

Factores de riesgo no convencionales

Dirección: X. Pintó

Hiperhomocisteinemia. Diagnóstico y tratamiento

X. Pintó Sala

Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis. Servicio de Medicina Interna. Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Introducción

El hallazgo de la homocisteína como factor de riesgo cardiovascular, al igual que ha ocurrido con otros factores de riesgo no convencionales, es de gran trascendencia clínica, ya que un porcentaje significativo de pacientes con enfermedades isquémicas no presentan los factores de riesgo considerados *clásicos* y, por tanto, el estudio de estos nuevos factores nos ofrece la oportunidad de detectar una posible causa de su enfermedad y tratarla¹. En el mismo sentido, en los ensayos clínicos con fármacos hipolipemiantes para prevenir las recurrencias isquémicas, una elevada proporción de pacientes fallecen o sufren recurrencias de la enfermedad, a pesar de mantener unas concentraciones de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) dentro de la "normalidad", o de haberlas descendido de forma muy acusada. Por ejemplo, en el estudio 4S², durante un período de 5 años fallecieron de enfermedad coronaria 111 pacientes entre 2.221 (5%) a pesar del tratamiento con dosis de 20-40 mg/día de simvastatina. En estos pacientes, la detección y tratamiento de otros factores aterogénicos, entre ellos la homocisteína, podría contribuir a la disminución de esta elevada mortalidad. Este último aspecto se está investigando actualmente mediante un ensayo clínico controlado.

Metabolismo de la homocisteína

La homocisteína es un aminoácido sulfurado que se origina en el metabolismo de la metionina contenida en las proteínas de la dieta. Su síntesis se realiza a través de la condensación de la metio-

nina con adenosín trifosfato (ATP), la cual da lugar a la formación de una molécula donadora de grupos metilo, la S-adenosil-metionina, que tras donar su grupo metilo a un aceptor, origina la S-adenosil-homocisteína, que a su vez, por acción de la adenosilhomocisteinasa, genera homocisteína liberando adenosina (fig. 1).

La homocisteína es una molécula muy agresiva para el endotelio arterial y en condiciones fisiológicas normales su eliminación se realiza de forma eficiente a través de 2 rutas metabólicas principales, que evitan el aumento de sus concentraciones plasmáticas. Estas dos rutas metabólicas son la transulfuración y la remetilación. En la primera, la homocisteína se condensa con la serina, para dar cistationina y cisteína, proceso en el que intervienen la enzima cistationina- β -sintetasa (CBS) y la piridoxina como cofactor. En la segunda, la homocisteína es remetilada por un mecanismo íntimamente asociado a los folatos en el que participa la enzima 5-metil-tetrahidrofolato-homocisteína-S-metiltransferasa (MTHFR), que es activada por la cobalamina³.

La concentración de la homocisteína plasmática total es la suma de las concentraciones de homocisteína unida a proteínas (el 80% del total) y la libre. La homocisteína libre se encuentra en forma oxidada, y se combina con ella misma para formar el dímero homocistina, y también lo hace con cisteína para formar la forma disulfuro mixta cisteína-homocisteína (fig. 2). La forma reducida no unida a proteínas constituye sólo el 1% de la concentración plasmática total de homocisteína. En general, cuando hablamos de la concentración plasmática de *homocisteína* nos referimos al conjunto de moléculas que la contienen. A este conjunto de moléculas de homocisteína se le denomina también *homocist(e)ína*, aunque en la práctica ambos términos se emplean como sinónimos.

