



TESIS DOCTORAL

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA

**REPERCUSIÓN DE LOS FÁRMACOS
ANTIEPILÉPTICOS EN LA EDAD PEDIÁTRICA
SOBRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE
HOMOCISTEÍNA, ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B12
Y SU RELACIÓN CON LA MUTACIÓN C677T DEL
GEN PARA LA METILENTETRAHIDROFOLATO
REDUCTASA (MTHFR)**

Presentada por:

María del Carmen Gómez Lado

Santiago de Compostela, 2015





TESIS DOCTORAL

**REPERCUSIÓN DE LOS FÁRMACOS
ANTIEPILÉPTICOS EN LA EDAD PEDIÁTRICA
SOBRE LOS NIVELES PLASMÁTICOS DE
HOMOCISTEÍNA, ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B12
Y SU RELACIÓN CON LA MUTACIÓN C677T DEL
GEN PARA LA METILENTETRAHIDROFOLATO
REDUCTASA (MTHFR)**

Fdo.:

María del Carmen Gómez Lado

Departamento de Pediatría

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2015



Don MANUEL CASTRO GAGO, Catedrático del Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela y Jefe de servicio Neurología Pediátrica del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela,

Don JESÚS MANUEL EIRÍS PUÑAL, Profesor asociado del Departamento de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Santiago de Compostela,

Como Directores de la Tesis de Doctorado titulada

“ Repercusión de los fármacos antiepilépticos en la edad pediátrica sobre los niveles plasmáticos de homocisteína, ácido fólico y vitamina B12 y su relación con la mutación C677T del gen para la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR)”

Presentada por Dña. MARÍA DEL CARMEN GÓMEZ LADO, alumna del Programa de Doctorado “Pediatría”

Autorizan la presentación de la Tesis indicada, considerando que reúne los requisitos exigidos en el artículo 34 del reglamento de Estudios de Doctorado, y que como Directores de la misma no incurre en las causas de abstención establecidas en la ley 30/1992.

D. Manuel Castro Gago

D. Jesús Manuel Eirís Puñal



AGRADECIMIENTOS

Al Profesor Dr. Manuel Castro Gago, director de esta tesis, por la eficaz supervisión, su paciencia y apoyo sin los cuales no habría sido posible la realización de este trabajo, así como por haber confiado en mí para formar parte del Servicio de Neuropediatría del Hospital Clínico Universitario de Santiago.

Al Dr. Jesús Eirís Puñal por su apoyo y asesoramiento en la elaboración de esta tesis y por transmitirme sus amplios conocimientos como neuropediatra.

A la Dra. Pilar Gayoso Diz por su inestimable ayuda en la elaboración de la estadística de este trabajo.

Al Prof. Santiago Rodríguez-Segade Villamarin, Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular y responsable de la Bioquímica Especial del Laboratorio Central del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, al Prof. Manuel Félix Camiña Darriba, Profesor Titular de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela y al Dr. Javier Rodríguez García, Adjunto Clínico de Bioquímica Especial del Laboratorio Central del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela por las facilidades brindadas para llevar a cabo las determinaciones de vitamina B12, ácido fólico, niveles del fármaco y estudio genético de la MTHFR.

A los pacientes y a sus familiares por su colaboración en este estudio.



A mis padres,

A Carlos,

A mis hijos Carlos y Javier.





LISTA DE ABREVIATURAS EMPLEADAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
CBZ	Carbamazepina
C-HDL	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad
CLB	Clobazam
C-LDL	Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad
col.	Colaboradores
CT	Colesterol total
DAA	Dimetilarginina asimétrica
DS	Desviación estándar
EM	Esclerosis múltiple
ESM	Etosuximida
FAES	Fármacos antiepilépticos
Hcy	Homocisteína
HHC	Hiperhomocisteinemia
HTA	Hipertensión arterial
IC	Intervalo de confianza
IMC	Índice de masa corporal
IRC	Insuficiencia renal crónica
LEV	Levetiracetam
LTG	Lamotrigina
MTHF	Metilentetrahidrofolato
MTHFR	Metilentetrahidrofolato reductasa
NO	Óxido nítrico
OR	Odds ratio
OXC	Oxcarbazepina
PB	Fenobarbital
PCR	Reacción en cadena de polimerasa
PHT	Fenitoína
PMR	Primidona
SLT	Sultiamo
TA	Tensión arterial
TCII	Transcobalamina II
TDAH	Trastorno por déficit de atención e hiperactividad.
TG	Triglicéridos
THF	Tetrahidrofolato

TPM	Topiramato
TSH	Hormona estimulante de la tiroides
Tto	Tratamiento
TVP	Trombosis venosa profunda
VPA	Ácido valproico
vs	Versus
ZS	Zonisamida



RESUMEN

Introducción: La homocisteína (Hcy) es un aminoácido sulfurado formado a partir de la metionina. La mutación C677T en el gen de la MTHFR se asocia a una disminución del 50% de la actividad de la MTHFR y en estado homocigoto constituye la causa hereditaria más frecuente de hiperhomocisteinemia moderada. El exceso de Hcy que se relaciona con la arteriosclerosis y la enfermedad cardiovascular en adultos. En niños se ha asociado con la enfermedad cerebrovascular aunque los estudios no son concluyentes por lo que la relevancia de la hiperhomocisteinemia en pediatría radica fundamentalmente en la prevención de la arteriosclerosis. El tratamiento con fármacos antiepilépticos (FAES) se ha asociado a hiperhomocisteinemia posiblemente relacionada con la deficiencia de folato y de vitamina B12 inducida por estos. Estudios realizados en adultos evidencian que la hiperhomocisteinemia es más frecuente entre los portadores homocigotos de la mutación C677T de la MTHFR.

Objetivo: analizar la repercusión de los FAES sobre la concentración de Hcy, de ácido fólico y de vitamina B12 así como la influencia del polimorfismo C677T de la MTHFR sobre las mismas en 124 niños epilépticos sometidos a tratamiento con FAES durante al menos un año y en 88 controles.

Resultados y conclusiones: se ha evidenciado que los FAES se asocian con el desarrollo de hiperhomocisteinemia en niños y esta relación se observa tanto con la carbamazepina (CBZ) como con el valproato (VPA) en monoterapia. El aumento de la concentración de Hcy es más marcado cuanto más prolongado es el tratamiento en el tiempo. El tratamiento con CBZ en monoterapia se asocia con disminución del folato sérico mientras que el tratamiento con VPA en monoterapia tiene una escasa influencia. Existe una correlación inversa entre la concentración de Hcy y los niveles séricos de folato. El tratamiento con FAES no disminuye los niveles séricos de vitamina B12 mientras que el tratamiento con VPA produce un incremento de los mismos. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR incrementa el riesgo de desarrollar hiperhomocisteinemia en niños tratados con FAES y tanto el VPA como la CBZ influyen en la prevalencia de hiperhomocisteinemia relacionada con este genotipo. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR se relaciona con una disminución de los valores séricos de folato con independencia del tratamiento con FAES. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR se relaciona con una disminución de los valores séricos de folato en los pacientes tratados con CBZ y con VPA. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR no influye sobre los valores séricos de vitamina B12 en pacientes tratados con FAES. Es necesario analizar la concentración plasmática de Hcy y los niveles de folato sérico en pacientes epilépticos con el fin de minimizar el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares en la edad adulta. En pacientes epilépticos la determinación del genotipo C677T de la MTHFR tiene utilidad realizarla con fines de investigación mientras no se defina si existe una relación fármaco-genotipo al margen de la observada con el VPA y la CBZ.



ÍNDICE:

I. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DEL PROBLEMA.....	21
1. HOMOCISTEÍNA	23
1.1 <i>Reseña histórica y situación actual</i>	23
1.2 <i>Metabolismo de la homocisteína</i>	25
1.3 <i>Homocisteína plasmática</i>	27
1.4 <i>Etiología de la hiperhomocisteinemia</i>	28
1.5 <i>Repercusiones clínicas de la hiperhomocisteinemia</i>	31
1.5.1 Homocisteína como factor de riesgo cardiovascular: aterosclerosis, cardiopatía isquémica y enfermedad cerebrovascular	31
1.5.2 Otras repercusiones de la hiperhomocisteinemia	42
1.6 <i>Homocisteína en la edad pediátrica</i>	44
2. FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS Y RIESGO CARDIOVASCULAR.....	48
2.1 <i>Epilepsia y riesgo cardiovascular</i>	48
2.2 <i>Hiperhomocisteinemia en epilépticos tratados con FAES</i>	50
3. ÁCIDO FÓLICO	53
3.1 <i>Aspectos bioquímicos</i>	53
3.2 <i>Funciones metabólicas del Ácido Fólico</i>	54
3.3 <i>Diagnóstico de la deficiencia de folato</i>	55
3.4 <i>Etiología de la deficiencia de ácido fólico</i>	55
3.5 <i>Aspectos nutricionales</i>	56
3.6 <i>Manifestaciones clínicas de la deficiencia de folato</i>	56
3.7 <i>Déficit de folato e hiperhomocisteinemia</i>	57
4. VITAMINA B12.....	59
4.1 <i>Metabolismo de la vitamina B12</i>	59
4.2 <i>Etiología del déficit de vitamina B12</i>	60
4.3 <i>Aspectos nutricionales</i>	61
4.4 <i>Diagnóstico</i>	61

4.5	<i>Manifestaciones clínicas del déficit de Vitamina B12</i>	61
4.6	<i>Vitamina B12 e hiperhomocisteinemia</i>	62
5.	POLIMORFISMO C677T DE LA METILENTETRAHIDRO-FOLATO REDUCTASA (MTHFR)	63
5.1	<i>Patologías asociadas al polimorfismo C677T de la MTHFR</i>	65
5.1.1	<i>Asociación con el riesgo de accidente cerebrovascular</i>	65
5.1.2	<i>Incremento del riesgo de enfermedad coronaria</i>	67
5.1.3	<i>Asociación con migraña</i>	68
5.1.4	<i>Otras patologías asociadas al polimorfismo C677T de la MTHFR:</i>	69
5.2	<i>Fármacos antiepilépticos y polimorfismo C677T de la MTHFR</i>	70
II.	JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	71
1.	SITUACIÓN ACTUAL	73
2.	HIPÓTESIS	73
3.	OBJETIVOS	74
III.	MATERIAL Y MÉTODOS	75
1.	MATERIAL CLÍNICO HUMANO	77
1.1.	<i>Grupo sometido a tratamiento antiepiléptico</i>	77
1.2.	<i>Grupo control</i>	79
2.	MÉTODO DE ESTUDIO CLÍNICO	81
2.1.	<i>Grupo sometido a tratamiento antiepiléptico</i>	81
2.2.	<i>Grupo control</i>	81
3.	MÉTODO DE ESTUDIO BIOLÓGICO	82
3.1.	<i>Grupo sometido a tratamiento antiepiléptico</i>	82
3.2.	<i>Grupo control</i>	82
3.3.	<i>Obtención de las muestras biológicas</i>	82
4.	MÉTODO ANALÍTICO DE LABORATORIO	84

4.1 Determinación de homocisteína	84
4.2 Determinación sérica de vitamina B12 y de ácido fólico.....	84
4.3 Determinación de las concentraciones séricas de los fármacos antiepilépticos.....	84
4.3.1. Determinación de CBZ.....	84
4.3.2. Determinación de PB, PHT VPA.....	85
4.3.3. Determinación de OXC y LTG.....	85
4.4. Estudio genético molecular (gen MTHFR, mutación C677T).....	86
5. MÉTODO DE ESTUDIO ESTADÍSTICO.....	87
6. APROBACIÓN DEL COMITÉ ÉTICO Y CONSENTIMIENTO INFORMADO	88
IV. RESULTADOS.....	89
1. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA DE ESTUDIO PARA EL TOTAL DE LOS PACIENTES Y SEGÚN CASOS DE EPILEPSIA Y CONTROLES.....	91
1.1. Edad de los pacientes y controles.....	91
1.2. Índice de masa corporal en pacientes y controles.....	92
2. HOMOCISTEÍNA, ACIDO FÓLICO Y VITAMINA B12 EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES	93
3. NIVELES DE HOMOCISTEÍNA SEGÚN EDAD Y SEXO PARA CADA UNO DE LOS GRUPOS.....	97
4. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES.....	99
5. PORCENTAJE DE HIPERHOMOCISTEINEMIA PARA CADA GRUPO DE EDAD EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES.....	100
6. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE FOLATO EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES	101
7. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE VITAMINA B12 EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES.....	102
8. VALORES DE HOMOCISTEÍNA, PARA CADA FÁRMACO EN MONOTERAPIA.....	103
9. VALORES DE FOLATO Y VITAMINA B12 PARA CADA FÁRMACO EN MONOTERAPIA.....	104

10. COMPORTAMIENTO DE LA HOMOCISTEÍNA, ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B12 SEGÚN SE TRATE DE PACIENTES QUE RECIBAN MONO O POLITERAPIA ...	106
11. INFLUENCIA DE LOS NIVELES DEL FÁRMACO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA.	108
11.1. <i>Correlación entre niveles de CBZ y de homocisteína en pacientes en monoterapia</i>	108
11.2. <i>Correlación entre niveles de VPA y de homocisteína en pacientes en monoterapia</i>	108
12. CORRELACIÓN ENTRE DURACIÓN DE TRATAMIENTO Y NIVELES HOMOCISTEÍNA, FOLATO Y VITAMINA B12	110
13. CORRELACIÓN ENTRE DURACIÓN DE TRATAMIENTO Y NIVELES DE HOMOCISTEÍNA EN MONOTERAPIA CON VPA	112
14. CORRELACIÓN ENTRE DURACIÓN DE TRATAMIENTO Y NIVELES DE HOMOCISTEÍNA EN MONOTERAPIA CON CBZ	114
15. CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y NIVELES DE FOLATO Y VITAMINA B12.....	115
16. INFLUENCIA DE LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA SOBRE EL CONTROL DE LA EPILEPSIA.....	116
17. ESTADO DE LA MUTACIÓN EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES	118
18. VALORES MEDIOS DE HOMOCISTEÍNA, FÓLICO, B12 Y ESTADO DE LA MUTACIÓN PARA LA MTHFR EN AMBOS GRUPOS.....	119
19. VALORES MEDIOS DE HOMOCISTEÍNA, FÓLICO, B12 SEGÚN EL GENOTIPO EN EPILÉPTICOS.....	120
20. CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA, FOLATO Y VITAMINA B12 EN FUNCIÓN DE MONOTERAPIA O POLITERAPIA Y DEL GENOTIPO.....	123
21. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE FOLATO PARA CADA GENOTIPO EN CASOS Y CONTROLES.....	128
22. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE VITAMINA B12 PARA CADA GENOTIPO EN CASOS Y CONTROLES.....	130
23. PORCENTAJE DE PACIENTES CON HIPERHOMOCISTEINEMIA PARA CADA GENOTIPO EN CASOS Y CONTROLES.....	132
24. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA, DÉFICIT DE B12 Y DÉFICIT DE	

FOLATO EN PACIENTES TRATADOS EN MONOTERAPIA CON CBZ SEGÚN GENOTIPO.....	134
25. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA, DÉFICIT DE B12 Y DÉFICIT DE FOLATO EN PACIENTES TRATADOS EN MONOTERAPIA CON VPA SEGÚN GENOTIPO.....	136
26. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA, DÉFICIT DE VITAMINA B12 Y DÉFICIT DE FOLATO ENTRE LOS PACIENTES TRATADOS EN MONOTERAPIA O POLITERAPIA EN FUNCIÓN DEL GENOTIPO.....	138
27. ANALISIS MULTIVARIANTE.....	142
27.1. Variable dependiente: niveles de homocisteína.....	142
27.2. Variable dependiente: niveles de ácido fólico.....	143
27.3. Variable dependiente: niveles de vitamina B12.....	144
V. DISCUSIÓN.....	145
1. INFLUENCIA DE LOS FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS EN LA CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA.....	147
2. INFLUENCIA DE LOS FAES SOBRE LOS NIVELES DE ACIDO FÓLICO Y VITAMINA B12. CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIONES DE HOMOCISTEÍNA, ACIDO FÓLICO Y VITAMINA B12.....	157
3. INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO C677T DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA (MTHFR) EN LA CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN PACIENTES EPLILÉPTICOS TRATADOS CON FAES.....	166
VI. CONCLUSIONES	179
VII. BIBLIOGRAFÍA.....	183
ANEXO I.....	205



I. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DEL PROBLEMA





1. HOMOCISTEÍNA

1.1 Reseña histórica y situación actual

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido sulfurado formado a partir del aminoácido esencial metionina. Aunque fue descubierto en 1935 por Butz y Du Vigneaud (1) no fue hasta 1962 con el descubrimiento de la homocistinuria (OMIM 236200), cuando se estableció su importancia en la patología humana (2,3). Esta enfermedad fue descrita en el año 1962 por Nina Carson en Irlanda del Norte al observar que 2 hermanas que padecían una discapacidad intelectual asociada a luxación del cristalino y alteraciones esqueléticas excretaban grandes cantidades de Hcy en orina (2). Se trata de una enfermedad autosómica recesiva debida a la deficiencia de la enzima cistationina β -sintasa que interviene en la conversión de Hcy en cistationina (2,4). Estos pacientes padecen una discapacidad intelectual asociada a enfermedad tromboembólica precoz como consecuencia una elevación marcada de la Hcy en plasma ($> 100 \mu\text{mol/L}$) en relación con un defecto genético de las enzimas implicadas en su metabolismo (3,5,6).

