



Tesis Doctoral

Presentada por:
Raquel Monferrer Rodríguez, licenciada en
Farmacia

Dirigida por:
Bernardino Roca Villanueva, profesor asociado de
la Unidad Predepartamental de Medicina de la
Universitat Jaume I

Título:
**"Relación de la homocisteína con los
factores sociodemográficos y clínicos y
con el desarrollo de morbilidad en los
pacientes con infección por el VIH"**

Castellón, mayo de 2015
Universitat Jaume I

Índice

ÍNDICE	3
DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS	8
Dedicatoria	9
Agradecimientos	9
RESUMEN	10
Justificación y objetivos	11
Método	11
Resultados	12
Conclusiones	13
INTRODUCCIÓN	14
Preámbulo	15
Homocisteína	15
Generalidades	15
Metabolismo de la homocisteína	16
Utilidad clínica de la determinación de los valores de homocisteína plasmática	18
Resumen de las implicaciones clínicas	32
Factores determinantes de los valores de homocisteína plasmática	32

Alteraciones metabólicas relacionadas con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y su tratamiento	34
Infección por el VIH y sida	34
VIH, tratamiento antirretroviral y alteraciones metabólicas	37
Dislipemias	38
Lipodistrofia y lipoatrofia	39
Hiperglucemia	40
Síndrome de la elevación del ácido láctico	41
Trastornos metabólicos óseos	43
Homocisteína y VIH	44
JUSTIFICACIÓN, OBJETIVOS E HIPÓTESIS	45
Justificación.....	46
Objetivos	46
Principal	46
Secundarios	46
Hipótesis.....	48
Hipótesis nula	48
Hipótesis alternativa	48
MÉTODO.....	49
Diseño del estudio	50
Ámbito y pacientes del estudio.....	50
Centro donde se realiza	50
Investigadores	51
Circunstancias en las que se realiza	52
Periodo de realización	53
Criterios de inclusión de los pacientes	54

Criterios de exclusión de pacientes	54
Variables del estudio	55
A) Variables sociodemográficas y clínicas.....	55
B) Variables analíticas.....	56
C) Variables de comorbilidad desarrollada durante el periodo de seguimiento	58
Consideraciones éticas.....	59
Procesamiento y análisis de los datos	60
Software utilizado en el estudio	60
Estadística.....	61
RESULTADOS.....	64
Resultados generales	65
Pacientes incluidos	65
Características de los pacientes.....	65
Niveles plasmáticos de homocisteína.....	66
Resultados relacionados con las variables sociodemográficas y clínicas	66
Datos descriptivos y análisis bivariantes.....	66
Análisis multivariante.....	69
Resultados relacionados con las variables analíticas.....	70
Datos descriptivos y análisis bivariantes.....	70
Análisis multivariante.....	73
Resultados relacionados con la morbilidad y la mortalidad.....	74
Datos descriptivos.....	74
Análisis bivariantes	77
DISCUSIÓN	79

Características del estudio y de los pacientes incluidos en el mismo	80
Ubicación del estudio en el conocimiento existente sobre la homocisteína, la infección por el VIH y el riesgo cardiovascular.....	80
Características de los pacientes del estudio	81
Resultados del estudio en el contexto de la literatura existente sobre el tema.....	81
Resultados sociodemográficos y clínicos	81
Resultados analíticos	84
Resultados sobre morbilidad.....	86
Limitaciones del estudio	87
Perspectivas futuras.....	88
CONFLICTOS DE INTERESES Y FINANCIACIÓN	89
Conflictos de intereses.....	90
Financiación.....	90
BIBLIOGRAFÍA	91

Dedicatoria y agradecimientos

Dedicatoria

Al recuerdo de mi abuelo, cuyo último deseo fue que presentara con éxito esta tesis.

Agradecimientos

A mi director de tesis, el Dr. Bernardino Roca, por su infinita dedicación y constancia. El estudio de la presente tesis no se hubiera realizado sin su gran colaboración.

A los compañeros y amigos del Servicio de Análisis Clínicos del Hospital General Universitario de Castellón, con quienes he compartido cuatro años maravillosos de trabajo y amistad.

A Adrián, por su paciencia y comprensión.

Y especialmente a mi familia, que con su esfuerzo, dedicación y confianza, me permitieron completar mis estudios, y han hecho posible que hoy pueda dedicar mi día a día a hacer lo que me gusta.

A todos ellos, gracias.

Resumen

Justificación y objetivos

Los niveles plasmáticos altos de homocisteína se consideraron durante mucho tiempo un factor de riesgo cardiovascular. Sin embargo los ensayos clínicos aleatorizados no consiguieron demostrar un efecto beneficioso de la reducción de dichos niveles. Como consecuencia de ello el papel de la homocisteína como factor de riesgo cardiovascular quedó seriamente cuestionado, y no está claro si la homocisteína es causa, consecuencia o simplemente un marcador de la patología cardiovascular. Por tanto es procedente seguir investigando sobre los determinantes de los niveles plasmáticos de la homocisteína y sobre el auténtico papel de dicho aminoácido en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares.

Con el estudio en el que se basa la presente tesis doctoral se pretende conocer los niveles plasmáticos de homocisteína en los pacientes con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), y analizar, en dichos pacientes, la posible asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con las variables sociodemográficas, clínicas, analíticas y de morbilidad.

Método

El presente estudio consta de dos fases, estrechamente relacionadas la una con la otra. En la primera fase, mediante un diseño transversal, se evalúa la posible asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con una amplia serie de variables sociodemográficas, clínicas y analíticas. Y en la segunda

fase, mediante un diseño de cohorte, en el mismo grupo de pacientes de la primera fase, se evalúa la posible asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con el desarrollo de patología de cualquier tipo a lo largo del tiempo.

El estudio se realiza en el Hospital General Universitario de Castellón, como una actividad suplementaria a la práctica clínica habitual de control y seguimiento de los pacientes con infección por el VIH.

Para evaluar los resultados se utilizan análisis bivariantes comparativos y análisis multivariantes para tratar de encontrar factores relacionados con los niveles plasmáticos de homocisteína.

Resultados

Se incluye a un total de 145 pacientes, de los cuales 103 (71 %) son varones. La media de la edad del global de participantes es de $41,1 \pm 8,1$ años. Un total de 93 pacientes (64,1 %) está tomando tratamiento antirretroviral; 107 (73,8) son fumadores activos; 89 (61,4 %) tienen coinfección por el virus de la hepatitis C, y 54 (37,2 %) presenta unos niveles plasmáticos de homocisteína superiores al límite de lo normal, es decir, $12 \mu\text{mol/L}$.

En los análisis multivariantes se encuentra una asociación positiva entre los niveles plasmáticos de homocisteína y las siguientes variables: talla ($P = 0,004$), presión arterial diastólica ($P = 0,025$), riesgo de infección por el VIH sexual ($P = 0,016$), coinfección por el virus de la hepatitis C ($P = 0,002$) y creatinina ($P < 0,001$); y se encuentra una asociación negativa entre los niveles plasmáticos de homocisteína y las siguientes variables: tiempo de protrombina ($P < 0,001$), ácido fólico ($P < 0,001$) y vitamina B₁₂ ($P = 0,005$).

En los análisis bivariantes se encuentra una asociación positiva entre los niveles plasmáticos de homocisteína y los grupos de patología otorrinolaringológica u oftalmológica ($P = 0,026$) y de patología nefrológica o urológica ($P = 0,019$); y se encuentra una asociación negativa entre los niveles plasmáticos de homocisteína y el grupo de patología obstétrica o ginecológica ($P = 0,048$).

Conclusiones

En un grupo de pacientes con infección por el VIH se detecta una asociación positiva entre los niveles plasmáticos de homocisteína y las siguientes variables: riesgo de infección por el VIH por vía sexual, coinfección por el virus de la hepatitis C y creatinina sérica; y también se detecta una asociación negativa entre los niveles plasmáticos de homocisteína y la variable tiempo de protrombina.

Introducción

Preámbulo

En los apartados siguientes se describen los conocimientos actuales fundamentales sobre la homocisteína y su significado clínico, y sobre la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y sus repercusiones sobre la patología metabólica.

Homocisteína

Generalidades

En las últimas décadas ha existido un especial interés por conocer el significado clínico de los valores elevados de la homocisteína plasmática y, en especial, su posible relación con el riesgo cardiovascular [1,2]. Ello se ha debido a que tal elevación se ha asociado a diferentes enfermedades y muy especialmente a un incremento del riesgo cardiovascular, y se ha considerado que la elevación de la homocisteína podría explicar el aumento del riesgo vascular, especialmente en los pacientes en los que no se identifica ninguno de los factores de riesgo cardiovascular clásicos: hipertensión arterial, dislipemia, tabaquismo, obesidad, etc. [3].

La homocisteína fue una desconocida en la patología humana hasta el año 1964, fecha en que se describió un raro error del metabolismo, la homocistinuria, en niños con retraso mental, ectopia lentis, alteraciones del

crecimiento y tendencia a las trombosis arteriales y venosas, y cuya característica bioquímica más sobresaliente era la presencia de valores de homocisteína plasmática muy elevados [4]. La rareza de dicho trastorno contribuyó a que el interés por la homocisteína fuera limitado. Sin embargo algunos grupos de estudio concretos se caracterizaron por desarrollar una activa investigación sobre el aminoácido. Entre esos grupos cabe destacar el de McCully, quien asentó su «teoría de la homocisteína sobre la arterioesclerosis» en el año 1969 [5], que en definitiva postulaba que los valores moderadamente elevados de homocisteína plasmática podrían ser una causa directa en la génesis de la arterioesclerosis.

Desde entonces y hasta la actualidad, multitud de trabajos han tratado de relacionar la hiperhomocisteinemia con la enfermedad vascular aterosclerosa y con otros tipos de enfermedades (demencias, depresión, alteraciones en el neonato y otras). A pesar de los años transcurridos y de los conocimientos generados, siguen existiendo muchas incógnitas sobre el protagonismo de las cifras elevadas de homocisteína plasmática y muchas dudas sobre la actitud práctica de los clínicos ante esta avalancha de conocimientos [3]. En general, los trabajos publicados sobre la homocisteína hacen poca referencia a la utilidad de estos conocimientos en la práctica clínica [6-9].

Metabolismo de la homocisteína

La homocisteína es un aminoácido sulfurado no esencial, que no forma parte de la estructura de las proteínas y que aparece como intermediario en la síntesis de cisteína a partir de la metionina (Figura 1) [10]. La homocisteína se sintetiza a partir de la metionina procedente de la dieta o del catabolismo proteico endógeno; ésta es la única fuente de homocisteína conocida en humanos. Durante la síntesis de homocisteína se genera S-adenosil-metionina (Figura 1A), que actúa como donante de grupos metilo a diferentes moléculas, tales como ADN, ARN y otras, y de esta forma puede influir en la transcripción genética, en la neurotransmisión y en otros procesos biológicos fundamentales.

Una vez producida, la homocisteína puede seguir 2 vías metabólicas diferentes, la remetilación a metionina (Figura 1B) o la transulfuración a cistationina (Figura 1C), en cuyo control intervienen diferentes sistemas enzimáticos y vitaminas, y de cuya resultante se derivan los valores de homocisteína plasmática [11].

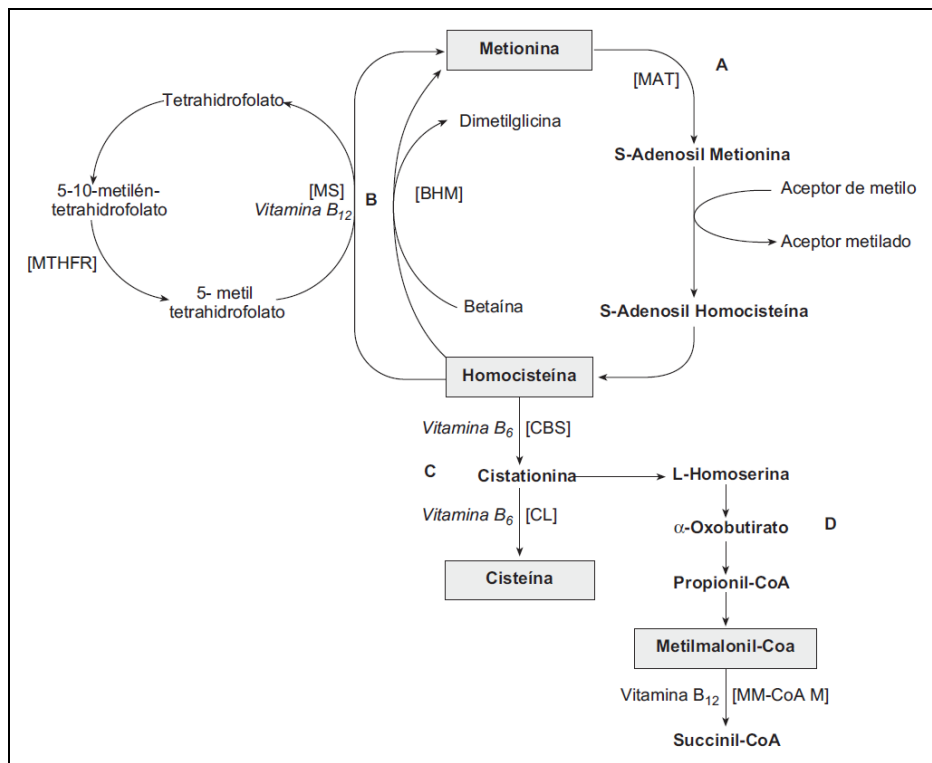


Figura 1. Metabolismo de la homocisteína. A: síntesis de homocisteína a partir de metionina. B: vías de remetilación. C: vía de transulfuración. D: síntesis de metilmalonil-CoA a partir de homocisteína. BHM: betaína-homocisteína-metiltransferasa; CBS: cistationina-β-sintasa; CL: cistationina-liasa; MAT: metionina-adenosil-transferasa; MM-CoAM: metilmalonil-CoA mutasa; MS: metionina-sintasa; MTHFR: 5-10-metilén-tetrahidrofolato-reductasa.

La remetilación ocurre, a su vez, por dos vías. La más universal, presente en la mayoría de los tejidos, es la catalizada por la metionina-sintasa (MS), en la que actúa como cofactor la metilcobalamina (vitamina B₁₂). En esta vía, la donante de grupos metilos es la 5-metil-tetrahidrofolato, procedente de la dieta o sintetizada por acción de la enzima 5-10-metilén-tetrahidrofolato-reductasa. La segunda vía capaz de inducir la remetilación queda restringida al hígado, y quizá al riñón, y se produce por acción de la enzima betaína-homocisteína-metiltransferasa, y la donante de metilos es la betaína. Por último, a través de la vía de transulfuración se sintetiza cistationina (precursor de la cisteína) a partir de homocisteína, por intervención de la enzima cistationina-β-sintasa (CBS), dependiente de la vitamina B₆. El equilibrio entre las vías de remetilación y transulfuración parece regulado en función de los valores de metionina y de su metabolito S-adenosil-metionina: si están disminuidos, la homocisteína es remetilada a metionina, mientras que en condiciones de exceso de metionina actúa fundamentalmente la transulfuración [12].

Utilidad clínica de la determinación de los valores de homocisteína plasmática

La determinación de los valores de homocisteína plasmática posee alguna utilidad en varias situaciones clínicas, las cuales estudiaremos a continuación

Homocistinurias

Las homocistinurias son un grupo de raros errores del metabolismo que se caracterizan por la presencia de valores muy elevados de homocisteína plasmática y que obedecen a diferentes alteraciones enzimáticas. La forma más frecuente de homocistinuria es la homocistinuria clásica, una enfermedad de herencia autosómica recesiva causada por el déficit homocigótico de la CBS; otras formas de homocistinuria mucho menos frecuentes son las debidas

a defectos de la enzima 5-10-metilén-tetrahidrofolato-reductasa o a trastornos del metabolismo de las cobalaminas [5,13-15].

La prevalencia de la homocistinuria clásica varía según la población estudiada y los métodos utilizados para el cribado, y oscila entre 1:344.000 y 1:65.000 nacidos vivos, aunque se sospecha que podría ser más frecuente y afectar al menos a 1:20.000 nacidos vivos [16]. Las características bioquímicas que la definen son los valores muy elevados de homocisteína, tanto en plasma (en general superiores a 100 $\mu\text{mol/L}$) como en orina, así como la presencia de hipermetioninemia e hipocisteinemia. Clínicamente se trata de niños con trombosis arteriales o venosas inexplicadas, alteraciones del crecimiento, retraso mental, miopía progresiva con ectopia lentis y alteraciones esqueléticas.

En 1985 Mudd et al [17] publicaron un seguimiento internacional que documentaba la historia natural del déficit de CBS en 629 pacientes antes de cualquier tratamiento, en el que se observó que la inmensa mayoría de los pacientes desarrollaba ectopia lentis (97 % a la edad de 39 años), así como una alta prevalencia de eventos tromboembólicos (25 % de los pacientes a los 16 años y 50 % de los pacientes a los 29 años) y de osteoporosis espinal (60 % de los pacientes a los 20 años); la mortalidad alcanzaba el 11 % a los 20 años y el 18 % antes de los 30 años de edad. Todos estos eventos eran más tempranos en pacientes no respondedores al tratamiento con vitamina B₆.

Yap et al [18] analizaron, en un interesante estudio multicéntrico observacional, la eficacia en la reducción de eventos vasculares después de reducir a largo plazo los valores de homocisteína plasmática en la homocistinuria clásica. Se comparaban un total de 158 pacientes tratados con los 629 pacientes no tratados recogidos por Mudd et al [17]. El tratamiento recibido variaba entre los 5 grupos participantes y consistió en diferentes combinaciones de dieta pobre en metionina, administración de suplementos de vitaminas (vitamina B₁₂, vitamina B₆ y folatos) y administración de betaína. Se produjeron 17 eventos vasculares en 12 pacientes (9 venosos y 8 arteriales), cuando el número de eventos esperables en pacientes sin tratamiento hubiera sido de 112. Aunque el tratamiento había conseguido una marcada reducción de las cifras de

homocisteína plasmática, el control bioquímico alcanzado era imperfecto y se mantenían valores muy por encima de los de la población general; a pesar de ello, esta reducción parcial de las cifras de homocisteína plasmática era capaz de disminuir significativamente el riesgo vascular.

Según algunos estudios, la reducción de los valores de homocisteína plasmática no sólo modifica el riesgo vascular, sino también otras manifestaciones clínicas, como las oculares (ectopia lentis): el tratamiento temprano de un pequeño grupo de pacientes evitó el desarrollo de ectopia lentis durante un seguimiento de entre 3,5 y 15,1 años [19]. Se cree que la hiperhomocisteinemia con la evolución natural produce un daño en las fibras zonulares, que conectan el cristalino al cuerpo ciliar, y de ese modo se favorece su subluxación, circunstancia que no sucedería con un control bioquímico temprano [19].