Correspondencia: Dr. X. Pintó Sala.
Unidad de Lípidos y Arteriosclerosis.
Servicio de Medicina Interna. Hospital de Bellvitge.
Feixa Llargà, s/n. 08907 L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.
Correo electrónico: xpinto@csub.scs.es

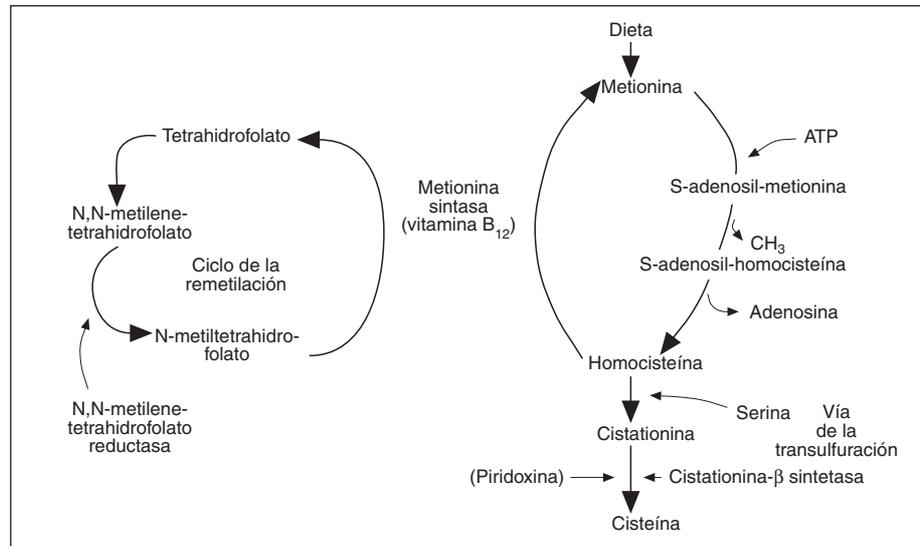


Figura 1. Metabolismo de la homocisteína.

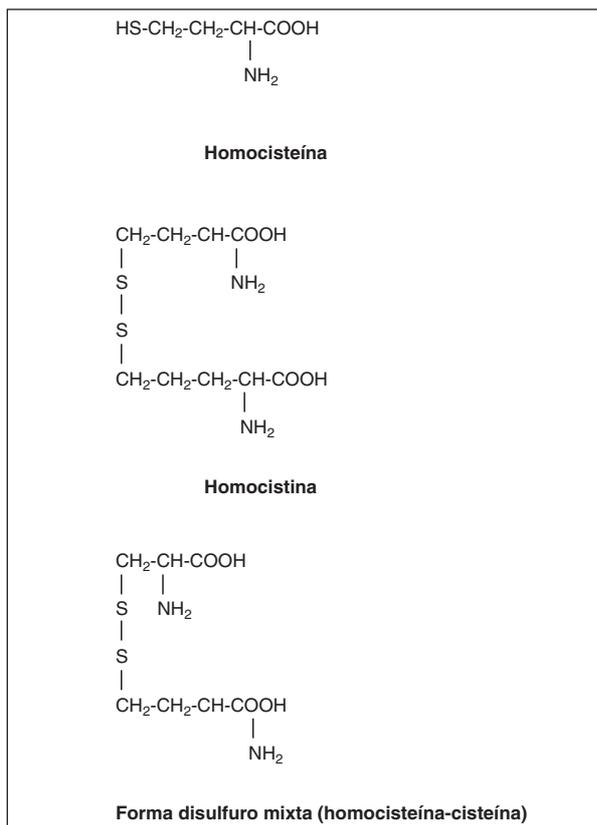


Figura 2. Moléculas que contienen homocisteína en el plasma.

Causas de hiperhomocisteinemia

Las causas del exceso de homocisteína se exponen en la tabla 1. Un gran grupo de factores son los nutricionales, entre los que destaca el déficit de ácido fólico (fig. 3)⁴. La relación entre el ácido fóli-

Tabla 1. Factores asociados a la hiperhomocist(e)inemia

Mutaciones de los enzimas esenciales
MTHFR (C677T)
Cistationina beta-sintasa
Metionina sintasa
Edad/sexo
Menopausia
Tabaquismo
Inactividad física
Enfermedades
Insuficiencia renal
Psoriasis severa
Cáncer, leucemia linfoblástica aguda
Lupus eritematoso sistémico
Diabetes mellitus
Trasplante de órganos
Respuesta de fase aguda
Déficit nutricionales
Folato
Vitamina B ₁₂
Vitamina B ₆
Fármacos
Metotrexato
Fenitoína
Carbamazepina
Anticonceptivos orales con estrógenos
Colestipol, colestiramina, ácido nicotínico
Ciclosporina

co y la homocisteína es hiperbólica, por lo que en los individuos con concentraciones altas de ácido fólico la hiperhomocisteinemia es rara.