En el año 1969, McCully relacionó por primera vez la hiperhomocisteinemia con la aterosclerosis al observar aterosclerosis acelerada en 2 niños con homocistinuria (7). En 1976, Wilcken y Wilcken (8) publican el primer trabajo que demuestra una alteración en el metabolismo de la Hcy en pacientes con enfermedad coronaria precoz. Observan tras someter a un grupo de pacientes con enfermedad coronaria a una sobrecarga de metionina, una prevalencia mayor de hiperhomocisteinemia comparando con la población control. Desde entonces, numerosas publicaciones han asociado a la hiperhomocisteinemia con la aterosclerosis, cardiopatía isquémica, enfermedad

tromboembólica periférica y la enfermedad cerebrovascular (3,4,9) aunque por otra parte algunos autores ponen en duda el efecto causal de la Hcy sobre estos procesos y la consideran un epifenómeno (4,10,11).

Actualmente la hiperhomocisteinemia moderada (25-50 $\mu\text{mol/L}$) en adultos se relaciona con diferentes enfermedades como la insuficiencia renal, abortos recurrentes, la enfermedad de Alzheimer, enfermedades autoinmunes, osteoporosis, diabetes mellitus, disfunciones cognitivas en ancianos, la arterioesclerosis precoz y con la enfermedad cerebrovascular, cardiovascular y vascular periférica (5,12). Aunque existen múltiples estudios epidemiológicos que sugieren que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo aterotrombótico, no es un hecho aclarado si su incremento es causa o consecuencia en dichas enfermedades. Algunos autores sostienen la hipótesis de que la hiperhomocisteinemia causaría una disfunción vascular y como resultado se produciría el fenómeno de aterotrombosis (3-5,13,14). Se postula que el mecanismo por el cual produce enfermedad cardiovascular podría deberse a la interacción de 2 procesos. Por un lado, a la trombosis en la que intervendrían factores procoagulantes endoteliales, aumento de la agregabilidad de las plaquetas, aumento de la adherencia de los monocitos al endotelio y unión de la lipoproteína A a la fibrina entre otros, y por otra parte, a la aterosclerosis que se ocasionaría por disminución de la generación de óxido nítrico, efecto prooxidante, y citotoxicidad directa entre otros (3,5).

Existen pocos estudios sobre de la prevalencia de hiperhomocisteinemia, la concentración de la homocisteína y sobre sus repercusiones clínicas en la población pediátrica (6,15-19). Se estima una prevalencia del 2.5%-30% en la población general (4,9,20-23). Algunos estudios muestran cifras cercanas al 40% en la población mayor de 80 años (9,22) y en pacientes con enfermedad

coronaria, cerebrovascular y vascular periférica, la prevalencia de hiperhomocisteinemia supera el 40% (24).

1.2 Metabolismo de la homocisteína

La Hcy se origina a partir de la metionina procedente de la dieta. El exceso de metionina que no se incorpora a las proteínas es metabolizado a Hcy mediante 2 reacciones sucesivas. En la primera se produce S-adenosilmetionina mediante una reacción que cataliza la enzima metionina adenosiltransferasa. La S-adenosilmetionina es el principal donador de grupos metilo en el metabolismo celular, actuando en la remetilación de más de 100 metabolitos (metilación del ADN, síntesis de hormonas, neurotransmisores etc). Tras la demetilación la S-adenosilmetionina se transforma en S-adenosilhomocisteína que posteriormente es hidrolizada a Hcy y a adenosina(25).

Una vez formada la Hcy se metaboliza a través de 2 vías que se reflejan en la figura 1 (2,5,25,26):

1. **Remetilación** por la que se recicla a metionina:

Si la ingesta de metionina es baja la Hcy se remetila formándose metionina y S- adenosilmetionina.

La Hcy es remetilada a metionina mediante 2 reacciones:

- a) La más importante es catalizada por la *metionina sintasa*. Requiere metilcobalamina (derivado de la vitamina B12) como cofactor y utiliza como sustrato el metilentetrahidrofolato (MTHF) que es la fuente de grupos metilo para la formación de metilcobalamina. El MTHFR constituye la mayor fuente de folato plasmático y en su síntesis interviene la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).

- b) La metionina también puede ser regenerada mediante la *betaína-homocisteína-metiltransferasa*. En esta reacción la betaína actúa como donador del grupo metilo.

2. Transulfuración:

Se activa cuando la metionina se encuentra en exceso debido a un exceso de proteínas en la dieta y no es necesaria su recuperación a partir de Hcy. Se metaboliza a cisteína mediante 2 reacciones dependientes de la vitamina B 6 y se elimina en orina en forma de sulfato. Interviene como enzima la *cistationina-β-sintetasa* y el piridoxal-fosfato (derivado de la piridoxina) como cofactor.

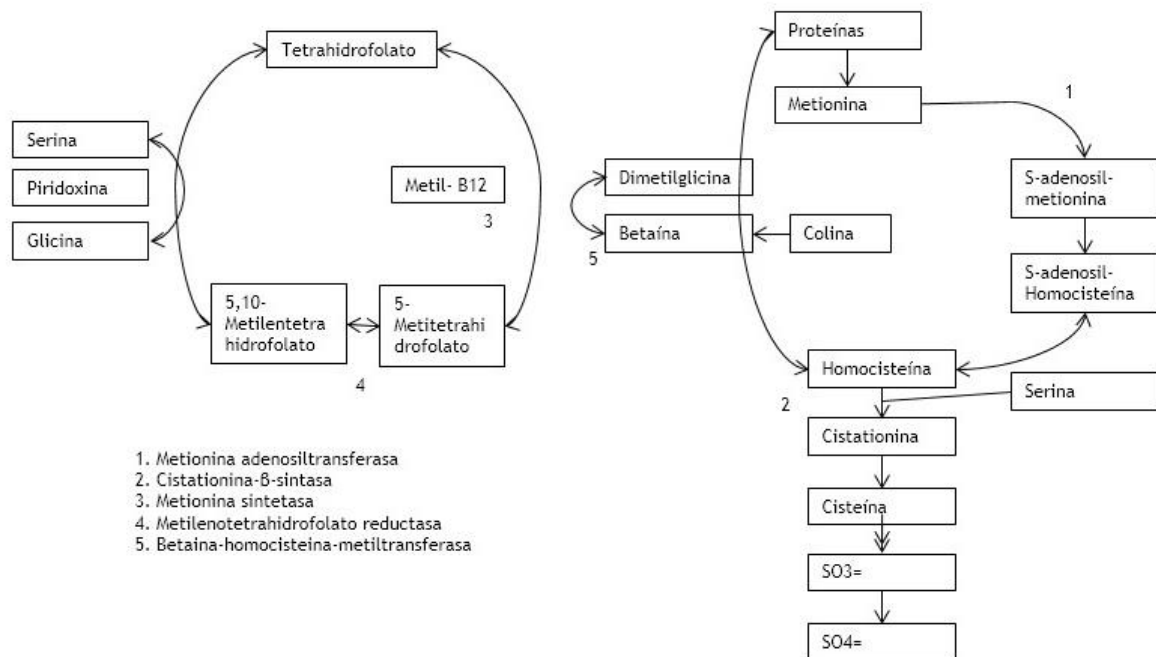


Figura 1. Metabolismo de la homocisteína

1.3 Homocisteína plasmática

La Hcy es un aminoácido con un grupo tiol susceptible de oxidación a pH fisiológico, y por tanto, tiende a formar enlaces disulfuro con diversos metabolitos con grupos tiol y con otras moléculas de Hcy (figura 2). Así la unión de 2 moléculas de Hcy mediante enlace disulfuro da lugar a la homocistina y también pueden formarse disulfuros mixtos con cisteína libre o restos de cisteína de péptidos y proteínas; esta forma se denomina homocisteína ligada a proteínas. Otro derivado es la tiolactona que se forma al perder la Hcy una molécula de agua. La Hcy plasmática incluye además de la Hcy a todos estos derivados (3,25):

- El 1% circula de forma libre.
- El 70% de la Hcy total lo constituye la Hcy ligada a proteínas fundamentalmente a la albúmina.
- 5-10% circula como homocistina (unión de 2 moléculas de Hcy)
- 5-10% como heterodimero Hcy-cisteína libre

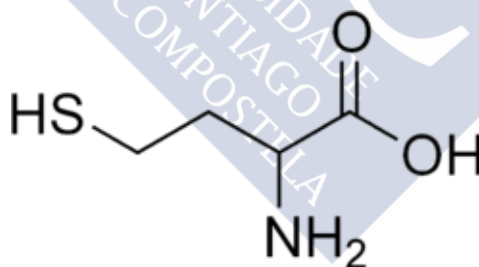


Figura 2. Estructura de la homocisteína

En adultos, las cifras normales de Hcy se sitúan entre 5-15 $\mu\text{mol/L}$ (3,4,16). Se considera leve entre 15-30, moderada entre 31-100 y grave si es mayor de 100 $\mu\text{mol/L}$ (3,13). Existen pocos estudios en niños sobre la concentración de Hcy en plasma. Las concentraciones oscilan entre 4,9 y 6,3 $\mu\text{mol/L}$ y hay consenso en aceptar como límite alto de la normalidad (p95) 12 $\mu\text{mol/L}$ (5,6,27).

1.4 Etiología de la hiperhomocisteinemia

1. Trastornos del metabolismo de la Hcy:

- Homocistinuria clásica (2,3,25,28): es debida al déficit de cistationina- β -sintasa. Se hereda de forma autosómica recesiva y se han identificado más de 150 mutaciones. Es un trastorno multisistémico de curso lento y progresivo. Las manifestaciones clínicas iniciales se presentan en el primer año de vida y son inespecíficas e incluyen un retraso de crecimiento y del desarrollo. Evolutivamente aparece déficit intelectual, luxación del cristalino, alteraciones esqueléticas similares a las del síndrome de Marfan y enfermedad tromboembólica y aterotrombótica precoz (25,29).
- Homocistinuria tipo II: déficit en la enzima MTHFR. Sus manifestaciones clínicas varían desde pacientes asintomáticos a una afectación neurológica severa que incluye afectación de la vía piramidal, sintomatología cerebelosa, epilepsia y déficit intelectual (3,28,30)
- Deficiencia en la actividad metionina sintasa debido a errores congénitos del metabolismo de la vitamina B12 (2,3,28)
- Variante termolábil de la MTHFR: constituye la forma más frecuente de hiperhomocisteinemia de origen genético. Se caracteriza por una mutación puntual en el aminoácido 677 de la enzima MTHFR que sustituye un resto de valina por alanina y da lugar a una forma enzimática con una disminución del 50% de su actividad. Su prevalencia es variable en función de etnia y localización geográfica (2,17,31).

- El polimorfismo de la MTHFR A1298C, en el que se produce una sustitución de glutamato por alanina, causa una disminución del 35% en la actividad de la MTHFR (20,32).
 - Determinados polimorfismos del gen de la nicotinamida-metiltransferasa se asocian a hiperhomocisteinemia (33).
 - Factores nutricionales: déficits de ácido fólico y en menor medida de vitaminas B12 y B6 (3,5,28).
 - Ingesta excesiva de proteínas (3,5,28).
 - Enfermedades sistémicas (3):
 - Anemia perniciosa: secundariamente a los déficits vitamínicos.
 - Insuficiencia renal crónica (IRC): no está aclarado el mecanismo. Se relaciona con una disminución del aclaramiento y del metabolismo renal de la Hcy. En estos apacientes la Hcy está aumentada entre 2-4 veces (25).
 - Hepatopatías crónicas por alteración en el catabolismo.
 - Hipotiroidismo por mecanismo desconocido.
 - En distintos tipos de neoplasias.
2. Fármacos y tóxicos(3,25):
- Inhibidores de dihidrofolato reductasa como el metotrexato o el trimetopín: impiden la transformación del dihidrofolato a su forma activa, el tetrahidrofolato.
 - Colesteramina y colestipol: que interfieren en la absorción de folato intestinalmente.
 - La isoniacina y teofilina que disminuyen los niveles de piridoxal-fosfato.
 - La ciclosporina al disminuir el aclaramiento de creatinina.
 - Inhibidores de la bomba de protones.

- Fibratos.
- Tabaquismo y consumo excesivo de café, según algunos estudios (34), parecen incrementar los niveles de homocisteína mediante la disminución de la síntesis de piridoxal-fosfato.
- Alcoholismo crónico: en relación un déficit multivitamínico.
- Fármacos antiepilépticos: mediante el incremento de la tasa metabólica de folato.

Los niveles de Hcy aumentan con la edad, peso, talla, IMC (índice de masa corporal), tensión arterial, con el aumento de la creatinina y en los varones a partir de la pubertad (5,16,24,34,35). El motivo de la diferencia observada entre sexos no está aclarada pero se atribuye a diferencias en la masa muscular, consumo de vitamina B12 y folato y al potencial efecto protector de los estrógenos (34).

Un extenso estudio poblacional llevado a cabo en Noruega (34) sobre una población de 18.044 sujetos encuentran que la edad, el sexo varón, la baja ingesta de folatos, el consumo de café y tabaco son los mayores determinantes de la Hcy en la población general. Además observan un efecto acumulativo entre los distintos factores de riesgo y que existe correlación negativa con el ejercicio físico por lo que proponen que la modificación en los hábitos de vida puede ser más eficaz para disminuir la Hcy que la suplementación de folato.

Algunos estudios encuentran asociación entre la elevación del colesterol total y la elevación de Hcy (34,36).

1.5 Repercusiones clínicas de la hiperhomocisteinemia

1.5.1 Homocisteína como factor de riesgo cardiovascular: aterosclerosis, cardiopatía isquémica y enfermedad cerebrovascular

1.5.1.1. Aterosclerosis y factores de riesgo cardiovascular

La aterosclerosis es una enfermedad de origen multifactorial con una importante influencia genética en la que están implicados más de 200 factores de riesgo. Está considerada la principal causa de mortalidad prematura en países europeos (37).

La aterosclerosis se inicia por el depósito de lipoproteínas plasmáticas y por la proliferación de los linfocitos T en la íntima de las arterias. Comienza con la formación de estrías grasas que se componen mayoritariamente por células espumosas y que evolucionan a placas complejas, integradas por un centro de lípidos y de restos de células necróticas recubiertas por una placa fibrosa que con la evolución se calcifican, se producen fenómenos hemorrágicos, se ulceran o rompen y se trombosan. Estas placas suponen una barrera para el flujo sanguíneo arterial. Cuando se produce la rotura de la placa y la posterior formación del trombo da lugar al evento clínico tal y como se refleja en la figura 3 (37–39).

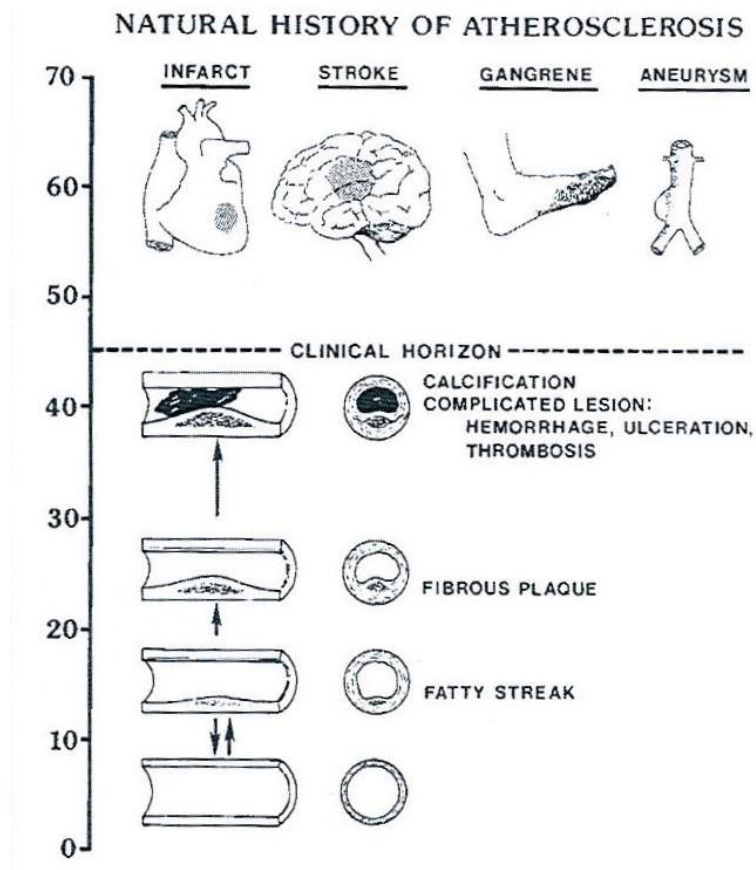


Figura 3. Historia natural de la aterosclerosis (Extraído de Mc Gill y col (39))

Es un hecho conocido que los factores de riesgo aterosclerótico que aparecen durante la infancia y la adolescencia se asocian ya a esta edad a cambios ateroscleróticos en las paredes de los vasos (27,39,40) e incluso hay evidencias de que puede iniciarse intraútero permaneciendo clínicamente silente hasta la 4ª década de la vida, expresándose entonces como aterosclerosis coronaria, aórtica, cerebral y vascular periférica (37). En la infancia es posible en la mayoría de los casos minimizar la progresión de la aterosclerosis modificando los hábitos de vida e identificando precozmente a los niños con riesgo de desarrollarla.

Se consideran factores de riesgo clásicos los siguientes:

1. Dislipemias: se consideran un factor de riesgo para el desarrollo de arteriosclerosis en la infancia y en la mitad de los pacientes persisten en la

edad adulta. Su control durante la infancia retrasa el desarrollo de la aterosclerosis. Se incluyen en este grupo las siguientes alteraciones:

- El aumento del colesterol total (CT).
- El aumento del colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL).
- Disminución del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL).
- El aumento de los triglicéridos.

En la tabla 1 se reflejan los valores patológicos de los lípidos en niños. Se recomienda realizar un cribado de dislipemia entre los 9-11 años y repetirlo a los 17-21 años aunque no está aclarado si debe realizarse de forma universal o únicamente a los niños con factores de riesgo. Hay consenso en realizar cribado de dislipemia en las siguientes situaciones: antecedente familiar de enfermedad cardiovascular precoz o de dislipemia, hipertensión arterial (HTA), exposición importante al tabaco, IMC > p95 entre los 2-8 años y de p85 en mayores de esta edad (41).

