

# Homocisteína plasmática posterior a carga oral de metionina en sujetos sanos con nivel adecuado de vitaminas B

Mardia López-Alarcón,\* Adolfo Chávez-Negrete,\*\* Irene Montalvo-Velarde,\*\*\*  
Jorge Maldonado-Hernández,\* Víctor Saúl Vital-Reyes<sup>§</sup>

## Resumen

**Introducción:** La determinación de homocisteína (Hcy) plasmática seis a ocho horas después de una carga oral de metionina (COM) permite identificar sujetos con riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular, pero no a todos. Probablemente en algunos casos la Hcy posdosis se eleve más tarde o se eleve dentro de límites normales pero en forma sostenida. Sin embargo, la curva completa no ha sido descrita. **Objetivo:** determinar las concentraciones de Hcy 24 y 48 horas después de una COM en adultos sin deficiencia de vitaminas B pero con otros factores de riesgo de hiperhomocisteinemia como tabaquismo y obesidad.

**Material y métodos:** Diseño clínico transversal. Se determinó la concentración de Hcy en ayuno, cada dos horas durante 12 horas, y a las 24 y 48 horas posmetionina (0.1 g/kg). Se midieron concentraciones de Hcy y vitamina B<sub>6</sub> por HPLC, y ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub> por RIA. El análisis estadístico incluyó valores delta y áreas bajo la curva; se uso t de Student y análisis de mediciones repetidas para ajustar por variables de confusión.

**Resultados:** Participaron 29 sujetos con concentraciones basales adecuadas de Hcy, ácido fólico, vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>. La concentración máxima de Hcy se observó ocho horas después de la COM y regresó a niveles basales después de 24 horas. Todos los sujetos mostraron Hcy normal posterior a la dosis, pero el tabaquismo y el sobrepeso influyeron sinérgicamente causando elevación sostenida después de la COM.

**Conclusiones:** La Hcy permanece elevada por lo menos 24 horas después de la COM. El tabaquismo y el sobrepeso influyen en la respuesta.

**Palabras clave:** Homocisteína, carga oral de metionina, ácido fólico, vitamina B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>12</sub>.

## Abstract

**Background:** Plasma homocysteine (Hcy) determination at 6-8 h after an oral methionine load (OML) allows for identification of some, but not all, individuals at risk to develop cardiovascular disease. It is probable that in some cases the Hcy increases occur later, or it elevates between normal ranges but in a sustained manner. However, the entire Hcy response curve has not been described. We undertook this study to determine Hcy concentrations from baseline to 24- and 48-h after an OML in non-B-vitamin deficient adult subjects with other risk factors for high levels of Hcy such as smoking and overweight.

**Methods:** In a cross-over, clinical design, Hcy concentrations were determined at 2-h intervals throughout 12 h and at 24 h and 48 h after an OML (0.1 g/kg). Hcy and vitamin B<sub>6</sub> (VB<sub>6</sub>) concentrations were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC). Folic acid (FA) and vitamin B<sub>12</sub> (VB<sub>12</sub>) were measured by radioimmunoassay (RIA). Statistical analysis included delta values and areas under the curve. Student t-test and repeated measurement analyses were conducted to control for confounders.

**Results:** Twenty nine subjects with adequate Hcy, FA, VB<sub>6</sub> and VB<sub>12</sub> status were included. The maximum Hcy concentration occurred 8 h after the load and returned to baseline concentrations after 24 h. All subjects presented Hcy after the load within normal ranges, but smoking and overweight synergistically influenced the response to the challenge, producing a sustained elevation after the dose.

**Conclusions:** Hcy concentrations after an OML remained above baseline for at least 24 h. Smoking and overweight affected the response to the methionine challenge.

**Key words:** Homocysteine response, oral methionine test, folic acid, vitamin B<sub>6</sub>, vitamin B<sub>12</sub>.

\* Unidad de Investigación Médica en Nutrición, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), México, D. F.

\*\* Unidad Biomédica de Investigación en Cardiología, Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS, México, D. F.

\*\*\* Centro de Investigación, Facultad de Química, Universidad La Salle, México, D. F.

§ Departamento de Biología de la Reproducción, Hospital de Gineco-Obstetricia, CMN La Raza, IMSS, México, D. F.

## Correspondencia:

Mardia López-Alarcón.

Apartado Postal C-029, Coahuila 5, Col. Roma, Del. Cuauhtémoc, 06703 México, D. F.

Tel. y fax: (55) 5627 6944.

