Taylor LM Jr, Moneta GL, Sexton GJ, Schuff RA, Porter JM. Prospective blinded study of the relationship between plasma homocysteine and progression of asymptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1999; 29: 8-21.
38. Nygard O, Nordrehaug E, 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: 230-236.
39. Brattstrom L, Zhang Y, Hurtig M, Refsum H, Ostensson S, Fransson L et al. A common methylenetetrahydrofolate reductase gene and longevity. *Atherosclerosis* 1998; 141: 315-319.
40. Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, Nygård O, Schneede J, Vollset SE et al. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia (> or = 40 micromol/liter). The Hordaland Homocysteine Study. *J Clin Invest* 1996; 98: 2174-2183.
41. Nygård 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: 263-270.
42. Eichinger S, Stümpflen A, Hirschl M, Blalonyczk C, Herkner K, Stain M et al. Hyperhomocysteinemia is a risk factor of recurrent venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 1998; 80: 566-569.