	Valores alterados	Valores limite
Colesterol total	>200 mg/dl	170-199 mg/dl
cLDL	> 130 mg/dl	110-129 mg/dl
cHDL	<40 mg/dl	40-45 mg/dl
Colesterol no HDL	> 145 mg/dl	120-144 mg/dl
Triglicéridos	> 130 mg/dl (mayores de 10 años) > 100 mg/dl (menores de 10 años)	

Tabla 1. Valores patológicos de los lípidos en niños. Extraído de *Cardiología Pediátrica y cardiopatías congénitas del niño y del adolescente. Volumen II* (41)

2. Diabetes e intolerancia a la glucosa: La diabetes se asocia a un aumento de 2-3 veces en la probabilidad de aparición de una enfermedad cardiovascular y se asocia también a una mayor probabilidad de aparición de hipertrigliceridemia, cHDL bajo, HTA y obesidad. La intolerancia a la glucosa se asocia también a un aumento de 1,5 veces en el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular (42,43).
3. HTA: se considera responsable del 54% de la cardiopatía isquémica y del 47% de los accidentes isquémicos vasculares. Tanto la HTA (TA mayor del p95 para la edad) como los estados prehipertensivos (TA entre p90-95) en la infancia se correlacionan con el desarrollo de HTA en la edad adulta (41).
4. Obesidad: existe una relación lineal entre obesidad y la aparición del síndrome metabólico. La circunferencia de la cintura abdominal se considera el mejor marcador de riesgo cardiometabólico ya que se asocia a la HTA, al aumento del LDL-C, de los TG y al descenso del cHDL (41).
5. Sedentarismo: el ejercicio físico practicado de forma regular aumenta las concentraciones de cHDL y disminuye las de cLDL y triglicéridos (44).
6. Historia familiar de arteriosclerosis: los antecedentes de enfermedad cardiovascular precoz en familiares de 1º grado (en varones de menos de 55 y en mujeres menores de 65) duplica el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular (41,43).

Por otro lado, entre el 25 y el 40 % de pacientes con enfermedades cardiovasculares no son portadores de ninguno de los factores de riesgo clásico. Por este motivo en los últimos años diferentes estudios epidemiológicos y de investigación básica han identificado otros factores de riesgo de los que se dispone evidencias científicas de que se comportan como tales. Se considera que la prevención de la aterosclerosis debe incluir tanto a los factores de riesgo

clásico como a los nuevos factores de riesgo (43). Entre los nuevos factores de riesgo cardiovascular se incluyen:

1. Homocisteína
2. Lipoproteína (a):

La lipoproteína (a) es una variante de la lipoproteína de baja densidad. Su fracción proteica, la apoproteína B, está unida a una glucoproteína, la apoproteína (a). La fracción LDL interviene en la aterogénesis mientras que la apoproteína A, por su similitud estructural con el plasminógeno, compete con éste para unirse a la fibrina con lo que disminuye la fibrinólisis y es por tanto trombogénica. El 90 % de su concentración plasmática está genéticamente determinada, siendo el 10 % restante dependiente de algunos factores ambientales como el ejercicio, la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados y ciertos medicamentos entre los que se incluyen los antiepilépticos (45,46). Se considera un factor de riesgo trombogénico demostrado, aunque su cuantificación y mecanismo de acción no es bien conocido. Se ha demostrado que el riesgo es mayor a medida que aumenta su concentración en plasma, siendo evidente por encima de 30 mg/dl y multiplicándose el riesgo 2-3 veces cuando excede los 50 mg/dl (43).

3. El aumento de la viscosidad plasmática y del fibrinógeno al enlentecer el flujo favorece el daño endotelial y por tanto el desarrollo de la aterosclerosis (43).

1.5.1.2. Mecanismo de acción de la homocisteína sobre el endotelio vascular:

Se han llevado a cabo diferentes estudios en animales de experimentación, en humanos e in vitro- en cultivos de células endoteliales y

musculares obtenidos de humanos y de animales de experimentación- con el fin de conocer los mecanismos de acción de la Hcy sobre el endotelio vascular. Se postulan diversos mecanismos mediante los que la hiperhomocisteinemia provoca enfermedad cardiovascular. Tanto in vivo como in vitro se ha observado: engrosamiento de la íntima, disrupción de la lámina interna, hipertrofia de la musculatura lisa vascular, agregación plaquetaria y formación de trombos intraluminales (3,47). Se han implicado los siguientes mecanismos fisiopatológicos (3,6,27,28):

- Daño oxidativo: diversos radicales libres generados durante la oxidación de la homocisteína (anión superóxido, peróxido de hidrógeno y anión hidroxilo) pueden provocar lesión endotelial y peroxidación de las lipoproteínas plasmáticas de baja densidad (LDL), formando hidroxicolesterol, degradando ácidos grasos poliinsaturados y modificando la Apo B 100 (3,28,48).
- Disminución de la eficacia vasodilatadora del óxido nítrico (NO): la Hcy disminuye la actividad de la dimetilarginina-dimetilaminohidrolasa, enzima que a su vez degrada la dimetilarginina asimétrica (DAA) que es un inhibidor de la sintetasa de óxido nítrico. Se ha observado en algunos estudios que niveles de DAA elevados en pacientes con ictus isquémico y los niveles de DAA se correlacionan positivamente con los niveles de Hcy. Aunque en otros estudios no se evidencia esta asociación (27). Por otra parte la Hcy se une al NO formando la S-nitroso-homocisteína que anula la acción vasodilatadora del gas (3).
- Efecto mitogénico sobre las células musculares lisas vasculares (3,28).
- Efectos protrombóticos: la Hcy produce un bloqueo en la unión del activador tisular del plasminógeno a la célula endotelial, activa los

factores VII y V, inhibe la acción de la proteína C, incrementa los niveles de fibrinopéptido A y bloquea la acción de la trombomodulina (3).

- Efectos proinflamatorios en la pared vascular: la Hcy estimula la expresión de la proteína quimiotáctica y de la interleucina 8. Ambos agentes quimiotácticos para monocitos (3).

1.5.1.3. Revisión de los estudios epidemiológicos en adultos:

Se ha evidenciado en diferentes metanálisis asociación entre niveles elevados de Hcy y la enfermedad cardiovascular (3,4,9) aunque otros estudios cuestionan esta asociación y postulan que la hiperhomocisteinemia puede ser consecuencia de la propia enfermedad cardiovascular (4,10,11).

Entre los numerosos artículos que estudian la relación entre la Hcy y el riesgo cardiovascular destacan los siguientes:

- Un metanálisis publicado en 2015 por Peng y col. que incluye 12 estudios prospectivos observacionales con más de 23.000 pacientes encuentra asociación entre los niveles elevados de homocisteína y mortalidad cardiovascular (9). En concreto encuentran que existe un incremento de riesgo de mortalidad general del 93%, del 68% en la mortalidad cardiovascular y del 66% de enfermedad coronaria. Encuentran que el riesgo es mayor entre las personas ancianas.
- Schaffer y col. (49) en 2014 estudian una cohorte de 3056 pacientes a los que se les realizó una coronariografía. Encuentran asociación entre los niveles de Hcy y la prevalencia (OR: 1.18) y la severidad (OR: 1.27) de la enfermedad coronaria.

- Un estudio similar aunque menos extenso que el anterior publicado por Naghshtabrizi y col. (50) en 2012 tras estudiar 90 pacientes sometidos a coronariografía observan que la Hcy plasmática es significativamente superior en los pacientes con enfermedad coronaria con respecto a los controles aunque no encuentran relación con la gravedad de la enfermedad coronaria.
- Christen et al. en el año 2000 (4) publican un metaanálisis que incluye más de 7000 pacientes. Estos autores observan que tras analizar los estudios transversales y caso-control se encuentra asociación entre hiperhomocisteinemia y riesgo de enfermedad cardiovascular pero no así en los estudios prospectivos donde esta asociación es más débil o inexistente.
- Un metaanálisis publicado por Clarke y col. en 2012 (51) en el que se estudia el riesgo de enfermedad coronaria y la presencia del polimorfismo C677T y que incluye más de 48.000 casos y más de 67.000 controles (procedentes de bases de datos genéticas y de estudios caso-control) no encuentra asociación entre el polimorfismo y el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria y concluyen que la hiperhomocisteinemia leve asociada al genotipo TT no se asocia con un aumento de la patología coronaria.
- He y col. en 2014 revisan 9 estudios prospectivos observacionales que incluyen más de 13.000 pacientes y encuentran que los niveles altos de Hcy se asocian con un riesgo incrementado de infarto cerebral isquémico (RR: 1,69) (52).
- En otro estudio llevado a cabo en 825 pacientes que habían sufrido un accidente isquémico cerebro vascular encuentra que la hiperhomocisteinemia se asocia a vasculopatía cerebral de pequeños

vasos y con la aterosclerosis de arteria grande. No evidencian asociación con el genotipo TT de la MTHFR con estos subtipos de enfermedad cerebrovascular a aunque si con el riesgo de hiperhomocisteinemia (53). Se postula que el mecanismo por el que la Hcy induce vasculopatía de pequeños vasos es la disfunción endotelial, la cual se relaciona con una disminución de la acción vasodilatadora de NO (53,54) y con la hipertrofia arteriolar.

- Diversos estudios epidemiológicos relacionan la hiperhomocisteinemia con la HTA aunque otros ponen en duda esta asociación. En 2014 Yixuam Wang y col. (55) publican un estudio prospectivo llevado a cabo en más de 2000 pacientes sin HTA. Tras un seguimiento de 2 años monitorizando la TA y la Hcy en plasma concluyen que la Hcy se relaciona con la incidencia de HTA. En un extenso estudio epidemiológico (NHANES III- National Health and nutrition Examination Survey-) (55,56) demuestra que cada incremento de 5 $\mu\text{mol/L}$ en la Hcy se asocia en varones a un aumento de 0.7 mmHg en la tensión arterial sistólica y de 0,5 en la diastólica y en mujeres a un incremento de 1.2 y 0,7 respectivamente. Por otra parte en el Framingham Heart study no se evidenció asociación entre el incremento de Hcy plasmática y el incremento de la TA (57).

En lo que se refiere a la trombosis venosa la mayoría de los estudios han constatado una asociación entre hiperhomocisteinemia y trombosis venosa profunda. Se resumen a continuación algunos de los estudios más relevantes:

- Un metanálisis que incluyó más de 3.000 pacientes se observó que un incremento de 5 $\mu\text{mol/L}$ en la Hcy se asoció un incremento del 27% en el riesgo de padecer trombosis venosa en los estudios prospectivos y de un 60% en los estudios retrospectivos (58).

- Un estudio que incluyó 269 pacientes diagnosticados de un primer episodio de trombosis venosa profunda y otros tantos controles encontró una prevalencia aumentada de hiperhomocisteinemia en el grupo de pacientes siendo el OR de 2.5. La asociación entre Hcy y trombosis venosa profunda fue mayor en mujeres que en varones (OR: 7 en mujeres vs OR: 1.6 en varones) (59).
- Un estudio llevado a cabo en nuestro país (60) en 100 adultos menores de 50 años con tromboembolismo venoso comparado con 177 controles sanos encuentran una prevalencia de hiperhomocisteinemia del 21% frente al 3.3% de los controles sanos.

Para aumentar la controversia sobre el potencial efecto de la Hcy sobre las enfermedades cardiovasculares se han observado resultados dispares (61–64) entre diferentes estudios de intervención. En algunos metanálisis recientes no se encuentran evidencia de que estas medidas supongan un impacto significativo en la prevención de enfermedades cardiovasculares (55,61,63).

- Martí-Carvajal y col. en 2015 (61) analizan el potencial impacto de la administración de suplementos vitaminas B6, folato o B12 administrados durante al menos un año en la prevención de eventos cardiovasculares. Tras realizar una revisión Cochrane incluyendo más de 47.000 pacientes no encuentran evidencia que la administración de los citados suplementos administrados solos o combinados sea eficaz en la prevención de enfermedad cardiovascular.
- Zhou y col. publican en 2011 (63) un metanálisis que incluye más de 44.000 pacientes y llegan a la conclusión de que no existe evidencia a favor que la suplementación de ácido fólico comparado con placebo tenga impacto significativo sobre la incidencia de enfermedad cardiovascular.

- Wang y col. (55) encuentran que en la mayoría de los estudios de intervención en los que se aportan suplementos de vitaminas del grupo B a pesar de disminuir las cifras de Hcy plasmática no se evidencia un descenso en las cifras de TA.

1.5.1.4. Argumentos a favor y en contra de la Hcy como factor de riesgo cardiovascular:

Tras el análisis de la bibliografía se evidencia que existen por tanto argumentos a favor y en contra para considerar a la Hcy como factor de riesgo cardiovascular en la población adulta que se desglosan a continuación:

Hechos que apoyan a la Hcy como factor de riesgo cardiovascular:

- Desarrollo de aterosclerosis prematura en pacientes con homocistinuria.
- Demostración in vitro y en animales de experimentación del efecto deletéreo de la Hcy sobre el endotelio vascular.
- Numerosos estudios relacionan a la Hcy con la enfermedad cardiovascular.
- Relación entre elevación de la Hcy en niños y enfermedad cardiovascular en sus padres.

Hechos en contra de la influencia de la Hcy como en el riesgo cardiovascular:

- Algunos estudios prospectivos han encontrado asociación débil o ausencia de relación con la enfermedad cardiovascular.
- Otros factores de riesgo cardiovascular (tabaco, dislipemia, sedentarismo, reducción del filtrado glomerular, obesidad) concurren a menudo con la hiperhomocisteinemia y pueden actuar como sesgo en los distintos estudios.

- La Hcy se asocia con la función renal y puede ser un indicador precoz de nefroesclerosis.
- Ausencia de disminución del riesgo de enfermedad cardiovascular tras la aplicación de medidas encaminadas a disminuir la Hcy como la administración de suplementos vitamínicos del grupo B.

En los adultos la Hcy está considerada un factor de riesgo cardiovascular aunque no está aclarado su relación causal como factor independiente por lo que se recomienda su determinación exclusivamente en pacientes de alto riesgo (5,25).

1.5.2 Otras repercusiones de la hiperhomocisteinemia

1.5.2.1. Demencia y deterioro cognitivo en ancianos

Numerosas publicaciones relacionan la hiperhomocisteinemia con la disminución de la capacidad cognitiva en ancianos (12,25,34) y con frecuencia se asocia también un descenso en la concentración de fólico y B12 (12,25,65).

Diferentes estudios han asociado a la hiperhomocisteinemia con la demencia especialmente con la enfermedad de Alzheimer (12,25,66,67). Como base fisiopatológica se postula que la Hcy actúa como un neurotransmisor excitatorio que competiría con los neurotransmisores inhibitorios como el GABA. Como otras posibles hipótesis se postulan la disfunción endotelial y la trombosis causadas por la Hcy y que darían lugar a la muerte neuronal y a un aumento del estrés oxidativo (25).

Por otra parte los estudios acerca de la suplementación con folato y vitamina B12 y la prevención del deterioro cognitivo o la demencia no son

concluyentes. En algunos estudios se ha observado que a pesar de que la suplementación vitamínica disminuye las cifras de Hcy en ancianos no ha mostrado efectos beneficiosos sobre la capacidad cognitiva a estas edades (12,68) pero otros autores si encuentran beneficio (66).

1.5.2.2. Esclerosis múltiple

Se ha observado una mayor prevalencia de hiperhomocisteinemia no asociada a déficit vitamínico ni a mutaciones en el gen de la MTHFR en pacientes con esclerosis múltiple comparados con la población sana. Los pacientes con esclerosis múltiple e hiperhomocisteinemia presentan un peor funcionamiento cognitivo comparados con los pacientes con Hcy normal. Algunos autores sugieren que dado que la hiperhomocisteinemia compromete la disponibilidad de la metionina y esta participa en la metilación en múltiples procesos bioquímicos, se produciría una hipometilación de la proteína básica de la mielina y esto tendría como resultado una alteración en la estructura de la mielina que la haría más susceptible a los procesos de degeneración (12,69,70).

1.5.2.3. Patología de la gestación y malformaciones congénitas

La hiperhomocisteinemia se considera un factor de riesgo para los defectos del tubo neural (12,25), aunque el mecanismo subyacente no está aclarado. Se ha relacionado con una disminución en la S-adenosilmetionina (metabolito donador de grupos metilo para la metilación del ADN y ARN) que conllevaría una hipometilación del ADN y alteración de genes implicados en el cierre del tubo neural. Otros autores lo relacionan con una alteración en la función del receptor del N-metil-D-aspartato y que por lo tanto se deba a una deficiencia de folato o vitamina B12 (25).

La hiperhomocisteinemia se ha asociado con la preeclampsia y con el aborto recurrente (12,25,34). Ambos procesos se describen en relación con anomalías en la vascularización de la placenta debidas a disfunción endotelial (12).

1.5.2.4 Enfermedades oncológicas

Aunque la evidencia por el momento es escasa un metanálisis reciente (71) que incluyó 15.046 casos y 20.712 controles encuentra asociación entre el riesgo de desarrollar neoplasias y la hiperhomocisteinemia asociada a bajos niveles de folato.

1.5.2.5 Patología Psiquiátrica

Aunque las evidencias son escasas se ha documentado asociación significativa entre los niveles de Hcy elevados y la esquizofrenia (72), el trastorno bipolar (73) y el autismo (74,75).

