

# **ESTUDIO DEL FACTOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR HOMOCISTEINA EN EL PACIENTE EN HEMODIÁLISIS**

**Matilde Checa Galán, Josefa Cabello Ferrer, Rafael José Esteban de la Rosa, Rosa María Nieto Poyato, Rosa Ana López Raya, Margarita Martínez Molina, Víctor de la Osa Molinero, Eva Navarro Fernández, Cayetano Pérez Ramírez, Fernando Perán, Susana Pedrinaci, Juan Bravo Soto, Concepción Asensio Peinado.**

————— *Hospital Universitario Virgen de las Nieves.*

*Centro de HD de Guadix. Granada*

## **INTRODUCCIÓN**

La primera causa de morbi-mortalidad del paciente urémico en programa de hemodiálisis es la enfermedad cardiovascular. El Informe del Registro Andaluz de pacientes afectos de Insuficiencia Renal Crónica Terminal en tratº sustitutivo, de 1998, señala que la causa principal de muerte es la enfermedad cardiovascular (43.4 %), seguida de la etiología infecciosa (14.4 %) y cáncer (5.4 %).

En la población urémica hemodializada inciden los factores de riesgo cardiovascular (FRCV) clásicos (dislipemia, HTA, tabaquismo y diabetes). A éstos se suman otros específicos, tales como hiperparatiroidismo secundario, hiperfosforemia con producto Ca-P elevado, estado inflamatorio, stress oxidativo e hiperhomocisteinemia. La hiperhomocisteinemia, definida por algunos como FRCV “emergente”, cada vez adquiere mayor relevancia.

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido sulfurado que no forma parte de las proteínas ni está presente en la dieta de manera significativa. De hecho constituye un producto intermediario en el metabolismo de la metionina. Un aumento del nivel de Hcy puede suceder debido a 1) aumento de producción y/o 2) defecto de metabolización. Precisamente una disminución del catabolismo de la Hcy es el principal determinante de hiperhomocisteinemia. En dicho catabolismo intervienen varias enzimas y vitaminas (ácido fólico, B12, B6 y B2). Estas últimas actúan como cofactores y/o sustratos de dichas reacciones catabólicas. La Hcy es el producto que se forma al ceder la forma activa de la metionina (s-adenosil-metionina) un grupo metilo. Una vez formada puede ser metabolizada por dos vías. En caso de fallo de una o de ambas vías, la Hcy se acumula, pasa a homocistina y se elimina por orina (homocistinuria). Las dos vías del metabolismo de la homocisteína son:

- Remetilación a metionina: es remetilada a metionina por medio de la metionina sintetasa (MS) cuyo cofactor es la vitamina B12. También interviene la metilentetrahidrofolatoreductasa (MTHFR) cuya coenzima es el ácido fólico y la vitamina B12.

- Degradación a cisteína: supone la degradación irreversible de Hcy a cisteína. La vitamina B6 actúa como coenzima en esta vía.

En caso de llevar una dieta normal, la vía de metilación y la de degradación a cisteína están implicadas al 50%. Los valores normales de Hcy en sangre se encuentran entre 5-15  $\mu\text{mol/L}$ .

En el metabolismo de la Hcy se han descrito diversos defectos genéticos. La forma más común es una variante termolábil de la MTHFR, con actividad enzimática reducida. La mutación más frecuente es el cambio de alanina por valina en la posición 677 (C677T). Esta mutación afecta alrededor de un 10-15% de la población homocigota y entre un 40-45% en la población heterocigota.

Los factores nutricionales son los principales determinantes de la hiperhomocisteinemia adquirida. Existe escasa evidencia de que la ingesta de proteínas o metionina en cantidades fisiológicas induzca modificación alguna en los niveles de Hcy. En cambio, la deficiencia de cualquiera de las cuatro vitaminas del grupo B implicadas -ácido fólico, B12, piridoxina y riboflavina- da lugar a una alteración en el ciclo metabólico y a elevación del nivel de Hcy, aunque no de la misma intensidad.

Las evidencias experimentales indican que la Hcy tiene un efecto citotóxico sobre las células endoteliales, activa los factores V y XI de la coagulación, bloquea los mecanismos endógenos de anticoagulación mediados por trombomodulina y proteína C, e inhibe la síntesis de óxido nítrico induciendo disfunción endotelial. Algunos de estos efectos son el resultado de la oxidación de Hcy, tanto en sangre como en el subendotelio, pues esta reacción libera radicales libres de  $\text{O}_2$ , los cuales lesionan las membranas celulares y oxidan lipoproteínas, estimulando la migración de leucocitos y la inflamación local. Sumado a ello, este aminoácido interfiere la actividad de la enzima sintetasa del óxido nítrico y bloquea la vía antioxidante dependiente de la peroxidasa del glutatión.