Es evidente que se requiere un diagnóstico y un tratamiento tempranos para modificar la historia natural de la enfermedad y que dicho diagnóstico comienza por detectar valores elevados de homocisteína plasmática. Esto requiere un alto índice de sospecha durante la práctica clínica, ya que la enfermedad es poco frecuente y puede presentarse de un modo más o menos sutil. En los últimos años se ha ido identificando un número no despreciable de pacientes en los que el diagnóstico fue realizado en la edad adulta (20–61 años); así en un estudio el tiempo transcurrido entre el primer signo de la enfermedad y el diagnóstico oscilaba entre los 0 y los 43 años, a pesar de que los pacientes afectados habían sido evaluados por diferentes especialistas antes de establecerse el diagnóstico [20]. Casi todos los pacientes descritos en dicho estudio (88 %) habían tenido una o más de las manifestaciones graves de la homocistinuria. Un dato clínico importante en el diagnóstico de estos pacientes en la edad adulta, cuando el fenotipo no es llamativo, es la existencia de una miopía «rara», caracterizada por su gravedad (mayor de 5 dioptrías), su evolución progresiva y la ausencia de un fondo de ojo miópico, y que en un estudio oftalmológico detallado se demuestra que es la expresión de una ectopia lentis. Asimismo, se han comunicado casos de pacientes con homocistinuria diagnosticados en edad adulta en los que la manifestación

principal era una arteriopatía periférica que arteriográficamente simulaba una displasia fibromuscular [21]. Por último, también se debe sospechar una homocistinuria en cualquier persona con valores elevados de homocisteína plasmática que no se expliquen por un déficit vitamínico o por insuficiencia renal.

Por tanto, la determinación de los valores de homocisteína plasmática está perfectamente indicada cuando se sospecha la posibilidad de una homocistinuria hereditaria.

Carencias vitamínicas

De las vitaminas que intervienen en el metabolismo de la homocisteína, únicamente la vitamina B₁₂ y los folatos condicionan los valores basales de homocisteína plasmática. El déficit de una de estas dos vitaminas se traduce en la elevación de la homocisteína plasmática, elevación que se normaliza si se administra la vitamina deficitaria y no la contraria. A su vez, la carencia de vitamina B₁₂ eleva los valores del ácido metilmalónico sérico (Figura 1D), circunstancia que, en ausencia de alteraciones renales y deshidratación, es altamente específica de la carencia de vitamina B₁₂ y sólo se corrige tras su administración, y no con la administración de folatos. Es, por tanto, evidente que los valores elevados de homocisteína plasmática pueden ser un marcador de la carencia de estas dos vitaminas, hecho que tiene su importancia práctica ya que no existe en la actualidad ninguna regla de oro aceptada para el diagnóstico de ambas carencias [22].

La carencia de folatos puede ocurrir en cualquier momento de la vida y, en ausencia de enfermedades ligadas a la malabsorción o de muy raros errores genéticos, suele tener una causa nutricional (dietas anormales, alcoholismo, interferencias medicamentosas en la absorción de folatos, etc.); en general, puede corregirse modificando la dieta y cambiando los hábitos de vida [23].

Por su parte la carencia de vitamina B₁₂ tiene otras connotaciones [24]. Ocurre especialmente en personas con edades superiores a los 55-60 años y constituye un verdadero problema de salud pública [25]. Estudios realizados en

Estados Unidos por Carmel [26] en 1996 demostraron que un 2 a un 3 % de las personas mayores de 60 años tenían una anemia perniciosa no diagnosticada ni tratada, mientras que Pennypacker et al [27] hallaron una prevalencia de deficiencia de vitamina B₁₂ de aproximadamente el 15 % en pacientes con edad superior a los 65 años; una parte importante de ellos tenía valores plasmáticos de vitamina B₁₂ en el límite bajo de la normalidad y eran detectados por presentar cifras elevadas de homocisteína plasmática y de ácido metilmalónico sérico. Otro grupo poblacional con riesgo de desarrollar carencia de vitamina B₁₂ es el de las personas que siguen dietas vegetarianas estrictas; en muchas ocasiones se trata de mujeres en edad fértil [28,29]. En caso de embarazo, la futura madre en general está asintomática y sin anemia, mientras que el neonato puede presentar síntomas neurológicos devastadores, a veces irreversibles. Hay que considerar, asimismo, las enfermedades autoinmunitarias, frecuentes en personas jóvenes, que no rara vez desarrollan gastritis autoinmunitarias que causan a su vez carencia de vitamina B₁₂ [30].

Es evidente que la existencia de estas poblaciones con carencia de vitamina B₁₂, clínica o subclínica, desempeña un papel fundamental para explicar las cifras elevadas de homocisteína plasmática, en especial en las personas de edad avanzada, y hace necesaria la alerta por parte del clínico, tanto para su diagnóstico como para su tratamiento correcto [31]. Otra cuestión importante son los posibles efectos nocivos derivados de la administración de ácido fólico en caso de deficiencia de vitamina B₁₂. Se conocía por los estudios clásicos que la administración de ácido fólico a los pacientes con carencia de vitamina B₁₂ enmascaraba la anemia pero permitía la evolución e incluso favorecía la exacerbación de las lesiones neurológicas propias del déficit de vitamina B₁₂. Hoy existe evidencia de que en las personas de edad avanzada la presencia de valores bajos de vitamina B₁₂ y valores altos de folatos se asocia a un riesgo mayor de anemia y de déficit cognitivo [32]. Por tanto, es fundamental conocer la situación de la vitamina B₁₂ antes de administrar ácido fólico en dosis elevadas y por períodos prolongados.

La cuantificación de vitamina B₁₂ y folatos en sangre, determinaciones de primera línea para la investigación de las deficiencias de ambas vitaminas, está

sujeta a muchas limitaciones. Estudios realizados en pacientes con carencia clínica demostrada de vitamina B₁₂, y considerando los valores séricos normales de cobalamina entre 200 pg/mL y 900 pg/mL, encontraron que en el 50 % de los casos los valores eran < 100 pg/mL, en el 40 % se encontraban entre 100 y 200 pg/mL y en el 10 % entre 200 y 350 pg/mL, con un 0,1 a un 1 % de casos por encima de los 350 pg/mL. Esto implica que la concentración sérica no puede aceptarse como un predictor seguro del estado metabólico y se conoce que, así como un valor normal no siempre indica normalidad, un valor sérico disminuido frecuentemente no significa deficiencia [23,33]. Asimismo, la cuantificación de folatos, tanto séricos como intraeritrocitarios, también tiene serias dificultades de interpretación, especialmente si existe una alteración de los niveles de vitamina B₁₂ [23].

En este escenario, la determinación de ácido metilmalónico sérico y homocisteína plasmática resulta de gran utilidad como herramienta diagnóstica en las deficiencias de vitamina B₁₂ y folatos, así como en la valoración de la respuesta al tratamiento [34-38]. La determinación de ácido metilmalónico sérico tiene una sensibilidad del 98 % y es altamente específica para el diagnóstico de la carencia de vitamina B₁₂, en ausencia de insuficiencia renal o deshidratación. Mientras que la sensibilidad de la determinación de homocisteína plasmática para el diagnóstico de la carencia de vitamina B₁₂ es del 96 %, pero con una baja especificidad, ya que, además de la deficiencia de vitamina B₁₂ y folatos, existen otras circunstancias (Tabla 1) que pueden alterar los valores de homocisteína plasmática, en muchas ocasiones a través de la modificación de los valores de folatos.

En definitiva, podemos considerar varias situaciones en las que la determinación de homocisteína plasmática no sólo está justificada, sino que es de considerable utilidad diagnóstica:

- En caso de pacientes con valores plasmáticos bajos de vitamina B₁₂ o de folatos, en los que no exista una sospecha clínica de deficiencia, una determinación normal de homocisteína plasmática nos permitirá considerar que esos valores puedan estar falsamente disminuidos y no exista realmente carencia vitamínica.

- En caso de que exista la sospecha clínica de deficiencia de folatos o de vitamina B₁₂, y los valores séricos de estas vitaminas se encuentren en el límite o dentro del intervalo de la normalidad, una determinación elevada de homocisteína plasmática permitirá apoyar la sospecha de carencia de vitaminas y, en caso de que no quede clara la etiología, posteriormente la determinación de ácido metilmalónico orientará hacia el déficit de vitamina B₁₂ (ácido metilmalónico sérico o urinario elevado) o de folatos (ácido metilmalónico sérico o urinario no elevado). Muchos autores consideran que ante un paciente con sospecha clínica de deficiencia de vitamina B₁₂ y valores séricos de vitamina B₁₂ en el límite inferior de la normalidad (200–300 pg/mL), la cuantificación de la homocisteína plasmática junto con la creatinina plasmática puede ser de mayor utilidad que la cuantificación de ácido metilmalónico sérico para diagnosticar el déficit de la vitamina, dada la mayor dificultad metodológica para la determinación del ácido metilmalónico sérico.
- La detección de valores elevados de homocisteína plasmática puede permitir la detección temprana de deficiencia preclínica o subclínica de folatos, y muy especialmente de vitamina B₁₂, en pacientes en los que los valores plasmáticos de estas vitaminas se encuentren en el límite o dentro del intervalo normal, especialmente si la función renal y la dieta son normales. Ello es especialmente aplicable a determinados grupos de riesgo, como puede ser la población de edad más avanzada.

Tabla 1. Causas de hiperhomocisteinemia. * Etiologías más comunes.

Causas genéticas

- Mutaciones y deficiencias enzimáticas del metabolismo de la homocisteína
 - Deficiencia de cistationina-β-sintasa
 - Deficiencia de metionina-sintasa

- Deficiencia de 5-10-metilén-tetrahidrofolato-reductasa
- Mutación C677T de 5-10-metilén-tetrahidrofolato-reductasa (forma termolábil) *
- Mutaciones y deficiencias enzimáticas del metabolismo de las cobalaminas

Causas nutricionales

- Deficiencias vitamínicas: ácido fólico, vitamina B₆, vitamina B₁₂ *
- Dietas ricas en metionina

Características demográficas y estilo de vida

- Edad avanzada
- Sexo masculino
- Posmenopausia
- Sedentarismo
- Tabaquismo
- Consumo crónico de alcohol
- Alta ingesta de café

Fármacos

- Anticonvulsivantes: fenitoína, carbamacepina
- Antagonistas del folato: metotrexato
- Agentes hipolipemiantes: fibratos, colestiramina, ácido nicotínico
- Diuréticos tiazídicos
- Fenofibrato
- Ciclosporina
- Teofilina
- L-dopa
- Sulfonamidas
- Antiácidos

Enfermedades crónicas

- Insuficiencia renal *
 - Neoplasias malignas
 - Psoriasis
 - Hipotiroidismo
 - Lupus eritematoso sistémico
 - Diabetes mellitus
-

Aterotrombosis

Desde la propuesta de McCully sobre la «teoría de la homocisteína» [5], numerosos estudios han tratado de aclarar la relación entre los valores de homocisteína plasmática y la aterosclerosis. Básicamente se han orientado en tres áreas: a) estudios básicos, buscando conocer los mecanismos biológicos por los que la hiperhomocisteinemia dañaría el vaso; b) estudios epidemiológicos, buscando conocer la relación entre los valores de homocisteína plasmática y el riesgo cardiovascular, y c) estudios intervencionistas, buscando conocer si el tratamiento dirigido a reducir las cifras de homocisteína plasmática es capaz o no de reducir el riesgo vascular.

Sobre la base de la evidencia experimental disponible, se ha sugerido que la hiperhomocisteinemia podría favorecer la aterosclerosis interviniendo a distintos niveles considerados clave, como la peroxidación lipídica, el daño directo de la matriz y endotelio vasculares, el aumento de la proliferación de las células musculares lisas, la alteración de la vasodilatación dependiente del endotelio y diferentes efectos sobre el sistema de coagulación [13,39]. Sin embargo, los estudios que sugieren estos mecanismos fisiopatológicos son en su mayor parte in vitro o basados en modelos animales, en los que frecuentemente se experimenta con concentraciones de homocisteína mucho más elevadas de las que poseen los pacientes con hiperhomocisteinemia. Por

tanto las incertidumbres que persisten en este terreno son todavía considerables.

Los estudios epidemiológicos han mostrado resultados dispares, muy influenciados por su metodología y por el momento en el que se realiza la determinación de homocisteína plasmática en relación con el evento vascular [40]. La evidencia inicial, procedente fundamentalmente de estudios observacionales (retrospectivos y de casos y controles), indicaba una fuerte asociación entre homocisteína plasmática y el riesgo vascular, estimándose incluso en algunos metaanálisis que una reducción significativa de los valores de homocisteína plasmática podría disminuir de forma importante el riesgo de enfermedad coronaria, enfermedad vascular cerebral y trombosis venosa profunda [41-43]. Sin embargo, los estudios prospectivos, metodológicamente más rigurosos y diseñados para eliminar los posibles factores de confusión (función renal, deficiencias vitamínicas, factores de riesgo vascular convencionales, entre otros), encontraron que esta asociación era menos intensa de lo inicialmente sospechado o bien no fueron capaces de identificar tal asociación [40,44].

Parece claro que la respuesta definitiva a estas incertidumbres ha de proceder de los resultados de los estudios de intervención terapéutica. Ya en 2003-2004 se publicaron 2 pequeños estudios que no encontraron que la administración de ácido fólico añadiera ningún efecto beneficioso sobre la mortalidad cardiovascular en pacientes con enfermedad coronaria estable o infarto agudo de miocardio y en tratamiento con estatinas [45,46]. Sin embargo, la evidencia principal procede de los grandes estudios VISP [47], NORVIT [48], HOPE-2 [49] y WENBIT [50], publicados entre 2004 y 2008, y que en conjunto incluyen a más de 16.000 pacientes.

El objetivo del estudio VISP (Vitamin Intervention for Stroke Prevention) [47] era determinar si dosis altas de ácido fólico, vitamina B₆ y vitamina B₁₂ reducían las cifras de homocisteína plasmática y el riesgo de accidente cerebrovascular isquémico recurrente durante un período de 2 años de seguimiento, en comparación con la administración de dosis bajas de estas mismas vitaminas. Se incluyó a 3.680 pacientes de Estados Unidos. Aunque la reducción de

homocisteína plasmática fue superior en el grupo tratado con dosis altas de vitaminas, no se observó una reducción del riesgo de accidente cerebrovascular isquémico. Se ha sugerido que los resultados del estudio VISP podrían estar limitados por la ausencia de grupo placebo (no se compararon los resultados con un grupo al que no se hubieran administrado vitaminas) y por el corto período de seguimiento [51], entre otras circunstancias.

El estudio NORVIT (Norwegian Vitamin Trial) [48] se diseñó con el objetivo de evaluar si la reducción de la homocisteína plasmática mediante el tratamiento con vitaminas reducía el riesgo de eventos vasculares (infarto agudo de miocardio, accidente cerebrovascular y muerte súbita atribuida a enfermedad coronaria) en pacientes con coronariopatía previa. Se incluyó a 3.749 pacientes noruegos (población no fortificada con ácido fólico) que habían sobrevivido a un infarto agudo de miocardio y se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos: a) tratados con ácido fólico, vitamina B₁₂ y vitamina B₆ (0,8 mg, 0,4 mg y 40 mg diarios, respectivamente); b) tratados con ácido fólico y vitamina B₁₂ (0,8 mg y 0,4 mg diarios, respectivamente); c) tratados con vitamina B₆ (40 mg diarios), y d) tratados con placebo. Los pacientes estaban óptimamente tratados con aspirina y betabloqueantes (en torno al 90 %) y estatinas (80 %), y el índice de cumplimiento del tratamiento era superior al 90 %. La reducción de la homocisteína plasmática fue superior en los grupos tratados con ácido fólico y vitamina B₁₂, sin que se observara una reducción en el riesgo global de eventos vasculares. Se detectó, asimismo, una tendencia hacia un incremento del riesgo de infarto agudo de miocardio, en el límite de significación, en pacientes tratados con vitamina B₆ respecto a los no tratados con vitamina B₆ y en pacientes tratados con ácido fólico y vitaminas B₆ y B₁₂ respecto al grupo placebo. Asimismo, entre los pacientes tratados con ácido fólico se produjo un número de casos de cáncer superior, aunque no estadísticamente significativo.

El estudio HOPE-2 (Heart Outcomes Prevention Evaluation-2) [49] es un estudio aleatorizado y doble ciego en el que se incluyó a 5.522 pacientes mayores de 55 años, con antecedentes de enfermedad vascular o diabetes mellitus. Los pacientes fueron aleatorizados a un grupo de tratamiento (administración diaria de 2,5 mg de ácido fólico, 50 mg de vitamina B₆ y 1 mg

de vitamina B₁₂) y a un grupo placebo, y seguidos durante 5 años. En el grupo tratado se consiguió reducir significativamente la homocisteína plasmática, sin que este hecho se asociara a una reducción significativa del riesgo vascular global (infarto agudo de miocardio, muerte por causa cardiovascular y accidente cerebrovascular), aunque sí se detectó una reducción del 25 % del riesgo de accidente cerebrovascular en el análisis de subgrupos. Muy notablemente, y en concordancia con los resultados del estudio NORVIT, en el grupo de pacientes tratados hubo un incremento significativo del riesgo de angina inestable.

El estudio WENBIT [50] se realizó en Noruega en un total de 3.096 pacientes a los que se les había realizado una coronariografía. Los pacientes se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos iguales a los del estudio NORVIT [48], con el objetivo de examinar si la reducción de homocisteína plasmática se asociaba a una reducción del riesgo de eventos vasculares (infarto agudo de miocardio, hospitalización por angina inestable, accidente cerebrovascular tromboembólico y muerte). El seguimiento medio fue de 38 meses; el estudio finalizó tras conocerse los resultados preliminares del estudio NORVIT, que mostraban un incremento en el número de casos de cáncer en los pacientes tratados con ácido fólico. Al igual que en los estudios previos, se consiguió una importante reducción de la homocisteína plasmática en los pacientes tratados con ácido fólico y vitamina B₁₂, que no se tradujo en una disminución del riesgo global de eventos vasculares o de mortalidad. En el grupo de pacientes tratados con ácido fólico y vitamina B₁₂ hubo un número menor de accidentes cerebrovasculares tromboembólicos y un número mayor de casos de cáncer respecto a los grupos tratados sólo con vitamina B₆ o placebo, aunque en ninguno de los dos casos las diferencias fueron significativas.