Como se ha descrito en el apartado referente al metabolismo de la homocisteína, tanto el ácido fólico, como las vitaminas B₆ y B₁₂ funcionan como cofactores y sustratos en el metabolismo de la metionina y de la homocisteína. Por tanto, el déficit

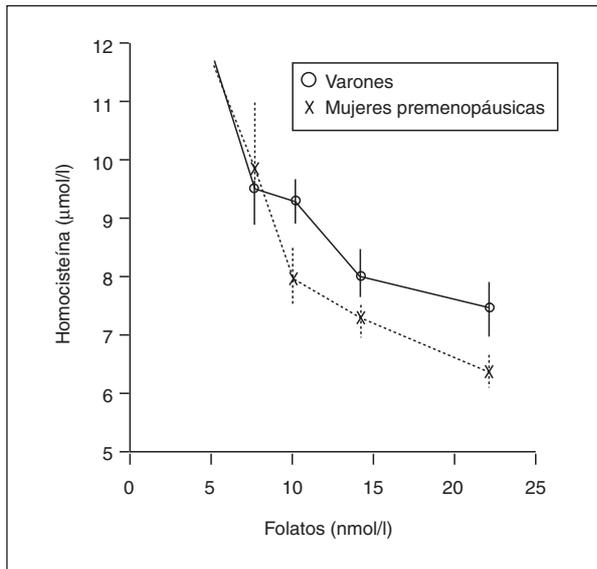


Figura 3. Media geométrica ($\mu\text{mol/l}$) de la concentración sérica de homocisteína en varones y mujeres premenopáusicas según la concentración de folatos en suero (nmol/l). Tercer estudio nacional de salud y nutrición (fase 2), 1991-1994. Las líneas verticales indican el intervalo de confianza del 95%. (Modificada de Morris et al⁴.)

de estas vitaminas provoca un aumento de la concentración plasmática de homocisteína. En muchos países industrializados, sobre todo los situados fuera del área mediterránea, el consumo de ácido fólico es insuficiente. En Estados Unidos se añaden suplementos de esta vitamina a determinados alimentos, entre ellos las harinas de cereales y los cereales del desayuno.

Otro grupo de factores que causan hiperhomocisteinemia son las mutaciones en los genes de las enzimas que intervienen en el metabolismo de la homocisteína. Entre estos factores, el más frecuente es la mutación C677T (Ala222Val) en el gen de la enzima MTHFR. Los individuos homocigotos para la mutación Ala222Val (Val/Val) tienen unas concentraciones de homocisteína significativamente más elevadas que aquellos con un genotipo Ala/Val o Ala/Ala. Existe una interacción entre la mutación C677T y el déficit de ácido fólico con las concentraciones plasmáticas de homocisteína. Los individuos Val/Val tienen unos mayores requerimientos de ácido fólico y en ellos el déficit de esta vitamina parece influir más intensamente sobre las concentraciones de homocisteína que en los individuos no homocigotos para la mutación. En las poblaciones mediterráneas se observa un mayor porcentaje de individuos Val/Val que en las poblaciones anglosajonas, y en ello puede haber influido el mayor con-

tenido en ácido fólico de la dieta mediterránea. Esta hipótesis se basa en el hecho de que la hiperhomocisteinemia se asocia a trombosis placentarias y a muertes fetales y también a defectos del desarrollo del tubo neural. En las madres homocigotas para la mutación C677T (Val/Val) cuyas dietas son ricas en ácido fólico la hiperhomocisteinemia no se manifestaría y no se producirían las muertes fetales por trombosis placentaria o por defectos del tubo neural, lo cual permitiría la transmisión de la mutación a sus descendientes. En cambio, en las madres Val/Val con un aporte insuficiente de ácido fólico en la dieta, el exceso de homocisteína se manifestaría y daría lugar a una mayor incidencia de muertes fetales y de defectos del tubo neural, lo cual disminuiría la transmisión de la mutación. Las frutas y verduras que abundan en la dieta mediterránea son el principal aporte de ácido fólico.

