

# Concentración plasmática de homocisteína: relación con los niveles plasmáticos de ácido fólico y con el polimorfismo 677C → T de la 5,10-metilenotetrahidrofolato reductasa

J. Dalmau Serra<sup>a</sup>, B. Ferrer Lorente<sup>b</sup>, V. Modesto Alapont<sup>c</sup>, M. Guillén Domínguez<sup>d</sup>, R. Vázquez Gomis<sup>a</sup>, D. Corella Piquer<sup>d</sup>, M.ªL. Cabello Tomás<sup>e</sup> y A.M.ª García Gómez<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Nutrición y Metabolopatías. Hospital Infantil La Fe. <sup>b</sup>Centro de Atención Primaria de Alaquás.

<sup>c</sup>Unidad de Reanimación Pediátrica. Hospital Infantil La Fe. <sup>d</sup>Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Valencia. <sup>e</sup>Laboratorio de Metabolopatías. Departamento de Biopatología Clínica. Hospital Infantil La Fe. Valencia.

(An Esp Pediatr 2002; 56: 409-415)

## Antecedentes

El aumento moderado de la homocisteína plasmática en niños se ha relacionado con infartos cerebrales y trombosis venosas y con los antecedentes familiares de enfermedad coronaria prematura (ECP). La determinación de homocisteína en la infancia y el estudio de los factores que determinan su concentración podría ser importante para la prevención primaria de la ECP.

## Objetivo

Detectar algún caso de hiperhomocistinemia y valorar su relación con la concentración plasmática de ácido fólico y el polimorfismo 677C → T de la 5,10-metilenotetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

## Métodos

Se ha estudiado mediante la regresión lineal múltiple la relación entre la concentración plasmática de homocisteína, la del ácido fólico y los tres genotipos de la mutación 677C → T de la MTHFR en 127 niños de entre 2 y 18 años y 105 de sus progenitores.

## Resultados

La concentración de homocisteína (mediana) fue de 5,00 y 8,00  $\mu\text{mol/l}$  en los niños y sus progenitores, respectivamente. Los valores plasmáticos de ácido fólico se encontraban todos en el rango de la normalidad. La prevalencia de los tres genotipos en los niños fue de 32,3% para el genotipo CC, 42,5% para el CT y 15,7% para el TT. La concentración de homocisteína era significativamente mayor con el genotipo TT ( $p = 0,018$ ). En la regresión lineal múltiple se encontró un efecto directo positivo de la edad ( $b = 0,029$ ;  $p = 0,001$ ) y negativo del genotipo TT ( $b = -3,886$ ;  $p = 0,002$ ) sobre la concentración de homocisteína. El coeficiente de regresión de la concentración de ácido fólico aunque de signo negativo, no alcanzó significación estadística.

No se ha encontrado ningún caso de hiperhomocistinemia. Al valorar la homocisteína hay que tener en cuenta la edad y en caso de existir la mutación 677C → T, los valores plasmáticos de ácido fólico. Sería conveniente determinar la homocisteína en los niños de mayor edad con antecedentes familiares de aterotrombosis y con otros factores de riesgo para la ECP.

## Conclusiones

Palabras clave: Homocisteína. Ácido fólico. Metilenotetrahidrofolato reductasa.

## Palabras clave:

TOTAL PLASMA HOMOCYSTEINE LEVELS. RELATIONSHIP WITH PLASMA FOLIC ACID LEVELS AND 677C → T POLYMORPHISM OF 5,10-METHYLENETETRAHYDROFOLATE REDUCTASE

Background Moderately increased plasma homocysteine (Hcy) in children has been associated with stroke and venous

## Background

Correspondencia: Dr. J. Dalmau Serra. Unidad de Nutrición y Metabolopatías. Hospital Infantil La Fe. Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. Correo electrónico: jdalmaus@ono.com

Recibido en diciembre de 2001. Aceptado para su publicación en enero de 2002.