En la uremia, la Hcy se acumula por alteración de la enzima MTHFR debido al propio ambiente urémico, y al frecuente déficit de sustratos. Esto hace que con frecuencia este FRCV esté presente en la población donde recae nuestra actividad asistencial cotidiana.

## **OBJETIVOS**

En el presente estudio nos planteamos profundizar sobre el estudio de la Hcy en nuestra población de pacientes urémicos en programa de hemodiálisis periódica con la finalidad de

- a) definir la prevalencia de hiperhomocisteinemia,
- b) investigar la depuración de Hcy que se consigue con terapia dialítica, y
- c) describir la frecuencia de la mutación de la enzima MTHFR, y su relación con niveles plasmáticos de Hcy.

## MATERIAL Y MÉTODO

*Diseño del estudio.* Hemos analizado los registros de reducción porcentual de Hcy (R%Hcy), Kt/V y reducción porcentual de urea (R%U) realizados en los pacientes hemodializados en nuestro Centro en el periodo 1999-febrero 2006. Los registros se realizaron en cada paciente con frecuencia semestral. Cada paciente contribuyó con uno o varios hasta su salida del centro por traslado, trasplante o éxitus. Todos los pacientes recibieron suplementos en dosis única semanal iv DD de 1) ácido fólico (entre 30-100 mg), 2) vitamina B6 (300 mg), 3) L-carnitina (1 gr), y vitamina C (1 gr).

Los registros de sangre para el cálculo de la R%Hcy, Kt/V y R%U se obtuvieron a mitad de semana (miércoles-jueves). Se determinó urea en suero (mg/dL) y Hcy total en plasma ( $\mu\text{mol/L}$ ) en muestras de sangre obtenida antes de cada sesión de hemodiálisis (ad) y tras la misma (dd), siguiendo la metodología habitual del Kt/V de la urea, que consta de 2 partes: se obtiene una primera muestra de sangre antes de conectar al paciente al monitor y una segunda muestra al finalizar la sesión de diálisis, habiendo bajado previamente el flujo de bomba arterial a 50 ml/min. durante 2 minutos. Empleamos un 1 tubo de hemograma para la determinación de Hcy y uno de bioquímica para urea, ad y dd, respectivamente. Las determinaciones bioquímicas se realizaron empleando técnicas standard de laboratorio. Calculamos Kt/V y reducción porcentual de urea (R%U), y reducción porcentual de Hcy (R%Hcy), según las fórmulas siguientes:

- Kt/V (Daugirdas 2ª gen) =  $-\ln \left( \frac{u.dd}{u.ad} \right) - 0.008 \cdot t + (4 - 3.5 \cdot \frac{u.dd}{u.ad}) \cdot \frac{UF}{\text{peso}}$

- R%U =  $(1 - \frac{u.dd}{u.ad}) \cdot 100$

- R%H =  $(1 - \frac{ho.dd}{ho.ad}) \cdot 100$

donde u.dd= urea después de diálisis, u.ad= urea antes de diálisis, ho.dd= Hcy después de diálisis, y ho.ad= Hcy antes de diálisis.

En cada estudio de urea y Hcy se consideró a) tipo de filtro empleado según alta vs. baja permeabilidad hidráulica ( $K_{uf} >$  vs.  $\leq 20 \text{ mL/hora} \cdot \text{mmHg}$ ), y tiempo sesión HD. Registramos características demográficas de la muestra (año nacimiento, sexo y causa de enfermedad renal primaria). En los pacientes que fueron éxitus registramos causa y edad de éxitus.

*Estudio molecular de la MTHFR.* En un grupo de pacientes se realizó estudio molecular del gen de la enzima MTHFR. Se investigó la presencia de la mutación puntual C-T en la posición 677 de este gen. El estudio se realizó mediante PCR e hibridación con sondas específicas para esta mutación, y obtuvimos tres tipos de resultado:

- mutación no presente,
- heterocigoto para esta mutación, y
- homocigoto para la mutación.