Correo electrónico: marsau2@prodigy.net.mx

Recibido para publicación: 24-09-2010

Aceptado para publicación: 21-01-2011

## Introducción

La hiperhomocisteinemia es considerada un factor independiente de riesgo cardiovascular.<sup>1,2</sup> Aunque la medición de homocisteína (Hcy) en ayuno puede identificar a un número importante de sujetos en riesgo, la carga oral de metionina (COM) se utiliza para detectar hiperhomocisteinemia en una proporción adicional de pacientes.<sup>3-5</sup> Cabe mencionar que otra parte importante de sujetos con riesgo cardiovascular no manifiesta hiperhomocisteinemia, ya sea en ayuno o posterior a una COM.

La COM desencadena una respuesta en la Hcy que se evalúa cuantificando su concentración en su pico más alto, el cual generalmente ocurre dentro de las cuatro a ocho horas posteriores a la administración de metionina. De esta manera, la medición de un solo punto posdosis se utiliza para identificar sujetos en riesgo.<sup>3-6</sup> Sin embargo, es probable que algunas alteraciones en la vía metabólica de metionina-homocisteína-metionina se hagan evidentes como una respuesta moderada pero sostenida y, por lo tanto, pueden pasar desapercibidas cuando se hacen exclusivamente mediciones en ayuno o en un solo punto posdosis. Este escenario toma importancia ya que el aumento en los niveles de Hcy, aunque leve, puede ser suficiente para producir daño endotelial,<sup>7,8</sup> lo cual resalta aún más la importancia de identificar a los sujetos que cursan con este tipo de alteración.

Se desconoce el comportamiento que sigue la Hcy en adultos sanos en respuesta a una COM; una vez que se conozca este patrón podrán hacerse comparaciones contra sujetos potencialmente enfermos. Esta curva debe ser descrita tomando en cuenta los factores determinantes de las concentraciones de Hcy, ya sea en ayuno o posteriores a una COM, como la edad, el sexo, el tabaquismo, el estado nutricio, las proteínas obtenidas de la dieta,<sup>9-16</sup> y la deficiencia de las vitaminas que participan en las vías de remetilación y transulfuración de la Hcy: ácido fólico, vitamina B<sub>6</sub> y vitamina B<sub>12</sub>.<sup>12,13</sup>

En este estudio se describe la curva de Hcy en respuesta a una COM, en un periodo de 48 horas, en un grupo de individuos sanos y sin deficiencia de ácido fólico, vitamina B<sub>6</sub> y vitamina B<sub>12</sub>. Para la elaboración de la curva se consideró la influencia del sexo, la edad, la obesidad y el tabaquismo.

## Material y métodos

### Diseño del estudio

Se realizó un estudio clínico transversal en un grupo de adultos aparentemente sanos que de manera voluntaria

acudieron a la Unidad de Investigación Médica en Nutrición y a la Unidad Biomédica de Investigación en Cardiología del Instituto Mexicano del Seguro Social, en la Ciudad de México. A través de una carta de consentimiento informado, los participantes otorgaron su anuencia para participar de manera voluntaria. El protocolo fue aprobado por el comité de ética del Instituto Mexicano del Seguro Social.

### Sujetos

Se reclutaron 29 individuos que reunieron los criterios de selección. En todos se descartó patología sistémica crónica a través de la historia clínica. A través de un formato diseñado *ex profeso* se corroboró que todos los participantes no habían consumido suplementos vitamínicos o medicamentos en el último año que interfirieran con el metabolismo de la Hcy. De la misma manera, en todos los sujetos se confirmó una adecuada función cardiopulmonar y renal a través de parámetros clínicos y de laboratorio. Adicionalmente se determinó el índice de masa corporal y ante tabaquismo positivo se registró el número de cigarrillos por día en los últimos seis meses.

### Carga oral de metionina

Los 29 sujetos que cumplieron con los criterios de selección fueron citados a las siete horas en la Unidad de Investigación Médica en Nutrición después de 12 horas de ayuno, donde permanecieron por 12 horas con el fin de realizar la primera parte del estudio, que consistió en tomar muestras sanguíneas a intervalos de dos horas durante 12 horas (T0-T12). A todos los sujetos se les recomendó una dieta estandarizada baja en proteínas desde la noche previa al estudio y durante el seguimiento. A su llegada a la Unidad se les pidió que permanecieran sentados durante 15 minutos antes de iniciar la toma de las muestras sanguíneas.

Se tomó una muestra basal por punción venosa (T0) y se colocó un catéter antecubital heparinizado antes de la administración oral de una carga de metionina a razón de 0.1 g/kg de peso corporal disuelta en 125 ml de jugo de frutas. Posteriormente se obtuvieron muestras de sangre a las dos, cuatro, seis, ocho, 10 y 12 horas posteriores a la administración oral de la metionina (T2-T12) y se les pidió que regresaran a las 24 (T24) y 48 (T48) horas para la obtención de muestras sanguíneas en condiciones basales. En T0 se determinaron Hcy, ácido fólico y vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>. En los tiempos subsecuentes se midió solo Hcy.