**thrombosis and with a parental history of cardiovascular disease (CVD). Evaluation of Hcy concentrations during childhood and study of the factors determining its concentrations could play an important role in the primary prevention of CVD.**

### Objective

**To detect cases of hyperhomocystinemia and to examine the association between Hcy levels and plasma folic acid levels and 677C → T polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR).**

### Methods

**The relationship between plasma Hcy levels, plasma folic acid levels, and the three genotypes of 677C → T MTHFR polymorphism was investigated in 127 children (aged 2-18 years) and in 105 parents by multiple linear regression.**

### Results

**The median Hcy levels were 5.00 μmol/l in the children and 8.00 μmol/l in the parents. Plasma folic acid levels were normal in all of the patients. The prevalence of the three genotypes in the children was 32.3% for the CC genotype, 42.5% for the CT genotype and 15.7% for the TT genotype. Hcy concentrations were significantly higher in children with the TT genotype ( $p = 0.018$ ). Multiple linear regression revealed a positive direct effect of age ( $b = 0.029$ ,  $p = 0.002$ ) and a negative effect of genotype TT ( $b = 3.886$ ,  $p = 0.002$ ) on Hcy concentration. Hcy concentration was inversely correlated with folic acid levels but this correlation did not reach statistical significance.**

### Conclusions

**No cases of hyperhomocystinemia were found. To evaluate Hcy, age and plasma folic acid levels have to be taken into account in case there is a 677C → T mutation. Hcy concentrations should be determined in older children with a family history of atherothrombosis and other risk factors for premature CVD.**

### Key words:

**Homocysteine. Folic acid. Methylenetetrahydrofolate reductase.**

## INTRODUCCIÓN

La homocisteína es un aminoácido sulfurado formado a partir de la metionina. Su concentración depende tanto de factores genéticos como el sexo o los déficit enzimáticos congénitos, como de factores ambientales: el aporte y niveles plasmáticos de ácido fólico y vitamina B<sub>12</sub>, la función renal o el consumo de café y tabaco, etc. La causa genética más frecuente de hiperhomocistinemia moderada es la presencia de la mutación 677C → T de la 5,10-metilenetetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Los sujetos con esta mutación presentan el 50% menos de actividad enzimática, y esto provoca un aumento moderado de la homocisteína en situaciones en las que hay un nivel plasmático de ácido fólico por debajo del normal, lo que condicionaría un riesgo de enfermedad coronaria pre-

tura (ECP)<sup>1</sup>, aunque la presencia de la mutación por sí sola no parece aumentar el riesgo<sup>2</sup>.

En la actualidad existen numerosos datos epidemiológicos que sugieren que las elevaciones moderadas de homocisteína constituyen un factor de riesgo independiente de enfermedad cerebrovascular, coronaria y periférica prematura<sup>3-7</sup>, aunque persiste la controversia sobre si el aumento observado es causa o efecto de la enfermedad vascular<sup>5</sup>. Ciertos estudios muestran un aumento de la concentración de homocisteína en niños con antecedentes familiares de muertes prematuras por causas cardiovasculares<sup>8,9</sup>, así como en niños que padecieron trombosis venosas<sup>10</sup> e infartos cerebrales<sup>11,12</sup> por lo que su determinación en la infancia, así como el estudio de los factores que influyen en su concentración podría ser importante para la prevención primaria de la enfermedad cardiovascular.

El objetivo del estudio fue determinar la existencia en un grupo de pacientes en edad pediátrica de algún caso de hiperhomocistinemia de causa genética o dietética, y valorar la asociación entre la concentración plasmática de homocisteína y la de ácido fólico, así como su relación con el polimorfismo 677C → T de la enzima MTHFR.

## PACIENTES Y MÉTODOS

Se han estudiado 127 niños y adolescentes, 70 varones y 57 mujeres, de entre 2 y 18 años y 105 de sus progenitores. Cincuenta y tres de estos niños eran controlados en la unidad de nutrición con el diagnóstico de hipercolesterolemia familiar y los restantes se reclutaron como grupo control de otras consultas, siendo niños sin trastornos del colesterol. Ninguno de los pacientes padecía obesidad o enfermedad renal. Todos los sujetos participaron de manera voluntaria en el estudio tras informarles de la naturaleza de éste. Se trata de un estudio observacional analítico de corte.

Se obtuvieron los valores plasmáticos de ácido fólico por quimioinmunofluorescencia y el aporte dietético fue realizado por las dietistas de la unidad mediante el recuento dietético de 24 h durante 3 días aplicando el programa informático Sanutrín®, validado en otros estudios<sup>13</sup>. Se determinó la concentración de lípidos sanguíneos por los métodos descritos previamente<sup>14</sup>. Para determinar la homocisteína se obtuvieron muestras en condiciones de ayuno por punción venosa en tubos Vacutainer® que contenían 5,4 mg de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (K<sub>2</sub>). La primera muestra fue inmediatamente refrigerada en hielo y se utilizó el enzoinmunoanálisis Axis® Homocysteine (Axis Biochemical ASA) que permite la posibilidad de automatización y el estudio de grandes series de muestras<sup>15,16</sup>. La segunda muestra se utilizó para aislar el ADN genómico de los leucocitos y analizar el polimorfismo 677C → T mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior análisis de los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP)<sup>17</sup>.