1.6 Homocisteína en la edad pediátrica

Existen pocos estudios en la población pediátrica sobre las concentraciones de Hcy. En niños sanos las concentraciones de Hcy oscilan entre 4,9 y 6,3 $\mu\text{mol/L}$ y hay consenso en aceptar como límite alto de la normalidad (p95) 12 $\mu\text{mol/L}$ (5,6,15,35,76,77). Dicha variabilidad se atribuye a la edad, a factores genéticos (fundamentalmente a la presencia de la mutación TT en el gen de la MTHFR) y dietéticos (fundamentalmente los niveles de folato). Las cifras se mantienen estables en niños sanos situándose en valores máximos de 10,3-11,3 $\mu\text{mol/L}$ hasta los 15 años. A partir de esa edad los valores se elevan progresivamente hasta alcanzar cifras propias de la edad adulta (6). En España,

Vilaseca y col. (15) tras analizar los niveles de Hcy en 189 niños sanos con edades comprendidas entre 1-18 años estratifican el p95 para 3 rangos de edad (1-10 años: 8 $\mu\text{mol/L}$; 11-15 años 9,2 $\mu\text{mol/L}$, 16-18 años: 10.8 $\mu\text{mol/L}$). Estas cifras son similares a las encontradas en otros estudios españoles (5,16,19).

Los datos sobre la prevalencia de la hiperhomocisteinemia son todavía escasos. Un estudio español publicado en 2009 por Gil-Prieto y col. (16) que incluye 317 adolescentes entre 13-17 años estima una prevalencia del 1.26% si la cifra de corte elegida es 15 $\mu\text{mol/L}$ o del 2,52% si la cifra de corte se sitúa en 12 $\mu\text{mol/L}$. Otros estudios en población pediátrica española encuentran una prevalencia del 5% (19).

La trascendencia clínica de la hiperhomocisteinemia moderada en pediatría es un tema en discusión (5,24,78). Leal y col. (24) tras revisar 15 estudios llevados a cabo en más de 14.000 niños no encuentran asociación entre hiperhomocisteinemia y la enfermedad cardiovascular en la infancia. Otros estudios avalan la asociación de la hiperhomocisteinemia y la enfermedad cerebrovascular (35,79–81). Puesto que esta entidad es poco frecuente en la edad pediátrica, la relevancia de la Hcy como factor de riesgo radica fundamentalmente en la prevención ya que la aterosclerosis comienza a desarrollarse durante la misma.

La enfermedad cerebrovascular en niños es una entidad infrecuente en cuya etiopatogenia intervienen múltiples factores. En la población pediátrica se estima una incidencia de enfermedad cerebrovascular tanto isquémica como hemorrágica de 2.7 casos por cada 100.000 niños/año (35,82,83). Van Beynum y col. (35) encuentran tras estudiar 45 pacientes pediátricos con antecedente de infarto isquémico que cifras de Hcy superiores al p95 cuadruplican el riesgo de enfermedad isquémica cerebrovascular. En España, E. Cardo y col. en 1999 (79) analizan los niveles de Hcy en 68 niños con antecedente de infarto cerebral y

encuentran asociación entre ambos con un odds ratio de 10.3. Este mismo grupo en un estudio posterior con un grupo de 21 pacientes con antecedente de ictus isquémico encuentra una prevalencia del 71% (84). Una reciente publicación encuentra tras analizar 37 pacientes con antecedente de ACV isquémico una prevalencia del 50% de hiperhomocisteinemia (47). Joachim y col. (78) en una muestra de 280 niños con antecedente de infarto isquémico o tromboembolismo encuentra una prevalencia de hiperhomocisteinemia del 2.1% que es similar a la de la población control.

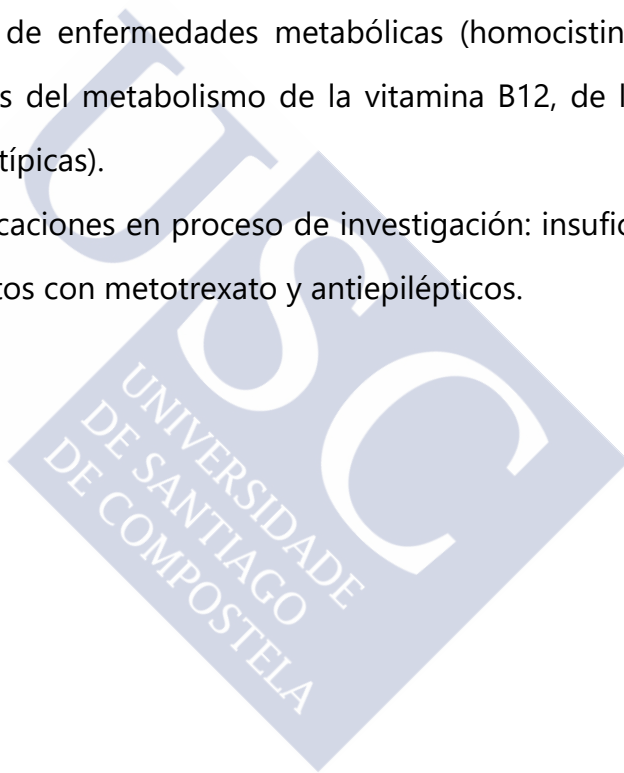
Se ha evidenciado un aumento de la Hcy en niños con antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular (19,24,36,85,86). En relación con este aspecto destaca en nuestro país el estudio de Mainou y col. (19) en el que tras estudiar a 80 niños con edades comprendidas entre 5-18 años cuyos progenitores padecieron cardiopatía isquémica prematura (< 55 años) demuestra una asociación entre la hiperhomocisteinemia y la historia familiar de enfermedad coronaria precoz, sobre todo en la adolescencia. En concreto, encuentran que la prevalencia de hiperhomocisteinemia en los grupos de 11-15 y de 16-18 años es del 40,6 y 48,3 %, respectivamente.

Algunos autores observan que la Hcy se correlaciona con bajos niveles de HDL colesterol (16,87). Gil-Prieto y col. observan una prevalencia de hiperhomocisteinemia con bajo HDL en el 37% y con cifras normales de HDL-C en el 22% y que parece existir un efecto acumulativo de varios factores de riesgo en la prevalencia de hiperhomocisteinemia. De manera que si en un individuo concurren el déficit de folato sérico, el genotipo TT de la MTHFR y el HDL colesterol es menor de 35 mg/dl la probabilidad de padecer hiperhomocisteinemia se multiplica por 90; si se asocia el genotipo TT y el déficit de folato la probabilidad de hiperhomocisteinemia se multiplica por 30 y

si solamente existe un déficit de folato la probabilidad se multiplicaría por 5 (16).

En la edad pediátrica está indicada su cuantificación de la Hcy en los siguientes grupos (6):

1. Adolescentes con hipercolesterolemia familiar monogénica y con antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz.
2. Historia personal de infarto cerebral o trombosis venosas de causa no aclarada.
3. Sospecha de enfermedades metabólicas (homocistinuria, errores congénitos del metabolismo de la vitamina B12, de los folatos o anemias atípicas).
4. Otras indicaciones en proceso de investigación: insuficiencia renal, tratamientos con metotrexato y antiepilépticos.



2. FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS Y RIESGO CARDIOVASCULAR

2.1 Epilepsia y riesgo cardiovascular

En los últimos años se ha evidenciado en los pacientes adultos epilépticos un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular (21,22,88–90) aunque otros estudios no encuentran esta asociación (91,92). Nilsson y col. en una cohorte de 9.000 pacientes hospitalizados por epilepsia mayores de 15 años encuentran una mayor mortalidad debido a diferentes causas entre las que se incluyen las enfermedades cardiovasculares con una razón de mortalidad estandarizada (relación entre las mortalidad observada y la esperada por una determinada enfermedad) para estas últimas de 3.1 (90). Elliot y col. (22) estudian en 165 pacientes epilépticos con edades comprendidas entre 18-81 años que un 52.5 % de los pacientes presentaban 2 ó más factores de riesgo cardiovascular comparado con un 27,9% observado en la población general. Hamed y col. en 225 adultos epilépticos estudian diferentes marcadores de riesgo cardiovascular y observan un aumento del espesor íntima-media carotideo (considerado un método coste-efectivo para identificar la aterosclerosis prematura en adultos jóvenes) en los epilépticos tratados y no tratados además de un aumento de los niveles de Hcy, factor von Willebrand, fibrinógeno y las LDL oxidadas (88). Muuronen y col. analizan las causas de mortalidad en 1.399 epilépticos fallecidos que recibían tratamiento con FAES y encuentran que la mortalidad debida a cardiopatía isquémica fue un 29% menor comparando con los controles (91). Un estudio realizado en 40 varones epilépticos de entre 30-50 años en el que se analizan diferentes factores de riesgo cardiovascular (CT, LDL-C, TG, glucemia, TA, porcentaje de grasa corporal, forma física, factores hereditarios, tabaquismo y grado de estrés) no

aprecian diferencias significativas comparado con el grupo control salvo para la condición física que fue inferior en los epilépticos (92).

Esta controversia se extiende a los estudios en la población pediátrica (21,45,93,94). Diferentes estudios han demostrado un incremento de algunos factores de riesgo cardiovascular en niños epilépticos tales como la Hcy (21,27), incremento del colesterol total, LDL-colesterol (46,95,96), lipoproteína (a) (21,96,97) e hipotiroidismo (21,98). A continuación se resumen algunos de las publicaciones que relacionan el tratamiento con FAES con diferentes factores de riesgo cardiovascular:

- Eirís y col. en 1995 (95) publican un estudio en 119 niños epilépticos bajo tratamiento con FAES . Encuentran que los pacientes tratados con carbamazepina (CBZ) y fenobarbital (PB) presentan un aumento de las cifras de CT, HDL-C y LDL-C pero no así en los tratados con VPA. Estos mismos autores en el año 2000 (46) observan en 320 niños epilépticos tratados con CBZ, VPA y PB un aumento de las cifras de CT, LDL-C en los pacientes tratados con CBZ y PB con respecto al grupo control y a los tratados con VPA. En un subgrupo de 181 pacientes se determinaron las apolipoproteína A y B siendo sus valores bajos en los 3 grupos de pacientes tratados.
- Tümer y col. observan en 111 niños epilépticos tratados con VPA, CBZ y PB un aumento de la lipoproteína (a) en el 28% de los pacientes y en ninguno de los controles y un incremento significativo en la Hcy media en los epilépticos (45).
- Keenan y col (94) en 30 niños epilépticos no observan diferencia en las cifras de Hcy, folato, perfil lipídico ni en el espesor de la íntima-media en la carótida ni en la aorta.

- Un estudio publicado en 2015 (99) en 69 pacientes pediátricos que recibieron tratamiento con FAES -VPA, CBZ, lamotrigina (LTG), topiramato (TPM) y levetiracetam (LEV)-durante al menos 2 años encuentran un aumento de LDL colesterol, del ratio LDL/HDL colesterol, lipoproteína (a), homocisteína , tiroxina libre, TSH y un engrosamiento de las capas media-intima de la carótida común con todos los fármacos salvo con el LEV en el que los aumentos son mínimos.
- Oz y col. en adultos (100) y Ozdemir y col. en niños epilépticos (101) bajo tratamiento con FAES encuentran un aumento de los niveles de Hcy asociado a un aumento de la DAA (dimetilarginina asimétrica un inhibidor competitivo del grupo enzimático óxido nítrico (NO) sintetasa, y que está implicada en la disfunción endotelial causada por la Hcy). Aunque otro estudio posterior llevado a cabo por otros autores en niños epilépticos tratados con FAES no encuentran asociación entre la elevación de la Hcy y la DAA (27).

2.2 Hiperhomocisteinemia en epilépticos tratados con FAES

La elevación de la Hcy plasmática es un hecho conocido en pacientes que reciben tratamiento con determinados fármacos antiepilépticos. Algunos autores señalan que la hiperhomocisteinemia es mayor en régimen de politerapia (11,93) aunque otros (102,103) no han observado un mayor incremento en este grupo. Según los diferentes estudios se estima que entre un 10-40% de los pacientes epilépticos que reciben tratamiento con FAES asocian hiperhomocisteinemia (15,21,93,103,104). La mayoría de los estudios se han realizado con FAES clásicos y hay pocos estudios sobre los antiepilépticos de nueva generación (27,104,105). Kurul y col. (105) en un pequeño grupo de

pacientes tratados con OXC no encuentra elevación de Hcy en ninguno; sin embargo, Belcastro y col. (104) en población adulta observan hiperhomocisteinemia en los tratados con OXC y TPM pero no con LEV ni con LTG. Por su parte Emeksiz y col. (27) en un grupo de 53 niños epilépticos tratados con FAES en monoterapia (26 con VPA y 27 con OXC) observan una prevalencia de hiperhomocisteinemia del 22% en epilépticos y del 17% en los controles pero no encuentran diferencias significativas según el fármaco empleado.

El mecanismo por el cual los FAES inducen hiperhomocisteinemia no está del todo aclarado pero se ha vinculado con la deficiencia de diversos cofactores (vitaminas B12, B6, folato) evidenciada en varios estudios llevados a cabo en niños epilépticos tratados con FAES (21,106,107). Se ha vinculado la deficiencia de folatos en pacientes epilépticos tratados con FAES con distintos mecanismos que incluyen: una disminución en la absorción y transporte gastrointestinal de folato, interferencia de los FAES con el metabolismo de las coenzimas del folato, un aumento de la demanda de folato en la hidroxilación de los fármacos antiepilépticos o bien a través de la inducción de las enzimas microsomales hepáticas que provocaría una depleción de folato (21,27,60). Con respecto a la vitamina B12 se ha encontrado disminución en sus niveles en pacientes epilépticos tratados con FAES, especialmente con CBZ (15,102,106), aunque no es un hecho constante en pacientes tratados con VPA donde algunos autores evidencian incluso un incremento en la vitamina B12 (15,94).

La hiperhomocisteinemia y la baja concentración de folato además de incrementar el riesgo cardiovascular pueden incrementar la toxicidad de los FAES a nivel cognitivo, y hematológico (21). Por otra parte, en animales la hiperhomocisteinemia se ha vinculado con un mal control de la epilepsia (11,21,102). Algunos autores observan que con cifras de Hcy > 20 no existe un

adecuado control de la epilepsia (102). Se desconoce cuál puede ser el mecanismo por el que actúa como pro-convulsivante pero es un hecho conocido que la Hcy es un potente agonista del receptor tipo glutamato del N-metil-D-aspartato (NMDA), el cual está asociado con la epileptogénesis. Por otra parte estudios en animales demuestran que la Hcy "secuestra" a la adenosina- un anticonvulsivante endógeno- reduciendo el umbral convulsivo (11). También se ha observado que el 20% de los pacientes con homocistinuria desarrollan epilepsia y se ha observado que estos pacientes tienen cifras elevadas de Hcy (50-200 micromol/L) (11,102).



3. ÁCIDO FÓLICO

3.1 Aspectos bioquímicos

El ácido fólico está formado por una pteridina (unión de una pirimidina y una piracina) unida a ácido paraaminobenzoico y ácido glutámico. Interviene como coenzima en 2 tipos de reacciones: a) de oxidorreducción. Según la forma química de la molécula puede recibir o ceder 2 ó 4 átomos de H y b) de cesión de grupos funcionales de un átomo de carbono (figura 4). Las coenzimas responsables del transporte de unidades monocarbonadas son derivadas del ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico, que se denomina abreviadamente tetrahidrofolato (THF).

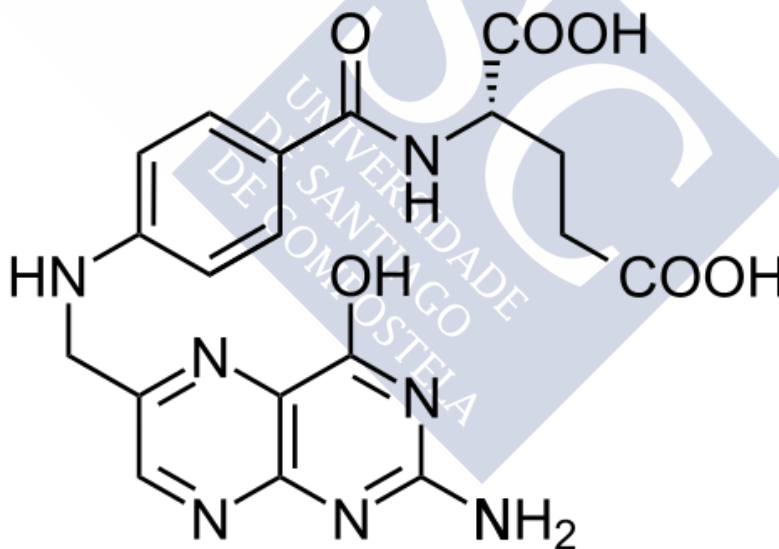


Figura 4. Estructura del ácido fólico.

La principal fuente de ácido fólico la constituyen los vegetales verdes, patatas, cereales, frutas, leche y vísceras (hígado y riñón). Cuando se ingiere, la cadena de siete restos de glutamato debe hidrolizarse en el intestino delgado por las gammaglutamil peptidasas del borde en cepillo de los enterocitos, de

manera que se forme ácido fólico libre o las formas pteroilmonoglutámico o pterolidiglutámico. El ácido fólico presente en la leche, está unido a proteínas de transporte, este complejo cede con facilidad el ácido fólico al borde en cepillo del enterocito. En el borde en cepillo existe una proteína de transporte que fija el AF libre o unido a 1 ó 2 glutamatos. Una vez absorbido el ácido fólico es convertido en tetrahidrofolato y reconjugado dentro de las células a su forma activa-N5-metil-H4folato. Posteriormente difunde por la membrana basolateral al líquido intersticial. En plasma circula libre y unido a proteínas plasmáticas. El 50% del ácido fólico absorbido se almacena en el hígado en forma de ácido pteroilheptaglutámico y se convierte de nuevo, en presencia de ácido ascórbico, en el hígado y en el plasma a su forma metabólicamente activa- el ácido tetrahidrofólico- mediante la dihidrofolato reductasa. La excreción se produce principalmente por vía renal y en menor medida por vía biliar (108).