Por tanto, la evidencia disponible hasta ahora apunta hacia una conclusión clara: la administración de ácido fólico y vitamina B₁₂ es capaz de reducir significativamente la homocisteína plasmática, pero esta reducción no se acompaña de una disminución global del riesgo cardiovascular. Si bien los resultados no son concordantes entre los diferentes estudios, quizá sí podría existir un efecto beneficioso en la prevención secundaria de accidentes

cerebrovasculares tromboembólicos; este efecto protector sobre la enfermedad cerebrovascular, reconocida en el estudio HOPE-2, ya fue sugerido tras observarse una disminución de la mortalidad por accidente cerebrovascular en las poblaciones con fortificación de los alimentos con ácido fólico. Con los datos disponibles, lo más adecuado sería considerar las cifras elevadas de homocisteína plasmática como un marcador de aterosclerosis o bien como una consecuencia de otros factores más estrechamente relacionados con el riesgo vascular, como se ha sugerido en pacientes con lupus eritematoso sistémico [52] o con el síndrome metabólico [53,54]. En un sentido más amplio, tal y como puso de manifiesto el estudio Hordaland [55], la hiperhomocisteinemia es un marcador asociado a múltiples procesos clínicos (Tabla 1) y las cifras normales de homocisteína indicarían un estilo de vida más saludable y un mejor estado de salud general, por lo que no es de extrañar que se haya descrito una mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes con enfermedades crónicas [56]. Por supuesto, no puede descartarse la posibilidad de que la contribución de la hiperhomocisteinemia al riesgo vascular sea pequeña y que los estudios de tratamiento realizados hasta ahora no hayan podido reconocerla; en este caso, únicamente estudios con mayor número de pacientes y mayor tiempo de seguimiento, o metaanálisis que incluyan varios estudios amplios, tendrían la potencia estadística suficiente para reconocerla [51,57].

Otra consideración importante es el posible efecto perjudicial de la administración de vitaminas del grupo B a dosis farmacológicas. En los estudios NORVIT y WENBIT hubo un mayor número (aunque no significativo) de casos de cáncer en el grupo de pacientes tratados con ácido fólico y vitamina B₁₂, en el estudio NORVIT un aumento del riesgo de infarto agudo de miocardio en el límite de significación y en el estudio HOPE-2 hubo un incremento significativo del número de hospitalizaciones por angina inestable. Por supuesto que estos datos son muy preliminares y han de interpretarse con precaución, pero deben tenerse en cuenta como una llamada de atención para el clínico, ya que la utilización de ácido fólico podría tener efectos nocivos que

contrarresten su potencial efecto beneficioso de bajar la homocisteína plasmática [58,59].

En definitiva la determinación de homocisteína plasmática en el estudio de pacientes con riesgo vascular no está indicada de forma generalizada y no existe evidencia suficiente para recomendar el tratamiento con vitaminas del grupo B en pacientes hiperhomocisteinémicos con intención de reducir su riesgo vascular o como prevención secundaria en pacientes con antecedentes de enfermedad cardiovascular [60]. El objetivo del clínico debe ser la identificación y el tratamiento óptimo de los factores de riesgo convencionales (hipertensión, diabetes mellitus, dislipemia o tabaquismo) y la promoción de estilos de vida saludables. Únicamente en casos seleccionados, tales como familias con eventos cardiovasculares precoces, personas jóvenes en las que la presencia de enfermedad cardiovascular no se explique con los factores de riesgo habituales o frente a formas atípicas de arteriopatía progresiva [20,21], podría la determinación de la homocisteína plasmática desempeñar un papel diagnóstico, permitiendo la detección de casos de homocistinuria que hubieran pasado inadvertidos hasta la adolescencia o la edad adulta y en los que la enfermedad vascular fuese la manifestación principal [61].

Otras situaciones clínicas

Se ha relacionado la hiperhomocisteinemia con otras situaciones clínicas, tales como los defectos congénitos del tubo neural [62,63], los trastornos relacionados con la hipertensión gestacional [64], la rigidez aórtica [65], el aneurisma de la aorta abdominal [66], la insuficiencia renal en pacientes con diabetes tipo 2 [67], el autismo [68], la esquizofrenia o la depresión [69-71], la enfermedad de Alzheimer [72,73], o la pérdida de masa ósea [74] y las fracturas de cadera en ancianos [75]. Sin embargo, no existen estudios adecuadamente diseñados en los que se evalúe de forma rigurosa la posible asociación de la homocisteína plasmática con tales entidades (p. ej., que consideren factores de confusión como la función renal, los valores de folatos o de vitamina B₁₂, o la presencia de factores de riesgo vascular convencionales),

de manera que no puede hacerse ninguna recomendación sobre la indicación de la determinación de la homocisteína plasmática ni de su tratamiento en pacientes con esos u otros procesos [76,77].

Resumen de las implicaciones clínicas

Con los conocimientos existentes en la actualidad puede concluirse que la determinación de los valores de homocisteína plasmática está claramente indicada cuando existe la sospecha clínica de homocistinuria, y también en el estudio de las deficiencias de vitamina B₁₂ y/o ácido fólico. Únicamente en casos seleccionados de enfermedad vascular la determinación de la homocisteína plasmática podría desempeñar un papel diagnóstico, al permitir reconocer casos de homocistinuria que hubieran pasado inadvertidos hasta la adolescencia o la edad adulta. En otras situaciones clínicas no existe evidencia suficiente para hacer recomendaciones. Finalmente es importante recordar que está por demostrar la inocuidad de la administración del ácido fólico durante períodos prolongados y en dosis farmacológicas [78].

Por tanto, y a la vista de todo lo anterior, persisten muchas dudas sobre el auténtico significado clínico de la homocisteína plasmática, por lo que son necesarios más estudios para profundizar en el conocimiento del posible papel etiopatogénico de la misma en diversas enfermedades [79-81].

Factores determinantes de los valores de homocisteína plasmática

En definitiva, la elevación de las cifras de homocisteína plasmática puede deberse a una o varias causas (Tabla 1), entre las que destacan, por su frecuencia, el deterioro de la función renal y las carencias de vitamina B₁₂ y de folatos. Entre las causas genéticas destaca la mutación (C677T) de la enzima

5-10-metilén-tetrahidrofolato-reductasa, denominada «forma termolábil» de la enzima, que se caracteriza por una reducción de la actividad enzimática a 37 °C del 40-50 % y que predispone al sujeto que la presenta a una hiperhomocisteinemia moderada, especialmente en situaciones de déficit de folatos [82]. En el estudio Hordaland, realizado en 18.043 participantes, los 67 sujetos con valores de homocisteína plasmática basales superiores a 40 $\mu\text{mol/L}$ correspondían en un 19 % de los casos a un déficit de cobalaminas y el resto a una combinación entre un defecto de folatos y el estado homocigoto para la mutación (C677T) de la enzima 5-10-metilén-tetrahidrofolato-reductasa [83,84]. Según ese estudio, y desde un punto de vista práctico, los valores de homocisteína discretamente elevados en una persona supuestamente sana y con función renal normal obedecen en las dos terceras partes de los casos a una carencia de vitamina B₁₂ o de folatos. Si trasladamos este hecho a los países con fortificación de los alimentos con ácido fólico o a las personas con dieta sana y equilibrada, la carencia de vitamina B₁₂ es la causa más frecuente, en especial en personas por encima de los 55-60 años [7,85,86]. En un estudio poblacional con 396 sujetos sanos, realizado en Vizcaya y publicado en el año 2001, ocurría una correlación inversa muy significativa entre los valores de homocisteína plasmática y vitamina B₁₂, a partir de los 55 años de edad [87]. La correcta obtención de muestras de sangre es un paso clave para la determinación de la homocisteína plasmática; son necesarias la conservación de las muestras en frío y la centrifugación temprana para evitar que la liberación de homocisteína eritrocitaria produzca una falsa elevación de los valores de homocisteína plasmática.

Generalmente se consideran normales los valores de homocisteína plasmática inferiores a 12 $\mu\text{mol/L}$. Por encima de 12 $\mu\text{mol/L}$ hablamos de hiperhomocisteinemia, clasificada generalmente como leve (12 a 30 $\mu\text{mol/L}$), moderada (30 a 100 $\mu\text{mol/L}$) y severa (por encima de 100 $\mu\text{mol/L}$) [7].

Alteraciones metabólicas relacionadas con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y su tratamiento

Infección por el VIH y sida

El sida o síndrome de inmunodeficiencia adquirida está producido por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) y en menor medida por el virus del mismo nombre tipo 2 (VIH-2). Estos virus destruyen a los linfocitos CD4 y de ese modo comprometen la inmunidad celular, lo que a su vez aumenta el riesgo de ciertas infecciones y neoplasias.

La infección inicial por los virus VIH puede ser totalmente asintomática o puede manifestarse como una enfermedad febril inespecífica. En cualquiera de los dos casos, pocas semanas después de producirse la infección, los pacientes quedan completamente asintomáticos, y en esa situación permanecen durante años. Finalmente, una vez se han destruido suficientes linfocitos CD4, pueden comenzar a aparecer las distintas enfermedades que caracterizan al sida (Tabla 2).

La infección por estos virus se diagnostica habitualmente mediante la detección de anticuerpos contra los mismos o bien mediante la detección de su ARN. Y el tratamiento consiste en la administración simultánea de varios fármacos capaces de inhibir las enzimas virales (Figura 2), con lo que se impide su replicación, ya que no es factible por ahora su erradicación.

Tabla 2. Principales enfermedades relacionadas con la infección por el VIH, clasificadas en categorías. Las enfermedades de la categoría C determinan el diagnóstico de sida.

Categorías	Síntomas o enfermedades
A	<ul style="list-style-type: none"> • Síntomas de infección primaria aguda por VIH • Adenopatías generalizadas persistentes
B	<ul style="list-style-type: none"> • Angiomatosis bacilar • Candidiasis bucofaríngea (muguet) • Candidiasis vulvovaginal persistente • Displasia, moderada o grave, o carcinoma in situ del cuello uterino • Síntomas generales, como fiebre ($\geq 38,5$ °C) o diarrea de más de 1 mes de duración • Leucoplasia vellosa oral • Herpes zóster, al menos 2 episodios o afecta al menos a 2 dermatomas • Púrpura trombocitopénica inmunitaria • Listeriosis • Enfermedad pélvica inflamatoria • Neuropatía periférica
C	<ul style="list-style-type: none"> • Candidiasis de los bronquios, la tráquea, los pulmones o el esófago • Cáncer de cuello uterino invasivo • Coccidioidomicosis diseminada o extrapulmonar • Criptococosis extrapulmonar • Criptosporidiosis intestinal crónica (> 1 mes de duración) • Infección por citomegalovirus (en sitios diferentes al bazo, el

	<p>hígado o los ganglios linfáticos)</p> <ul style="list-style-type: none">• Retinitis por citomegalovirus (con pérdida de la visión)• Encefalopatía relacionada con el VIH• Herpes simple con úlceras crónicas, bronquitis, neumonitis o esofagitis• Histoplasmosis diseminada o extrapulmonar• Isosporiasis intestinal crónica (> 1 mes de duración)• Sarcoma de Kaposi• Linfoma de Burkitt• Linfoma inmunoblástico• Linfoma encefálico primario• Infección por el complejo <i>Mycobacterium avium</i> o por <i>M. kansasii</i> diseminada o extrapulmonar• Infección por <i>M. tuberculosis</i> en cualquier sitio (pulmonar o extrapulmonar)• Infección por <i>Mycobacterium</i> de otra especie, o de una especie no identificada, diseminada o extrapulmonar• Neumonía por <i>Pneumocystis jirovecii</i>• Neumonía recidivante• Leucoencefalopatía multifocal progresiva• Septicemia por <i>Salmonella</i> spp. recidivante• Toxoplasmosis encefálica• Síndrome de consunción secundario al VIH
--	---

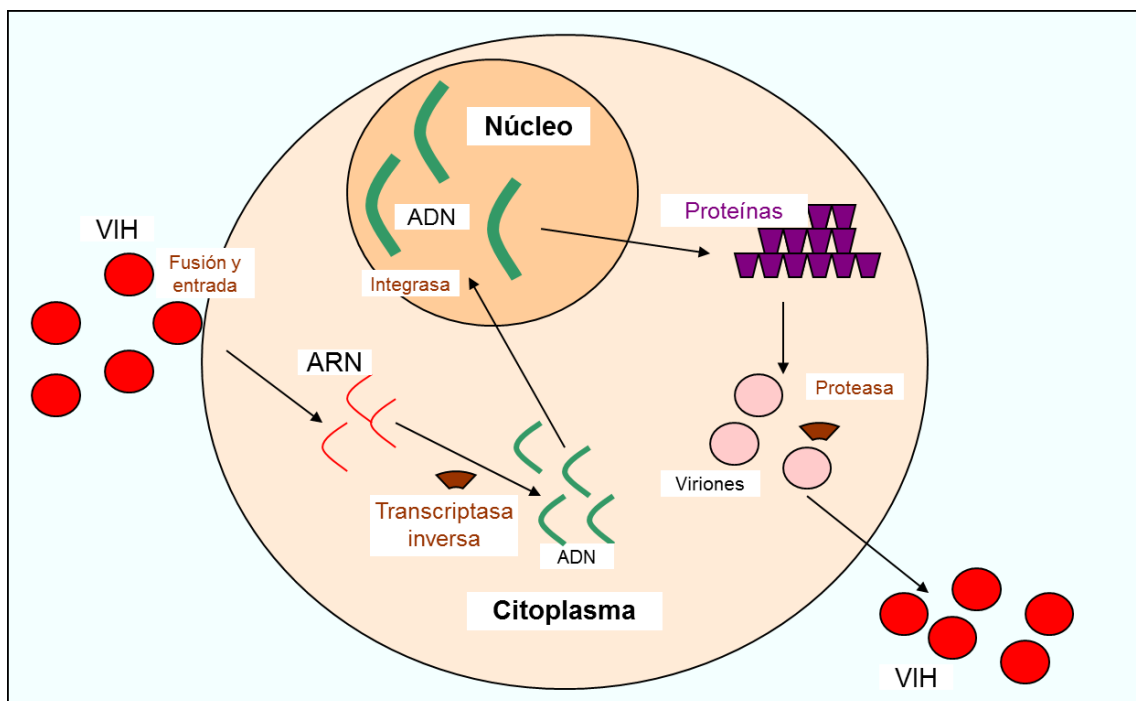


Figura 2. Ciclo vital del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) con sus enzimas transcriptasa inversa, integrasa y proteasa, a cuyo nivel actúan la mayoría de fármacos antirretrovirales.

VIH, tratamiento antirretroviral y alteraciones metabólicas

Con el tratamiento antirretroviral se ha logrado una enorme reducción de la morbimortalidad relacionada con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) [88]. Como consecuencia de ello nuevos problemas clínicos han adquirido relevancia en los pacientes con infección por dicho virus [89]. Entre estos problemas ocupan un lugar preeminente diversas alteraciones metabólicas, ocasionadas por el propio virus y sobre todo por el tratamiento que se utiliza para combatirlo. Entre esas alteraciones destacan las dislipemias, la

lipodistrofia, la intolerancia a la glucosa y el síndrome de la elevación del ácido láctico [90,91].

Dislipemias

En los estadios iniciales de la infección por el VIH, cuando los pacientes están asintomáticos, puede producirse un descenso de los niveles de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (HDL). Años más tarde, cuando aparecen las manifestaciones clínicas relacionadas con el VIH, con frecuencia se observa un aumento de los niveles de triglicéridos y de colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de nuevo un descenso del colesterol HDL [92]. La etiopatogenia de estos trastornos es insuficientemente conocida.

Los inhibidores de la proteasa son uno de los principales grupos de antirretrovirales, y con frecuencia forman parte del tratamiento de los pacientes con infección por el VIH [93]. Estos fármacos, especialmente ritonavir, pueden aumentar considerablemente los niveles de triglicéridos y en menor medida los de colesterol LDL. Además del riesgo cardiovascular que suponen estas dislipemias, la hipertrigliceridemia, por su parte, puede favorecer también la aparición de pancreatitis.

En todos los pacientes con infección por el VIH deben controlarse periódicamente los niveles de lípidos. En líneas generales, las recomendaciones que existen para el tratamiento de las dislipemias en la población general [94] son adecuadas también para los pacientes con infección por el VIH. Sin embargo, para estos enfermos son pertinentes algunas consideraciones específicas [95]. Por ejemplo algunos pacientes con infección por el VIH tienen caquexia y dislipemia, a los que evidentemente no se les puede recomendar que pierdan peso. Por otra parte, las interacciones de los alimentos con los fármacos también pueden dificultar el seguimiento de las dietas recomendables para las dislipemias [93].

La disfunción hepática es común en los pacientes con infección por el VIH. Ello puede deberse a la coinfección por los virus de las hepatitis C o B, al etilismo crónico o a la toxicidad de diversos fármacos. Como varios de los medicamentos que se emplean en el tratamiento de las dislipemias son también hepatotóxicos, se recomienda especial precaución si se usan dichos fármacos en enfermos con infección por el VIH [96].

Lipodistrofia

Los pacientes que toman tratamiento antirretroviral con frecuencia presentan alteraciones en la distribución de la grasa corporal. Entre ellas destaca la lipohipertrofia o acúmulo de grasa que suele presentarse fundamentalmente en las vísceras, pared abdominal, mamas y parte posterior del cuello. Otra modalidad de este proceso es la lipoatrofia o pérdida de grasa subcutánea, que puede presentarse en la cara, glúteos y extremidades, y suele manifestarse con la aparición de unas venas más prominentes de lo normal. Ambos trastornos pueden presentarse simultáneamente y adoptar una distribución localizada o generalizada.

Al conjunto de estos procesos se le conoce con el nombre de lipodistrofia y puede afectar hasta a la mitad de los pacientes que toman tratamiento antirretroviral de modo prolongado. La lipohipertrofia está producida básicamente por los inhibidores de la proteasa, y la lipoatrofia por los inhibidores de la transcriptasa análogos de los nucleósidos, especialmente estavudina. De cualquier modo los fármacos más empleados en la actualidad, incluidos los inhibidores de la proteasa y los inhibidores de la transcriptasa análogos de los nucleósidos, producen este tipo de efectos secundarios menos frecuentemente y menos intensamente que los fármacos que estaban disponibles hace una o dos décadas. La aparición de estos trastornos también es favorecida por factores como la edad, sexo femenino, infección avanzada por el VIH, o adecuada respuesta al tratamiento antirretroviral [97]. Las personas obesas tienden a desarrollar lipohipertrofia y las delgadas lipoatrofia.

La tomografía computarizada y la resonancia magnética son los métodos más fiables para medir la grasa corporal, y por tanto para diagnosticar correctamente la lipodistrofia, pero por ahora no están bien definidos los valores normales y patológicos. Por ello, en casos poco avanzados el diagnóstico no es fácil.

En ocasiones la lipodistrofia causa disnea, dolores localizados, reflujo gastroesofágico y otros síntomas, pero es el efecto cosmético lo que más suele importar a la mayoría de pacientes afectados [98].