### Determinaciones sanguíneas de Hcy, ácido fólico y vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>

Las muestras de sangre se obtuvieron bajo luz dorada para protección UV y se emplearon tubos cerrados al vacío con EDTA. Las muestras se mantuvieron a 4 °C hasta que fueron centrifugadas a 300 rpm por 15 minutos, lo cual se llevó a cabo en la primera media hora posterior a su obtención. Se separó el plasma en viales color ámbar y se almacenó a -70 °C hasta su análisis. La Hcy y vitamina B<sub>6</sub> se midieron a través de cromatografía líquida de alta presión (Waters 600®, Milford, MA, USA) con detector de fluorescencia (modelo 474) y columnas de 4.6 × 250 mm (ODS Hyper-sil®, Keystone Scientific, Bellafonte, PA, y Nova-Pak® C18 4 µm, Waters, Milford, MA, USA) para Hcy y vitamina B<sub>6</sub>, respectivamente. La vitamina B<sub>12</sub> y el ácido fólico se determinaron por radioinmunoanálisis con estuches comerciales (ICN Pharmaceuticals®, Costa Mesa, CA, USA). Los coeficientes de variación fueron 2.8% para Hcy, < 7% para vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub> y < 10% para ácido fólico.

### Análisis estadístico

Para el manejo estadístico de los datos se utilizó el programa estadístico Minitab® (versión 14.2, State College, PA). Los valores se expresan como media ± desviación estándar. Los resultados principales fueron:

- La concentración cruda de Hcy en ayuno y en los diferentes tiempos posteriores a la administración oral de metionina.
- El cambio máximo de los niveles de Hcy sobre el basal ( $\Delta_{\max}$ ).
- Las áreas bajo la curva (ABC), calculadas por aproximación trapezoidal.

La influencia de la edad, sexo, tabaquismo, índice de masa corporal, y estado nutricio de las vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico, sobre las concentraciones de Hcy se analizó con análisis de varianza para mediciones repetidas usando un modelo general de regresión lineal. El modelo se ajustó tomando en cuenta las concentraciones de vitaminas B plasmáticas en ayuno. Para comparaciones múltiples se utilizó la prueba de Bonferroni y para comparaciones con el control (T0) se utilizó prueba de Dunnet. Se estableció un nivel de significación ≤ 0.05.

## Resultados

Se analizaron los datos de 29 sujetos de 20 a 54 años de edad, de los cuales 16 (55.2%) eran del sexo masculino,

ocho (27.6%) presentaron sobrepeso (IMC > 27) y 19 (31%) refirieron ser fumadores. En todos los participantes se completó la primera fase del estudio que incluyó determinaciones basales y hasta las primeras 12 horas (T0-T12). En 22 sujetos se completaron las determinaciones de Hcy hasta 24 horas (T24) después de la administración oral de metionina y en 17 sujetos 48 horas (T48) posteriores a la COM. En todos los participantes se realizaron las determinaciones basales de ácido fólico, vitamina B<sub>6</sub> y vitamina B<sub>12</sub>, las cuales se encontraron dentro de los límites fisiológicos<sup>17-19</sup> (cuadro I).

Las concentraciones de Hcy en los diferentes tiempos posteriores a la COM se presentan como datos crudos. La concentración media de Hcy en ayuno (9.93 ± 0.58 µmol/l) fue menor de 12 µmol/l, límite utilizado para diagnosticar hiperhomocisteinemia.<sup>1</sup> Las concentraciones seis a ocho horas (T6-T8) después del reto se encontraron dentro de los límites normales establecidos para una sola medición poscarga, de acuerdo con Sassi y sus colaboradores.<sup>12</sup> Las concentraciones de Hcy después de la administración de metionina fueron comparativamente mayores que las basales desde T2 hasta T24 ( $p < 0.01$ ); no se observaron diferencias significativas entre las concentraciones de Hcy en el T48 comparado con el T0 ( $d = 0.404$ , IC 95% = -0.16, 0.97 mol/l,  $p = 0.15$ ). En promedio, la máxima concentración Hcy ocurrió en el T8 (35.20 ± 1.71 µmol/l), sin embargo, este valor no fue diferente del encontrado en los tiempos T6-T12 ( $p > 0.15$ ). Aunque la concentración plasmática de Hcy en el T24 fue menor que en el T12 ( $p < 0.001$ ), este valor permaneció por arriba del punto de corte de 12 µmol/l (17.94 ± 1.22 µmol/l;  $p < 0.001$ ) (cuadro II y figura 1). Solo cuatro de los 22 sujetos evaluados en T24 regresaron a su estado basal en este punto.