3.2 Funciones metabólicas del Ácido Fólico

El ácido fólico interviene en las siguientes reacciones (109):

- Catabolismo de la glicina.
- Interconversión reversible de serina en glicina.
- Biosíntesis de metionina a partir de Hcy en algunas bacterias, hongos y plantas superiores.
- **Conversión de la Hcy en metionina** en mamíferos y en E. Coli en colaboración de la vitamina B12: esta es la vía por la que el organismo se libera de la Hcy.
- Síntesis de purinas a partir del N¹⁰-formil THF.
- Síntesis de factores de iniciación de síntesis de proteínas en los ribosomas.
- Mecanismo de desintoxicación del metanol.

- Metabolismo de la histidina.
- Síntesis de ADN.

3.3 Diagnóstico de la deficiencia de folato

Se define deficiencia de folato como la caída sérica por debajo de 3 ng/ml. El folato sérico, indicador de los aportes recientes (en la última semana) de folato, es el primer indicador que se altera. El valor de folato eritrocitario es un mejor marcador de la reserva de folato (17,37).

3.4 Etiología de la deficiencia de ácido fólico

La deficiencia de folato puede aparecer a cualquier edad y habitualmente se relaciona con los siguientes procesos (25,37,108):

- El tratamiento crónico con FAES mediante el aumento de catabolismo del folato.
- Consumo de otros fármacos: anticonceptivos orales a base de estrógenos, trimetropin, pirimetamina, triamtereno, metotrexato y pentamidina.
- El consumo crónico de alcohol que además de una baja ingestión de folato asocia alteraciones en la absorción y en el caso de la cirrosis alcohólica también se produce una disminución del almacenamiento hepático.
- Hemodiálisis.
- Dietas pobres en ácido fólico -en ocasiones debidas al procesado de los alimentos-.
- Déficit de N5, N10-metilen-tetrahidofolato-reductasa.

3.5 Aspectos nutricionales

La forma ideal de ingestión de folato debe realizarse a través de la dieta aunque no siempre es fácil lograrlo de forma efectiva ya que el almacenamiento, el hervido y la fritura pueden disminuir su concentración (5). El almacenamiento de las verduras y hortalizas a temperatura ambiente durante 3 días provocan pérdidas cercanas al 70% de su actividad (110). Se calcula que se absorbe el 50% del folato que se consume (108).

Las fuentes más abundantes de folato son el hígado, las legumbres, las hortalizas y verduras verdes (5,110). Las recomendaciones diarias de ingestión de folato en la edad pediátrica (5,37) de detallan en la tabla 2.

EDAD	Ingesta recomendada ($\mu\text{g}/\text{día}$)
0 - 6 meses	65
6 meses - 1 año	80
1 - 3 años	150
4 - 8 años	200
9 - 13 años	300
14 - 18 años	400

Tabla 2. Recomendaciones diarias de ingestión de folato en la infancia y adolescencia

3.6 Manifestaciones clínicas de la deficiencia de folato

La deficiencia de folato da lugar fundamentalmente diferentes trastornos (108):

- Alteraciones en el desarrollo del tubo neural: no se ha aclarado el mecanismo subyacente pero se postula que los defectos del tubo neural tienen un origen multifactorial en el que intervendrían factores genéticos y ambientales. Es un hecho bien demostrado que la suplementación materna con ácido fólico preconcepcional y durante

el 1º trimestre de la gestación disminuye el riesgo de defectos del tubo neural (108,111).

- Anemia megaloblástica: relacionada con una insuficiente producción de ADN. Se produce una alteración en la conversión de nucleótidos de uracilo en nucleótidos de timidina, así como en la síntesis de purinas (108).
- Alteraciones cardiovasculares y hemostáticas relacionadas con la hiperhomocisteinemia (3,6,108).
- Demencia, deterioro cognitivo y depresión en ancianos (111,112).

3.7 Déficit de folato e hiperhomocisteinemia

Una de las principales causas de hiperhomocisteinemia moderada es la carencia nutricional de ácido fólico (5,16,25,28,113,114). Se ha observado que cuando los niveles de folato se sitúan entre 2-3.9 ng/ml las cifras séricas de Hcy son significativamente más altas comparando con aquellos pacientes con cifras de folato normal. Las cifras de Hcy se duplican cuando el folato desciende por debajo de <2 ng/ml (31).

Desde el punto de vista genético el estado homocigoto para la mutación C677T constituye la causa más frecuente de hiperhomocisteinemia (2,17,31) y con frecuencia se asocia a cifras bajas de folato en plasma (17,31,86,115).

En pacientes que reciben FAES, tanto en monoterapia como en politerapia, es frecuente que exista un déficit de folato e hiperhomocisteinemia (11,45,107,116–119).

El efecto de los FAES sobre las vitaminas del grupo B es un hecho bien documentado aunque el mecanismo exacto por el que influyen está en discusión. Se postula que los FAES inducen depleción de folato mediante la inducción de las enzimas hepáticas, disminuyendo la absorción de folato, una

interacción competitiva entre las coenzimas del folato, un incremento de la demanda de folato como cofactor en la hidroxilación de los FAES y una alteración de la actividad de alguna de las enzimas implicadas en la transferencia de carbono como la MTHFR (15,27,93,120).

El efecto del VPA sobre los niveles de folato es controvertido. Algunos estudios evidencian que el tratamiento con VPA no origina una disminución de folato (15,116,121). El VPA tiene un menor efecto inductor enzimático y en general se asocia a una menor disminución del folato (107,120) aunque puede disminuir la absorción intestinal del folato de la dieta (120) e interferir sobre el metabolismo del folato inhibiendo la glutamato formil transferasa, una enzima que interviene en la ruta que produce el ácido fólico (121).

Dado que la hiperhomocisteinemia moderada es tratable mediante la suplementación de folatos, diversos autores sugieren que la administración de suplementos de folato podría ser beneficiosa en los pacientes que asocian hiperhomocisteinemia y bajos niveles de folato secundarios a la administración de FAES (93,117,120). Aunque la administración de suplementos puede ser una medida útil, de forma ideal debe realizarse a través de la dieta aunque no siempre es fácil lograrlo de forma efectiva ya que el almacenamiento, el hervido y la fritura pueden disminuir su concentración (5).

4. VITAMINA B12

4.1 Metabolismo de la vitamina B12

La vitamina B12 (cobalamina) de la dieta se une al factor intrínseco gástrico, es absorbida en el íleon distal, transportada a la sangre ligada a la transcobalamina II (TCII), y captada por las células. En el interior de los lisosomas libera la TCII y se oxida a cobalamina III en el citosol. Este compuesto es metabolizado a metilcobalamina citosólica, cofactor de la metionina sintasa necesaria para la remetilación de la metionina o a la adenosilcobalamina mitocondrial-cofactor de la metilmalonilCoA mutasa necesaria en el metabolismo del metilmalonil-CoA (26) (figuras 5 y 6).

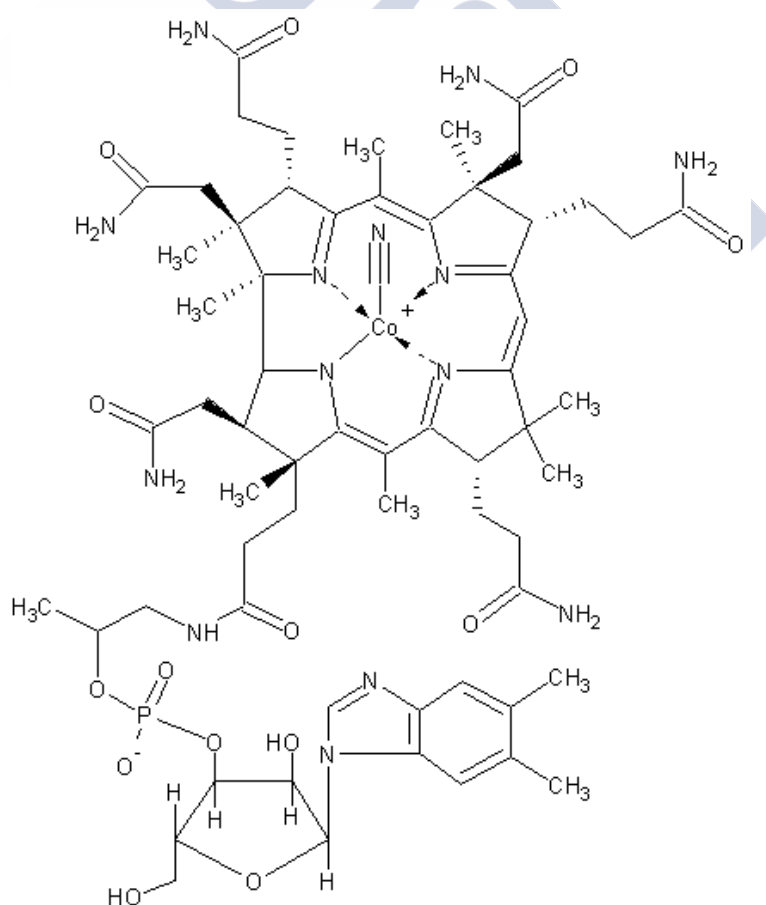


Figura 5. Estructura de la vitamina B12

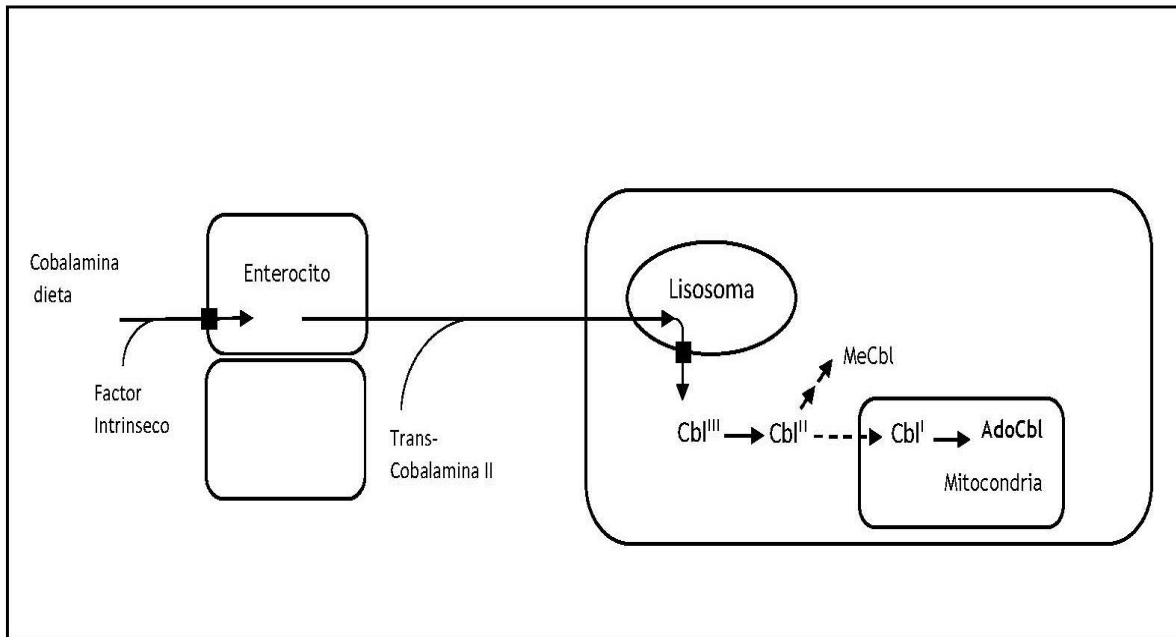


Figura 6. Metabolismo de la vitamina B12.

4.2 Etiología del déficit de vitamina B12

Entre las principales causas se incluyen: el vegetarianismo, la insuficiencia pancreática, la gastritis atrófica, la malabsorción intestinal, la anemia perniciosa, gastrectomía, parasitosis intestinal, el sobrecrecimiento bacteriano y algunos fármacos (omeprazol, anti-H2, colchicina, colestaramina, neomicina y metformina) (122).

La causa más frecuente en niños es la deficiencia nutricional aunque de forma más infrecuente se relaciona con trastornos en su absorción y transporte: deficiencia de factor intrínseco, malabsorción intestinal, deficiencia de TCII y deficiencia de la proteína R (glucoproteína que se une a la cobalamina liberada en el estómago) (26).

4.3 Aspectos nutricionales

El organismo humano no es capaz de sintetizarla y debe obtenerla de la dieta. Las fuentes más abundantes de vitamina B12 son el hígado, la carne, los huevos, los mariscos y la leche y sus derivados salvo la mantequilla (110,123). En la tabla siguiente se detallan las recomendaciones diarias de ingestión de vitamina B12 en la infancia y adolescencia (37).

EDAD	Ingesta recomendada (µg/día)
0 - 6 meses	0,4
6 meses - 1 año	0,5
1 - 3 años	0,9
4 - 8 años	1,2
9 - 13 años	1,8
14 - 18 años	2,4

Tabla 3. Recomendaciones diarias de ingestión de vitamina B12 en la edad pediátrica

4.4 Diagnóstico

Se considera déficit la concentración sérica inferior a 0,2 ng/ml (< 200 pg/ml).

4.5 Manifestaciones clínicas del déficit de Vitamina B12

La vitamina B12 actúa como coenzima en la síntesis de ADN y la maduración celular así como en la síntesis de lípidos neuronales y da lugar a los siguientes trastornos (123):

- Anemia macrocítica de intensidad y clínica variable.
- Alteraciones digestivas: diarrea, glositis y anorexia.
- Manifestaciones neurológicas derivadas de una deficiente síntesis de mielina que conlleva desmielinización, degeneración axonal, y finalmente, muerte neuronal: las manifestaciones iniciales son

parestias, debilidad, ataxia, problemas de coordinación manual, piramidalismo, irritabilidad, olvidos, demencia y psicosis franca (123,124).

4.6 Vitamina B12 e hiperhomocisteinemia

Se ha observado una correlación negativa entre las cifras de Hcy y la deficiencia de vitamina B12 (16,86,115,125). La baja disponibilidad de la vitamina B12, B6 y folato conlleva una alteración de la remetilación de la Hcy a metionina y como consecuencia se produce acumulación de la Hcy (28,31).

En algunos estudios, se ha observado que pacientes epilépticos bajo tratamiento con FAES presentan una disminución de los niveles de vitamina B12 (15,117). Otros autores no encuentran diferencias entre la población general y pacientes epilépticos sometidos a tratamiento con FAES (11,20,119,126).



5. POLIMORFISMO C677T DE LA METILENTETRAHIDRO-FOLATO REDUCTASA (MTHFR)

La MTHFR es una enzima que cataliza la conversión de 5,10-metilentetrahidrofolato en 5-metiltetrahidrofolato que actúa como cosustrato junto con la vitamina B12 para la remetilación de la homocisteína en metionina (figura 7). Por otra parte interviene en el ciclo de los folatos, en el mantenimiento de los folatos intraeritrocitarios y en la metilación del ácido desoxirribonucleico. El gen que la codifica se localiza en el cromosoma 1-región 1p36.3- y se compone de 11 exones. Se han descrito más de 50 mutaciones y se conoce que al menos 10 provocan cambios en la actividad metabólica de la proteína.

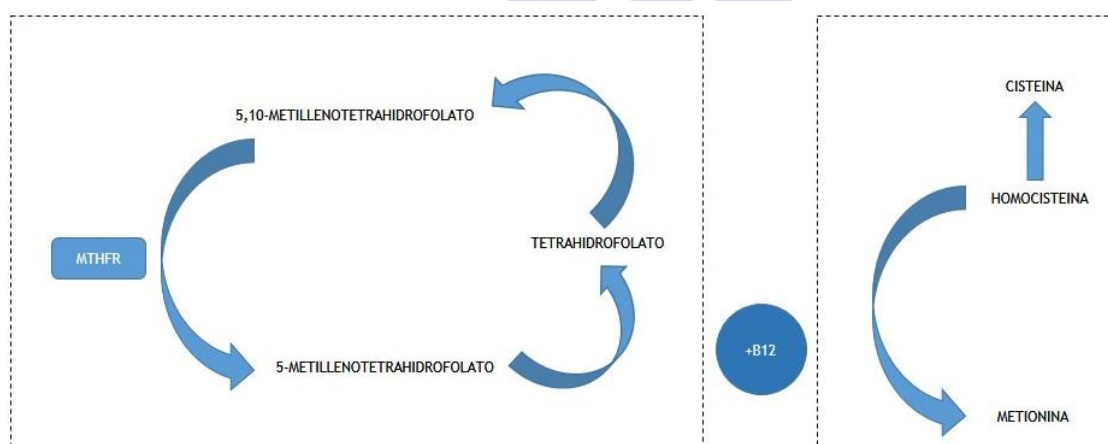


Figura 7. Función de la MTHFR en el metabolismo de la Hcy

El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR es la causa hereditaria más frecuente de hiperhomocisteinemia moderada (5,15,16). Este polimorfismo consiste en la sustitución de citosina por timina en la posición nucleotídica 677 del gen de la MTHFR y causa una sustitución de alanina por valina en la enzima MTHFR. La mencionada mutación se asocia a una

disminución del 50% de la actividad de la MTHFR y como consecuencia se produce un daño en la síntesis de 5-metil-tetrahidrofolato paso indispensable en la remetilación de la homocisteína (3,17,31). En relación a esta mutación se conocen 3 genotipos:

- Los homocigotos o genotipo TT
- Los heterocigotos o genotipo CT
- Ausencia de mutación o genotipo CC

La prevalencia del genotipo TT varía ampliamente según la etnia y la localización geográfica (3,31). Se estima una prevalencia del genotipo TT entre el 5-18% de la población (16,17,127). En los países del norte de Europa se estima una prevalencia inferior (6-10%) a la de los países mediterráneos (13-18%). Este polimorfismo es inexistente en el África subsahariana y tiene una prevalencia muy baja en la población negra americana 1-2% (31). Un estudio llevado a cabo en nuestro país por Gil-Prieto y col. (16) encuentra una prevalencia de genotipo CC de 37.8%, del genotipo CT del 47.3% y del TT del 14,9%. Otro estudio español publicado por Gutiérrez-Revilla y col. (17) encuentra una prevalencia de CC del 42%, CT 41% y TT 16.9%.