Si se considera necesario tratar la lipodistrofia, la principal medida a tomar es la supresión del medicamento responsable. De los distintos fármacos ensayados en el tratamiento de este proceso, únicamente metformina ha demostrado cierta eficacia para reducir los depósitos de grasa visceral. La liposucción en casos de lipohipertrofia y los implantes de materiales sintéticos en casos de lipoatrofia pueden ser adecuados para algunos pacientes [99].

Hiper glucemia

En cerca del 40 % de los pacientes que toman modalidades de tratamiento antirretroviral con inhibidores de la proteasa se observa intolerancia a la glucosa debida a resistencia a la insulina [100]. Dichos fármacos también dificultan el control de la glucemia y favorecen la cetoacidosis en los enfermos que previamente tenían diabetes.

Se desconoce la proporción de pacientes con intolerancia a la glucosa producida por los inhibidores de la proteasa que acaban desarrollando diabetes, pero quienes presentan otros tipos de predisposición a padecer diabetes tipo 2, como obesidad, poseen un riesgo especialmente alto. La resistencia a la insulina producida por los inhibidores de la proteasa con frecuencia se asocia a la lipohipertrofia y las dislipemias producidas por los mismos fármacos.

Otros medicamentos frecuentemente utilizados en los pacientes con infección por el VIH que pueden ocasionar hiperglucemia son los corticosteroides, pentamidina, megestrol y didanosina.

En pacientes con antecedentes de trastorno del metabolismo de la glucosa se recomienda en general evitar los inhibidores de la proteasa. Por lo demás, el tratamiento de la intolerancia a la glucosa y la diabetes es similar al empleado en la población general [101]. Si se utilizan medicamentos conviene emplear aquellos que aumentan la sensibilidad a la insulina, como metformina o una tiazolidindiona, como pioglitazona [102]. Si con ellos el control de la glucemia no es adecuado puede emplearse insulina, bien sola o bien asociada a los mismos fármacos. Los hipoglucemiantes de otros grupos, como las sulfonilureas o las glitinidas, que actúan estimulando la secreción de insulina, no son tan recomendables.

La metformina puede causar el síndrome de la elevación del ácido láctico, proceso potencialmente grave, que también pueden ocasionar los antirretrovirales, en especial los inhibidores de la transcriptasa análogos de los nucleósidos [103] (véase más adelante). Para evitar este cuadro se desaconseja la utilización de metformina en pacientes con niveles elevados de ácido láctico o de creatinina. Las precauciones deben ser máximas en quienes toman simultáneamente metformina e inhibidores de la transcriptasa análogos de los nucleósidos.

Las tiazolidindionas pueden ocasionar disfunción hepática, por lo que es poco aconsejable su utilización en pacientes con hepatopatías [104].

Síndrome de la elevación del ácido láctico

Un porcentaje considerable de pacientes que toman tratamiento antirretroviral presenta elevación de los niveles séricos de ácido láctico, es decir, cifras superiores a 18 mg/dL (2 mmol/L). En la mayoría de casos este trastorno no tiene repercusión clínica alguna. Sin embargo, en un pequeño porcentaje de

enfermos dicha alteración se acompaña de malestar general, astenia, anorexia, pérdida de peso, dolor abdominal, disnea, insuficiencia respiratoria y arritmias cardíacas. A este cuadro se le denomina síndrome de la elevación del ácido láctico.

Este proceso con frecuencia se complica con insuficiencia hepática, que puede manifestarse con hepatomegalia dolorosa, ascitis, edemas o encefalopatía, si bien el aumento de la bilirrubina no es común y las enzimas hepáticas no suelen hallarse muy elevadas. Los estudios de imagen y la biopsia hepática muestran generalmente esteatosis, y en los casos más graves necrosis del parénquima hepático [105].

Este síndrome puede iniciarse de un modo agudo o subagudo y con frecuencia está desencadenado por algún proceso intercurrente, especialmente una infección. En general, con cuadros clínicos más graves se observan niveles de ácido láctico más altos. Parece ser más frecuente en mujeres gestantes. Está producido por los inhibidores de la transcriptasa análogos de los nucleósidos, especialmente didanosina, estavudina y zidovudina, pero todos los compuestos del grupo pueden producirlo, especialmente cuando se han tomado durante más de 6 meses [106]. La ribavirina, empleada en el tratamiento de la coinfección por el virus de la hepatitis C, parece favorecer su desarrollo.

Debido a la inespecificidad de los síntomas, el diagnóstico de este síndrome con frecuencia plantea dificultades. Un único resultado de ácido láctico elevado debe interpretarse con precaución, y siempre conviene repetirlo antes de llegar a conclusiones definitivas [107]. Un resultado confirmado superior a 45 mg/dL (5 mmol/L) en un contexto clínico adecuado, o un resultado confirmado superior a 90 mg/dL (10 mmol/L), aunque sea con una clínica inespecífica, pueden considerarse diagnósticos.

Cuando el cuadro clínico es intenso y los niveles de ácido láctico superan los 90 mg/dL el pronóstico es malo, incluso muchas veces fatal. Los cuadros menos intensos generalmente se resuelven bien, aunque los síntomas y las alteraciones analíticas pueden persistir bastantes semanas antes de normalizarse [108].

En este proceso no siempre existe acidosis, especialmente en los casos menos graves. Por tanto, la denominación «acidosis láctica», comúnmente empleada para referirse a él, no parece muy adecuada.

No existe ningún tratamiento específico para este síndrome. Por tanto, las únicas medidas a tomar son la supresión del tratamiento antirretroviral y los procedimientos terapéuticos de sostén aplicables a cualquier proceso agudo. Una vez resuelto el cuadro, puede reiniciarse el tratamiento, pero generalmente y siempre que sea posible sin inhibidores de la transcriptasa análogos de los nucleósidos.

Trastornos metabólicos óseos

En los pacientes infectados por el VIH la prevalencia de osteopenia es más alta que en la población general. Ello es debido a que el propio virus y el tratamiento antirretroviral son factores favorecedores de dicho trastorno, que se suman a los propios de la población general, como edad avanzada o sedentarismo [109].

El medicamento antirretroviral que más se ha relacionado con la osteopenia es tenofovir, fármaco muy utilizado, en buena medida debido a que es uno de los constituyentes de la mayoría de tratamientos de un solo comprimido al día que existen en la actualidad para el tratamiento de la infección por el VIH [110].

Según los estudios disponibles, estos medicamentos tienden a producir osteopenia nada más iniciarse su empleo, pero seguidamente la densidad ósea tiende a estabilizarse con el paso del tiempo, aun continuando el tratamiento. Por tanto el significado clínico de esta osteopenia es bastante dudoso, y por ahora no existen recomendaciones firmes sobre el control rutinario y el tratamiento de este trastorno en los pacientes con infección por el VIH [111].

Homocisteína y VIH

Los estudios sobre la homocisteína en los pacientes con infección por el VIH son escasos en la literatura, y por ahora únicamente se dispone de algunos resultados que sugieren que los niveles del aminoácido tienden a ser más altos en los pacientes con infección por el VIH que en la población general [112-115].

También han puesto de manifiesto algunos de esos estudios, entre ellos uno realizado en nuestro centro, una asociación entre los niveles plasmáticos elevados de homocisteína y determinados factores, como la coinfección por el virus de la hepatitis C, el contagio del VIH por vía sexual [116], la existencia de lipodistrofia [113] o el tratamiento antirretroviral [117]. Aunque los estudios disponibles en este terreno en algunos casos proporcionan resultados discordantes [114,118].

Por tanto son necesarios más estudios para profundizar en el conocimiento del significado clínico de la elevación de los niveles de homocisteína en los pacientes con infección por el VIH.

Objetivos, justificación e hipótesis

Objetivos

Principal

Analizar, en los pacientes con infección por el VIH, la posible asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con:

- Los datos sociodemográficos.
- Los datos clínicos.
- Los resultados de los análisis generales.
- La morbilidad general.

Secundarios

- Conocer los niveles plasmáticos de homocisteína en los pacientes con infección por el VIH.
- Conocer las características de la morbilidad general que presentan los pacientes con infección por el VIH.

Justificación

Con el tratamiento antirretroviral existente en la actualidad se ha conseguido reducir drásticamente la morbilidad y la mortalidad relacionadas con la

infección por el VIH, especialmente en los países desarrollados [93,119-121]. Sin embargo, muchos pacientes con infección por el VIH tienen dislipemias, intolerancia a la glucosa u obesidad predominantemente abdominal, lo cual puede deberse en parte a un efecto del propio VIH, al tratamiento antirretroviral o a ambos [122]. Además otros factores de riesgo cardiovascular, como el tabaquismo, son también especialmente prevalentes en las personas infectadas por dicho virus [123,124]. Por todo ello la patología cardiovascular es más frecuente en los pacientes con infección por el VIH que en el resto de la población [125]. Y por tanto los pacientes con dicha infección son especialmente adecuados para realizar estudios para evaluar la influencia de los factores de riesgo en el desarrollo de patología cardiovascular.

La homocisteína es un aminoácido producido durante el catabolismo de la metionina, que es a su vez otro aminoácido presente en altas concentraciones en los huevos, la carne, el pescado y otros alimentos. Los niveles plasmáticos de homocisteína están determinados por factores genéticos y nutricionales, de modo que tienden a aumentar con la ingesta de metionina y con las dietas pobres en ácido fólico, vitamina B₆, vitamina B₁₂ y otras vitaminas [1]. Los altos niveles plasmáticos de homocisteína se consideraron durante mucho tiempo un factor de riesgo cardiovascular [126,127], e incluso algunos estudios epidemiológicos sugerían un efecto beneficioso de la reducción de los niveles plasmáticos de homocisteína [128]. Sin embargo los ensayos clínicos aleatorizados no consiguieron demostrar un efecto beneficioso de tal reducción en pacientes con arteriosclerosis [50,129-131]. Como consecuencia de ello el papel de la homocisteína como factor de riesgo cardiovascular quedó seriamente cuestionado [132,133]. En definitiva, no está claro si la homocisteína es causa, consecuencia o simplemente un marcador de la patología cardiovascular. Por tanto es procedente seguir investigando sobre los determinantes de los niveles plasmáticos de la homocisteína y sobre el auténtico papel de dicho aminoácido en la patogenia de las enfermedades cardiovasculares.

En ese escenario se ha llevado a cabo el estudio en el que se basa la presente tesis doctoral.

Hipótesis

Hipótesis nula

Los niveles plasmáticos de homocisteína no se asocian con los datos sociodemográficos, clínicos o analíticos, ni con el desarrollo de morbilidad general en los pacientes con infección por el VIH.

Hipótesis alternativa

Los niveles plasmáticos de homocisteína se asocian con los datos sociodemográficos, clínicos o analíticos, o con el desarrollo de morbilidad general en los pacientes con infección por el VIH.

Método

Diseño del estudio

El estudio en el que se basa la presente tesis doctoral consta de dos fases, estrechamente relacionadas entre sí:

La primera fase posee un diseño transversal, en la que se evalúa la posible asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con una amplia serie de variables sociodemográficas, clínicas y analíticas.

Y la segunda fase posee un diseño de cohorte, basada en los mismos pacientes de la primera fase como continuación de la misma, en la que se evalúa la posible asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con el desarrollo de patología de cualquier tipo a lo largo del tiempo.

Ámbito y pacientes del estudio

Centro donde se realiza

El presente estudio se realiza en los servicios de Análisis Clínicos y de Medicina Interna del Hospital General Universitario de Castellón (Figura 3), de la ciudad de Castellón de la Plana, perteneciente a la Conselleria de Sanitat de la Generalitat Valenciana, y por tanto al Servicio Nacional de Salud. Dicho centro está situado en el distrito 12004 de la ciudad (Figura 4), es el encargado de atender a la población del Departamento de Salud de Castellón, número 2

de la Comunidad Valenciana, y es el hospital de referencia de toda la provincia de Castellón para determinadas especialidades [134].

Investigadores

La autora de esta tesis doctoral es farmacéutica residente de Análisis Clínicos del mismo centro durante la realización del presente estudio.

El director de esta tesis doctoral es facultativo especialista de Medicina Interna del mismo centro y profesor asociado de Medicina de la Universitat Jaume I durante la realización del presente estudio.



Figura 3. Hospital General Universitario de Castellón.



Figura 4. Situación del Hospital General de Castellón en la ciudad de Castellón de la Plana.

Circunstancias en las que se realiza

El presente estudio se realiza como una tarea suplementaria a la actividad clínica convencional de seguimiento de los pacientes con infección por el VIH, que consiste fundamentalmente en la realización de controles periódicos a cada paciente cada 4 a 6 meses [93].

Para tales controles cada paciente acude a la consulta externa para que el facultativo especialista encargado evalúe su estado de salud mediante la anamnesis, la exploración física y la comprobación de los resultados de los

análisis que el paciente se ha realizado unas dos semanas antes de acudir a la visita. Dichos análisis, de acuerdo con las recomendaciones existentes al respecto, incluyen el recuento de linfocitos CD4, la carga viral del VIH y determinaciones generales adecuadas para poder diagnosticar las enfermedades oportunistas y otras complicaciones relacionadas con el VIH y determinados efectos secundarios del tratamiento antirretroviral [93].

El personal de laboratorio, encargado de la realización de los análisis de la primera fase del estudio, y el personal encargado de la recogida de los datos de comorbilidad de la segunda fase del estudio desconocen la identidad y las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes del estudio.

Periodo de realización

La primera fase del estudio, o fase transversal, se realiza desde septiembre de 2007 hasta julio de 2008. Para recoger los valores de las variables de esta fase del estudio se utilizan dos visitas consecutivas de cada paciente. En la primera visita se recogen los datos sociodemográficos y clínicos. Y en la segunda visita se recogen los resultados de los análisis solicitados en la visita anterior.

La segunda fase del estudio, o fase de cohorte, consiste en un seguimiento que se realiza desde julio de 2008 hasta julio de 2014. Para recoger los valores de las variables de esta fase del estudio se utiliza el programa informático Abucasis, que es el habitualmente empleado en el seguimiento de los pacientes de todos los niveles asistenciales de todos los centros pertenecientes a la Conselleria de Sanitat de la Generalitat Valenciana. De dicho programa se obtienen todos los diagnósticos registrados al final del periodo del estudio, tanto en la modalidad de diagnósticos médicos activos como en la modalidad de patologías personales, que son las dos formas en que habitualmente se recoge toda la patología relevante de los pacientes.

Criterios de inclusión de pacientes

Se incluye en el estudio a pacientes de una de las consultas monográficas de control y seguimiento de la infección por el VIH del Hospital General Universitario de Castellón. Dicha consulta pertenece a la Unidad de Enfermedades Infecciosas, dentro del Servicio de Medicina Interna del mencionado centro, y es atendida durante todo el periodo del estudio por un facultativo especialista en Medicina Interna, con dedicación preferente a las enfermedades infecciosas.

Los pacientes de esa consulta son atendidos de acuerdo con las recomendaciones existentes al respecto [93] y reciben los tratamientos indicados en cada caso, entre los que destacan los fármacos antirretrovirales y diversas modalidades de profilaxis, primaria o secundaria, para prevenir determinadas infecciones oportunistas.

Todos los pacientes mayores de 18 años atendidos en la mencionada consulta que desean participar son incluidos en el estudio.

Criterios de exclusión de pacientes

Se excluyen del estudio a las mujeres gestantes, a los pacientes con niveles séricos de creatinina superiores a 2 mg/dL y a aquellos que toman suplementos vitamínicos, ya que se sabe que todas esas circunstancias pueden influir sobre los niveles plasmáticos de homocisteína [132,135,136].

VARIABLES DEL ESTUDIO

De cada uno de los pacientes se recogen los tres grupos de variables siguientes:

A) Variables sociodemográficas y clínicas

- Edad, en años.
- Género, masculino o femenino.
- Tratamiento antirretroviral, ninguno, incluye inhibidores de la proteasa o no incluye inhibidores de la proteasa.
- Antecedentes personales de diabetes mellitus *, sí o no.
- Antecedentes personales de hipertensión arterial *, sí o no.
- Antecedentes personales de dislipemia *, sí o no.
- Antecedentes personales de enfermedad cardiovascular grave, sí o no.
- Antecedentes familiares de enfermedad coronaria temprana *, sí o no.
- Tabaquismo activo actual, sí o no.
- Alcoholismo (consumo de 10 o más bebidas alcohólicas por semana), sí o no.
- Factor de riesgo de infección por el VIH, parenteral o sexual.
- Coinfección por el virus de la hepatitis C (anticuerpo del virus positivo), sí o no.
- Talla, en cm.
- Peso, en kg.
- Índice de masa corporal, en kg/m².
- Circunferencia abdominal a nivel de la cintura, en cm.
- Circunferencia abdominal a nivel de las caderas, en cm.

- Índice cintura/caderas [137].
- Presión arterial sistólica, en mm Hg.
- Presión arterial diastólica, en mm Hg.
- Riesgo de fallecer por una enfermedad cardiovascular a lo largo de los 10 años siguientes igual o superior al 1 %, calculado mediante la aplicación “HeartScore” para pacientes españoles, disponible en www.heartscore.org/es/Pages/welcome.aspx, sí o no [138].

* Enfermedades diagnosticadas según los criterios de las recomendaciones europeas sobre patología cardiovascular [138].

B) Variables analíticas *

- Homocisteína, en $\mu\text{mol/L}$.
- Glucosa, en mg/dL.
- Urea, en mg/dL.
- Creatinina, en mg/dL.
- Ácido úrico, en mg/dL.
- Bilirrubina total, en mg/dL.
- Albúmina, en g/dL.
- Gamma-globulinas, en g/dL.
- IgG, en mg/dL.
- Calcio, en mg/dL.
- Fósforo, en mg/dL.
- Colesterol total, en mg/dL.
- Triglicéridos, en mg/dL.
- Colesterol-HDL, en mg/dL.

- Ácido fólico, en $\mu\text{g/L}$.
- Vitamina B₁₂, en ng/L .
- Hemoglobina glicosilada, en %.
- Recuento de leucocitos, $\times 10^3/\text{mm}^3$.
- Hemoglobina, en g/dL .
- Hematocrito, en %.
- Volumen corpuscular medio eritrocitario, en fL.
- Recuento de plaquetas, $\times 10^3/\text{mm}^3$.
- Tiempo de protrombina, en segundos.
- Tiempo parcial de tromboplastina, activada, en segundos
- Fibrinógeno, en mg/dL .
- Velocidad de sedimentación globular, mm en la primera hora.
- Recuento de linfocitos T totales, por mm^3 .
- Recuento de linfocitos T CD4, por mm^3 .
- Carga viral del VIH, detectable (superior a 20 copias/mL) o no.
- Gammapatía monoclonal, presente o no.
- Análisis básico de orina, normal o anormal **.

* Todas las variables se refieren a resultados de análisis de sangre, suero o plasma, excepto la última.