En una muestra de 72 pacientes de nuestro medio con enfermedad coronaria prematura observamos una prevalencia de la mutación C677T con carácter homocigoto en el 15% de los casos y en un 14% de los controles⁵. Esta prevalencia es superior a la de los países nórdicos y similar a la de otros países mediterráneos. También hemos hallado una clara agregación familiar de la hiperhomocisteinemia, de modo que los hijos de los pacientes con enfermedad coronaria evidencian unas concentraciones de homocisteína significativamente más altas que los controles de la misma edad.

Se han identificado otras mutaciones menos frecuentes de la MTHFR, de la CBS y de la metionina sintasa, las cuales pueden asociarse a hiperhomocisteinemia⁶.

Las restantes causas de hiperhomocisteinemia se describen en la tabla 1.

La homocisteína como factor aterogénico

Tanto los estudios clínicos como experimentales sugieren que la homocisteína es la responsable de la predisposición a la arteriosclerosis y trombosis que se observa en los pacientes homocistinúricos e hiperhomocistinémicos, pero el mecanismo exacto no es conocido⁷.

La homocistinuria es una enfermedad autosómica recesiva que cursa con aumentos muy acusados de las concentraciones plasmáticas de homocisteína, los cuales pueden llegar a ser 20 veces superiores a los valores normales, y se produce eliminación de homocisteína por la orina. Entre las manifestaciones clínicas de la enfermedad se encuentran el retraso mental, la luxación del cristalino, alteraciones esqueléticas y una arteriosclerosis

prematura⁸. Si la enfermedad no es detectada y tratada de forma temprana existe un riesgo de trombosis arteriales y venosas superior al 50% antes de los 30 años de edad. De hecho, se han descrito estas complicaciones en los primeros años de la vida⁹. La arteriosclerosis afecta a las arterias pequeñas, medianas y grandes de cualquier territorio arterial. En el estudio patológico se observa un engrosamiento de la íntima, afectación de las células musculares lisas con aumento del colágeno intersticial, alteración de la lámina elástica interna y proliferación del tejido conectivo perivasculare.

La homocisteína tiene un efecto citotóxico directo sobre las células endoteliales en cultivo. Se ha observado una alteración de la función endotelial valorada mediante eco-Doppler en los individuos con hiperhomocisteinemia moderada y una mejora de ésta al disminuir la concentración de homocisteína mediante el tratamiento con ácido fólico¹⁰. La homocisteína puede promover la oxidación de las LDL mediante la producción de especies de oxígeno reactivas, como el peróxido de hidrógeno, y se ha descrito un efecto promotor de la multiplicación de las células musculares lisas y una disminución de la síntesis de ADN en las células endoteliales. La hiperhomocisteinemia se ha asociado a una disminución de la vida media y a un aumento de la adhesividad y agregabilidad de las plaquetas en algunos estudios aunque no en todos. También se ha observado una alteración en la función de distintos factores que intervienen en la coagulación, entre ellas una disminución de la actividad antitrombina sérica y de los factores V y VII, disminución de la activación de la proteína C y descenso de la unión del t-PA. Además, la homocisteína puede potenciar la activación del factor Xa, activar el factor V, y provocar alteraciones de la unión de la antitrombina III y de la secreción del factor de Von Willebrand¹¹.

Homocisteína y riesgo cardiovascular

Existe una clara asociación entre la concentración plasmática de homocisteína y la extensión anatómica de la arteriosclerosis, tanto del territorio coronario, como carotídeo y de las extremidades inferiores¹². Más de 80 estudios prospectivos y retrospectivos apoyan la hipótesis de que el exceso de homocisteína plasmática se asocia a un riesgo aumentado de enfermedad coronaria, vascular cerebral y periférica¹³⁻¹⁹.