*Análisis Estadístico.* Para todas las variables realizamos estudio descriptivo (media  $\pm$  DT, %). Empleamos los test de Student, ANOVA de un factor y chi-cuadrado cuando fueron necesarios. Declaramos el test significativo cuando  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Analizamos 230 registros procedentes de 61 paciente (41% mujeres), con una media de 3.77 registros por paciente (rango 1-8). El año de nacimiento fue  $1940 \pm 13.4$ . La causa más frecuente de enfermedad renal primaria fue intersticial 24.6%, seguida de vascular y diabetes (18%, respectivamente) y glomerular (13.1%). En Febrero de 2006 se trataban en el centro 27 pacientes (44.3%). El resto salió del centro por éxito, trasplante y traslado, en el 34.4, 4.9 y 16.4 %, respectivamente. La edad de éxito fue  $66 \pm 13.3$  años, y la causa de éxito más frecuente la cardiopatía isquémica (38.1%).

Cuando clasificamos los registros de Hcy AD y DD en  $<$  vs.  $\geq 15 \mu\text{mol/L}$ , observamos que el 74.3 % fueron  $\geq 15 \mu\text{mol/L}$  AD, y en el 14.3% DD. Los niveles medios de Hcy AD, DD y la R%Hcy fueron semejantes según sexo, si bien la depuración de urea resultó superior en las mujeres (Kt/V mujer  $1.7 \pm 0.29$  vs. Varón  $1.5 \pm 0.25$ ; R%U mujer  $75 \pm 6.6$  vs. Varón  $70 \pm 7.0$  %;  $p < 0.05$ ).

Las comparaciones de los niveles de Hcy y R%Hcy según Kuf del dializador empleado arrojaron diferencias significativas: la Hcy DD resultó inferior y la R% superior cuando los filtros fueron de alta permeabilidad. Sin embargo, los niveles de Hcy AD, Kt/V y R%U fueron semejantes entre grupos (Tabla 1).

Tabla 1. Estudio de Hcy según filtro: bajo vs. alto Kuf.

		n	media	DT	p
Hcy AD	Bajo Kuf	163	19.2	5.84	ns
	Alto Kuf	67	17.7	5.63	
Hcy DD	Bajo Kuf	163	10.9	3.92	<0.05
	Alto Kuf	67	8.8	3.73	
R%Hcy	Bajo Kuf	163	43.8	10.07	<0.05
	Alto Kuf	67	51.4	9.74	

En la Tabla 2, reflejamos los resultados obtenidos tras estudio molecular del gen de la enzima MTHFR, realizado en 31 pacientes. De la misma se desprende que globalmente la mutación está presente en el 54.83 %: en el 45.16% con polimorfismo heterocigoto y en el 9.67% homocigoto. Según esta condición, los niveles de Hcy y R%Hcy fueron semejantes entre grupos.

Tabla 2. Estudio molecular del gen de la MTHFR en pacientes urémicos.

	n	%	Población general (%) (Kang SS et al, 1988).
No mutación	14	45.16	
Heterocigoto	14	45.16	40-45
Homocigoto	3	9.67	10-15
Total	31	100	

## CONCLUSIONES

a) La hiperhomocisteinemia está presente en un elevado porcentaje de nuestra población (74% de los registros), y no se corrige totalmente con la

terapia dialítica (persiste en el 14% de los registros DD).

b) La depuración de Hcy es superior cuando empleamos filtros de alto Kuf.

c) La mutación del gen de la MTHFR se distribuye de forma semejante en los pacientes de nuestro servicio que en la población general y no influye de forma decisiva en los niveles plasmáticos de Hcy.

## **BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA**

1. Boushey C, Beresford SAA, Omenn GS, Motulsky AG: A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. JAMA 274: 1049-1057, 1995

2. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattström LE, Ueland PM, Palma-Reis RJ, Sheahan RG, Israelsson B, Uiterwal CS, Meleady R: Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. JAMA (in press), 1997.

3. Pietrzik K, Brönstrup A: Folate in preventive medicine: a new role in cardiovascular disease, neural tube defects, and cancer. Ann Nutr Metab 41: 331-343, 1997

4. Zang SS, Zhou J, Wong PWK, Kowalyszyn J, Strokosch G: Intermediate homocysteinemia with thermolabile variant of methylenetetrahydrofolate reductase. Am J Hum Genet 43: 414-421, 1988

5. Rodgers GM, Kane WH: Activation of endogenous factor V by a homocysteine induced vascular endothelial cell activator: J Clin Invest 77: 895-901, 1986

6. Lentz SR, Sadler JE: Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. J Clin Invest 88:1906-14, 1991

7. Upchurch-GR, Welch GN, Fabian AJ: Homocysteine decreases bioavailable nitric oxide by a mechanism involving glutathione peroxidase. J Bio Chem 272:17012-7, 1997

8. Van Guldener C: Why is homocysteine elevated in renal failure and what can be expected from homocysteine-lowering? Nephrol Dial Transplant 21: 1161-1166, 2006