Diversos estudios (28,31,34) han evidenciado una relación entre el aumento de la Hcy y el estado homocigoto para la mutación C677T, aunque otros autores (14,80) no encuentran asociación. La mayoría de las publicaciones defienden que la Hcy se eleva en aquellos pacientes homocigotos en los que se asocia un déficit de folato y/o B12 (16,18,31,32,113). Parece que aunque exista una deficiencia parcial en la actividad enzimática en la vía de la remetilación, si existe suficiente sustrato la metabolización de la Hcy puede seguir funcionando (128).

5.1 Patologías asociadas al polimorfismo C677T de la MTHFR

El estado homocigoto para la mutación C677T se ha asociado a numerosas patologías que se desglosan a continuación:

5.1.1 Asociación con el riesgo de accidente cerebrovascular:

Se ha asociado a un incremento de infarto hemorrágico y también con el infarto isquémico en adultos (31,129,130) y en niños (80,83,127). Aunque los datos son contradictorios y algunos autores cuestionan esta asociación (14,78). A continuación se resumen algunos de los estudios más relevantes a este respecto.

- Sarecka-Hujar y col. (83) publican un metanálisis en el que analizan 15 estudios caso-control con un total de 822 niños y adolescentes con antecedente de infarto isquémico y 1.552 controles. Observan que el genotipo TT es más frecuente en los pacientes con infarto isquémico que en los controles (OR: 1.57). También observan correlación positiva (OR: 1.52) entre ser portador del alelo T (incluyendo heterocigotos y homocigotos) y el infarto isquémico.
- Prengler y col. (127) encuentran en 118 niños con antecedente de enfermedad cerebrovascular (infarto isquémico y accidente isquémico transitorio) un 19% de homocigotos para el polimorfismo C677T el frente a 12% en la población control. Determinaron la Hcy en 50 de los pacientes y observaron un aumento significativo de la misma en homocigotos comparado con heterocigotos, pacientes sin la mutación y controles.
- Alsayouf y col. (14) en un estudio llevado a cabo en 124 pacientes con edades comprendidas entre 1 día y 20 años que padecieron un

infarto isquémico cerebral/ trombosis de senos encontraron una prevalencia del genotipo TT similar a la población general (8%). Este grupo tampoco evidenció correlación entre dicho genotipo y la elevación de homocisteína aunque no analizaron los niveles de folato ni de vitamina B12.

- Joachim y col. (78) en 90 pacientes con edades comprendidas entre 0-21 años (47 con antecedente de infarto isquémico y 43 con antecedente de tromboembolismo) observan una prevalencia del polimorfismo C677T similar a la de su población control (7.8% para el genotipo TT y del 27% sumando los genotipos TT y CT). La prevalencia de hiperhomocisteinemia en homocigotos y heterocigotos es similar a la de los pacientes que no son portadores de la mutación.
- En la población adulta un reciente metanálisis (130) que incluye 6.310 pacientes y 8.297 controles que incluye población asiática y caucásicos encuentra asociación significativa entre el polimorfismo C677T y el infarto isquémico. En asiáticos encuentran asociación tanto en heterocigotos como en homocigotos pero en caucásicos sólo encuentran asociación con los homocigotos. Otro metanálisis publicado por Li Pingping y col. (129) con 2.223 casos y 2.936 controles encuentra asociación significativa entre el ictus isquémico y los genotipos TT (OR: 1.43) y CT (OR: 1.13). En relación al infarto hemorrágico existen pocos datos; un metanálisis realizado por Kang y col. (131) encuentra asociación significativa entre esta entidad y los genotipos homocigoto y heterocigoto para la mutación C677T. Haywood y col. (82) también observa asociación entre el genotipo homocigoto y el infarto cerebral isquémico

5.1.2. Incremento del riesgo de enfermedad coronaria

Los resultados de los diferentes estudios son contradictorios. Algunos autores (132,133) encuentran asociación pero otros discrepan con esta teoría (51,134).

- Un metaanálisis publicado en 2012 (51) que incluye más de 48.000 casos y más de 67.000 controles –procedentes de bases de datos genéticas y de estudios caso-control- no encuentra asociación entre el genotipo TT y el riesgo de desarrollar enfermedad coronaria y concluyen que la hiperhomocisteinemia leve asociada al genotipo TT no se asocia con un aumento de la patología coronaria.
- En 1998 Brattström y col. (134) publican un metanálisis en el que analizan 5.869 pacientes con enfermedad cardiovascular (fundamentalmente cardiopatía isquémica) y 664 controles. Encuentran que las cifras de Hcy son un 25% superior en los portadores del genotipo TT comparadas con los del genotipo CC pero no encuentran diferencias en la prevalencia del genotipo TT entre casos y controles. Concluyen que la mutación no incrementa el riesgo cardiovascular y que la hiperhomocisteinemia leve no se asocia a enfermedad cardiovascular.
- En 2011 Xuan y col. (132) en otro metanálisis con 8.140 casos y 10.522 controles observan asociación significativa entre el genotipo TT y el riesgo de infarto de miocardio en varones caucásicos jóvenes o de mediana edad pero no encuentran asociación en varones ancianos ni mujeres caucásicas, asiáticos ni afro-americanos.
- Klerk y col (133) que incluyó 11.162 casos y 12.758 controles encuentran entre los portadores europeos del genotipo TT que cuando asocian valores bajos de folato presentan un mayor riesgo de

cardiopatía isquémica (OR: 1.44). En la población norteamericana (OR: 0,87) no se demuestra un incremento del riesgo. Esta diferencia según los autores puede ser atribuible a la diferencia en los niveles de folato entre ambas poblaciones.

5.1.3. Asociación con migraña:

En los últimos años diversas publicaciones han relacionado el polimorfismo 677C<T de la MTHFR con la migraña aunque de momento los datos son escasos.

- Rubino y col. (135) publican un metanálisis que incluye 2.961 pacientes con migraña y observan entre los pacientes con migraña con aura que el genotipo TT se asoció a un mayor riesgo de enfermedad comparado con los pacientes no portadores de la mutación (OR: 1.66).
- Azimova y col. (136) encuentran entre los pacientes con migraña con aura una elevada proporción de pacientes portadores del genotipo TT (37.2%) en comparación con los portadores del genotipo CC (0%).
- Alsayouf y col. (14) en una cohorte de 533 pacientes a los que se les había solicitado estudio genético del polimorfismo C677T de la MTHFR por diversos motivos (100 con infarto isquémico, 41 con migraña, 24 con trombosis de senos y 368 con otros tipos de trombosis) encuentran una prevalencia para el genotipo TT del 8%, cifra similar a la población general. Entre los pacientes con migraña encuentran una prevalencia para este genotipo del 26.8% (11 pacientes) y del 36% para los heterocigotos. No encontraron diferencias significativas entre la migraña con aura y sin aura.

Determinaron la Hcy en 8 de los migrañosos encontrando hiperhomocisteinemia en uno de ellos.

- En nuestro servicio en un estudio preliminar sobre el polimorfismo C677T de la MTHFR en 214 niños se encontró el genotipo TT en el 13%. De 7 pacientes diagnosticados de migraña sin aura 2, (28,5%) eran homocigotos para la mutación y otros 2 (28.5%) eran heterocigotos (137).

5.1.4. Otras patologías asociadas al polimorfismo C677T de la MTHFR:

Algunos estudios han asociado este polimorfismo con diversas patologías pero por el momento no hay datos concluyentes.

- HTA: Se ha observado correlación entre la HTA y el genotipo TT en pacientes con hiperhomocisteinemia (138–140).
- Psoriasis: existen escasos estudios que apoyan esta asociación (31).
- Asociación con infertilidad y patología de la gestación: Los estudios publicados son contradictorios aunque algunos apuntan que se asocia a un mayor riesgo de aborto recurrente (31,141), preeclampsia (31,142).
- Enfermedad de Parkinson: un meta-análisis publicado en 2013 (143) encuentra asociación entre esta patología y el polimorfismo TT para MTHFR.
- Trastornos psiquiátricos: algunos estudios han encontrado asociación entre el polimorfismo C677T y la esquizofrenia, el trastorno bipolar (31,144) y con la depresión (31,145).
- Enfermedades oncológicas: no existen datos concluyentes pero algunos estudios asocian una mayor incidencia de cáncer de mama, de cuello de útero, esofágico, hepático, pulmón, colorrectal y de

estómago. Por el contrario otras investigaciones apuntan a un hipotético factor protector frente a la leucemia aguda linfoblástica y de cáncer de próstata (31). Un metanálisis publicado en 2015 encuentra asociación entre el polimorfismo C677T y el riesgo de desarrollo de neoplasias (71).

5.2 Fármacos antiepilépticos y polimorfismo C677T de la MTHFR

Se ha observado que a largo plazo el tratamiento con FAES se asocia a hiperhomocisteinemia, probablemente causada por deficiencia de folatos (15,103) y algunos estudios apuntan a que este aumento es más evidente en epilépticos portadores de la mutación C677T (15,32,119,146,147) aunque los datos son contradictorios. La mayoría de los estudios llevados a cabo en adultos evidencian que la hiperhomocisteinemia es más frecuente entre los epilépticos portadores de la mutación C677T en homocigosis (20,32,104,146); sin embargo los escasos estudios publicados en la infancia son heterogéneos (15,93,103,147,148). Algunos estudios en la edad adulta (32,104,146) sugieren que los pacientes adultos homocigotos para la mutación C677T y tratados con CBZ o PHT tienen un mayor riesgo de desarrollar hiperhomocisteinemia.



II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS



1. SITUACIÓN ACTUAL

- La hiperhomocisteinemia moderada constituye un factor de riesgo independiente de arteriosclerosis y trombosis en adultos y se asocia con el riesgo de accidentes cerebrovasculares en la infancia.
- Su concentración plasmática está determinada por factores genéticos y ambientales.
- El estado homocigoto para la mutación C677T en el gen de la MTHFR es la causa genética más frecuente de hiperhomocisteinemia moderada.
- El folato y las vitaminas B12 y B6 están implicadas en el metabolismo de la Hcy y son los más importantes determinantes nutricionales de su concentración plasmática.
- En los últimos años se ha descrito que el tratamiento con FAES se asocia a hiperhomocisteinemia probablemente relacionada con la deficiencia de folato y vitamina B12 que pueden inducir estos fármacos.
- Esta alteración parece más evidente en adultos con la mutación C677T del gen de la MTHFR.

2. HIPÓTESIS

Es esperable que los niños epilépticos tratados de forma crónica con FAES presenten un aumento de la Hcy plasmática asociado a un descenso de los niveles de ácido fólico y vitamina B12. Es probable que estas alteraciones guarden una estrecha relación con el estado

homocigoto y/o heterocigoto para la mutación C667T del gen para la MTHFR.

3. OBJETIVOS

1. Conocer el efecto de los FAES sobre la concentración plasmática de Hcy en niños y adolescentes epilépticos sometidos a tratamiento crónico, tratando de establecer correlaciones entre fármacos, niveles, duración del tratamiento y las concentraciones de Hcy.
2. Conocer el efecto de los FAES sobre la concentración sérica de B12 y ácido fólico en estos niños, tratando de establecer correlaciones entre fármacos, niveles, duración del tratamiento y las concentraciones de ácido fólico y vitamina B12.
3. Conocer si existe en niños y adolescentes epilépticos sometidos a tratamiento crónico con FAES alguna correlación entre la concentración plasmática de Hcy y las concentraciones séricas de ácido fólico y vitamina B12.
4. Analizar si la presencia del estado homocigoto/heterocigoto para la mutación C667T del gen para la MTHFR modifica el efecto de los FAES sobre las concentraciones sanguíneas de Hcy, vitamina B12 y ácido fólico.



III. MATERIAL Y MÉTODOS



1. MATERIAL CLÍNICO HUMANO

Está compuesto por un total de 212 pacientes. 124 pertenecen al grupo sometido a tratamiento antiepiléptico y 88 pertenecen al grupo control.

1.1. Grupo sometido a tratamiento antiepiléptico

Se estudiaron 124 pacientes epilépticos bajo tratamiento antiepiléptico seguidos de forma periódica en el Servicio de Neuropediatría del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela. Se incluyeron 59 varones y 65 mujeres con edades comprendidas entre 18 y 252 meses (media 123 meses).

Los pacientes recibieron tratamiento antiepiléptico durante al menos 1 año (media 1.648 días). Las dosis empleadas fueron siempre en rango terapéutico. 108 pacientes recibieron FAES en monoterapia y en 17 en politerapia. Los fármacos empleados se reflejan en el gráfico 1 y fueron los siguientes: valproico (VPA), carbamacepina (CBZ), lamotrigina (LTG), topiramato (TPM), primidona (PMR), fenitoína (PHT), oxcarbacepina (OXC) y etosuximida (ESM). VPA, CBZ, LTG, TPM y OXC se emplearon tanto en monoterapia como en politerapia. PMR, PHT y ESM se emplearon exclusivamente en politerapia.

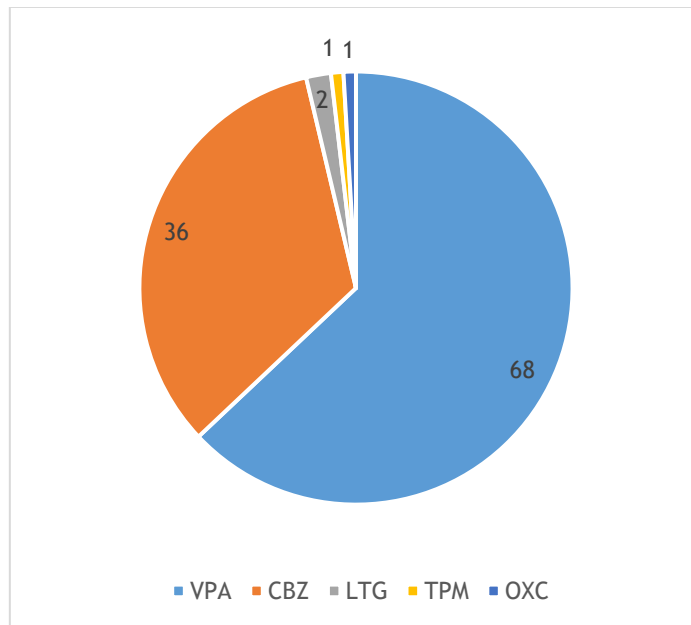


Gráfico 1. Número de pacientes para cada uno de los FAES empleados en monoterapia

Se emplearon los siguientes criterios de exclusión:

- Consumo de vitaminas y otros fármacos que no sean FAES que influyan sobre la Hcy.
- Pacientes con insuficiencia renal o hepática, enfermedad cardiovascular, cerebrovascular, oncológica, errores congénitos del metabolismo de la homocisteína, cobalamina o folato, malabsorción o diabetes mellitus.

En el gráfico 2 se reflejan los diferentes tipos de epilepsia que padecen los pacientes de la presente serie.

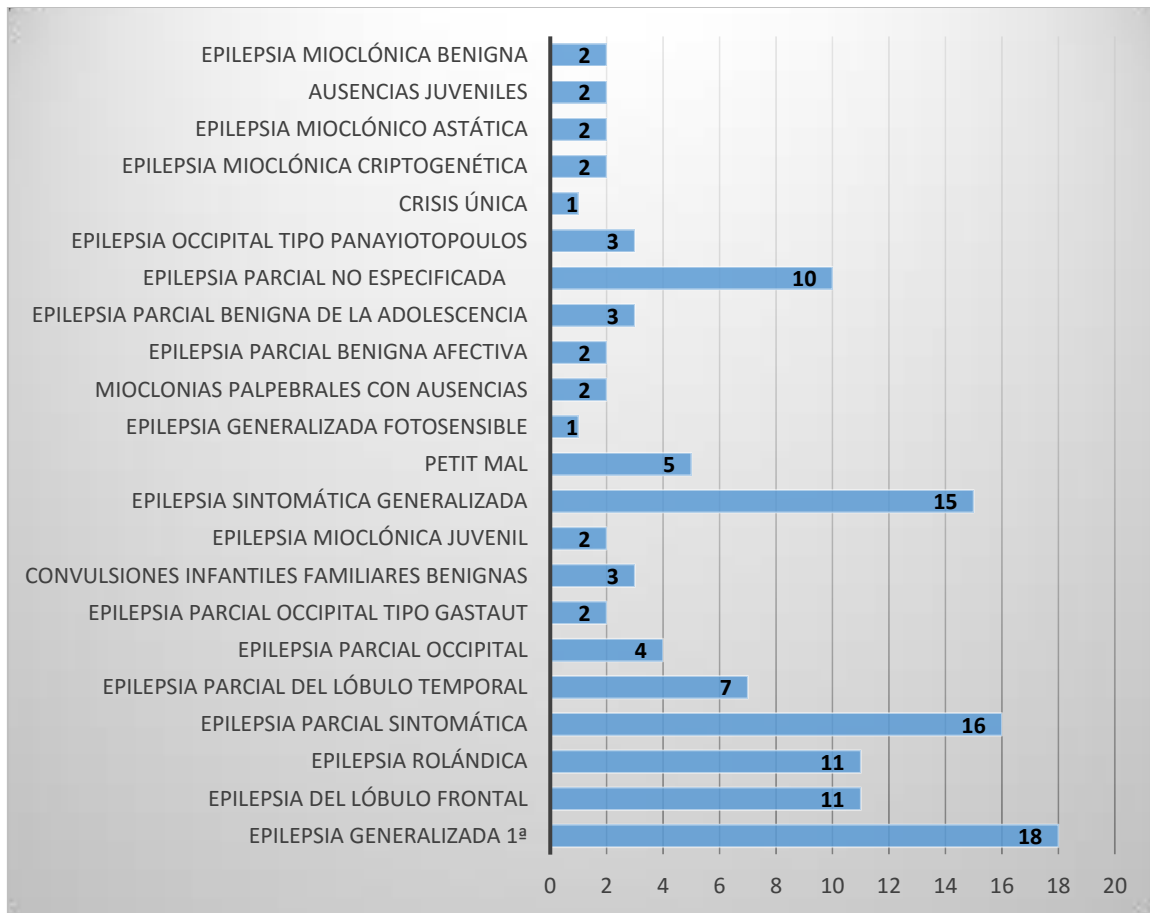


Gráfico 2. . Distribución de los tipos de epilepsia

1.2. Grupo control

El grupo control está constituido por 88 pacientes no sometidos a tratamiento farmacológico con FAES y seguidos por diversos motivos en las consultas del Servicio de Neuropediatría. Se incluyen 10 pacientes epilépticos en los que se realizaron las determinaciones antes del inicio del tratamiento. Se trata de 53 varones y 35 mujeres con un rango de edad entre 13-231 meses (media 108 meses).