La relación entre la concentración de homocisteína y el riesgo cardiovascular es gradual, continua, y no existe un valor umbral a partir del cual se inicia o desaparezca el riesgo. Los resultados de un

metaanálisis sugirieron que por cada 4 $\mu\text{mol/l}$ de aumento en la concentración de homocisteína se producía un aumento del riesgo relativo de enfermedad coronaria de un 32% (intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,05-2,65)¹⁶. En términos generales, las personas con hiperhomocisteinemia moderada tienen un riesgo relativo 1,3-5 veces superior de enfermedad coronaria, de 2,5-5 veces de enfermedad vascular cerebral y de 2,9-5 veces de arteriopatía de las extremidades inferiores que las personas con concentraciones normales. En nuestro medio la prevalencia de hiperhomocisteinemia, definida como la concentración de homocisteína por encima del percentil 90 de la población sana, en los pacientes con enfermedad coronaria prematura era del 22%²⁰.

La relación entre la hiperhomocisteinemia y el riesgo cardiovascular es independiente de otros factores de riesgo convencionales²¹; sin embargo, la homocisteína interactúa de forma muy acusada con otros factores aterogénicos, como el tabaco, la hipertensión²² y la diabetes. En el estudio Hoorn se observó que la hiperhomocisteinemia ($> 14 \mu\text{mol/l}$) se asociaba a una mayor mortalidad cardiovascular y por todas las causas en los diabéticos que en los no diabéticos²³. En los diabéticos con hiperhomocisteinemia el riesgo relativo de mortalidad a los 5 años, ajustado para otros factores con respecto a la población no hiperhomocisteinémica, era de 2,5 (IC del 95%, 1,07-5,91), mientras que en los no diabéticos este riesgo era de 1,34 (IC del 95%, 0,87-2,06). La hiperhomocisteinemia es también un factor de riesgo de trombosis venosa y de tromboembolismo pulmonar²⁴ y, por tanto, debe tenerse en cuenta en los pacientes que padezcan estos trastornos, en particular cuando aparecen sin una causa aparente, son recurrentes o tienen una presentación familiar.

Diagnóstico de la hiperhomocisteinemia

Las concentraciones de homocisteína determinadas en distintos laboratorios con distintos métodos han tenido unos resultados similares²⁵. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las muestras requieren ser procesadas de forma metódica para evitar errores de medición. Es importante separar rápidamente el plasma o el suero de las células mediante centrifugación y conservar las muestras en frío y protegidas de la luz hasta la determinación de la concentración de homocisteína.

El coste de la determinación de homocisteína y la falta de evidencias concluyentes sobre el beneficio de tratar el exceso de este aminoácido hacen que no sea recomendable hacer cribados de pobla-

ción general. Teniendo en cuenta que la hiperhomocisteinemia es un trastorno que tiene una clara agregación familiar²⁶, debería determinarse la homocisteína en los familiares de primer grado de los pacientes con hiperhomocisteinemia. También en los pacientes con enfermedad isquémica prematura y en aquellos sin otros factores de riesgo aparentes o con alguna de las causas de hiperhomocisteinemia que constan en la tabla 1, como por ejemplo el tratamiento con antiepilépticos. En un estudio de familias con enfermedad coronaria prematura, observamos que el 36% de los hijos presentaban una hiperhomocisteinemia, definida como una concentración superior al percentil 90 de la población sana de su grupo de edad y sexo²⁰.

Aunque para el estudio de la homocisteína no es necesario el ayuno, en la práctica habitual se determina después de una noche de ayuno (homocisteína basal). El estudio después de una sobrecarga de metionina puede detectar un porcentaje adicional y variable de casos de hiperhomocisteinemia no detectados con la determinación de la homocisteína basal, sobre todo los debidos a trastornos de la vía de la transulfuración^{27,28}. Sin embargo, la utilidad real de la sobrecarga de metionina no ha sido bien definida, ya que existen datos controvertidos en la bibliografía. Por ello, hoy se puede considerar como una prueba reservada a la investigación.