### Métodos estadísticos

Se ha utilizado el programa estadístico SPSS para Windows versión 9.0 (SPSS Inc., Chicago, Ill.). Para describir la muestra, si las variables eran continuas y cumplían criterios de normalidad (Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Liliefors o Shapiro-Wilks,  $p > 0,05$ ) se han usado las medias y la desviación estándar e intervalo de confianza (IC) al 95% de las medias poblacionales, y, en caso contrario, las medianas y rangos. Las proporciones se expresan con el IC 95% exacto calculado con la macro "Intervalo de confianza exacto y aproximado de una proporción" para SPSS (J.M. Doménech y R. Granero ©1999). Todos los tests de significación fueron de dos colas y se eligió como criterio de significación estadística el de  $p < 0,05$ .

Para el análisis bivalente, se han utilizado el test de la t de Student-Fisher y de ANOVA para comparar medias de variables normales, las pruebas no paramétricas de Mann-Withney y de Kruskal-Wallis para variables continuas no normales, y el test de la chi cuadrado ( $\chi^2$ ) para el estudio de las proporciones.

Para estudiar la relación entre la concentración plasmática de homocisteína y la de ácido fólico se ha utilizado la regresión lineal múltiple mediante el método de "introducción por pasos". Se han incluido las interacciones que demostraron significación estadística, y las variables que se describen en la bibliografía como factores de confusión en dicha relación: la edad y el genotipo homocigoto TT del polimorfismo de la MTHFR<sup>18-23</sup>. Siguiendo el criterio de la "regla jerárquica"<sup>24</sup>, se han incluido además las variables cuya interacción con el nivel plasmático de ácido fólico resultó ser estadísticamente significativa. Se consideró criterio de significación estadística una  $p < 0,05$ . El modelo final fue el más parsimonioso de los posibles, y su validez se examinó empleando el diagnóstico estándar de los residuales<sup>24</sup>.

### RESULTADOS

La edad media (desviación estándar, DE) es de 10,45 (3,47) años (IC 95%, 9,79-11,12). Existe un aumento progresivo de la homocisteína en relación con la edad ( $p = 0,000$ ) (fig. 1).

La concentración de homocisteína en los dos grupos estudiados se observa en la tabla 1. No existieron diferencias en función del sexo y tampoco entre el grupo de niños hipercolesterolémicos y los que no lo eran, por lo que la muestra se ha analizado conjuntamente. La concentración plasmática de homocisteína era significativamente superior en el grupo de progenitores respecto al grupo pediátrico ( $p = 0,000$ ); ningún niño alcanzó cifras por encima del percentil 95 ( $P_{95}$ ) y entre los progenitores tres tenían cifras de homocisteína por encima de 15  $\mu\text{mol/l}$  (fig. 2).

La ingesta media (DE) de ácido fólico fue de 124,97 (60,73)  $\mu\text{g/día}$  (IC 95%: 110,15-139,78  $\mu\text{g/día}$ ). El 93,8% de los niños no cumplen las RDA –Aporte Dietético Reco-

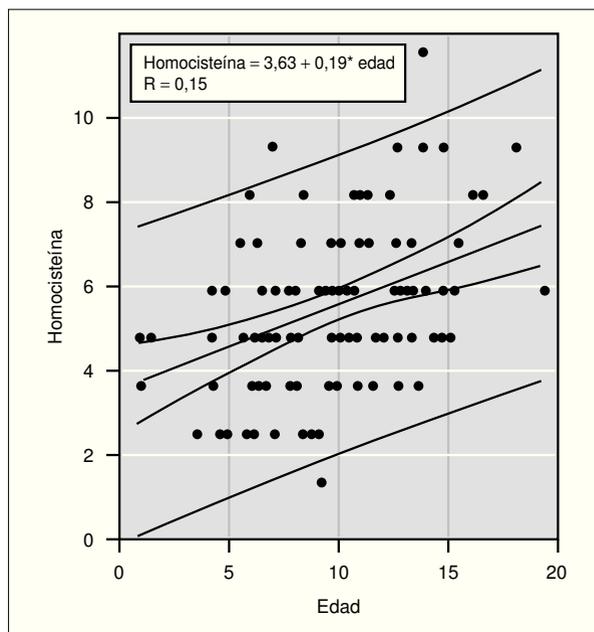


Figura 1. Regresión lineal de la concentración de homocisteína en relación con la edad.