El análisis comparativo entre fumadores y no fumadores demostró que las concentraciones de Hcy en ayuno y el  $\Delta_{\max}$  fueron superiores en el grupo de sujetos con tabaquismo positivo. De la misma manera, los sujetos con sobrepeso presentaron concentraciones de Hcy en ayuno,

**Cuadro I.** Concentraciones plasmáticas de vitaminas B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> y ácido fólico en condiciones basales (T0) en 29 sujetos sanos

	Media ± DE	Valor normal
Vitamina B <sub>6</sub> (nmol/l)	89.52 ± 7.26	> 20.00*
Vitamina B <sub>12</sub> (pmol/l)	451.50 ± 54.00	> 110.00**
Ácido fólico (nmol/l)	27.84 ± 2.43	> 6.80***

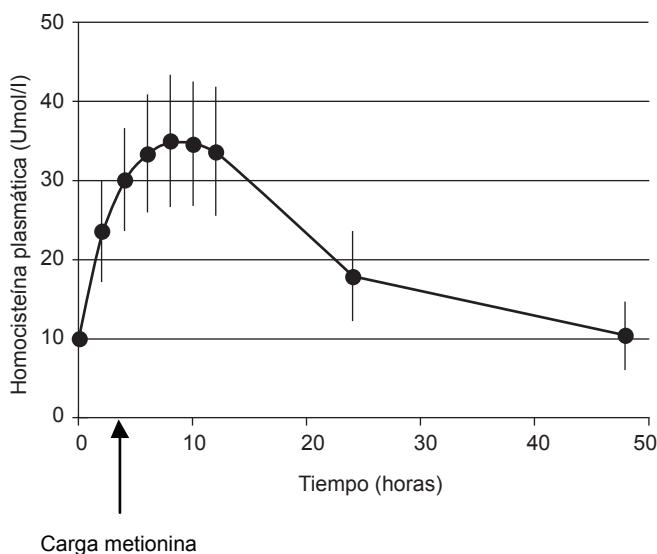
\*Referencia 17, \*\*referencia 18, \*\*\*referencia 19.

DE = desviación estándar, T0 = tiempo previo a la administración oral de metionina.

**Cuadro II.** Concentraciones plasmáticas de homocisteína del estado basal hasta 48 horas posteriores a una carga oral de metionina en 29 sujetos sanos

Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )	Media $\pm$ DE	Mediana (cuartil 25, cuartil 75)
Ayuno	9.93 $\pm$ 3.14	9.18 (8.15, 10.93)
T2	24.03 $\pm$ 6.15	24.40 (19.20, 27.71)
T4	30.50 $\pm$ 7.02	28.61 (27.48, 35.04)
T6	33.59 $\pm$ 8.10	32.70 (28.72, 37.09)
T8	35.20 $\pm$ 9.20	32.84 (30.04, 39.40)
T10	34.64 $\pm$ 9.46	33.02 (27.79, 40.07)
T12*	31.51 $\pm$ 9.07	31.60 (24.76, 36.61)
T24**	17.94 $\pm$ 5.72	17.59 (14.52, 23.45)
T48***	10.46 $\pm$ 4.33	9.73 (7.74, 23.15)

DE = desviación estándar. \*n = 29, \*\* n = 22, \*\*\*n = 17



**Figura 1.** Respuesta de la homocisteína (Hcy) en una muestra de sujetos sanos seguidos por 48 horas, después de una dosis oral de metionina (0.1 mg/kg de peso corporal). La concentración es diferente de las dos a las 24 horas posteriores a la dosis ( $p < 0.001$ ). La concentración a las 48 horas no es diferente de la basal ( $p = 0.150$ ). Media  $\pm$  DE.

$\Delta_{\text{max}}$  y ABC al T24 y T48 mayores que los sujetos con índice de masa corporal adecuado (cuadro III y figura 2). Además, la concentración de Hcy al T24 en los 12 sujetos con índice de masa corporal adecuado y no fumadores permaneció elevada en comparación con la concentración en ayuno ( $T0 = 8.84 \pm 0.55 \mu\text{mol/l}$ ,  $T24 = 15.61 \pm 2.13 \mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0.001$ ).