Junto con la determinación de la homocisteína hay que medir la concentración de ácido fólico, de cobalaminas y si es posible de vitamina B₆. El ácido fólico es la vitamina que más fuertemente se correlaciona con las concentraciones de homocisteína en plasma y su relación con el riesgo cardiovascular parece deberse a este hecho. La vitamina B₆ tiene una relación más débil con la concentración de homocisteína, pero más clara e independiente con el riesgo cardiovascular, lo que sugiere que influye a través de otros mecanismos sobre la arteriosclerosis. La necesidad de determinar la vitamina B₁₂ se basa en que su déficit es relativamente frecuente, sobre todo en la tercera edad, y si éste no se corrige es difícil normalizar la homocisteína. Por otra parte, la administración de suplementos de ácido fólico a pacientes con déficit de vitamina B₁₂ podría enmascarar las manifestaciones hematológicas de este último y dar lugar a la aparición de las complicaciones neurológicas del déficit de cobalaminas.

Medidas terapéuticas para controlar el exceso de homocisteína plasmática

Existen datos que sugieren que el tratamiento de la hiperhomocisteinemia afecta de forma favorable

a la evolución de la arteriosclerosis. En un estudio con un pequeño tamaño muestral, el tratamiento con ácido fólico, vitaminas B₆ y B₁₂ se asoció con una disminución de la progresión de las placas de ateroma carotídeas después de un tiempo medio de seguimiento de 4,4 ± 1,5 años²⁹. Recientemente se ha observado el efecto beneficioso del tratamiento de la hiperhomocisteinemia en la prevención de la aterosclerosis subclínica, valorada mediante prueba de esfuerzo. Entre 158 hermanos sanos de 167 pacientes con enfermedad aterotrombótica precoz, 78 fueron aleatorizados a ser tratados con 5 mg de ácido fólico + 250 mg de vitamina B₆ al día y 80 con placebo durante 2 años. La homocisteína disminuyó en el grupo de tratamiento con vitaminas desde 14,7 a 7,4 µmol/l y en el grupo placebo de 14,7 a 12,0 µmol/l. La concentración de homocisteína postsobrecarga con metionina también fue significativamente inferior en el grupo tratado con ácido fólico y vitamina B₆. Se observó una menor incidencia de positividad en la prueba de esfuerzo a los 2 años de seguimiento en el grupo tratado con vitaminas (7/68) que en el grupo placebo (11/66). El tratamiento con vitaminas se asoció a un riesgo de presentar una prueba de esfuerzo positiva de 0,40 (IC del 95%, 0,17-0,93; p = 0,035)³⁰. Este estudio, aunque adolece de problemas metodológicos y, por tanto, la interpretación de sus resultados debe realizarse con cautela, sugiere que el tratamiento de la hiperhomocisteinemia disminuye el riesgo de enfermedad coronaria.

Criterios de tratamiento

En distintos estudios se ha observado que la concentración de homocisteína a partir de la cual el riesgo cardiovascular aumentaría de forma significativa oscila entre 9 y 10,3 µmol/l^{31,32}. Por tanto un objetivo razonable es lograr una concentración de homocisteína basal inferior a 10 µmol/l en aquellos individuos en situación de riesgo. Este objetivo, al igual que ocurre con el colesterol, es más razonable que el basado en la media ± 2 DE de la población general.

En las personas con una concentración de homocisteína elevada la primera medida terapéutica es una alimentación rica en ácido fólico y vitamina B₁₂ y B₆, que incluya 400 µg, 2,4 µg y 1,7 mg diarios de estas vitaminas, respectivamente. En las mujeres embarazadas o en período de lactancia estas necesidades se incrementan³³ y también en determinadas patologías, como la insuficiencia renal. Un aporte de ácido fólico de 300 a 450 µg/día asegura una concentración de homocisteína normal/baja en la mayoría de la población. En la po-

Tabla 2. Alimentos ricos en ácido fólico

Alimento	Cantidad (g)	Ácido fólico (µg)
Patatas hervidas	180	50
Espinacas	180	160
Judías verdes	180	60
Coles de bruselas	180	200
Coliflor hervida	180	100
Guisantes hervidos	180	90
Tomate	85	15
Naranja	160	60
Aguacate	150	100
Plátano	100	20
Melón	180	50