TABLA 1. Concentración de homocisteína en niños y sus progenitores

	Número	Mediana ( $\mu\text{mol/l}$ )	Límites ( $\mu\text{mol/l}$ )
Niños	118	5,00	2-11
Progenitores	98	8,00	2-25

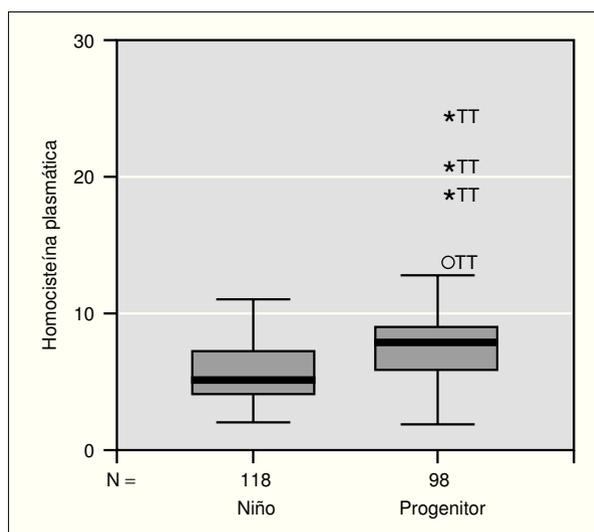


Figura 2. Distribución de la concentración de homocisteína en el grupo de niños y de progenitores.

mendado– para la ingesta de ácido fólico (200–400  $\mu\text{g/día}$ , según edad) y el 92,3% no cumplen las EAR –Requerimientos medios estimados– (160–330  $\mu\text{g/día}$ , según

TABLA 2. Prevalencia de la mutación 677C → T de la MTHFR

	Niños		Progenitores	
	Prevalencia	IC 95%*	Prevalencia	IC 95%
Genotipo CC	32,3% (41)	24,26-41,15	34,3% (36)	25,29-44,18
Genotipo CT	42,5% (54)	33,79-51,60	42,9% (45)	33,24-52,89
Genotipo TT	15,7% (20)	9,89-23,7	17,1% (18)	10,49-25,73

\*Los intervalos de confianza de las prevalencias se han calculado sobre el número total de niños (n = 127) y progenitores (n = 105).  
IC 95%: intervalo de confianza al 95%.  
MTHFR: 5,10-metilenotetrahidrofolato reductasa.

TABLA 3. Distribución de la concentración de homocisteína en relación con el genotipo de la mutación 677C → T de la MTHFR

	Homocisteína (µmol/D)	
	Mediana	
	Niños	Progenitores
Genotipo CC	5,00	7,00
Genotipo CT	5,00	8,00
Genotipo TT	6,00	8,00

\*Kruskall Wallis genotipo TT frente a CT y CC-p = 0,018.  
\*\*Kruskall Wallis genotipo TT frente a CT y CC-p = 0,008.  
MTHFR: 5,10-metilenotetrahidrofolato reductasa.

TABLA 4. Modelo de regresión múltiple que predice la concentración plasmática de homocisteína en función de la concentración plasmática de ácido fólico

	Coefficiente b	p	IC 95% de β	
Constante	3,687	0,007	1,093	6,281
Genotipo TT	-3,886	0,002	-7,181	-0,592
Edad	0,290	0,001	0,127	0,454
Fólico <sub>p</sub>	-0,100	0,137	-0,234	0,034
Fólico <sub>p</sub> × Genotipo TT*	0,403	0,007	0,118	0,689

\*La interacción entre el ácido fólico plasmático y el genotipo TT se representa en el modelo mediante el término fólico<sub>p</sub> × genotipo TT, que resultó estadísticamente significativo. El modelo es válido únicamente para valores de ácido fólico y homocisteína dentro del rango de la normalidad.  
Fólico<sub>p</sub>: concentración de ácido fólico plasmático.  
IC 95%: intervalo de confianza al 95%.

edad)<sup>25</sup>. La concentración de ácido fólico fue de 9,30 ng/ml (mediana) con un rango de 3,4-20,0 ng/ml. No encontramos ningún niño con cifras por debajo de los límites de normalidad (3-5 ng/ml)<sup>26</sup>. Tampoco encontramos relación entre la ingesta y la concentración plasmática de ácido fólico (R<sup>2</sup> = 0,07; p = 0,610).