Las patologías del grupo control se reflejan en la siguiente tabla:



Gráfico 3. Distribución de las patologías del grupo control

Se aplicaron los siguientes criterios de exclusión:

- Consumo de vitaminas y fármacos que influyan sobre la Homocisteína
- Pacientes con insuficiencia renal o hepática, enfermedad cardiovascular, cerebrovascular, oncológica, errores congénitos del metabolismo de la homocisteína, cobalamina o folato, malabsorción o diabetes mellitus.

2. MÉTODO DE ESTUDIO CLÍNICO

2.1. Grupo sometido a tratamiento antiepiléptico

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes analizando los siguientes parámetros clínicos: edad en meses, sexo, peso, talla, IMC, fármaco empleado, duración del tratamiento, edad al inicio del tratamiento, dosis del fármaco (mg/kg de peso), tipo de epilepsia y grado de control.

Se consideraron epilépticos bien controlados aquellos que llevaban más de 6 meses sin crisis.

El IMC se obtiene dividiendo el peso entre la talla expresada en metros al cuadrado (Kg/m^2).

2.2. Grupo control

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes analizando los siguientes parámetros clínicos: edad, sexo, peso, talla, IMC y diagnóstico.

3. MÉTODO DE ESTUDIO BIOLÓGICO

3.1. Grupo sometido a tratamiento antiepiléptico

Se determinaron los niveles de Hcy, vitamina B12, ácido fólico y de la medicación correspondiente así como el estado de la mutación C677T del gen de la MTHFR en cada uno de los pacientes. Se han utilizado como punto de corte para definir hiperhomocisteinemia los valores superiores al percentil 95 definidos en otros estudios en niños españoles sanos 1-10 años: 8 $\mu\text{mol/L}$; 11-15 años: 9,2 $\mu\text{mol/L}$; 16-18 años: 10,8 $\mu\text{mol/L}$.

3.2. Grupo control

Se determinaron los niveles de homocisteína, B12, ácido fólico y el estado de la mutación C677T del gen de la MTHFR en cada uno de los pacientes.

3.3. Obtención de las muestras biológicas

Se realizó la extracción sanguínea entre las 8.30-9.30 horas a.m., tras un periodo de ayuno nocturno de al menos 8 horas, congelándose una porción de las muestras obtenidas de plasma y suero a -20°C hasta su procesamiento analítico (determinación de las concentraciones de homocisteína, de vitamina B12 y de ácido fólico, así como de los niveles séricos de los fármacos antiepilépticos), mientras que otra muestra de sangre completa se empleó para el estudio genético molecular de la mutación C677T del gen para la MTHFR.

En el caso de los pacientes epilépticos se realizaron cuando el niño acudía a su control evolutivo aprovechando la extracción sanguínea que habitualmente se realiza con fines a conocer el nivel sérico del fármaco

antiepiléptico y sus posibles repercusiones sobre parámetros hematológicos básicos.

En el caso del grupo control se efectuaron las extracciones coincidiendo con la realización de otras necesarias para el estudio de su proceso.



4. MÉTODOS ANALÍTICOS DE LABORATORIO

4.1 Determinación de homocisteína

Se llevó a cabo por quimioluminiscencia en el INMULITE 2000 (DPC-DIPESA).

4.2 Determinación sérica de vitamina B12 y de ácido fólico

Se realizó mediante quimioluminiscencia en el CENTAURO (BAYER).

4.3 Determinación de las concentraciones séricas de los fármacos antiepilépticos

4.3.1. Determinación de CBZ

Se realizó en un analizador Dimension Xpand Plus con reactivos proporcionado por Siemens (München, Alemania) y listo para su uso. La determinación se basa en un inmunoensayo de inhibición con medida turbidimétrica, que utiliza un conjugado sintético de las partículas de CBZ y un anticuerpo monoclonal específico para la CBZ. La CBZ presente en la muestra compete con las partículas por el anticuerpo, reduciendo así la tasa de agregación. De esta forma, la tasa de agregación es inversamente proporcional a la concentración de CBZ en la muestra. La tasa de agregación se mide mediante lecturas turbidimétricas bicromáticas a 340 nm y 700 nm. Rango de medida: 0.0 – 20.0 µg/ml (0.0 – 85.0 µmol/l).

4.3.2. Determinación de PB, PHT VPA

Se realizó en un analizador automático Architect, usando reactivos específicos y listos para su uso, proporcionados por la Abbott (Abbott Park, IL 60064, USA). En los tres casos, se trata de ensayos homogéneos de micro partículas con detección quimioluminiscente. Se prepara una mezcla de reacción in vitro con la muestra, el anticuerpo específico (anti-fenitoina, anti-fenobarbital o anti-ácido valproico, según el fármaco a determinar) unido a micropartículas paramagnéticas y otro conjugado específico que lleva unido acridinio; ambos anticuerpos competirán por unirse al fármaco presente en la muestra. Finalmente, se cuantifica la concentración del fármaco a determinar por la adición de peróxido de hidrógeno/hidróxido sódico a la mezcla de reacción y midiendo la quimioluminiscencia provocada como unidades relativas de luz (RLUs; relative light units). Rangos de medida: fenitoina: 0.50 - 40.00 µg/ml; fenobarbital: 1.10 - 80.00 µg/ml; ácido valproico: 2.00 - 150.00 µg/ml.

4.3.3. Determinación de OXC y LTG

Se determinaron en un equipo de HPLC Agilent (Santa Clara, CA 95051, EE.UU.) equipado con detector UV, mediante elución isocrática y detección a 204 nm. Los reactivos empleados tanto para el pre-tratamiento de las muestras como para su cuantificación han sido suministrados por Chromsystems (Gräfelting, Alemania). El límite de detección se establece en 0.5 µg/ml y el ensayo es lineal.

4.4. Estudio genético molecular (gen MTHFR, mutación C677T)

Se realizó mediante la amplificación por PCR "reacción en cadena de polimerasa" de un fragmento del ADN genómico que contiene el punto de la mutación, que finalmente se identificará caracterizando la temperatura de fusión mediante el empleo de sondas marcadas. Las temperaturas de fusión - T_m - obtenidas con el espécimen del paciente para esta mutación se situarán dentro del intervalo T_M , de las establecidas para lo alelos mutados.



5. MÉTODO DE ESTUDIO ESTADÍSTICO

Análisis de datos: para responder a los objetivos planteados, en el trabajo se aborda el análisis de los niveles de Hcy, ácido fólico y vitamina B12 en los dos grupos de niños: aquellos diagnosticados de epilepsia y los que conforman el grupo control.

Plan de análisis del estudio: las características basales son expresadas como media \pm desviación estándar (DS) y sus respectivos intervalos de confianza al 95% (IC 95%); o como frecuencia y porcentaje según se trate de variables cuantitativas o categóricas respectivamente. Para comparación de variables cuantitativas se emplearon los test T de Student o análisis de la varianza (ANOVA). Mediante la prueba Ji cuadrado de Pearson se analizó la variabilidad de proporciones.

Mediante modelos multivariantes se estudiaron los factores modificadores de los niveles de Hcy, ácido fólico y vitamina B12 (variables dependientes en los modelos multivariantes) en epilépticos respecto a controles, teniendo en cuenta la situación de mutación para MTHFR. Se emplearon modelos lineales generalizados (GLM) con una variable dependiente cuantitativa.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando los paquetes de software SPSS (Chicago, IL, USA) y R software, versión 2.12.1 (R Development Core Team, 2009). En todos los análisis se consideró estadísticamente significativo un p valor < 0.05.

6. APROBACIÓN DEL COMITÉ ÉTICO Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

El estudio contó con la aprobación del comité ético del Hospital. Se solicitó el consentimiento informado a los padres de los pacientes y a los pacientes en los casos que tenían la madurez suficiente. Se incluye una copia de estos documentos en el anexo 1.

Se han seguido las Normas de Buena Práctica en Investigación para el análisis de datos, garantizando la confidencialidad de los sujetos de estudio por lo que no se ha incorporado ningún dato que permita la identificación personal.





IV. RESULTADOS



1. DESCRIPCIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA DE ESTUDIO PARA EL TOTAL DE LOS PACIENTES Y SEGÚN CASOS DE EPILEPSIA Y CONTROLES.

1.1. Edad de los pacientes y controles

Se expone la edad de los pacientes expresada como media, desviación estándar, intervalo de confianza, rango y p-valor.

VARIABLE	GRUPO	N	MEDIA	D S	I C 95%		RANGO		p-valor
					Límite inferior	Límite superior	Min.	Máx.	
Edad en meses	Control	88	108,36	48,568	98,07	118,65	13	231	
	Epilepsia	124	123,33	59,769	112,71	133,96	18	252	
Total		212	117,12	55,765	109,57	124,67	13	252	0,054

Tabla 4. Edad media \pm DS de los casos y controles.

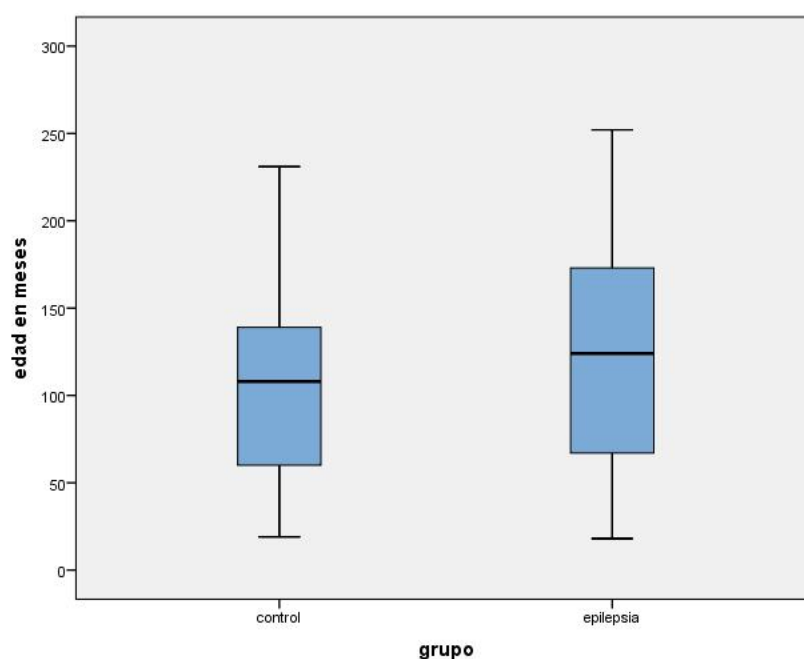


Gráfico 4. Diagrama de cajas de edades en ambos grupos.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en cuanto a la edad.

1.2. Índice de masa corporal en pacientes y controles

VARIABLE	GRUPO	N	MEDIA	D S	I C 95%		RANGO	
					Límite inf.	Límite sup.	Min.	Máx.
IMC	Control	80	18,422	3,5312	17,637	19,208	13,1	35,2
	Epilepsia	122	19,205	3,9264	18,502	19,909	10,9	30,8
	Total	202	18,895	3,7853	18,37	19,42	10,9	35,2

Tabla 5. Índice de masa corporal en ambos grupos.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en cuanto al índice de masa corporal.

2. HOMOCISTEÍNA, ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B12 EN EPILEPTICOS Y CONTROLES

En la tabla 6 y en los gráficos 5, 6, 7, 8, 9 y 10 se exponen los resultados de la concentración plasmática de Hcy, ácido fólico y vitamina B12 expresados como media, desviación estándar, intervalo de confianza, rango y p-valor. Del análisis de los datos se desprende lo siguiente:

- Las cifras de homocisteína fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes epilépticos.
- Las concentraciones de ácido fólico, aunque inferiores en el grupo de pacientes epilépticos no alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.
- Las concentraciones de vitamina B12 fueron significativamente superiores en el grupo de pacientes epilépticos.

VARIABLE	GRUPO	N	Media	D S	I C 95%		RANGO		p-valor
					Límite inf.	Límite sup.	Min.	Máx.	
Homocisteína	Control	87	4,28	1,927	3,87	4,69	2	12	
	Epilépticos	124	6,49	3,792	5,82	7,17	1	23	
Total		211	5,58	3,338	5,13	6,03	1	23	<0,001
Ácido fólico	Control	86	8,627	5,77104	7,3897	9,8643	2,9	32	
	Epilépticos	119	7,5516	4,48975	6,7366	8,3666	1,98	20,6	
Total		205	8,0027	5,08134	7,303	8,7025	1,98	32	0,135
B 12	Control	86	619,94	270,857	561,87	678,02	8	1259	
	Epilépticos	119	734,35	372,892	666,66	802,04	189	2981	
Total		205	686,36	337,937	639,82	732,89	8	2981	0,016

Tabla 6. Valores medios de Hcy, ácido fólico y vitamina B12 en epilépticos y controles.

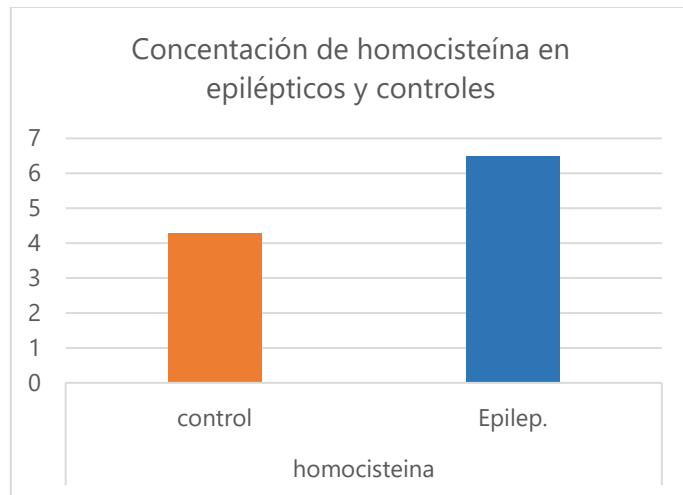


Gráfico 5

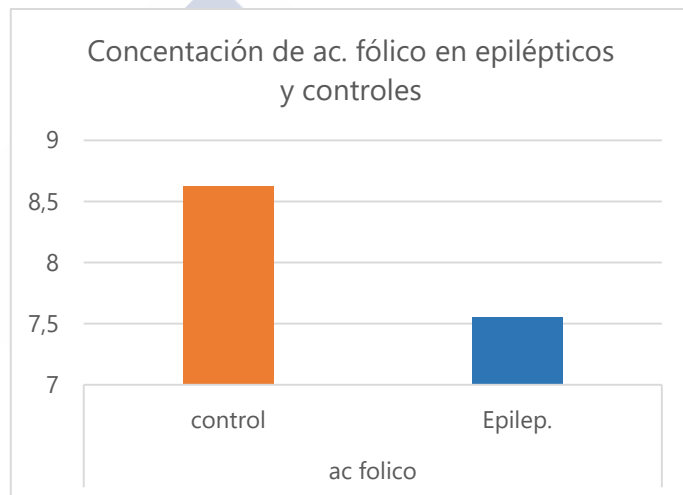


Gráfico 6

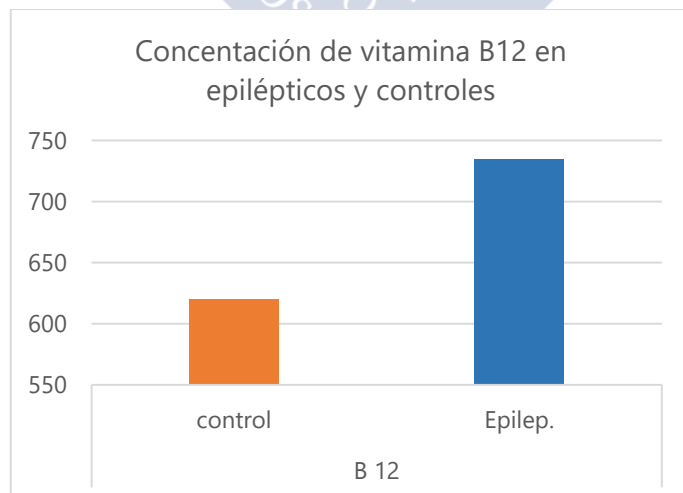


Gráfico 7

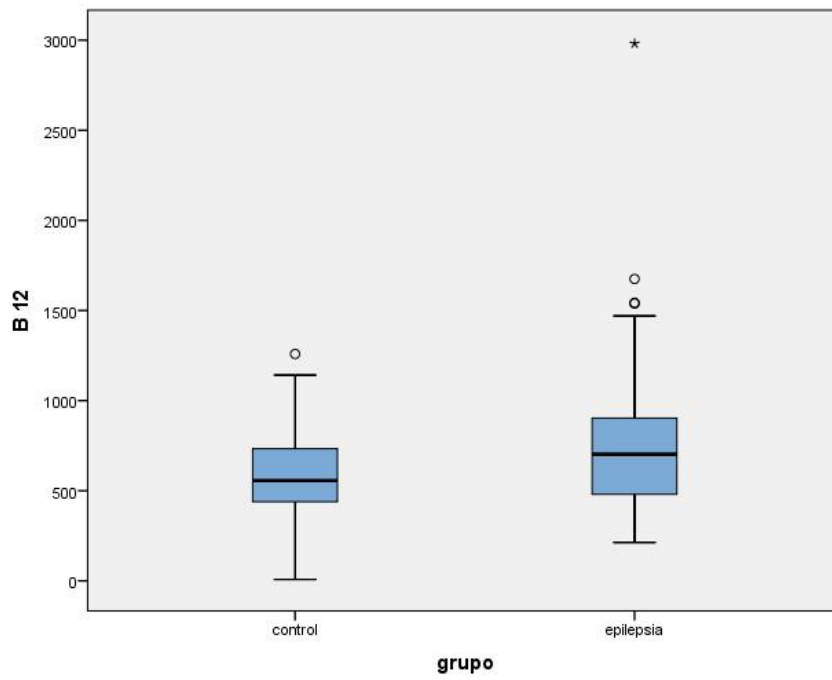


Gráfico 8. Concentración de vitamina B12 en epilépticos y controles.