** El análisis de orina se considera anormal cuando al menos uno de los siguientes resultados es positivo: leucocitos, nitritos, proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina o eritrocitos.

Para realizar los distintos análisis de todos los pacientes, una vez extraídas las muestras de sangre se introducen en tubos con gel separador, los cuales a continuación se centrifugan entre 5 y 10 minutos. Los niveles plasmáticos de

homocisteína se determinan mediante un inmunoanálisis quimioluminiscente (Immulite 2500 ®, Siemens), cuyo rango de valores normales es de 5 a 12 µmol/L, con un coeficiente de variación del 8 %.

C) Variables de comorbilidad desarrollada durante el periodo de seguimiento

Existencia o no en la historia clínica electrónica de los pacientes de diagnósticos pertenecientes a los siguientes grupos de comorbilidad:

- Infecciones relacionadas con el VIH, en las que se incluyen todas las enfermedades de los grupos A, B o C de la clasificación de los CDC [139] y la leishmaniasis visceral.
- Infecciones no relacionadas con el VIH.
- Neoplasias, en las que se incluyen todos los tumores benignos o malignos, y todas la neoplasias tanto las relacionadas con el VIH como las que no.
- Patología cardiovascular, en la que se incluyen los edemas sin una causa definida, entre otros procesos.
- Patología digestiva.
- Patología hematológica.
- Patología metabólica, en la que se incluyen la lipodistrofia y las endocrinopatías, entre otros procesos.
- Patología nefrológica o urológica.
- Patología neurológica, en la que se incluyen procesos menores como mareo, temblor y cefalea, entre otros.
- Patología oftalmológica u otorrinolaringológica.
- Patología psiquiátrica, en la que se incluyen las alteraciones aisladas del sueño y los hábitos tóxicos, entre otros procesos.

- Patología respiratoria, en la que se incluyen la apnea del sueño y la disnea sin causa especificada, entre otros procesos.
- Patología degenerativa no neurológica, en la que se incluyen los procesos osteoarticulares crónicos no inflamatorios, osteoporosis, neuropatías periféricas crónicas e inmunodeficiencias no relacionadas con el VIH, entre otros.
- Patología y procesos ginecológicos y obstétricos.
- Patología inflamatoria, en la que se incluyen las reacciones alérgicas, síntomas generales no bien definidos, fiebre sin infección, alteraciones osteoarticulares agudas no infecciosas, enfermedades cutáneas agudas, patología dental y adenopatías, entre otros procesos.
- Traumatismos y heridas.

Cada diagnóstico existente en la historia clínica electrónica de cada paciente se incluye únicamente en uno de los grupos de morbilidad anteriores.

Consideraciones éticas

El presente estudio se realiza siguiendo las recomendaciones y los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki de 1964, y actualizaciones posteriores, en relación con la investigación médica que se lleva a cabo con la participación de personas [140].

Los datos identificativos de los participantes no son utilizados en ninguna de las fases del estudio. Inicialmente, para obtener los datos de las distintas variables, se emplea el número del sistema de información poblacional (SIP). Una vez obtenidos todos los datos necesarios, el número SIP de cada paciente es

sustituido por un código, de modo que en los distintos cálculos y análisis de los datos no es posible la identificación de los participantes.

El proyecto del presente estudio es evaluado y aprobado por el Comité de Investigación Clínica (CIC) del Departamento de Salud de Castellón.

De cada paciente se obtiene consentimiento oral para su inclusión en el estudio.

Procesamiento y análisis de los datos

Software utilizado

Para la realización del estudio se emplean las siguientes aplicaciones informáticas:

- Para el cálculo del tamaño de la muestra se utiliza el programa “Comparing Proportions for Two Independent Samples” (Department of Statistics, University of British Columbia, Vancouver, BC, Canada), disponible de modo gratuito en el sitio de Internet <http://www.stat.ubc.ca/~rollin/stats/ssize/b2.html>, al que se accede el día 3 de marzo de 2008.
- Para la recogida, almacenamiento y parte del depurado de datos se utiliza el programa Excel 2003 para Windows (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA).
- Para completar el depurado de los datos y para el análisis estadístico de los mismos se utiliza el programa SPSS Statistics, version 22, para Windows (IBM Corp., Chicago, Illinois, USA).

Estadística empleada

Tamaño de la muestra

La mayoría de estudios de diseño similar al presente, consistente en la búsqueda de factores relacionados con una variable dependiente determinada, no incluyen un cálculo del tamaño de la muestra.

No existe en la literatura, por ahora, ningún estudio sobre factores relacionados con los niveles plasmáticos de homocisteína, con un diseño similar al del presente estudio, en el que pueda basarse un cálculo del tamaño de la muestra.

Además, las características del presente estudio, basado en la práctica clínica convencional en su práctica totalidad, hacen menos necesario de lo habitual el cálculo del tamaño de la muestra, ya que a los pacientes incluidos en el estudio se les atendería de un modo similar si no participaran en el estudio. La estrategia al reclutar pacientes consiste en incluir los máximos posibles, ya que el coste económico del estudio no se incrementa significativamente al incrementar el número de pacientes.

Pese a ello, en base a un análisis preliminar, realizado tras incluir los primeros 95 pacientes del estudio, realizamos el siguiente cálculo: se necesitan un total de 139 pacientes para detectar, en el porcentaje de pacientes con niveles plasmáticos altos de homocisteína, una diferencia del 15 % (25 % frente a 40 %), entre los pacientes con factor de riesgo de infección por el VIH parenteral y los pacientes con factor de riesgo de infección por el VIH sexual, con una potencia del 85 % y un nivel de confianza del 95 %, de una cola.

Estadística descriptiva

Para resumir las variables discretas se utilizan los valores absolutos y las frecuencias. Y para resumir las variables continuas se utilizan la media

aritmética y la desviación estándar, si poseen una distribución normal, o la mediana y el rango intercuartil, si poseen una distribución que no es normal.

Para evaluar la normalidad de las distintas variables se usa el test de Kolmogorov-Smirnov, así como histogramas y gráficos Q-Q de normalidad.

A las variables con distribución de sus valores sesgada hacia la derecha se les aplica una transformación logarítmica, cuando ello resulta adecuado para realizar los cálculos necesarios.

Análisis comparativos bivariantes

Para comparar variables discretas se utiliza la prueba ji al cuadrado (χ^2).

Para comparar variables continuas se utilizan la prueba t de Student para muestras independientes o pareadas, cuando se trata de variables con distribución normal, o la prueba U de Mann-Whitney, la prueba de Wilcoxon de rangos asignados o la prueba de Kruskal-Wallis H cuando se trata de variables con distribución que no es normal.

Para determinar la asociación entre variables continuas se utiliza el test de correlación de Pearson.

Análisis multivariantes

Para evaluar la posible relación de los niveles plasmáticos de homocisteína con las variables sociodemográficas, clínicas y analíticas (grupos A y B de variables) se realizan análisis de regresión lineal múltiple. Para ello se utiliza el procedimiento de modelado lineal automático, disponible en el software IBM SPSS Statistics, version 22, con las especificaciones que existen por defecto en el programa, y que incluyen el método paso a paso hacia adelante, y el criterio de información para la entrada y salida de variables, de modo que se

incluyen variables con valores de P inferiores a 0,05 y se excluyen variables con valores de P superiores a 0,1.

Nivel de significación

En todas las pruebas estadísticas realizadas en el estudio se utiliza un nivel de significación de $P < 0,05$, de una cola o de dos colas, dependiendo de las características de cada análisis.

Imputación de datos perdidos

Los datos de las distintas variables que no están disponibles por cualquier motivo se imputan mediante el modelo automático de imputación múltiple de datos, disponible en el software IBM SPSS Statistics, version 22.

Resultados

Resultados generales

Pacientes incluidos

Los 151 pacientes a los que se les propone participar en el estudio aceptan. No obstante, una mujer es excluida por estar gestante, y cinco pacientes más, todos ellos hombres, son excluidos, tres de ellos por estar tomando suplementos vitamínicos y dos de ellos por presentar niveles séricos de creatinina superiores a 2 mg/dL. Por tanto se incluye en el estudio a un total de 145 pacientes.

Características de los pacientes

Del total de 145 pacientes incluidos en el estudio, 139 (95,9 %) son españoles, tres (2,1 %) son naturales de otros países de Europa, dos (1,4 %) de Nigeria y uno (0,7 %) de Brasil. Todos los pacientes son de raza blanca, excepto los dos de Nigeria que son de raza negra.

Están disponibles todos los datos de todos los pacientes, a excepción de los siguientes: fósforo no disponible en dos pacientes, y tiempo parcial de tromboplastina activada y fibrinógeno no disponibles en un paciente diferente cada uno de los datos. Esos cuatro datos son imputados de acuerdo con el procedimiento previsto.

Uno de los pacientes del estudio permanece en seguimiento sólo hasta abril de 2010, y no hasta julio de 2014 como todos los demás, debido a que cambia de lugar de residencia, a otra comunidad autónoma.

Ninguno de los pacientes del estudio fallece durante el periodo de seguimiento.

Niveles plasmáticos de homocisteína

La determinación de los niveles plasmáticos de homocisteína da como resultado global de todos los participantes una media aritmética de 11,9 $\mu\text{mol/L}$ con una desviación estándar de $\pm 5,9 \mu\text{mol/L}$, y una mediana de 10,6 $\mu\text{mol/L}$ con un rango intercuartil de 8,4 a 13,5 $\mu\text{mol/L}$ y un rango de mínimo a máximo de 4,1 a 39,9 $\mu\text{mol/L}$.

Un total de 54 pacientes (37,2 %) presenta unos niveles de homocisteína superiores al límite de lo normal.

Resultados relacionados con las variables sociodemográficas y clínicas

Datos descriptivos y análisis bivariantes

En la Tabla 3 se resumen los resultados correspondientes a las variables sociodemográficas y clínicas del estudio.

La media aritmética de los niveles plasmáticos de homocisteína en los pacientes infectados por el VIH por vía parenteral es de 11,5 $\mu\text{mol/L}$ mientras que en los infectados por vía sexual es de 12,3 $\mu\text{mol/L}$ ($P = 0,037$).

La media aritmética de los niveles plasmáticos de homocisteína en los pacientes sin coinfección por el virus de la hepatitis C es de 11,5 $\mu\text{mol/L}$, mientras que en los pacientes coinfectados con dicho virus es de 12,1 $\mu\text{mol/L}$ ($P = 0,042$).

De los 89 pacientes con infección por el virus de la hepatitis C, 81 (91,0 %) tienen como factor de riesgo de infección por el VIH la vía parenteral y 8 (9,0 %) la vía sexual.

Un total de 31 pacientes (21,4 %) están tomando trimetoprim/sulfametoxazol, como profilaxis para infecciones oportunistas. La media aritmética de los niveles plasmáticos de homocisteína en dichos pacientes es de 12,1 $\mu\text{mol/L}$, mientras que en los que no toman dicho tratamiento es de 11,8 ($P = 0,793$). Y un total de 117 pacientes (80,7 %) están tomando tratamiento antirretroviral.

De los tres pacientes que han sufrido una enfermedad cardiovascular grave, en todos los casos antes de su inclusión en el estudio, dos han padecido infarto de miocardio. Esos dos pacientes tienen 70 y 71 años de edad, y son los dos pacientes de edad más avanzada de todos los participantes en el estudio. El otro paciente ha padecido un accidente vascular cerebral isquémico extenso, y su edad es de 37 años.

Los 23 pacientes con dislipemias están tomando tratamientos hipolipemiantes. Los 24 pacientes con diabetes mellitus están en tratamiento con insulina, con antidiabéticos orales o con ambos. Y 15 de los 17 pacientes con hipertensión están tomando tratamiento antihipertensivo, mientras que los otros dos siguen únicamente dieta hiposódica.

Tabla 3. Resultados correspondientes a las variables sociodemográficas y clínicas del estudio.

Variable	Resultado *
Edad, en años, media (\pm desviación estándar)	41,1 (\pm 8,1)
Género	
Masculino	103 (71,0)

Femenino	42 (29,0)
Tratamiento antirretroviral	
Ninguno	52 (35,9)
Incluye inhibidores de la proteasa	65 (44,8)
No incluye inhibidores de la proteasa	28 (19,3)
Antecedentes personales de diabetes mellitus	24 (16,5)
Antecedentes personales de hipertensión arterial	17 (11,7)
Antecedentes personales de dislipemia	23 (15,9)
Antecedentes personales de enfermedad cardiovascular grave	3 (2,1)
Antecedentes familiares de enfermedad coronaria temprana	26 (17,9)
Tabaquismo activo	107 (73,8)
Alcoholismo activo	32 (22,1)
Factor de riesgo de infección por el VIH	
Parenteral	82 (56,5)
Sexual	63 (43,4)
Coinfección por el virus de la hepatitis C	89 (61,4)
Talla, en cm, media (\pm desviación estándar)	169,8 (\pm 8,8)
Peso, en kg, media (\pm desviación estándar)	68,7 (\pm 13,5)
Índice de masa corporal, en kg/m ² , media (\pm desviación estándar)	23,8 (\pm 4,3)
Circunferencia abdominal a nivel de la cintura, en cm, media (\pm desviación estándar)	87,3 (\pm 11,5)
Circunferencia abdominal a nivel de las caderas, en cm, media (\pm desviación estándar)	95,4 (\pm 9,6)

Índice cintura/caderas, media (\pm desviación estándar)	0,92 (\pm 0,08)
Presión arterial sistólica, en mm Hg, media (\pm desviación estándar)	127.0 (\pm 19.2)
Presión arterial diastólica, en mm Hg, media (\pm desviación estándar)	78.0 (\pm 13.2)
Riesgo de fallecer en los 10 años siguientes > 1 %, según "HeartScore"	56 (38,6)

* Número (porcentaje) de pacientes del estudio, salvo cuando se indica otro tipo de resultado en la descripción de la variable.

Análisis multivariante

Para evaluar la posible relación de los niveles plasmáticos de homocisteína con las variables sociodemográficas y clínicas del estudio (Tabla 3) se realiza un análisis de regresión lineal múltiple, en el que los niveles plasmáticos de homocisteína es la variable dependiente y el resto son variables independientes. Dicho análisis da como resultado un modelo significativamente diferente de cero ($F = 8,027$, $P < 0,001$), en el que sólo un 8,9 % de la variabilidad de los niveles plasmáticos de homocisteína es explicado por las variables sociodemográficas y clínicas del estudio (R al cuadrado ajustada = 0,089). Se incluye en el modelo a las variables: talla, presión arterial diastólica, factor de riesgo de infección por el VIH sexual (respecto al parenteral) y coinfección por el virus de la hepatitis C; todas esas variables poseen una asociación positiva con los niveles plasmáticos de homocisteína. En la Tabla 4 se detallan los datos numéricos de dichos resultados.

Tabla 4. Análisis de regresión lineal múltiple, con el procedimiento de modelado lineal automático, en el que el logaritmo decimal de los niveles plasmáticos de homocisteína es la variable dependiente y las variables sociodemográficas y clínicas del estudio (Tabla 3) son las variables independientes.

Variable	Coefficiente	P =	Importancia
Talla	0,005	0,004	0,42
Presión arterial diastólica	0,003	0,025	0,38
Riesgo de infección por el VIH sexual	0,100	0,016	0,08
Coinfección por el virus de le hepatitis C	0,127	0,002	0,12

Resultados relacionados con las variables analíticas

Datos descriptivos y análisis bivariantes

En las Tabla 5 y 6 se resumen los resultados correspondientes a las variables analíticas del estudio, a excepción del resultado de la homocisteína, reseñado detalladamente en uno de los apartados anteriores, al ser el objetivo principal de análisis del presente estudio.

El recuento de linfocitos CD4 es superior a 200 células por mm³ en 114 pacientes (78,6 %) y la carga viral del VIH es inferior a 1000 copias/mL (3,0 log₁₀) en 115 pacientes (79,3 %).

Se detecta una correlación entre los niveles plasmáticos de homocisteína y las siguientes determinaciones analíticas: creatinina (Pearson 0,350, $P < 0,001$), ácido fólico (Pearson -0,269, $P = 0,001$), vitamina B₁₂ (Pearson -0,257, $P = 0,002$) y tiempo de protrombina (-0,225, $P = 0,007$).

En dos pacientes del estudio aparece una gammapatía monoclonal de significado incierto. Se trata de un varón de 42 años y de una mujer de 27 años, cuyos niveles plasmáticos de homocisteína son respectivamente 4,37 y 4,12 $\mu\text{mol/L}$.

Tabla 5. Resultados de los análisis de sangre de los pacientes del estudio, datos de variables continuas.

Análisis	Media	Desviación estándar	Valores normales
Glucosa, mg/dL	105	32	70-111
Urea, mg/dL	29,1	8,6	8,6-51,4
Creatinina, mg/dL	0,89	0,18	0,50-1,20
Ácido úrico, mg/dL	4,99	1,52	2,40-7,00
Bilirrubina total, mg/dL	0,76	0,74	0,50-1,00
Albúmina, g/dL	3,83	0,52	3,50-5,50
Gamma-globulinas, g/dL	1,50	0,60	0,70-1,70
IgG, mg/dL	1871	804	800-1700
Calcio, mg/dL	9,05	0,39	8,50-10,50
Fósforo, mg/dL	3,05	0,51	2,50-4,50
Colesterol total, mg/dL	174	47	140-240

Triglicéridos, mg/dL	154	112	50-165
Colesterol-HDL, mg/dL	41,2	13,1	45,0-65,0
Ácido fólico, µg/L	5,91	5,37	4,00-16,00
Vitamina B ₁₂ , ng/L	375	200	280-990
Hemoglobina glicosilada, %	5,66	0,89	4,00-6,00
Recuento de leucocitos, x 10 ³ /mm ³	6,30	2,14	4,80-10,80
Hemoglobina, g/dL	13,8	1,9	12,0-18,0
Hematocrito, %	40,8	5,1	37,0-52,0
Volumen corpuscular medio eritrocitario, fL	103	14	80-94
Recuento de plaquetas, x 10 ³ /mm ³	212	82	130-400
Tiempo de protrombina, segundos	13,9	2,5	13,0-17,0
Tiempo parcial de tromboplastina, activada, segundos	28,8	4,65	20,0-40,0
Fibrinógeno, mg/dL	369	113	200-400
Velocidad de sedimentación globular, mm por hora	25,4	23,6	0,0-10,0
Recuento de linfocitos T totales, por mm ³	1988	945	900-5200
Recuento de linfocitos T CD4, por mm ³	510	380	410-1590

Tabla 6. Resultados de los análisis de sangre de los pacientes del estudio, datos de variables discretas.

Análisis	Pacientes (%)
ARN del VIH detectable *	63 (43,4)

Gammapatía monoclonal, IgG kappa, presente	2 (1,4)
Análisis básico de orina alterado **	42 (29,0)

* Límite de detección: 20 copias/mL; ** el análisis de orina se considera alterado cuando al menos uno de los siguientes resultados es positivo: leucocitos, nitritos, proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina, o eritrocitos.