El análisis de mediciones repetidas mostró que las concentraciones séricas de Hcy volvieron a las cifras basales hasta después de 24 horas posteriores a la administración de la carga de metionina, aun después de ajustar por edad, sexo, estatus de vitaminas B, tabaquismo e índice de masa corporal. La respuesta de Hcy a la COM se vio afectada en forma sinérgica por el sobrepeso y el tabaquismo (cuadro IV y figura 3). A pesar de que todos los sujetos tuvieron concentraciones adecuadas de vitamina  $B_6$  en ayuno, se encontró un efecto negativo de las concentraciones de esta vitamina sobre la respuesta de la Hcy a la COM (coeficiente  $-0.260$ ,  $p = 0.002$ ). No se encontró ningún efecto con el ácido fólico o la vitamina  $B_{12}$ .

## Discusión

En el presente trabajo describimos las concentraciones plasmáticas de Hcy hasta 48 horas después de una carga oral estandarizada de metionina en sujetos voluntarios con un estado nutricio adecuado de vitaminas  $B_6$ ,  $B_{12}$  y ácido fólico, pero con otros factores de riesgo. Además, analizamos la influencia de algunos factores potenciales sobre el metabolismo de la Hcy, como la edad, el sobrepeso, el sexo y el tabaquismo.

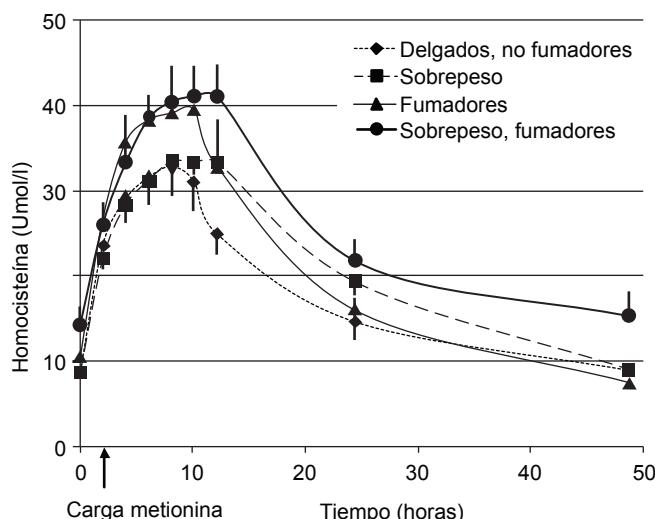
La curva descrita muestra que la Hcy permanece elevada comparativamente con el valor basal hasta 24 horas después del reto. Hasta donde sabemos, ésta es la primera vez que se describe el patrón de la curva respuesta de Hcy a una COM desde el estado basal hasta su recuperación. Es importante mencionar que a pesar de que el estudio incluyó a sujetos fumadores y con sobrepeso, el período de tiempo necesario

**Cuadro III.** Concentraciones plasmáticas de homocisteína basales, cambio máximo desde el basal ( $\Delta_{\max}$ ), y áreas bajo la curva (ABC) posteriores a una carga oral de metionina

	Ayuno (n = 29)	$\Delta_{\max}$ (n = 29)	24-h ABC (n = 22)	48-horas ABC (n = 17)
Homocisteína ( $\mu\text{mol/l}$ )				
Tabaquismo				
Negativo	8.72 $\pm$ 0.36*	33.93 $\pm$ 1.97**	408 $\pm$ 28.40	514 $\pm$ 47.10
Positivo	12.61 $\pm$ 1.36	41.17 $\pm$ 2.72	463 $\pm$ 28.60	554 $\pm$ 40.40
IMC				
< 27	9.26 $\pm$ 0.39	34.68 $\pm$ 2.10**	397 $\pm$ 28.70*	475 $\pm$ 43.00*
$\geq$ 27	11.69 $\pm$ 1.78	40.19 $\pm$ 2.34	486 $\pm$ 13.40	627 $\pm$ 39.90
Muestra total	9.93 $\pm$ 0.58	36.20 $\pm$ 1.69	426 $\pm$ 21.70	526 $\pm$ 35.50

$\Delta_{\max}$  = cambio máximo desde el estado basal, ABC = área bajo la curva de Hcy-por-tiempo,

IMC = índice de masa corporal ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). t de Student: \* $p \leq 0.01$ , \*\* $p \leq 0.05$ .



**Figura 2.** Respuesta de homocisteína (Hcy) estratificada por tabaquismo y estado nutricio: (♦delgados/no fumadores, ■sobre peso, ▲fumadores y ●fumadores/sobre peso). Los fumadores presentan mayores concentraciones que los no fumadores ( $p < 0.01$ ); los sujetos con sobre peso tienen mayores concentraciones que los delgados ( $p = 0.05$ ); los sujetos con sobre peso y fumadores presentan las mayores concentraciones. Media  $\pm$  DE.

para recuperar el estado basal posterior a la COM no se modificó cuando se excluyeron estos sujetos del análisis, lo que sugiere que éste es el patrón de respuesta normal en sujetos sanos.