Se determinó el genotipo del polimorfismo 677C → T de la MTHFR en 115 niños y en 99 progenitores. La prevalencia de los tres genotipos para niños y progenitores respectivamente fue: 32,3/34,3% para el genotipo CC, 42,5/42,9% para el CT, y 15,7/17,1% para los homocis-

teos TT (tabla 2). La concentración plasmática de homocisteína en función del genotipo se presenta en la tabla 3, siendo la del genotipo TT significativamente mayor respecto a los otros dos, tanto en niños como en progenitores.

### Modelo de regresión lineal múltiple

En la tabla 4 se muestra el modelo de regresión lineal múltiple que predice la concentración plasmática de homocisteína. La edad tiene un efecto directo positivo y el genotipo homocigoto TT tiene un efecto puro directo negativo sobre ésta, y actúan de variables confundidoras de la relación estudiada. Existe una interacción estadísticamente significativa (p = 0,007) entre la concentración plasmática de ácido fólico y el genotipo TT, que se representa en el modelo mediante el término producto: nivel plasmático de ácido fólico × genotipo TT. El coeficiente de regresión de la concentración plasmática de ácido fólico, aunque de signo negativo, no alcanzó significación estadística (p = 0,137), pero permaneció en el modelo final atendiendo al criterio de la regla jerárquica.

Para una determinada edad y genotipo, el efecto predicho por el presente modelo de la variación en la concentración plasmática de ácido sobre la de la homocisteína se expresa por la ecuación:

$$\Delta [Hcy] = \Delta [Fólico]_p \times (0,4 \times \text{Genotipo TT} - 0,1)$$

De tal forma que si el sujeto tiene el genotipo TT (genotipo TT = 1) la variación en la concentración plasmática de homocisteína [Hcy] será 0,3 veces la variación en la concentración de ácido fólico [Fólico]<sub>p</sub>, pero si el sujeto tiene el genotipo CT o CC (genotipo TT = 0), el efecto será inverso aunque mucho menor:

$$(-0,1) \times \Delta [Fólico]_p$$

Dado que en la muestra estudiada los valores plasmáticos de ácido fólico y de homocisteína se encuentran dentro de los límites normales, el modelo sólo es aplicable en estas condiciones y explica el 40% de la variación en la concentración plasmática de homocisteína (r<sup>2</sup> = 0,403; F = 5,727, p < 0,05 ANOVA).

### DISCUSIÓN

La concentración de homocisteína en la población pediátrica de la que se ha informado en otros trabajos oscila entre 4,9 y 6,3 µmol/l<sup>8,9,19,27,28</sup>, cifras muy similares a las encontradas en nuestra muestra, cuya mediana de 5,00 µmol/l es prácticamente idéntica a la encontrada por Osganian et al<sup>20</sup> que obtienen una mediana de 4,9 µmol/l en una muestra de 3.321 niños en Estados Unidos<sup>20</sup>. Las diferencias entre las distintas series pueden estar motivadas por factores dietéticos, genéticos (mutaciones) así como metodológicos en el análisis de las muestras<sup>28</sup>. No se ha en-

contrado ningún niño con cifras de homocisteína por encima del  $P_{95}$ <sup>19,20,27</sup>. En el grupo de adultos estudiado la concentración de homocisteína es ostensiblemente mayor: 8  $\mu\text{mol/l}$  (mediana) con un rango entre 2 y 25  $\mu\text{mol/l}$  lo cual concuerda con el aumento debido a la edad<sup>19,20,22,29</sup>.

Se conoce que la prevalencia de los tres genotipos del polimorfismo de la 5-MTHFR es diferente en función del área geográfica en la que se realice el estudio, debido a la heterogeneidad genética de las distintas poblaciones respecto a esta mutación<sup>30,31</sup>. En nuestro estudio la prevalencia de la forma homocigota TT fue del 15,7% en los niños y del 17,1% en los adultos (v. tabla 2), cifras que se encuentran dentro de los márgenes dados por otros autores que oscilan entre el 8 y el 10%<sup>9,10,32</sup> y el 17,3% del estudio de Delvin et al<sup>21</sup> en un grupo de niños canadienses de origen francófono. En nuestro país, Cardó et al<sup>11</sup> concluyeron en un trabajo anterior con 28 niños una prevalencia para el genotipo TT del 14,3% muy parecida a la nuestra.