Análisis multivariante

Para evaluar la posible relación de los niveles plasmáticos de homocisteína con el resto de determinaciones analíticas del estudio (Tablas 5 y 6) se realiza un análisis de regresión lineal múltiple, en el que los niveles plasmáticos de homocisteína es la variable dependiente y el resto son variables independientes. Dicho análisis da como resultado un modelo significativamente diferente de cero ($F = 10.577$, $P < 0,001$), en el que un tercio de la variabilidad de los niveles plasmáticos de homocisteína es explicado por el resto de variables (R al cuadrado ajustada = 0,330). Se incluye en el modelo a cinco variables: tiempo de protrombina, ácido fólico y vitamina B₁₂, que presentan una asociación negativa con los niveles plasmáticos de homocisteína, creatinina que muestra una asociación positiva con los niveles plasmáticos de homocisteína, y velocidad de sedimentación globular que no presente ninguna asociación significativa con los niveles plasmáticos de homocisteína. En la Tabla 7 se detallan los datos numéricos de dichos resultados.

Tabla 7. Análisis de regresión lineal múltiple, con el procedimiento de modelado lineal automático, en el que el logaritmo decimal de los niveles plasmáticos de homocisteína es la variable dependiente y el resto de

determinaciones analíticas del estudio (Tablas 5 y 6), logaritmizadas o no según las características de cada una, son las variables independientes.

Variable	Coeficiente	P =	Importancia
Tiempo de protrombina	-1,286	< 0,001	0,269
Ácido fólico	-0,331	< 0,001	0,235
Vitamina B ₁₂	-0,007	0,005	0,116
Creatinina	9,926	< 0,001	0,209
Velocidad de sedimentación globular	-1,601	0,096	0,041

Resultados relacionados con la morbilidad y la mortalidad

Datos descriptivos

Al final del periodo de seguimiento, en el conjunto de todos los pacientes del estudio, hay registrados un total 2.230 diagnósticos en el programa informático Abucasis. Estos diagnósticos están registrados en dicho programa del siguiente modo: como diagnósticos médicos activos en 2.055 casos (92,1 %) y como patologías personales en 175 casos (7,9 %).

El diagnóstico “enfermedad por VIH” o sus equivalentes, como “infección por el virus de la inmunodeficiencia humana”, “sida”, etc. está registrado una vez en cada uno de los 145 pacientes participantes en el estudio, lo cual supone el 6,5 % del total de diagnósticos.

Por otra parte 33 de los diagnósticos registrados, es decir, el 1,5 % del total, no se corresponden con patología alguna.

El resto de diagnósticos, 2.052 (92,0 %), se consideran válidos y analizables para el presente estudio, y se resumen, organizados en grupos de morbilidad, en la Tabla 8.

Se registra una media de 14,1 diagnósticos por paciente.

No se produce ningún fallecimiento entre los pacientes del estudio durante todo el periodo de seguimiento.

Tabla 8. Número de diagnósticos que tienen registrados los pacientes del estudio en el programa informático Abucasis al final del periodo de seguimiento, agrupados por patologías.

Grupos de patologías	Número	%
Procesos inflamatorios	363	17,7
Infecciones no relacionadas con el VIH	309	15,1
Patología psiquiátrica	278	13,5
Patología digestiva	201	9,8
Infecciones relacionadas con el VIH	111	5,4
Traumatismos y heridas	111	5,4
Patología respiratoria	101	4,9
Patología metabólica o endocrinológica	99	4,8
Patología cardiovascular	93	4,5
Patología otorrinolaringológica u oftalmológica	75	3,6

Procesos degenerativos	75	3,6
Patología neurológica	72	3,5
Procesos obstétricos o ginecológicos	57	2,8
Patología nefrológica o urológica	41	2,0
Neoplasias	39	1,9
Patología hematológica	27	1,3
Total	2.052	100,0

En la Tabla 9 se detalla el número de pacientes del estudio que tienen registrado en el programa informático Abucasis al final del periodo de seguimiento al menos un diagnóstico de cada uno de los grupos de patologías. Tan sólo 1 paciente (0,7 %) no tiene registrado diagnóstico alguno.

Tabla 9. Número de pacientes del estudio que tienen registrado en el programa informático Abucasis al final del periodo de seguimiento al menos un diagnóstico de cada uno de los grupos de patologías.

Grupos de patologías	Número	%
Procesos inflamatorios	109	75,2
Infecciones no relacionadas con el VIH	107	73,8
Patología psiquiátrica	103	71,0
Patología digestiva	93	64,1
Infecciones relacionadas con el VIH	64	44,1

Traumatismos y heridas	51	35,2
Patología respiratoria	58	40,0
Patología metabólica o endocrinológica	65	44,8
Patología cardiovascular	54	37,2
Patología otorrinolaringológica u oftalmológica	45	31,0
Procesos degenerativos	54	37,2
Patología neurológica	46	31,7
Procesos obstétricos o ginecológicos	28	19,3
Patología nefrológica o urológica	25	17,2
Neoplasias	33	22,8
Patología hematológica	21	14,4

Análisis bivariantes

En la Tabla 10 se comparan los niveles plasmáticos de homocisteína en los pacientes con o sin patologías de los distintos grupos. Dichos niveles son más altos en los pacientes del grupo con patología otorrinolaringológica u oftalmológica y en los del grupo con patología nefrológica o urológica.

Tabla 10. Niveles plasmáticos de homocisteína de los pacientes del estudio, con diferenciación del resultados según hayan sido diagnosticados (D) o no (ND) de al menos un proceso perteneciente a cada uno de los grupos de patologías.

Grupos de patologías	D	ND	P =
Procesos inflamatorios	11,9	11,7	0,815
Infecciones no relacionadas con el VIH	11,9	11,8	0,915
Patología psiquiátrica	12,2	11,1	0,273
Patología digestiva	11,6	12,3	0,499
Infecciones relacionadas con el VIH	12,4	11,4	0,290
Traumatismos y heridas	12,8	11,3	0,120
Patología respiratoria	13,0	11,1	0,051
Patología metabólica o endocrinológica	11,9	11,8	0,956
Patología cardiovascular	11,6	12,0	0,710
Patología otorrinolaringológica u oftalmológica	13,4	11,2	0,026
Procesos degenerativos	11,8	11,9	0,899
Patología neurológica	11,7	11,9	0,850
Procesos obstétricos o ginecológicos	10,0	12,3	0,048
Patología nefrológica o urológica	14,2	11,4	0,019
Neoplasias	10,9	12,2	0,239
Patología hematológica	11,9	11,9	0,952

Discusión

Características del estudio y de los pacientes incluidos en el mismo

Ubicación del estudio en el conocimiento actual existente sobre la homocisteína, la infección por el VIH y el riesgo cardiovascular

El estudio en el que se basa la presente tesis doctoral es uno de los proyectos más amplios existentes en la literatura sobre el significado clínico de la homocisteína. Y en el terreno de la infección por el VIH es sin duda el estudio de mayor entidad de todos los publicados hasta ahora en relación con la homocisteína [116,141].

Si se tiene en cuenta que los pacientes con infección por el VIH tienen un riesgo cardiovascular claramente mayor que el de la población general, resulta razonable realizar estudios en una población de ese tipo, para profundizar en el conocimiento del auténtico papel de la homocisteína como posible factor de riesgo cardiovascular [141]. Y es justamente en ese contexto en el que se plantea el presente proyecto.

Este estudio se lleva a cabo gracias a una colaboración entre dos servicios hospitalarios: uno clínico y otro de laboratorio, y en el mismo se analiza la posible relación de los niveles plasmáticos de homocisteína con variables sociodemográficas, clínicas, analíticas y patológicas. Con esa estrategia se obtienen algunos resultados que permiten mejorar el conocimiento existente sobre los factores que determinan los niveles plasmáticos de homocisteína.

Características de los pacientes del estudio

El perfil general de los pacientes incluidos en este estudio es el habitual en la población de personas con infección por el VIH en gran parte de las regiones de España, y de otros países de nuestro entorno: se trata en la mayoría de casos de pacientes de mediana edad, entre los que predominan los hombres, el contagio del VIH por vía parenteral, y la alta prevalencia de coinfección por el virus de la hepatitis C [142-144]. La mayoría de nuestros pacientes está tomando tratamiento antirretroviral, con el que la infección por el VIH está aceptablemente controlada en casi todos ellos.

La determinación de los niveles plasmáticos de homocisteína constituye el objetivo central de estudio en el presente proyecto. Según los resultados obtenidos, dichos niveles son superiores al límite considerado como normal en más de un tercio de los participantes.

Otros estudios realizados en pacientes con infección por el VIH han proporcionado generalmente unos resultados con niveles plasmáticos de homocisteína menores que en el nuestro [114], si bien en un estudio reciente se ha encontrado una alta prevalencia de niveles elevados del aminoácido [112].

Los estudios llevados a cabo en pacientes sin infección por el VIH también han proporcionado unos resultados muy variados [132,145-148].

Resultados del estudio en el contexto de la literatura existente sobre el tema

Resultados sociodemográficos y clínicos

Resulta significativa en nuestros pacientes la alta prevalencia de algunos de los factores de riesgo cardiovascular, y muy especialmente el tabaquismo, presente en casi tres cuartas partes de los participantes. Este porcentaje tan alto probablemente guarda alguna relación con el hecho de que la mayoría de pacientes tienen como riesgo de infección por el VIH el uso de drogas parenterales. En cualquier caso tal porcentaje es considerablemente más alto que el existente en la gran mayoría de grupos poblacionales [149] y claramente indica la necesidad de implementar programas específicos dirigidos a reducir la prevalencia de dicha adicción en nuestra comunidad.

Pese a tal prevalencia de tabaquismo, el riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular a lo largo de los próximos 10 años en nuestros pacientes, calculado con el "HeartScore" [150] es relativamente bajo. Ello se debe muy probablemente al aceptable control de los niveles séricos de colesterol y a la edad relativamente joven de la mayoría de participantes [126].

Resulta interesante en nuestro estudio la asociación de los niveles plasmáticos altos de homocisteína con la talla alta, la presión arterial diastólica alta, haberse contagiado del VIH por vía sexual y tener coinfección por el virus de la hepatitis C. En otros estudios publicados no se han encontrado tales asociaciones, aunque se trata de estudios con análisis únicamente univariantes [151,152]. Por ello nuestros resultados demuestran la necesidad de realizar análisis multivariantes para poder detectar asociaciones de ese tipo con suficiente fiabilidad.

En una revisión de la literatura existente al respecto, sólo hemos encontrado otros dos estudios en los que se evalúa la posible relación de la elevación de los niveles plasmáticos de homocisteína con la infección por el virus de la hepatitis C, ambos realizados en la población general. En uno de los estudios se encuentra una relación entre ambas variables en el análisis univariante, pero no en el análisis multivariante [153]. Y en el otro, en un pequeño grupo de participantes, en un análisis univariante no se encuentra relación entre ambas variables [154].

Por otra parte, en otros estudios se ha encontrado una asociación entre la elevación de los niveles plasmáticos de homocisteína y el riesgo elevado de progresión a cirrosis hepática [155-157] y a una peor respuesta al tratamiento antiviral [158] en los pacientes con hepatitis C crónica.

En cuanto a la presión arterial, otros estudios han demostrado suficientemente la asociación de los niveles plasmáticos elevados de homocisteína con las cifras altas de presión arterial, tal y como también nuestros resultados, en lo referente a la presión arterial diastólica [159,160].

Por otra parte, no hemos encontrado estudios en los que se evalúe la posible asociación de la elevación de los niveles plasmáticos de homocisteína con la talla o con el riesgo de contraer infecciones por vía sexual.

En cuanto a la asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con la talla nuestros resultados muestran un coeficiente de regresión muy pequeño, lo cual implica una influencia muy ligera de una variable sobre la otra.

Existe la posibilidad de que algunas de las asociaciones que aparecen en nuestros resultados se deban simplemente al azar.

Al contrario que en otros estudios, en el nuestro no hemos encontrado asociación alguna entre los niveles plasmáticos elevados de homocisteína y la mayor edad o la circunferencia abdominal. Ello puede deberse al número relativamente bajo de pacientes en nuestro estudio. Aunque no conviene olvidar que muchos de los estudios en los que se detectan asociaciones entre esas variables obtienen sus resultados mediante análisis univariantes, por lo que sus conclusiones deben interpretarse con cuidado [151].

En nuestro estudio tampoco encontramos asociación alguna entre los niveles plasmáticos de homocisteína y el hecho de estar tomando tratamiento antirretroviral. En un estudio de otros autores sí que se ha encontrado dicha asociación, aunque mediante un análisis univariante [161], pero en otros estudios no [118,151,162], como sucede en el nuestro.

Finalmente en nuestro estudio tampoco se detecta asociación entre los niveles plasmáticos de homocisteína y el estadio de la infección por el VIH, lo cual implica con toda probabilidad una falta de asociación también entre los niveles

plasmáticos del aminoácido y el hecho de tomar tratamiento con trimetoprim/sulfametoxazol, ya que este tratamiento lo toman los pacientes en estadios avanzados de infección por el VIH [93]. En este caso nuestros resultados también coinciden con los de otros autores [161,163].

Las variables sociodemográficas y clínicas incluidas en nuestro estudio únicamente explican una pequeña parte, menor del 10 %, de la variabilidad en los niveles plasmáticos de homocisteína. No obstante, otros estudios han obtenido resultado bastante similares [151]. Todo ello indica que estas variables no explican muy bien la variabilidad en los niveles del aminoácido, y que por tanto deben ser otros factores los determinantes de dicha variabilidad.

Resultados analíticos

Probablemente el hallazgo más relevante de nuestro estudio es la asociación de los niveles plasmáticos elevados de homocisteína con el acortamiento del tiempo de protrombina. Ese resultado se corresponde bien fisiopatológicamente con el incremento de riesgo de trombosis detectado en otros estudios en pacientes con infección por el VIH, [164-166], en pacientes con hiperhomocisteinemia [167,168], y en pacientes con ambas condiciones [112,169].

El mecanismo por el que se produce el estado de hipercoagulabilidad en los pacientes con infección por el VIH y en los pacientes con hiperhomocisteinemia es incierto, pero con toda probabilidad varios factores deben estar implicados. Nuestro estudio muestra que en pacientes con ambas condiciones con frecuencia está activada la vía extrínseca del sistema de la coagulación, lo cual explica, al menos en parte, el estado protrombótico que presentan dichos pacientes.

Otro resultado interesante de nuestro estudio es la asociación encontrada entre los niveles plasmáticos de homocisteína y los niveles séricos de creatinina. En otros estudios se han encontrado resultados similares [170-172]. Tal asociación

puede explicarse probablemente por la reducción del filtrado glomerular de la homocisteína [173]. Según algunos autores, la disfunción renal, que es un factor de riesgo cardiovascular bien reconocido [174], sería la auténtica responsable del incremento de morbilidad y mortalidad cardiovascular que presentan los pacientes con niveles plasmáticos elevados de homocisteína [175]. Y ello a su vez explicaría bien la demostrada falta de eficacia de la reducción de los niveles plasmáticos de homocisteína para prevenir las enfermedades cardiovasculares [50,129-131].

También se corrobora en nuestro estudio la existencia de la bien conocida asociación de los niveles plasmáticos elevados de homocisteína con los niveles séricos bajos de ácido fólico y de vitamina B₁₂ [172,176].

En contraste con los resultados de otros estudios, en el nuestro no hemos encontrado asociación de los niveles plasmáticos de homocisteína con los niveles séricos de colesterol-HDL [177], hemoglobina glicosilada [178] u otras determinaciones analíticas.

Las variables analíticas incluidas en nuestro estudio explican una tercera parte de la variabilidad en los niveles plasmáticos de homocisteína; otros autores han obtenido resultados similares [151]. Por tanto nuestro estudio es aclaratorio en parte, pero no termina de explicar bien la variabilidad en los niveles plasmáticos del aminoácido. Por ello cabe concluir que son necesarios más estudios que permitan conocer mejor los determinantes de dicha variabilidad.

Finalmente un hallazgo analítico llamativo de nuestro estudio es la existencia de dos pacientes, ambos de edad poco avanzada, con gammapatía monoclonal de significado incierto. Curiosamente el nivel plasmático de homocisteína de ambos pacientes se encuentra entre los tres niveles más bajos de todos los participantes. En una revisión de la literatura a través de PubMed, disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>, con el perfil de búsqueda “(monoclonal gammopathy OR monoclonal gammopathy) AND homocysteine”, no hemos encontrado estudios en los que se evalúen los niveles plasmáticos de homocisteína en pacientes con gammapatía monoclonal de cualquier tipo. En ese ámbito, existe publicado un caso de síndrome de

Schnitzler, rara entidad caracterizada por urticaria crónica, fiebre intermitente, dolor óseo y gammapatía monoclonal, en el que los niveles plasmáticos de homocisteína están elevados [179], en contraste con lo que sucede en nuestros dos casos.

Resultados sobre morbilidad

La morbilidad que presentan los pacientes del estudio a lo largo de los seis años de seguimiento es considerable, con una media de más de 14 diagnósticos por participante. Todos los pacientes, excepto uno, tienen registrado al menos un diagnóstico.

Los grupos de patología con más diagnósticos registrados son los cuatro siguientes: “procesos inflamatorios”, “infecciones no relacionadas con el VIH”, “patología psiquiátrica” y “patología digestiva”. Más de la mitad de los diagnósticos registrados pertenece a algunos de esos grupos.

Existe una asociación significativa entre los niveles plasmáticos elevados de homocisteína y los dos grupos de diagnóstico siguientes: “patología otorrinolaringológica u oftalmológica” y “patología nefrológica o urológica”. Y existe también una asociación significativa entre los niveles plasmáticos disminuidos de homocisteína y el grupo de diagnóstico siguiente: “procesos obstétricos o ginecológicos”.

No obstante en los tres casos anteriores se trata de asociaciones con un limitado nivel de significación, y con dicho nivel de significación no corregido al haberse realizado varios test t de Student simultáneamente. Por ambos motivos dichos resultados deben interpretarse con mucha precaución.

Nuestros resultados solo coinciden parcialmente con los resultados de otros estudios existentes en la literatura. En estos otros estudios los niveles plasmáticos elevados de homocisteína suelen relacionarse fundamentalmente con la patología cardiovascular, neurodegenerativa y osteoporótica [180,181].

Aunque los datos disponibles son muy variados, y todavía existe insuficiente información en ese terreno [182].

Limitaciones del estudio

La principal limitación del presente estudio radica en el diseño transversal de la mayor parte del mismo. Si bien ese es el diseño habitual para tratar de determinar factores relacionados con cualquier circunstancia o entidad clínica, cuando los estudios aleatorizados no son adecuados [183,184].