Sin embargo, no obstante que el tabaquismo y el sobre peso no modificaron el margen de tiempo necesario para recuperar el estado basal de las concentraciones séricas de

Hcy, ambos factores mostraron una influencia directa en el patrón de respuesta de la Hcy al reto con metionina. Mientras que los fumadores presentaron un incremento rápido seguido de una disminución brusca de las concentraciones de Hcy, los sujetos con sobre peso presentaron un incremento más moderado pero sostenido. Este efecto del sobre peso y el tabaquismo sobre la respuesta a la COM mostró, además, un comportamiento sinérgico, por lo que las áreas bajo la curva fueron mayores cuando se conjuntaron ambos factores comparadas con la de sujetos que eran exclusivamente fumadores o solo cursaban con sobre peso.

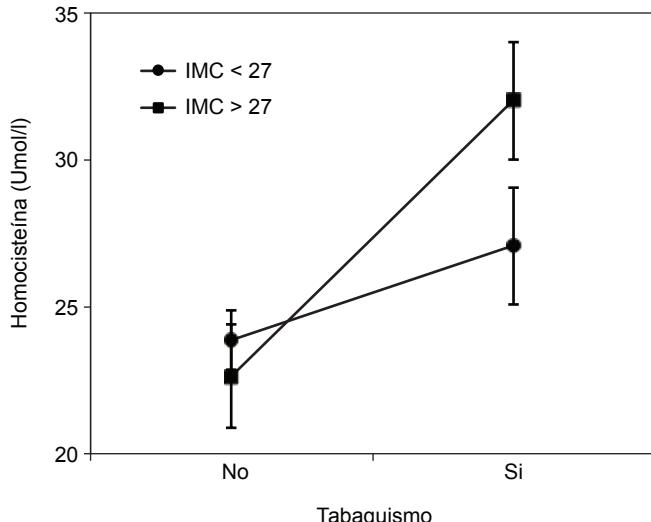
Estos hallazgos son de gran trascendencia pues, de acuerdo con lo publicado por Hanratty y colaboradores,<sup>7</sup> el aumento en las concentraciones de Hcy tras la administración de metionina da como resultado una disminución de 34 a 39% en el flujo endotelial, de tal manera que si este aumento se mantiene por más tiempo se puede incrementar el riesgo. Dicho de otra manera, esto sugiere que en sujetos fumadores y con sobre peso la respuesta sinérgica que resulta en hiperhomocisteinemia sostenida se puede reflejar igualmente en una vasoconstricción sostenida que crónicamente incrementará el riesgo de daño endotelial.

Los mecanismos por los cuales el tabaquismo y el sobre peso influyen sobre la respuesta de la Hcy no se conocen con claridad. Probablemente el efecto se debe a algunos de los componentes del tabaco como la nicotina o del humo del tabaco como el monóxido de carbono, que potencialmente alteran el complejo enzimático necesario para el metabolismo de la Hcy como la metionina sintasa;<sup>20</sup> o a través del efecto negativo del tabaco sobre las concentraciones plasmáticas de vitamina B<sub>6</sub><sup>21</sup> que interactúan con una mayor producción de especies reactivas de oxígeno; o bien al

**Cuadro IV.** Deltas de homocisteína a partir del basal (T0) después de una carga oral de metionina, conforme el efecto del tabaquismo y el sobrepeso\*

	Media	IC 95%	p
Tiempo de muestreo*			
T2	14.04	9.80-18.28	< 0.001
T4	20.67	16.43-24.91	< 0.001
T6	23.76	19.52-28.00	< 0.001
T8	25.44	21.20-29.68	< 0.001
T10	25.12	20.88-29.36	< 0.001
T12	22.32	17.94-26.69	< 0.001
T24	7.86	3.33-12.39	< 0.001
T48	0.42	-4.50, 5.34	0.585
Tabaquismo**	6.292	4.62-7.96	0.010
Sobrepeso***	1.859	-0.04-3.76	0.053
Tabaquismo + sobrepeso	1.545	1.38-1.70	0.003

\*El modelo fue ajustado por edad, sexo y concentraciones de vitaminas B utilizando análisis de mediciones repetidas (Anova y comparaciones *post hoc* por Dunnett) mediante un modelo general de regresión lineal (Minitab 14.2). T0 = basal, T2 a T48 = tiempo de muestreo de dos a 48 horas. \*\*Diferencias contra T0, \*\*\*comparado con no fumadores, \*\*\*comparado con índice de masa corporal < 27.