Tabla 3. Dosis de vitaminas recomendadas para el tratamiento de la hiperhomocisteinemia

	Dosis diaria (mg)
Ácido fólico	0,4-5
+ Vitamina B ₆ *	25
+ Vitamina B ₁₂	0,5

*No es necesaria si se normaliza la homocisteína con ácido fólico y vitamina B₁₂.

blación europea el consumo medio diario de folatos en varones y mujeres es de 291 (197-326) y 247 µg/día (168-320), respectivamente. Ya que un porcentaje significativo de la población no cubre los requerimientos diarios de ácido fólico, una estrategia poblacional razonable es recomendar un aumento en el consumo de alimentos ricos en esta vitamina. Entre ellos se encuentran los que se exponen en la tabla 2³⁴. Entre estos alimentos hay que destacar los cereales enriquecidos, los vegetales de hoja verde, las frutas y las legumbres. Como fuentes de vitamina B₆ se encuentran también los cereales enriquecidos, las frutas no cítricas, el pollo, la ternera y algunos vegetales como los espárragos, alcachofas, judías y col. Las principales fuentes alimentarias de vitamina B₁₂ son la ternera, el pollo, el pescado y también los cereales enriquecidos. Los vegetarianos estrictos suelen tener unas concentraciones de vitamina B₁₂ disminuidas y la concentración de homocisteína suele ser superior a la de la población general. Ya que entre un 10-30% de los ancianos tienen una malabsorción para la vitamina B₁₂, se recomienda que a partir de los 50 años de edad se consuman alimentos enriquecidos en esta vitamina o se administren suplementos.

El ácido fólico se destruye fácilmente mediante el calentamiento excesivo y prolongado, la cocción en hornos de microondas y mediante la ebullición prolongada o con cantidades excesivas de agua, desechando el agua de la cocción.

Si la dieta no es suficiente, se aconseja administrar suplementos de vitaminas. En el tratamiento de la hiperhomocisteinemia moderada se administran dosis de 0,4-5 mg/día (tabla 3), que son efectivas en la gran mayoría de los casos y disminuyen un 25-50% la concentración de homocisteína. El ácido fólico es un tratamiento inocuo y de bajo coste, cuyo único riesgo potencial es el de enmascarar un posible déficit de vitamina B₁₂, aunque es raro con dosis de ácido fólico inferiores a 10 mg al día. La adición de vitamina B₆ no tiene efecto sobre la concentración basal de homocisteína, pero sí tras una sobrecarga de metionina. La vitamina B₆ es también un tratamiento inocuo cuando se da a dosis bajas (< 100 mg/día), pero a dosis altas puede precipitar una neuropatía periférica cuando se da a largo plazo³⁵⁻³⁹. Las dosis diarias de vitamina B₆ y de vitamina B₁₂ que se aconsejan son de 25 y 0,5 mg, respectivamente.

Actualmente están en curso diversos ensayos clínicos controlados sobre el efecto de la administración de ácido fólico solo o asociado a otras vitaminas del grupo B, o a otras medidas preventivas en la incidencia de mortalidad y morbilidad cardiovascular en los que se han incluido más de 50.000 personas.

Bibliografía

- Duell PB, Malinow MR. Homocyst(e)ine: an important risk factor for atherosclerotic vascular disease. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8: 28-34.
- Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomized trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344: 1383-1389.
- Peterschmitt MJ, Simmons JR, Levy HL. Reduction of false negative results in screening of newborns for homocystinuria. *N Engl J Med* 1999; 341: 1572-1576.
- Morris MS, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH. Total homocysteine and estrogen status indicators in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 2000; 152: 140-148.
- Pintó X, Vilaseca MA, Ferrer I, Mainou C, Palá M, Meco JF et al. Hyperhomocisteinemia as a risk factor for premature coronary artery disease. Relation with vitamin status and the C677T mutation of the MTHFR gene. *Netherlands J Med* 1998; 52: S30.
- 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: 163-170.
- Welch GN, Loscalzo J. Mechanisms of disease: Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-1050. (Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-126.)
- McCully KS. Vascular pathology of homocyst(e)inemia: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 11-28.
- Campistol J, Carit J, Ruiz S, Vilaseca MA, Kirkham F, Blom HJ. Fatal haemorrhagic infarct in an infant with homocystinuria. *Develop Med Child Neurol* 1999; 41: 132-135.