La parte de seguimiento a lo largo del tiempo de nuestro estudio le proporciona una mayor entidad. Sin embargo la diversidad de posibles diagnósticos que cada paciente puede tener y las características del programa en el que se registran los diagnósticos, sin posibilidad de un control eficaz del registro de los datos por parte de los autores de este estudio, hacen que sea necesario interpretar con gran precaución los resultados referidos a dicho seguimiento.

Otra posible limitación de este estudio es el número relativamente pequeño de pacientes incluido. Si bien dicho número es mayor que el de la mayoría de estudios similares existentes en la literatura.

Y finalmente otra limitación es la posible falta de inclusión de más variables que puedan ser relevantes para explicar la variabilidad en los niveles plasmáticos de homocisteína [132,185]. Si bien una de las características del presente proyecto es justamente el gran número de variables incluidas.

Pese a esos posibles inconvenientes, nuestro estudio proporciona algunos nuevos datos y corrobora algunos otros datos sobre los determinantes y el significado clínico de los niveles plasmáticos de homocisteína, en los pacientes con infección por el VIH.

Perspectivas futuras

Desde hace varias décadas se sabe que las personas con niveles plasmáticos elevados de homocisteína tienen un mayor riesgo de padecer patología cardiovascular y en menor medida patologías de otros tipos.

Pero estudios realizados en la década pasada demostraron que la reducción de los niveles de homocisteína no es útil para reducir el riesgo cardiovascular.

Por tanto queda por esclarecer el auténtico significado clínico de los niveles plasmáticos de homocisteína: si se trata de una simple variable de confusión o si realmente posee alguna propiedad patogénica en algún tipo de enfermedad.

Nuestro estudio, al mostrar que los niveles plasmáticos de homocisteína se correlacionan con los de creatinina, sugiere que se trata más bien de la primera posibilidad.

Es de esperar que futuros estudios profundicen en el estudio de factores que expliquen la variabilidad de los niveles plasmáticos de homocisteína, y también que evalúen las posibles propiedades patogénicas del aminoácido en diversas enfermedades degenerativas.

Conflictos de intereses y financiación

Conflictos de intereses

La autora y el director de esta tesis doctoral declaran que no tienen ningún conflicto de interés en relación con el estudio en el que se basa la misma.

Financiación

Para la realización del estudio en el que se basa esta tesis doctoral y para la elaboración del presente texto se emplean diversos medios pertenecientes a la Asociación Valenciana de Estudios Clínicos y Epidemiológicos, entidad sin ánimo lucro número 593 de Valencia, que recibe financiación de:

- La Asociación Médica VACH de hospitales españoles.
- La Red del sida del ISCIII, RETIC RD06/006.

Bibliografía

- [1] Schalinske KL, Smazal AL. Homocysteine imbalance: a pathological metabolic marker. *Adv Nutr* 2012; 3: 755-62.
- [2] Abraham JM, Cho L. The homocysteine hypothesis: still relevant to the prevention and treatment of cardiovascular disease? *Cleve Clin J Med* 2010; 77: 911-8.
- [3] Aguirre C, Egurbide MV. Significado clínico de la homocisteína. *Rev Clin Esp* 2001; 201: 25–7.
- [4] Mudd SH, Finkelstein JD, Irreverre F, Laster F. Homocystinuria: an enzymatic defect. *Science* 1964; 143: 1143–5.
- [5] McCully K.S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-28.
- [6] Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D, Karakitsiou DE, Simancas-Racines D. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 1: CD006612.
- [7] Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50: 3-32.
- [8] Langman LJ, Cole D.E. Homocysteine: cholesterol of the 90s? *Clin Chim Acta* 1999; 286: 63-80.
- [9] Genest J, Audelin MA, Lonn E. Homocysteine: to screen and treat or to wait and see? *CMAJ* 2000; 163: 37-8.
- [10] Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *J Inher Metab Dis* 2011; 34: 75-81.

[11] Bogolub C. Elevated homocysteine? Consider testing for folate metabolism gene variants. *Minn Med* 2012; 95: 39-42.

[12] Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 217-46.

[13] Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Eng J Med* 1998; 338: 1042-50.

[14] Mudd SH, Levy HL, Skovby F. Disorders of transsulfuration. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 7th ed. Vol. 1. New York: McGraw-Hill, 1995. p. 1279–327.

[15] Mudd SH, Uhlenhuth BW, Freeman JM, Finkelstein JD, Shih VE. Homocystinuria associated with decreased methylenetetrahydrofolate reductase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1972; 46: 905-12.

[16] Refsum H, Fredriksen A, Meyer K, Ueland PM, Kase B.F. Birth prevalence of homocystinuria. *J Pediatr* 2004; 144: 830-2.

[17] Mudd SH, Skovby F, Levy HL, Pettigrew KD, Wilcken B, Pyeritz RE, et al. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 1-31.

[18] Yap S, Boers GH, Wilcken B, Wilcken DE, Brenton DP, Lee PJ, et al. Vascular outcome in patients with homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency treated chronically: a multicenter observational study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 2080-5.

[19] Mulvihill A, O’Keeffe M, Yap S, Naughten E, Howard P, Lanigan B. Ocular axial length in homocystinuria patients with and without ocular changes: effects of early treatment and biochemical control. *J AAPOS* 2004; 8: 254-8.

[20] Cruysberg JR, Boers GH, Trijbels JM, Deutman A.F. Delay in diagnosis of homocystinuria: retrospective study of consecutive patients. *BMJ* 1996; 313: 1037-40.

- [21] Chauveheid MP, Lidove O, Papo T, Laissy J.P. Adult-onset homocystinuria arteriopathy mimics fibromuscular dysplasia. *Am J Med* 2008; 121: e5-6.
- [22] Aguirre C, Barreiro G, Alonso J, Cánovas A, De la Prieta R. Estudio del déficit de cobalaminas en pacientes gastrectomizados y de edad avanzada. *Rev Clin Esp* 2001; 201: 75-8.
- [23] Wickramasinghe S.N. Diagnosis of megaloblastic anaemias. *Blood Rev* 2006; 20: 299-318.
- [24] Aguirre C. Reflexiones acerca del diagnóstico de la carencia de vitamina B12. *Med Clin (Barc)* 2001; 116: 457-8.
- [25] Stabler SP, Allen R.H. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 299-326.
- [26] Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med* 1996; 156: 1097-100.
- [27] Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, Matthews LM, Grigsby J, Kaye K, et al. High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J Am Geriatr Soc* 1992; 40: 1197-204.
- [28] Antony A.C. Vegetarianism and vitamin B-12 (cobalamin) deficiency. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 3-6.
- [29] Koebnick C, Hoffmann I, Dagnelie PC, Heins UA, Wickramasinghe SN, Ratnayaka ID, et-al. Long-term ovo-lacto vegetarian diet impairs vitamin B-12 status in pregnant women. *J Nutr* 2004; 134: 3319-26.
- [30] Lahner E, Centanni M, Agnello G, Gargano L, Vannella L, Iannoni C, et al. Occurrence and risk factors for autoimmune thyroid disease in patients with atrophic body gastritis. *Am J Med* 2008; 12: 136-41.
- [31] Stabler SP, Lindenbaum J, Allen RH. The use of homocysteine and other metabolites in the specific diagnosis of vitamin B-12 deficiency. *J Nutr* 1996; 126: 1266S-72S.

[32] Morris MS, Jacques PF, Rosenberg IH, Selhub J. Folate and vitamin B-12 status in relation to anemia, macrocytosis, and cognitive impairment in older Americans in the age of folic acid fortification. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 193-200.

[33] Matthews J.H. Cobalamin and folate deficiency in the elderly. *Baillière's Clinical Haematology* 1995; 8: 679-97.

[34] Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Diagnosis of cobalamin deficiency I: usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990; 34: 90-8.

[35] Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen R.H. Diagnosis of cobalamin deficiency: II Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol* 1990; 34: 99-107.

[36] Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen R.H. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994; 96: 239-46.

[37] Clarke R, Refsum H, Birks J, Evans JG, Johnston C, Sherliker P, et-al. Screening for vitamin B-12 and folate deficiency in older persons. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 1241-7.

[38] Carmel R. Subtle cobalamin deficiency. *Ann Intern Med* 1996; 124: 338-40.

[39] Córdoba Porrás A, Blanco Vaca F, González Sastre F. Hiperhomocisteinemia, un nuevo marcador de riesgo vascular: territorios vasculares afectados, papel en la patogénesis de la arteriosclerosis y la trombosis y tratamiento. *Med Clin (Barc)* 1997; 109: 715-25.

[40] Kaul S, Zadeh AA, Shah P.K. Homocysteine hypothesis for atherothrombotic cardiovascular disease—not validated. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48: 914-23.

[41] Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288: 2015-22.

[42] Wald DS, Law M, Morris J.K. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325: 1202-6.

[43] Fakhry A, Redonnet-Vernhet I, Sabourdy F, Elbaz M, Caussé E. Embolie pulmonaire de l'adulte jeune. Penser à l'homocystéine. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)* 2014; doi: 10.1016/j.ancard.2014.01.004.

[44] Debreceni B, Debreceni L. The role of homocysteine-lowering B-vitamins in the primary prevention of cardiovascular disease. *Cardiovasc Ther* 2014; doi: 10.1111/1755-5922.12064.

[45] Liem AH, Reynierse-Buitenwerf GH, Zwinderman AH, Jukema JW, Van Veldhuisen D.J. Secondary prevention with folic acid: effects on clinical outcomes. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 2105-13.

[46] Liem AH, Van Boven AJ, Veeger NJ, Withagen AJ, Robles de Medina RM, Tijssen JG, et-al. Efficacy of folic acid when added to statin therapy in patients with hypercholesterolemia following acute myocardial infarction: a randomised pilot trial. *Int J Cardiol* 2004; 93: 175-9.

[47] Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Hoard VJ, et-al. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction and death. *JAMA* 2004; 291: 565-75.

[48] Bønaa KH, Njølstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 354: 1578-88.

[49] The Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) 2 investigators. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 1567-77.

[50] Ebbing M, Bleie Ø, Ueland PM, Nordrehaug JE, Nilsen DW, Vollset SE et al. Mortality and cardiovascular events in patients treated with homocysteine-lowering B vitamins after coronary angiography: a randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 300: 795-804.

[51] Aguirre C, Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Martínez-Berriotxo A. Vitamin supplementation and risk of stroke. *JAMA* 2004; 291: 2191.

[52] Martínez-Berriotxo A, Ruiz-Irastorza G, Egurbide MV, Rueda M, Aguirre C. Homocysteine, antiphospholipid antibodies and risk of thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004; 13: 927-33.

[53] Oruwene CG, Mommoh MO. Plasma total homocysteine, high-sensitivity C-reactive protein and thyroid function in metabolic syndrome patients. *Niger Postgrad Med J* 2013; 20: 286-90.

[54] Esteghamati A, Hafezi-Nejad N, Zandieh A, Sheikhabaei S, Ebadi M, Nakhjavani M. Homocysteine and metabolic syndrome: From clustering to additional utility in prediction of coronary heart disease. *J Cardiol* 2014; doi: 10.1016/j.jjcc.2014.02.001.

[55] 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 disease. *J Nutr* 2006; 136: 1731S-40S.

[56] Martínez-Berriotxo A, Ruiz-Irastorza G, Egurbide Arberas MV, Rueda Gutiérrez M, Aguirre Errasti C. Homocisteína plasmática en pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Med Clin (Barc)* 2003; 120: 681-5.

[57] B-Vitamin treatment trialists' collaboration. Homocysteine-lowering trials for prevention of cardiovascular events: a review of the design and power of the large randomized trials. *Am Heart J* 2006; 151: 282-7.

[58] David A, Kim YI, Refsum H. Is folic acid good for everyone?. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 517-33.

[59] Loscalzo J. Homocysteine trials—clear outcomes for complex reasons. *N Engl J Med* 2006; 254: 1629-32.

[60] Andras A, Stansby G, Hansrani M. Homocysteine lowering interventions for peripheral arterial disease and bypass grafts. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 7: CD003285.

[61] Clarke R, Halsey J, Bennett D, Lewington S. Homocysteine and vascular disease: review of published results of the homocysteine-lowering trials. *J Inherit Metab Dis* 2011; 34: 83-91.

[62] Daly S, Cotter A, Mohillo AE, Scott J. Homocysteine and folic acid: implications for pregnancy. *Semin Vasc Med* 2005; 5: 190-200.

[63] Petras M, Tatarkova Z, Kovalska M, Mokra D, Dobrota D, Lehotsky J, Drgova A. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders. *J Physiol Pharmacol* 2014; 65: 15-23.

[64] Visser S, Hermes W, Ket JC, Otten RH, Van Pampus MG, Bloemenkamp KW et al. Systematic Review and Meta-analysis on Non-classic Cardiovascular Biomarkers after Hypertensive Pregnancy Disorders. *Am J Obstet Gynecol* 2014; doi: 10.1016/j.ajog.2014.03.032.

[65] van Dijk SC, Smulders YM, Enneman AW, Swart KM, van Wijngaarden JP, Ham AC et al. Homocysteine level is associated with aortic stiffness in elderly: cross-sectional results from the B-PROOF study. *J Hypertens* 2013; 31: 952-9.

[66] Cao H, Hu X, Zhang Q, Li J, Wang J, Shao Y et al. Homocysteine level and risk of abdominal aortic aneurysm: a meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9: e85831.

[67] Mao S, Xiang W, Huang S, Zhang A. Association between homocysteine status and the risk of nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 2014; 431C: 206-10.

[68] Kałużna-Czaplińska J, Żurawicz E, Michalska M, Rynkowski J. A focus on homocysteine in autism. *Acta Biochim Pol* 2013; 60: 137-42.

- [69] Narayan SK, Verman A, Kattimani S, Ananthanarayanan PH, Adithan C. Plasma homocysteine levels in depression and schizophrenia in South Indian Tamilian population. *Indian J Psychiatry* 2014; 56: 46-53.
- [70] Kim JM, Stewart R, Kim SW, Yang SJ, Shin IS, Yoon J.S. The predictive value of folate, vitamin B12 and homocysteine levels in late-life depression. *Br J Psychiatry* 2008; 192: 268-74.
- [71] Folstein M, Liu T, Peter I, Buel J, Arsenault L, Scott T, et-al. The homocysteine hypothesis of depression. *Am J Psychiatry* 2007; 164: 861-7.
- [72] Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland P.M. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1998; 55: 1449-55.
- [73] Anónimo. Plasma homocysteine in Alzheimer's disease with or without comorbid depressive symptoms. *Neuro Endocrinol Lett* 2014; 35: 1.
- [74] Enneman AW, Swart KM, Zillikens MC, van Dijk SC, van Wijngaarden JP, Brouwer-Brolsma EM et al. The association between plasma homocysteine levels and bone quality and bone mineral density parameters in older persons. *Bone* 2014; doi: 10.1016/j.bone.2014.03.002.
- [75] Yang J, Hu X, Zhang Q, Cao H, Wang J, Liu B. Homocysteine level and risk of fracture: A meta-analysis and systematic review. *Bone* 2012; 51: 376-82.
- [76] Hankey GJ, Ford AH, Yi Q, Eikelboom JW, Lees KR, Chen C, Xavier D et al; VITATOPS Trial Study Group. Effect of B vitamins and lowering homocysteine on cognitive impairment in patients with previous stroke or transient ischemic attack: a prespecified secondary analysis of a randomized, placebo-controlled trial and meta-analysis. *Stroke* 2013; 44: 2232-9.
- [77] Wang YP, Lin HP, Chen HM, Kuo YS, Lang MJ, Sun A. Hemoglobin, iron, and vitamin B12 deficiencies and high blood homocysteine levels in patients with anti-thyroid autoantibodies. *J Formos Med Assoc* 2014; 113: 155-60.

- [78] Aguirre Errasti C, Egurbide Arberas MV, Martínez Berriotxo A. Homocisteína en la clínica humana. *Med Clin (Barc)* 2009; 133: 472-8.
- [79] Scherer EB, Loureiro SO, Vuaden FC, da Cunha AA, Schmitz F, Kolling J et al. Mild Hyperhomocysteinemia Increases Brain Acetylcholinesterase and Proinflammatory Cytokine Levels in Different Tissues. *Mol Neurobiol* 2014, doi: 10.1007/s12035-014-8660-6.
- [80] Veeranki S, Tyagi SC. Defective homocysteine metabolism: potential implications for skeletal muscle malfunction. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 15074-91.
- [81] Obersby D, Chappell DC, Dunnett A, Tsiami AA. Plasma total homocysteine status of vegetarians compared with omnivores: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr* 2013; 109: 785-94.
- [82] Blom H.J. Determinants of plasma homocysteine. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 188-9.
- [83] Guttormsen AB, Ueland PM, Nesthus I, Nygard O, Schneede J, Vollset SE, Refsum H. Determinants and vitamin responsiveness of intermediate hyperhomocysteinemia ≥ 40 micromol/liter—the Hordaland homocysteine study. *J Clin Invest* 1996; 98: 2174-83.
- [84] Rozen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Thromb Haemost* 1997; 78: 523-6.
- [85] Johnson MA, Hawthorne NA, Brackett WR, Fischer JG, Gunter EW, Allen RH, et-al. Hyperhomocysteinemia and vitamin B-12 deficiency in elderly using Title IIIc nutrition services. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 211-20.
- [86] Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg I.H. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-8.

[87] Pijoan Zubizarreta JI, Irigoien Garbizu I, Aguirre Errasti C. Intervalos de referencia poblacional y determinantes de la homocisteína plasmática. *Med Clin (Barc)* 2001; 117: 487-91.

[88] Miller CJ, Baker JV, Bormann AM, Erlandson KM, Huppler Hullsiek K, Justice AC et al. INSIGHT SMART Study Group; ESPRIT Study Group. Adjudicated morbidity and mortality outcomes by age among individuals with HIV infection on suppressive antiretroviral therapy. *PLoS One* 2014; 9: e95061.

[89] Roca B. Adverse drug reactions to antiretroviral medication. *Front Biosci* 2009; 14: 1785-92.

[90] Hirsch HH, Battegay M. Lipodystrophy syndrome by HAART in HIV-infected patients: manifestation, mechanisms and management. *Infection* 2002; 30: 293-8.

[91] Calvo M, Martinez E. Update on metabolic issues in HIV patients. *Curr Opin HIV AIDS* 2014; 9: 332-9.

[92] Gkrania-Klotsas E, Klotsas AE. HIV and HIV treatment: effects on fats, glucose and lipids. *Br Med Bull* 2007; 84: 49-68.

[93] Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Accedido el 9 de abril de 2015.

[94] Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH et al. 2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63: 2889-934.

[95] Wiwanitkit S, Wiwanitkit V. Dyslipidemia among HIV-infected patients. *Ann Afr Med* 2014; 13: 142. doi: 10.4103/1596-3519.134424.