La concentración de homocisteína, tanto en niños como en adultos, es significativamente mayor en los que tienen el genotipo TT respecto a los otros dos grupos (tabla 3), lo cual coincide con lo encontrado por otros investigadores<sup>1,10,22,33</sup>. En el grupo de los niños, ningún caso superó las cifras de homocisteína consideradas normales<sup>19,20,27,28</sup>. Sin embargo, sí hemos encontrado entre los adultos tres sujetos con cifras por encima de 15  $\mu\text{mol/l}$ , todos ellos con genotipo TT (v. fig. 1).

Al igual que la mayoría de los autores<sup>8,11,20,22,27,29</sup>, hemos observado una correlación negativa entre los niveles plasmáticos de ácido fólico y la concentración sérica de homocisteína, aunque en nuestro estudio esta asociación no alcanzó significación estadística. Pensamos que la principal explicación de ello es el tamaño de la muestra con la que se estimó el modelo completo: sólo 51 niños tenían valores en todas y cada una de las 4 variables del modelo estadístico más parsimonioso. Estudios epidemiológicos con muestras mucho mayores han demostrado claramente esta relación<sup>8,20,22,29</sup>.

La asociación entre el genotipo TT y la hiperhomocistinemia moderada, con cifras ya consideradas de riesgo, está descrita en situaciones de ácido fólico en sangre bajo<sup>34</sup>. Nosotros no la hemos encontrado, pero en nuestra muestra ningún niño tenía niveles de ácido fólico por debajo de lo normal. Cardó et al<sup>11</sup> tampoco encuentran esta relación y tampoco ellos tienen niños con niveles de fólico anormales. Sin embargo, en el estudio realizado por Delvin et al<sup>21</sup> encontraron seis sujetos con cifras de homocisteína por encima del  $P_{95}$ , de los cuales cuatro tenían niveles de ácido fólico por debajo del  $P_5$  y dos por debajo del  $P_{25}$ , tres de los niños eran homocigotos TT y un cuarto era heterocigoto CT. Por otra parte, los seis sujetos tenían edades comprendidas entre los 14 y los 18 años, es decir, que en la hiperhomocistinemia parece influir no sólo el genotipo y la concentración plasmática

de ácido fólico, sino también y de forma importante la edad. Igualmente, Tonstad et al<sup>9</sup> encuentran esta asociación, aunque no muestran datos sobre los niveles de ácido fólico. Hay que tener en cuenta al comparar entre estudios las posibles diferencias metodológicas en la determinación de la homocisteína y los diferentes hábitos dietéticos de los distintos países<sup>28</sup>.

Hemos encontrado un efecto de interacción sobre la homocisteína, entre la presencia del genotipo homocigoto TT y los valores plasmáticos de ácido fólico ( $b = 0,403$ ;  $p = 0,007$ ). Saw et al<sup>22</sup> han descrito ya esta interacción. Según estos autores, cuando los niveles de ácido fólico se encuentran por encima del  $P_{50}$ , el genotipo de la MTHFR no tiene efecto sobre la concentración de homocisteína; por el contrario, cuando el ácido fólico se encuentra por debajo, el genotipo TT se asocia con un incremento de aproximadamente el 30% respecto a los genotipos CT y CC<sup>22</sup>. De esta forma, parece que cuando existe suficiente sustrato para la MTHFR (el 5-metilenotetrahidrofolato es la forma circulante de ácido fólico más abundante y el principal donante de grupos metilo para la remetilación de la homocisteína<sup>35</sup>, aunque exista un déficit parcial en la actividad enzimática en la vía de la remetilación, la metabolización de la homocisteína puede seguir funcionando. Esto explicaría la ausencia de hiperhomocistinemia en los niños de nuestra muestra, ya que todos ellos tenían niveles de ácido fólico en el rango de la normalidad. Nuestro modelo indica además que el principal efecto de la concentración de ácido fólico se produce a través de la interacción con el genotipo TT. En ausencia de esta mutación, su efecto es de mucha menor entidad clínica.