10. Woo KS, Chook P, Lolin YI, Sanderson JE, Metreweli C, Celermajer DS. Folic acid improves arterial endothelial function in adults with hyperhomocysteinemia. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 2002-2006.
11. Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Medicine* 1998; 49: 31-62.
12. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J Jr, Hankey G, Yusuf S. Homocyst(e)ine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 1999; 131: 363-375.
13. Kang SS, Wong PW, Cook HY, Norusis M, Messes JV. Protein-bound homocyst(e)ine: a possible risk factor for coronary artery disease. *J Clin Invest* 1986; 77: 1482-1486.
14. Genest JJ, 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: 1114-1119.
15. 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: 877-881.
16. 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: 1049-1057.
17. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274: 1526-1533.
18. Fernández-Miranda C, Aranda JL, Gómez González P, Díaz-Rubio P, Estenez J, Gómez de la Cámara A. La hiperhomocisteinemia es frecuente en pacientes con enfermedad coronaria. Estudio de 202 enfermos. *Med Clin (Barc)* 1999; 113: 407-410.
19. Bostom AG, Rosenberg IH, Silbershatz H, Jacques PF, Selhub J, D'Agostino RB et al. Nonfasting plasma total homocysteine and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. *Ann Int Med* 1999; 131: 352-355.
20. Pintó X, Vilaseca MA, García-Giralt N, Ferrer I, Palá M, Meco JF et al. Homocysteine and the MTHFR 677C → T allele in Spanish patients with premature coronary artery disease. Case control and family studies. *Eur J Clin Invest* (en prensa).
21. 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: 1149-1155.
22. 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: 1775-1781.
23. 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: 1506-1511.
24. Stein JH, McBride PE. Hyperhomocysteinemia and atherosclerotic vascular disease: pathophysiology, screening, and treatment. *Arch Intern Med* 1998; 158: 1301-1306.
25. 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.
26. 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.
27. Tsai MY. Laboratory assessment of mild hyperhomocysteinemia as an independent risk factor for occlusive vascular disease. *Clinical Chem* 1996; 42: 492-493.
28. Vilaseca MA, Moyano D, Artuch R, Ferrer I, Pineda M, Cardo E et al. Selective screening for hyperhomocysteinemia in pediatric patients. *Clin Chem* 1998; 44: 662-664.
29. Peterson JC, Spence JD. Vitamins and progression of atherosclerosis in hyperhomocyst(e)inemia [carta]. *Lancet* 1998; 351: 263.
30. Vermeulen EGJ, Stehouwer CDA, Twisk JWR, Van der Berg M, De Jong SC, Mackaay AJC 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: 517-522.
31. 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: 230-236.
32. Omenn GS, Beresford SA, Motulsky AG. Preventing coronary heart disease: B vitamins and homocysteine. *Circulation* 1998; 97: 421-424.
33. 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, 1999.
34. Recomendaciones sobre suplementación con ácido fólico para la prevención de defectos del tubo neural. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 1998; 22: 150-151.
35. Verhoef P, Kok FJ, Kruyssen DACM, Schouten EG, Witteman CM, Grobbee DE et al. Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 989-995.
36. 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. *Circulation* 1998; 97: 437-443.
37. Ubbink JB. Vitamin nutrition status and homocysteine: an atherogenic risk factor. *Nutrition Reviews* 1994; 52: 383-393.
38. Selhub J, Jacques PF, Wilson PWF, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-2698.
39. Schwartz SM, Siscovic DS, Malinow R, Rosendaal FR, Beverly K, Hess DL et al. Myocardial infarction in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation* 1997; 96: 412-17.18-22.