- [96] Geletko SM, Zuwallack AR. Treatment of hyperlipidemia in HIV-infected patients. *Am J Health Syst Pharm* 2001; 58: 607-14.
- [97] Justina LB, Luiz MC, Maurici R, Schuelter-Trevisol F. Prevalence and factors associated with lipodystrophy in AIDS patients. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47: 30-7.
- [98] Srinivasa S, Grinspoon SK. Metabolic and body composition effects of newer antiretrovirals in HIV-infected patients. *Eur J Endocrinol* 2014; 170: R185-202.
- [99] Mateo MG, Gutierrez MD, Vidal F, Domingo P. An update on the pharmacological strategies in the treatment of HIV-1-associated adipose redistribution syndromes. *Expert Opin Pharmacother* 2014; 16: 1-12.
- [100] Freitas P, Carvalho D, Santos AC, Madureira AJ, Martinez E, Pereira J et al. Adipokines, hormones related to body composition, and insulin resistance in HIV fat redistribution syndrome. *BMC Infect Dis* 2014 23; 14: 347.
- [101] Rydén L, Grant PJ, Anker SD, Berne C, Cosentino F, Danchin N et al. ESC guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD - summary. *Diab Vasc Dis Res* 2014; 11: 133-73.
- [102] Zou C, Hu H. Use of pioglitazone in the treatment of diabetes: effect on cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag* 2013; 9: 429-33.
- [103] Fitch K, Abbara S, Lee H, Stavrou E, Sacks R, Michel T et al. Effects of lifestyle modification and metformin on atherosclerotic indices among HIV-infected patients with the metabolic syndrome. *AIDS* 2012; 26: 587-97.
- [104] Erlich DR, Slawson DC, Shaughnessy A. Diabetes update: new drugs to manage type 2 diabetes. *FP Essent* 2013; 408: 20-4.

- [105] Arenas-Pinto A, Grant A, Bhaskaran K, Copas A, Carr A, Worm SW et al. Risk factors for fatality in HIV-infected patients with dideoxynucleoside-induced severe hyperlactataemia or lactic acidosis. *Antivir Ther* 2011; 16: 219-26.
- [106] Dragovic G, Jevtovic D. The role of nucleoside reverse transcriptase inhibitors usage in the incidence of hyperlactatemia and lactic acidosis in HIV/AIDS patients. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 308-11.
- [107] Feeney ER, Chazallon C, O'Brien N, Meiffrédy V, Goodall RL, Aboulker JP et al. Hyperlactataemia in HIV-infected subjects initiating antiretroviral therapy in a large randomized study (a substudy of the INITIO trial). *HIV Med* 2011; 12: 602-9.
- [108] Chow YW, Leong CL, Chow HL, Hooi LS. Lactic acidosis in HIV patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Med J Malaysia* 2007; 62: 78-80.
- [109] Das S, Bopitya S, Taha H, David L. Relationship Between Vitamin D, Parathyroid Hormone, Bone Mineral Density, Fracture and Antiretroviral Therapy in HIV Patients. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2014; doi: 10.2174/1574891X09666140609123138.
- [110] Cotter AG, Vrouenraets SM, Brady JJ, Wit FW, Fux CA, Furrer H et al; PREPARE (Preventing Progression of Adipose Tissue Redistribution) Investigators. Impact of switching from zidovudine to tenofovir disoproxil fumarate on bone mineral density and markers of bone metabolism in virologically suppressed HIV-1 infected patients; a substudy of the PREPARE study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013; 98: 1659-66.
- [111] Eckard AR, McComsey GA. Vitamin D Deficiency and Altered Bone Mineral Metabolism in HIV-infected Individuals. *Curr HIV/AIDS Rep* 2014; doi: 10.1007/s11904-014-0218-8.
- [112] Abdollahi A, Shoar TS. Hyperhomocysteinemia in HIV-Infected Individuals: Correlation of a Frequent Prothrombotic Factor with CD4+ Cell Count. *Oman Med J* 2012; 27: 224-7.

- [113] Deminice R, Vassimon HS, Machado AA, de Paula FJ, Monteiro JP, Jordao AA. Plasma homocysteine levels in HIV-infected men with and without lipodystrophy. *Nutrition* 2013; 29: 1326-30.
- [114] Uccelli MC, Torti C, Lapadula G, Labate L, Cologni G, Tirelli V et al. Influence of folate serum concentration on plasma homocysteine levels in HIV-positive patients exposed to protease inhibitors undergoing HAART. *Ann Nutr Metab* 2006; 50: 247-52.
- [115] Gonvers JJ, Heim MH, Cavassini M, Müllhaupt B, Genné D, et al. Treatment of hepatitis C in HCV mono-infected and in HIV-HCV co-infected patients: an open-labelled comparison study. *Swiss Med Wkly* 2010 Jul 19; 140:w13055. doi: 10.4414/smw.2010.13055.
- [116] Roca B, Bannasar M, Ferrero JA, del Monte MC, Resino E. Hepatitis C virus co-infection and sexual risk behaviour are associated with a high homocysteine serum level in HIV-infected patients. *Swiss Med Wkly* 2012; 141: w13323.
- [117] Coria-Ramirez E, Cisneros LN, Treviño-Perez S, Ibarra-Gonzalez I, Casillas-Rodriguez J, Majluf-Cruz A. Effect of highly active antiretroviral therapy on homocysteine plasma concentrations in HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; 54: 477-81.
- [118] Raiszadeh F, Hoover DR, Lee I, Shi Q, Anastos K, Gao W et al. Plasma homocysteine is not associated with HIV serostatus or antiretroviral therapy in women. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; 51: 175-8.
- [119] Lewden C, Bouteloup V, De Wit S, Sabin C, Mocroft A, Wasmuth JC et al. All-cause mortality in treated HIV-infected adults with CD4 \geq 500/mm³ compared with the general population: evidence from a large European observational cohort collaboration. *Int J Epidemiol* 2012; 41: 433-45.

[120] Weber R, Ruppik M, Rickenbach M, Spoerri A, Furrer H, Battegay M et al. Decreasing mortality and changing patterns of causes of death in the Swiss HIV Cohort Study. *HIV Med* 2013; 14: 195-207.

[121] Thompson MA, Aberg JA, Hoy JF, Telenti A, Benson C, Cahn P et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society-USA panel. *JAMA* 2012; 308: 387-402.

[122] Fichtenbaum CJ. Metabolic Abnormalities Associated With HIV Infection and Antiretroviral Therapy. *Curr Infect Dis Rep* 2009; 11: 84-92.

[123] The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs (DAD) Study Group. Combination antiretroviral therapy and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003; 349: 1993-2003.

[124] Domingo P, Suarez-Lozano I, Teira R, Garrido M, Lozano F, Terrón A et al. Dyslipidemia and Cardiovascular Disease Risk Factor Management in HIV-1-Infected Subjects Treated with HAART in the Spanish VACH Cohort. *Open AIDS J* 2008; 2: 26-38.

[125] Chan D, Gracey D, Bailey M, Richards D, Dalton B. Screening and management of cardiovascular disease in Australian adults with HIV infection. *Sex Health* 2013; 10: 495-501.

[126] Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: full text. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2007; 14 Suppl 2: S1-113.

[127] Humphrey LL, Fu R, Rogers K, Freeman M, Helfand M. Homocysteine level and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. *Mayo Clin Proc* 2008; 83: 1203-12.

- [128] Yang Q, Botto LD, Erickson JD, Berry RJ, Sambell C, Johansen H, Friedman JM. Improvement in stroke mortality in Canada and the United States, 1990 to 2002. *Circulation* 2006; 113: 1335-43.
- [129] Albert CM, Cook NR, Gaziano JM, Zaharris E, MacFadyen J, Danielson E et al. Effect of folic acid and B vitamins on risk of cardiovascular events and total mortality among women at high risk for cardiovascular disease: a randomized trial. *JAMA* 2008; 299: 2027-36.
- [130] Bonna KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 354: 1578-88.
- [131] Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M et al. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354: 1567-77.
- [132] Antoniadou C, Antonopoulos AS, Tousoulis D, Marinou K, Stefanadis C. Homocysteine and coronary atherosclerosis: from folate fortification to the recent clinical trials. *Eur Heart J* 2008; 30: 6-15.
- [133] Clarke R, Bennett DA, Parish S, Verhoef P, Dötsch-Klerk M, Lathrop M et al. Homocysteine and coronary heart disease: meta-analysis of MTHFR case-control studies, avoiding publication bias. *PLoS Med* 2012 Feb; 9: e1001177.
- [134] Página web del Departamento de Salud de Castellón. Disponible en: <http://www.castello.san.gva.es/exp/hgcs/index.html>.
- [135] McNulty H, Pentieva K, Hoey L, Ward M. Homocysteine, B-vitamins and CVD. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 232-7.
- [136] Selhub J. Public health significance of elevated homocysteine. *Food Nutr Bull* 2008; 29 (2 Suppl): S116-S125.

- [137] Myint PK, Kwok CS, Luben RN, Wareham NJ, Khaw KT. Body fat percentage, body mass index and waist-to-hip ratio as predictors of mortality and cardiovascular disease. *Heart* 2014; doi: 10.1136/heartjnl-2014-305816.
- [138] Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* 2012; 33: 1635-701.
- [139] Centers for Disease Control and Prevention. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *JAMA* 1993; 269: 729-30.
- [140] Holt GR. Declaration of Helsinki-the world's document of conscience and responsibility. *South Med J* 2014; 107: 407.
- [141] Baggott JE, Tamura T. Homocysteine, iron and cardiovascular disease: a hypothesis. *Nutrients* 2015; 7: 1108-18.
- [142] Uusküla A, Raag M, Folch C, Prasad L, Karnite A, van Veen MG et al. Self-reported testing, HIV status and associated risk behaviours among people who inject drugs in Europe: important differences between East and West. *AIDS* 2014; 28: 1657-64.
- [143] Roca B, Suarez I, Gonzalez J, Garrido M, de la Fuente B, Teira R et al. Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfection in Spain. *J Infect* 2003; 47: 117-124.
- [144] Pernas B, Mena A, Cañizares A, Grandal M, Castro-Iglesias A, Pértega S et al. Trends on epidemiological, virological, and clinical features among newly diagnosed HIV-1 persons in Northwest Spain over the last 10 years. *J Med Virol* 2015 Mar 16. doi: 10.1002/jmv.24185.

[145] Başkan BM, Sivas F, Aktekin LA, Doğan YP, Ozoran K, Bodur H. Serum homocysteine level in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int* 2009; 29: 1435-9.

[146] Fimognari FL, Loffredo L, Di Simone S, Sampietro F, Pastorelli R, Monaldo M et al. Hyperhomocysteinaemia and poor vitamin B status in chronic obstructive pulmonary disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009; 19: 654-9.

[147] Fujimaki C, Hayashi H, Tsuboi S, Matsuyama T, Kosuge K, Yamada H et al. Plasma total homocysteine level and methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T genetic polymorphism in Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Biomarkers* 2009; 14: 49-54.

[148] de Bree A, van der Put NM, Mennen LI, Verschuren WM, Blom HJ, Galan P et al. Prevalences of hyperhomocysteinemia, unfavorable cholesterol profile and hypertension in European populations. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59: 480-8.

[149] Fu M, Martínez-Sánchez JM, Pérez-Ríos M, López MJ, Fernández E. A comparison of the Fagerström test for nicotine dependence and smoking prevalence across countries: updated data from Spain. *Addiction* 2009; 104: 326-7.

[150] Thomsen T. HeartScore: a new web-based approach to European cardiovascular disease risk management. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; 12: 424-6.

[151] Guaraldi G, Ventura P, Garlassi E, Orlando G, Squillace N, Nardini G et al. Hyperhomocysteinaemia in HIV-infected patients: determinants of variability and correlations with predictors of cardiovascular disease. *HIV Med* 2009; 10: 28-34.

[152] Bongiovanni M, Casana M, Pisacreta M, Tordato F, Cicconi P, Russo U et al. Predictive factors of hyperhomocysteinemia in HIV-positive patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 44: 117-9.

- [153] Herrero JI, Quiroga J, Sangro B, Beloqui O, Pardo F, Cienfuegos JA, Prieto J. Hyperhomocysteinemia in liver transplant recipients: prevalence and multivariate analysis of predisposing factors. *Liver Transpl* 2000; 6: 614-8.
- [154] Bernhard MC, Junker E, Hettinger A, Lauterburg BH. Time course of total cysteine, glutathione and homocysteine in plasma of patients with chronic hepatitis C treated with interferon-alpha with and without supplementation with N-acetylcysteine. *J Hepatol* 1998; 28: 751-5.
- [155] Adinolfi LE, Ingrosso D, Cesaro G, Cimmino A, D'Antò M, Capasso R et al. Hyperhomocysteinemia and the MTHFR C677T polymorphism promote steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology* 2005; 41: 995-1003.
- [156] Roblin X, Pofelski J, Zarski JP. Role de l'homocysteine au cours de la steatose hepatique et de l'hepatite chronique C. *Gastroenterol Clin Biol* 2007; 31: 415-20.
- [157] Toniutto P, Fabris C, Falletti E, Cussigh A, Fontanini E, Bitetto D et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and liver fibrosis progression in patients with recurrent hepatitis C. *Liver Int* 2008; 28: 257-63.
- [158] Borgia G, Gentile I, Fortunato G, Borrelli F, Borelli S, de Caterina M et al. Homocysteine levels and sustained virological response to pegylated-interferon alpha2b plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C: a prospective study. *Liver Int* 2009; 29: 248-52.
- [159] Wang Y, Chen S, Yao T, Li D, Wang Y, Li Y et al. Homocysteine as a risk factor for hypertension: a 2-year follow-up study. *PLoS One* 2014; 9: e108223.
- [160] Talikoti P, Bobby Z, Hamide A. Hyperhomocysteinemia, Insulin Resistance and High HS- CRP Levels in Prehypertension. *J Clin Diagn Res* 2014; 8: CC07-9.

- [161] Bernasconi E, Uhr M, Magenta L, Ranno A, Telenti A. Homocysteinaemia in HIV-infected patients treated with highly active antiretroviral therapy. The Swiss HIV Cohort Study. *AIDS* 2001; 15: 1081–2.
- [162] De Larrañaga G, Alonso B, Puga L, Benetucci J. Homocisteína plasmática en infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana. *Medicina (B Aires)* 2003; 63: 393-8.
- [163] Smulders YM, Spoelstra-de Man AM, Slaats EH, Weigel HM, Stehouwer CD, Jos Frissen PH. Trimethoprim-sulphamethoxazole as primary *Pneumocystis carinii* prophylaxis does not increase serum homocysteine levels in HIV-positive subjects. *Eur J Intern Med* 2001; 12: 363-5.
- [164] Sule AA, Pandit N, Handa P, Chadachan V, Tan E, Sum FN et al. A Case Series of HIV-Seropositive Patients and Hypercoagulable State-Is It Difficult to Treat Even with Therapeutic Anticoagulation? *Int J Angiol* 2013; 22: 105-8.
- [165] Sule AA, Pandit N, Handa P, Chadachan V, Tan E, Sum FN et al. Risk of Venous Thromboembolism in Patients Infected with HIV: A Cohort Study. *Int J Angiol* 2013; 22: 95-100.
- [166] Basavanagowdappa H, Babu MS, Karuturi S. HIV infection and thromboembolism. *J Assoc Physicians India* 2011; 59:380-2.
- [167] Phillippe HM, Hornsby LB, Treadway S, Armstrong EM, Bellone JM. Inherited Thrombophilia. *J Pharm Pract* 2014; 27: 227-33.
- [168] Fay WP. Homocysteine and thrombosis: guilt by association? *Blood* 2012; 119: 2977-8.
- [169] Pontrelli G, Martino AM, Tchidjou HK, Citton R, Mora N, Ravà L et al. HIV is associated with thrombophilia and high D-dimer in children and adolescents. *AIDS* 2010; 24: 1145-51.
- [170] Ruan L, Chen W, Srinivasan SR, Xu J, Toprak A, Berenson GS. Plasma homocysteine is adversely associated with glomerular filtration rate in

asymptomatic black and white young adults: the Bogalusa heart study. *Eur J Epidemiol* 2009; 24: 315-9.

[171] Haynes R, Clarke R. Homocysteine, the kidney, and vascular disease. *BMJ* 2012; 344: e3925.

[172] Hadj-Taieb S, Feki M, Hammami MB, Omar S, Elasmí M, Kallel A et al. Plasma total homocysteine: usual values and main determinants in adults living in the Great Tunis region. *Clin Lab* 2014; 60: 897-902.

[173] Garibotto G, Sofia A, Valli A, Tarroni A, Di Martino M, Cappelli V et al. Causes of hyperhomocysteinemia in patients with chronic kidney diseases. *Semin Nephrol* 2006; 26: 3-7.

[174] Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JF. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* 2007; 116: 85–97.

[175] Rodionov RN, Lentz SR. The homocysteine paradox. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1031-3.

[176] Remacha AF, Souto JC, Piñana JL, Sardà MP, Queraltó JM, Martí-Fabregas J et al. Vitamin B12 deficiency, hyperhomocysteinemia and thrombosis: a case and control study. *Int J Hematol* 2011; 93: 458-64.

[177] Yakub M, Schulze KJ, Khattry SK, Stewart CP, Christian P, West KP. High plasma homocysteine increases risk of metabolic syndrome in 6 to 8 year old children in rural Nepal. *Nutrients* 2014; 6: 1649-61.

[178] Chen SF, Cui CL, Wu P, Xie NZ. Relationship of serum homocysteine level with nutritional status and HbA1c level in elderly inpatients. *Int J Clin Exp Med* 2013; 6: 779-84.

[179] Famularo G, Barracchini A, Minisola G. Severe thrombophilia with antiphospholipid syndrome and hyperhomocysteinemia in a patient with Schnitzler's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2003; 21: 366-8.

[180] Herrmann W. Significance of hyperhomocysteinemia. *Clin Lab* 2006; 52: 367-74.

[181] Lippi G, Plebani M. Hyperhomocysteinemia in health and disease: where we are now, and where do we go from here? *Clin Chem Lab Med* 2012; 50: 2075-80.

[182] Keshteli AH, Baracos VE, Madsen KL. Hyperhomocysteinemia as a potential contributor of colorectal cancer development in inflammatory bowel diseases: a review. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 1081-90.

[183] Mitchell ED, Pickwell-Smith B, Macleod U. Risk factors for emergency presentation with lung and colorectal cancers: a systematic review. *BMJ Open* 2015; 5: e006965.

[184] Chern A, Greenberg SE, Thakore RV, Sathiyakumar V, Obrebsky WT, Sethi MK. Factors driving readmissions in tibia and femur fractures. *Adv Orthop* 2015; 2015: 974543.

[185] 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: 345-52.