Como han demostrado numerosos estudios realizados en adultos y en niños<sup>18,19,21,22,28,29,36</sup> la edad tiene una correlación positiva con la homocisteína, pero además es un factor confundidor en la relación entre ésta y el ácido fólico, ya que la homocisteína aumenta con la edad ( $R^2 = 0,15$ ;  $p = 0,000$ ) y los valores de ácido fólico son dependientes de ésta ( $R^2 = 0,091$ ;  $p = 0,037$ ), principalmente condicionados por la variación del aporte con la edad<sup>26</sup>.

Respecto a la ingesta de ácido fólico, llama la atención que la mayoría de los niños no cumplen las RDA ni las EAR para ambas vitaminas<sup>25</sup>. El 40% de los niños son controlados por la dietista y por lo tanto aconsejados nutricionalmente, lo cual pone de manifiesto que los niveles sanguíneos no se corresponden bien con la ingesta reflejada en las encuestas dietéticas como se afirma en el Third National Health and Nutrition Examination Survey (NANHE III)<sup>37</sup> y sugiere la dificultad de alcanzar estas altas ingestas recomendadas.

Por una razón también de escasez de muestra no pudimos incluir en el modelo la concentración de vitamina B<sub>12</sub> para así estudiar su efecto.

En conclusión, para valorar la concentración de homocisteína hay que tener en cuenta siempre la edad y el ge-