**Figura 3.** Efecto sinérgico del tabaquismo y el sobrepeso; los valores están ajustados por sexo, edad y concentraciones en ayuno de ácido fólico y vitaminas B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>.

estado de inflamación crónica que ha sido descrito recientemente en la fisiopatología del sobrepeso y la obesidad.<sup>22</sup>

Respecto al efecto negativo del tabaquismo sobre las concentraciones de vitamina B<sub>6</sub>, en este estudio las concentraciones fueron equiparables entre los sujetos fumadores y

no fumadores ( $p = 0.423$ ), por lo que es probable que otros mecanismos como la mayor producción de especies reactivas de oxígeno en los sujetos fumadores y con sobrepeso interfieran con el ciclo metionina-Hcy-metionina.

De cualquier manera resulta interesante que aunque ninguno de los sujetos incluidos en nuestro estudio fue deficiente de vitamina B<sub>6</sub>, la respuesta de la Hcy a la COM se asoció inversamente con la concentración en ayuno de esta vitamina. La participación de piridoxal fosfato (vitamina B<sub>6</sub>) en la vía de transulfuración de la metionina<sup>9</sup> probablemente contribuya a que el ciclo metionina-Hcy sea más eficiente en sujetos con mayores concentraciones de vitamina B<sub>6</sub>.

Sin embargo, los resultados de estudios a gran escala donde se han administrado suplementos con ácido fólico u otras vitaminas del complejo B, aunque han podido lograr una reducción en los niveles de Hcy, no han podido demostrar una disminución en la morbilidad y en la mortalidad por enfermedad cardiovascular.<sup>23</sup> Una explicación posible es que la mayoría de los estudios que han evaluado el uso de suplementos incluyeron a individuos con daño vascular irreversible, como sujetos con antecedentes de infarto miocárdico, embolia o enfermedad congestiva cardiovascular, en quienes la vulnerabilidad de presentar otro evento cardiovascular no puede ser corregida con suplementación. Por lo tanto, el efecto benéfico de la suplementación vitamínica en el riesgo cardiovascular deberá ser analizado en sujetos que aún no tienen daño vascular irreversible pero potencialmente en alto riesgo debido al tabaquismo, obesidad o ambos.

Otros factores que influyen de manera potencial en la respuesta de la Hcy a la COM es la presencia de algunos polimorfismos como el C677T y A1298C en el gen de la metilentetrahidrofolato-reductasa (MTHFR).<sup>24,25</sup> Estudios recientes han indicado que la prevalencia del polimorfismo C677T es frecuente en nuestro país, pero su presencia afecta las concentraciones de Hcy solo cuando hay deficiencia de ácido fólico, además de que tiene un efecto directo sobre las concentraciones de Hcy en ayuno, pero no sobre las concentraciones de Hcy en respuesta a la metionina.<sup>25</sup> Tomando en cuenta que en este estudio ninguno de los sujetos cursaba con deficiencia de ácido fólico es muy probable que la presencia de este polimorfismo no haya modificado la respuesta de la Hcy. Por otra parte, la prevalencia del polimorfismo A1298C es de las más bajas en México y no se ha informado ninguna asociación entre éste y las concentraciones de Hcy.<sup>25</sup>

## Conclusiones

Las evidencias señalan que las concentraciones de Hcy posteriores a la administración de metionina por vía oral a un

grupo de voluntarios sanos regresan a sus valores basales hasta 24 horas después de la administración del reto. También se observa que el tabaquismo y el sobrepeso ejercen una influencia sinérgica en el comportamiento de la curva-respuesta. Estas observaciones son relevantes desde el punto de vista del patrón de comportamiento de la Hcy ante la metionina, pero, además, tiene implicaciones clínicas por el impacto que tiene el reconocimiento de factores que influyen en forma temprana en la historia natural de la enfermedad cardiovascular.

### Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Fondos Sectoriales 2005-13779). Al Instituto Mexicano del Seguro Social (FOFOI IMSS-2004/156) y a la Universidad La Salle (Apoyo para investigación Q-066/2005).

### Referencias

1. Warren CJ. Emergent cardiovascular risk factor: homocysteine. *Prog Cardiovasc Nurs* 2002;17:35-41.
2. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002;325:1202-1206.
3. Bostom AG, Jacques PF, Nadeau MR, Williams RR, Ellison RC, Selhub J. Post-methionine load hyperhomocysteinemia in persons with normal fasting total homocysteine: initial results from the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis* 1995;116:147-151.
4. van der Griend R, Haas FJ, Duran M, Biesma DH, Meuwissen OJ, Banga JD. Methionine loading test is necessary for detection of hyperhomocysteinemia. *J Lab Clin Med* 1998;132:67-72.
5. van der Griend R, Biesma DH, Banga JD. Postmethionine-load homocysteine determination for the diagnosis of hyperhomocysteinemia and efficacy of homocysteine lowering treatment regimens. *Vasc Med* 2002;7:29-33.
6. den Heijer M, Graafsma S, Lee SY, van Landeghem B, Kluijtmans L, Verhoef P, et al. Homocysteine levels—before and after methionine loading—in 51 Dutch families. *Eur J Hum Genet* 2005;13:753-762.
7. Hanratty CG, McGrath LT, McAuley DF, Young IS, Johnston GD. The effects of oral methionine and homocysteine on endothelial function. *Heart* 2001;85:326-330.
8. Selhub J. The many facets of hyperhomocysteinemia: studies from the Framingham cohorts. *J Nutr* 2006;136:1726S-1730S.
9. Haulrik N, Toulbro S, Dyerberg J, Stender S, Skov AR, Astrup A. Effect of protein and methionine intakes on plasma homocysteine concentrations: a six-mo randomized controlled trial on overweight subjects. *Am J Clin Nutr* 2002;76:1202-1206.
10. Verhoef P, van Vliet T, Olthof MR, Katan MB. High-protein diet increases postprandial but not fasting plasma homocysteine concentrations: a dietary controlled, crossover trial in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 2005;82:553-558.
11. Ward M, McNulty H, McPartlin J, Strain JJ, Weir DG, Scott JM. Effect of supplemental methionine on plasma homocysteine concentration in healthy men: a preliminary study. *Int J Vitam Nutr Res* 2001;71:82-86.
12. Sassi S, Cosmi B, Palareti G, Legnani C, Grossi G, Musolesi S, et al. Influence of age, sex and vitamin status on fasting and post-methionine load plasma homocysteine levels. *Haematologica* 2002;87:957-964.
13. Ganji V, Kafai MR. Demographic, lifestyle, and health characteristics and serum B vitamin status are determinants of plasma total homocysteine concentration in the post-folic acid fortification period, 1999-2004. *J Nutr* 2009;139:345-352.
14. O'Callaghan P, Meleady R, Fitzgerald T, Graham I, and the European COMAC Group. Smoking and plasma homocysteine. *Eur Heart J* 2002;23:1580-1586.
15. Tungtrongchitr R, Pongpaew P, Tongboonchoo C, Vudhivai N, Changbumrung S, Tungtrongchitr A, et al. Serum homocysteine, B12 and folic acid concentration in Thai overweight and obese subjects. *Int J Vitam Nutr Res* 2003;73:8-14.
16. Refsum H, Nurk E, Smith AD, Ueland PM, Gjesdal CG, Bjelland I, et al. The Hordaland Homocysteine Study: a community-based study of homocysteine, its determinants, and associations with diseases. *J Nutr* 2006;136:1731S-1740S.
17. IOM (Institute of Medicine). Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline. Washington, DC: National Academy Press; 2000. pp. 150-348.
18. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B12 and folate. *Clin Chem* 2000;46:1277-1283.
19. Senti FR, Pilch SM. Analysis of folate data from the second National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES II). *J Nutr* 1985;115:1398-1402.
20. Reis RP, Azinheira J, Reis HP, Pina JE, Correia JM, Luís AS. Influence of smoking on homocysteinemia at baseline and after methionine load. *Rev Port Cardiol* 2000;19:471-474.
21. Vermaak WJ, Ubbink JB, Barnard HC, Potgieter GM, van Jaarsveld H, Groenewald AJ. Vitamin B6 nutritional status and cigarette smoking. *Am J Clin Nutr* 1990;51:1058-1061.
22. Vassalle C, Maffei S, Ndreu R, Mercuri A. Age-related oxidative stress modulation by smoking habit and obesity. *Clin Biochem* 2009;42:739-741.
23. Wald DS, Morris JK, Law M, Wald NJ. Folic acid, homocysteine and cardiovascular disease: judging causality in the face of inconclusive trial evidence. *BMJ* 2006;333:1113-1117.
24. Ueland PM, Hustad S, Schneede J, Refsum H, Vollset SE. Biological and clinical implications of the MTHFR C677T polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 2001;22:195-201.
25. Guéant-Rodríguez RM, Guéant JL, Debard R, Thirion S, Hong LX, Bronowicki JP, et al. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase 677T and 1298C alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations. *Am J Clin Nutr* 2006;83:701-707.