notipo TT como determinantes de ésta y la concentración plasmática de ácido fólico que actúa a través de su interacción con el genotipo TT. Puesto que el estudio del polimorfismo de la MTHFR muestra que el genotipo TT es más frecuente en niños con antecedentes familiares de ECP<sup>9</sup> y en niños con accidentes cerebrovasculares<sup>11</sup>, es conveniente su estudio en pacientes con otros factores de riesgo cardiovascular. En nuestro trabajo no hemos encontrado ningún niño con valores de homocisteína considerados patológicos, por lo que creemos que sería conveniente determinarla únicamente en aquellos niños de alto riesgo y de mayor edad (hipercolesterolemia familiar grave, antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular, etc.), así como en aquellos que hayan padecido trombosis venosas o infartos cerebrales. Por otro lado, ya que el nivel de ácido fólico es determinante en el caso de tener la mutación 677C → T, hay que insistir en las recomendaciones dietéticas dirigidas a mantener los niveles de ácido fólico normales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Brattström L, Ueland PM. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. *J Intern Med* 1999; 246: 425-454.
- Wilcken DEL, Brattström L. Mild hyperhomocysteinemia: Vitamin supplementation or not [carta]. *Am J Clin Nutr* 2001; 74: 271-272.
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-1050.
- Guthikonda S, Haynes WG. Homocysteine as novel risk factor for atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol* 1999; 14: 283-291.
- Scott JM. Homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 333-334.
- Ueland PM, Refsum H, Beresford SAA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 324-332.
- Brattström L, Wilcken DEL. Homocysteine and cardiovascular disease: Cause or effect? *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 315-323.
- Tonstad S, Refsum H, Sivertsen M, Christophersen B, Ose L, Ueland PM. Relation of total homocysteine and lipids levels in children to premature cardiovascular death in male relatives. *Pediatr Res* 1996;40: 47-52.
- Tonstad S, Refsum H, Ueland PM. Association between plasma total homocysteine and parental history of cardiovascular disease in children with familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1997; 96: 1803-1808.
- Koch HG, Nabel P, Junker R, Auberger K, Schobess R, Homberger A et al. The 677C → T genotype of the common MTHFR thermolabile variant and fasting homocysteine in childhood venous thrombosis. *Eur J Pediatr* 1999; 158 (Suppl 3): 113-116.
- Cardo E, Monros E, Colome C, Artuch R, Campistol J, Pineda M et al. Children with stroke: Polymorphism of the MTHFR gene, mild hyperhomocysteinemia, and vitamin status. *J Child Neurol* 2000; 15: 295-298.
- Campistol J, Vilaseca MA, Cardo E. Hiperhomocisteinemia como factor de riesgo para accidentes cerebrovasculares en la infancia. En: *Patología molecular de la homocisteína. III Symposium SHS sobre errores congénitos del metabolismo*. Barcelona. Ediciones SHS España, 2000; 57-67.
- Infante D, Tormo R. Risk of inadequate bone mineralization in diseases involving long-term supresion of dairy products. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 310-313.
- Dalmau J, Vayá A, Martínez M, Blesa L, Aznar J. Nuevos marcadores de riesgo aterogénico: perfil hemorreológico en niños y adolescentes con hipercolesterolemia familiar. *An Esp Pediatr* 1996; 45: 393-397.
- Shipchandler MT, Moore EG. Rapid fully automated measurement of plasma homocyst(e)ine with the Abbott IMx<sup>®</sup> Analyzer. *Clin Chem* 1995; 41: 991-994.
- Guillén M, García AM, Cabello ML. Cuantificación de homocisteína en plasma: comparación entre un método cromatográfico de alta resolución (HPLC) y un enzimoimmunoensayo. *Rev Diag Biol* 1999; 48: 48-49.
- Guillen M, Corella D, Portoles O, Gonzalez JI, Mulet F, Saiz C. Prevalence of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C → T mutation in the Mediterranean Spanish population. Association with cardiovascular risk factors. *Eur J Epidemiol* 2001; 17: 255-261.
- 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.
- Greenlud KJ, Srinivasan SR, Xu J-H, Dalferes E, Myers L, Pickoff A et al. Plasma homocysteine distribution and its association with parental history of coronary artery disease in black and white children. The Bogalusa Heart Study. *Circulation* 1999; 99: 2144-2149.
- Osganian SK, Stampfer MJ, Spiegelman D, Rimm E, Cutler JA, Feldman HA et al. Distribution of and factors associated with serum homocysteine levels in children. Child and adolescent trial for cardiovascular health. *JAMA* 1999; 281: 1189-1196.
- Delvin EE, Rozen R, Merouani A, Genest J, Lambert M. Influence of methylenetetrahydrofolate reductase genotype, age, vitamin B<sub>12</sub>, and folate status on plasma homocysteine in children. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1469-1473.
- Saw S-M, Yuan J-M, Ong Ch-N, Arakawa K, Lee H-P, Coetzee GA et al. Genetic, dietary, and other lifestyle determinants of plasma homocysteine concentrations in middle-aged and older chinese men and women in Singapore. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 232-239.
- Vollset SE, Refsum H, Ueland PM. Population determinants of homocysteine (ed). *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 499-500.
- Kleinbaum DE, Kupper LL, Muller KE, Nizam A. Applied regression analysis and other multivariable methods, 3<sup>a</sup> ed. Pacific Grove, CA: Duxbury Press, 1998.
- Food and Nutrition Board Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B<sub>6</sub>, Folate, Vitamin B<sub>12</sub> and Biotin, and Choline. Washington: National Academy Press, 1998.
- Fomon SJ, McCormick DB. Vitaminas del grupo B y colina. En: Fomon SJ, ed. *Nutrición del lactante*, 1<sup>a</sup> ed. Madrid: Mosby/Doyma, 1995; 358-385.
- De Laet C, Wautrecht JC, Brasseur D, Dramais M, Boeynaems JM, Decuyper J et al. Plasma homocysteine concentrations in a Belgian school-age population. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 968-972.
- Vilaseca MA, Moyano D, Ferrer I, Artuch R. Total homocysteine in pediatric patients. *Clin Chem* 1997; 43: 690-692.
- Jacques PF, Bostom AG, Wilson PWF, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinants of plasma total homocysteine concentration in the Framingham offspring cohort. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 613-621.

30. Franco RF, Araujo AG, Guerreiro JF, Elion J, Zago MA. Analysis of the 677C → T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in different ethnic groups. *Thromb Haemost* 1998; 79: 119-121.
31. Schneider JA, Rees DC, Liu YT, Cleegg JB. Worldwide distribution of a common methylenetetrahydrofolate reductase mutation. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1258-1260.
32. Tonstad S, Refsum H, Ose L, Ueland PM. The 677C → T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene predisposes to hyperhomocysteinemia in children with familial hypercholesterolemia treated with cholestyramine. *J Pediatr* 1998; 132: 365-368.
33. Brattström L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not vascular disease: The result of a meta-analysis. *Circulation* 1998; 98: 2520-2526.
34. 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.
35. Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, 7ª ed. New York: McGraw-Hill, 1995; 1279-1327.
36. Koehler KM, Baumgartner RN, Garry PJ, Allen RH, Stabler SP, Rimm EB. Association of folate intake and serum homocysteine in elderly persons according to vitamin supplementation and alcohol use. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 628-637.
37. Ford ES, Sowell A. Serum alpha-tocopherol status in the United States population: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 1999; 150: 290-300.