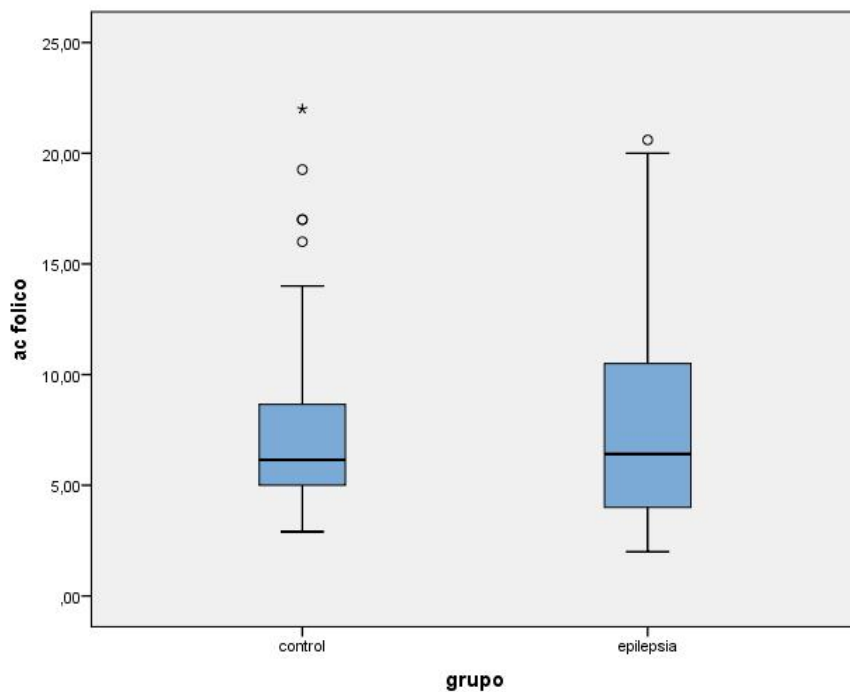


Gráfico 9. Concentración de ácido fólico en epilépticos y controles.

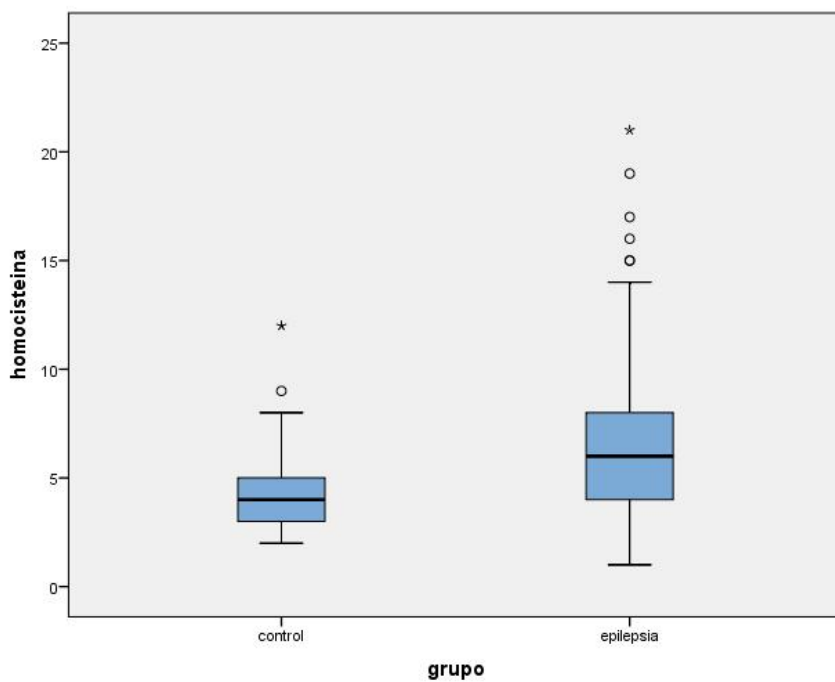


Gráfico 10. Concentración de Hcy en epilépticos y controles.



3. NIVELES DE HOMOCISTEÍNA SEGÚN EDAD Y SEXO PARA CADA UNO DE LOS GRUPOS

Se observa un incremento significativo de los valores medios de Hcy conforme aumenta la edad en ambos sexos para el global de los pacientes y en el grupo de epilépticos. Aunque en el grupo control se observa también un incremento con la edad este no alcanza significación estadística.

	Grupo de edad	Media \pm DS	IC 95%
Varones	<10 años	5.03 \pm 2.26	4.45, 5.62
	11 - 15 años	5.30 \pm 2.45	4.52, 6.08
	16 - 18 años	9.42 \pm 5.55	5.89, 12.94
	Total	5.60 \pm 3.11	5.02, 6.19
	$p < 0.001$ (entre los 3 grupos de edad)		
Mujeres	<10 años	4.30 \pm 1.97	3.70, 4.89
	11 - 15 años	5.44 \pm 3.42	4.33, 6.55
	16 - 18 años	9.06 \pm 4.88	6.55, 11.57
	Total	5.55 \pm 3.58	4.84, 6.26
	$p < 0.001$ (entre los 3 grupos de edad)		

Tabla 7. Nivel de Hcy según edad y sexo en ambos grupos.

	Grupo de edad	Media \pm DS	IC 95%
Varones	<10 años	5.93 \pm 2.54	4.92, 6.93
	11 - 15 años	5.86 \pm 2.45	4.78, 6.95
	16 - 18 años	10.30 \pm 5.69	6.22, 14.38
		p < 0.001	
	Total	6.64 \pm 3.59	5.71, 7.58
Mujeres	<10 años	4.75 \pm 2.14	3.92, 5.58
	11 - 15 años	6.33 \pm 3.99	4.52, 8.15
	16 - 18 años	9.19 \pm 5.01	6.52, 11.86
		p < 0.001	
	Total	6.35 \pm 3.99	5.37, 7.34

Tabla 8. Nivel de Hcy según edad y sexo en los casos de epilepsia

	Grupo de edad	Media \pm DS	IC 95%
Varones	<10 años	4.28 \pm 1.69	3.67, 4.89
	11 - 15 años	4.61 \pm 2.33	3.45, 5.77
	16 - 18 años	5.00 \pm 0.001	5.00, 5.00
		p = 0.76	
	Total	4.42 \pm 1.89	3.90, 4.95
Mujeres	<10 años	3.50 \pm 1.36	2.77, 4.23
	11 - 15 años	4.39 \pm 2.30	3.24, 5.53
	16 - 18 años (1 caso)	7	
		p = 0.14	
	Total	4.06 \pm 1.98	3.38, 4.74

Tabla 9. Nivel de Hcy según edad y sexo en los controles.

4. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES

El porcentaje de hiperhomocisteinemia fue significativamente superior en el grupo de epilépticos comparado con el grupo control.

			Hiperhomocisteinemia		Total
			No	Si	
Grupo	Control	Recuento	84	3	87
		% dentro de grupo	96,60%	3,40%	100,00%
	Epilepsia	Recuento	104	20	124
		% dentro de grupo	83,90%	16,10%	100,00%
Total	Recuento	188	23	211	
	% dentro de grupo	89,10%	10,90%	100,00%	

Ji cuadro -8,46 p=0,004

Tabla 10. Prevalencia de hiperhomocisteinemia según casos y controles.

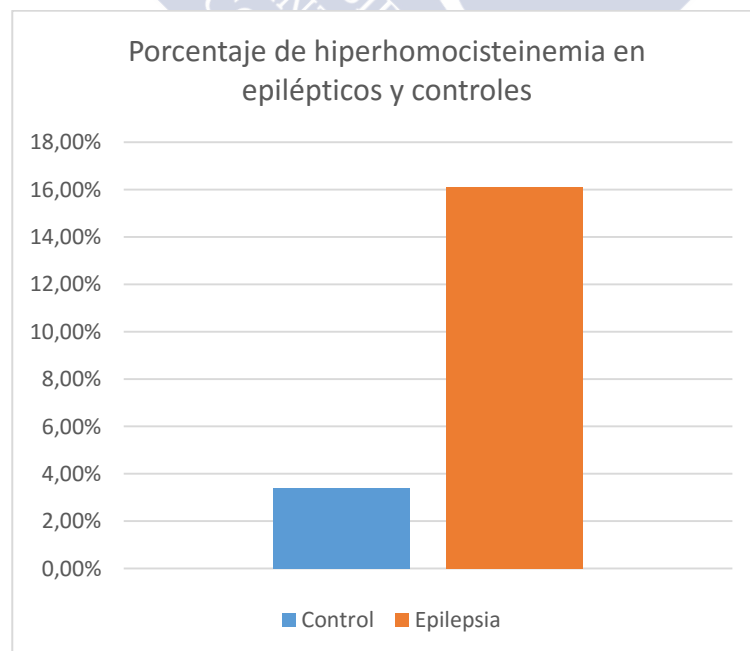


Gráfico 11

5. PORCENTAJE DE HIPERHOMOCISTEINEMIA PARA CADA GRUPO DE EDAD EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES

No se observaron diferencias significativas entre epilépticos y controles en la prevalencia de hiperhomocisteinemia al estratificar la muestra por edad

En el grupo de 16-18 años no se han podido aplicar estadísticos puesto en el grupo control la hiperhomocisteinemia toma valor 0.

Grupo de edad		n	Hiperhomocisteinemia N/ (%)	p-valor
<10 años (n=103)	Epilepsia	55	5 (9.1)	p=0.21
	Control	48	1 (2,1)	
11 - 15 años (n=79)	Epilepsia	43	6 (14)	p=0.28
	Control	36	2 (5.6)	
16 - 18 años (n=29)	Epilepsia	26	9 (34.6)	--
	Control	3	0	

Tabla 11. Porcentaje de hiperhomocisteinemia para cada grupo de edad en epilépticos y controles.

6. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE FOLATO EN EPILEPTICOS Y CONTROLES

La prevalencia de deficiencia de folato fue significativamente superior en el grupo de epilépticos.

			Déficit Folato		Total
			No	Si	
Grupo	Control	Recuento	85	1	86
		% dentro de grupo	98,80%	1,20%	100,00%
	Epilepsia	Recuento	109	10	119
		% dentro de grupo	91,60%	8,40%	100,00%
Total		Recuento	194	11	205
		% dentro de grupo	94,60%	5,40%	100,00%

Ji cuadro -5,15 p=0,023

Tabla 12. Porcentaje de pacientes con déficit de folato en epilépticos y controles.

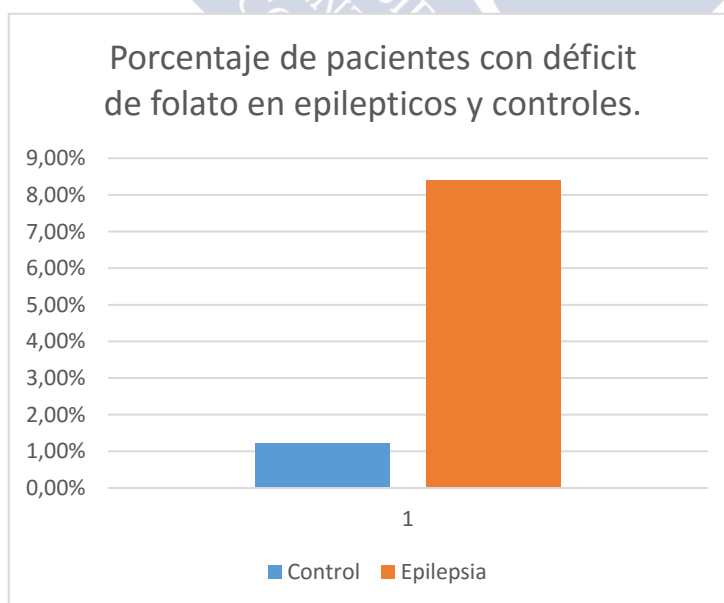


Gráfico 12

7. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE VITAMINA B12 EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES

No se observaron diferencias significativas en cuanto al déficit de vitamina B12 entre epilépticos y controles.

			Déficit B12		Total
			No	Si	
Grupo	Control	Recuento	82	4	86
		% dentro de grupo	95,30%	4,70%	100,00%
	Epilepsia	Recuento	118	1	119
		% dentro de grupo	99,20%	0,80%	100,00%
Total	Recuento		200	5	205
	% dentro de grupo		97,60%	2,40%	100,00%

Ji cuadro -3,04 p=0,081

Tabla 13. Porcentaje de pacientes con déficit de vitamina B12 en epilépticos y controles.

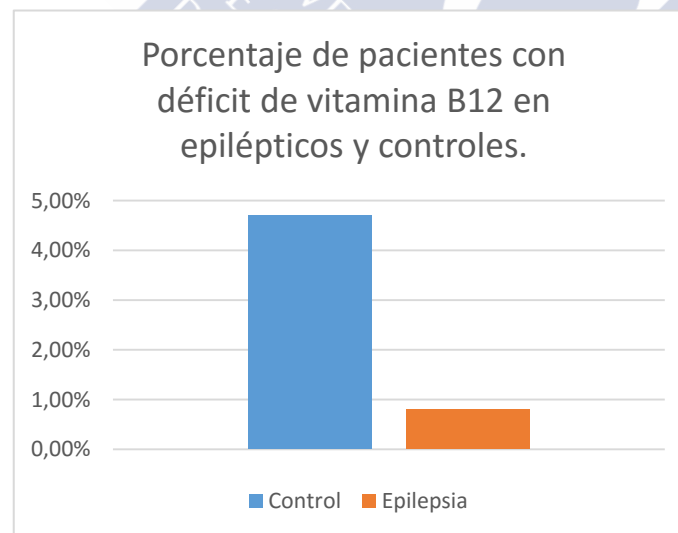


Gráfico 13

8. VALORES DE HOMOCISTEÍNA, PARA CADA FÁRMACO EN MONOTERAPIA.

Dado el bajo número de casos con otros fármacos, solo se realizó el análisis comparativo para el VPA y la CBZ. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar la concentración de homocisteína en pacientes en tratamiento con VPA y CBZ respectivamente. $p=0.867$

Terapia	N	Media de HOMOCISTEÍNA	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	
				Límite inferior	Límite superior			
Monoterapia	VPA	67	6,39	3,104	5,63	7,15	2	17
	CBZ	36	6,11	3,904	4,79	7,43	1	21
	LTG	2	6,5	0,707	0,15	12,85	6	7
	TPM	1	5	.	.	.	5	5
	OXC	1	6	.	.	.	6	6
Total	107	6,28	3,327	5,64	6,92	1	21	

Tabla 14. Valores de homocisteína para cada fármaco en monoterapia.

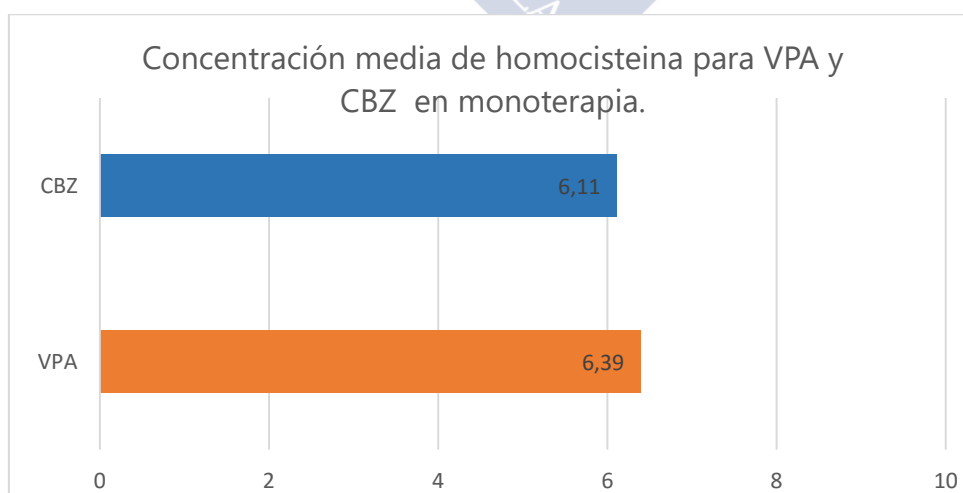


Gráfico 14

9. VALORES DE FOLATO Y VITAMINA B12 PARA CADA FÁRMACO EN MONOTERAPIA.

Se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los valores de folato y vitamina B12 entre los grupos que reciben VPA y CBZ respectivamente.

Terapia			N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Monoterapia	Nivel de Folato	VPA	65	8,8237	4,79949	7,6344	10,0129	2,06	20,6
		CBZ	35	5,5031	3,03494	4,4606	6,5457	1,98	14,18
		LTG	2	5,5	0,70711	-0,8531	11,8531	5	6
		TPM	1	5,68	.	.	.	5,68	5,68
		OXC	1	11	.	.	.	11	11
		Total	104	7,633	4,47549	6,7626	8,5034	1,98	20,6
	Nivel de B12	VPA	65	833,2	414,018	730,61	935,79	226	2981
		CBZ	35	552,83	216,576	478,43	627,22	189	1069
		LTG	2	420,5	293,449	-2216,04	3057,04	213	628
		TPM	1	410	.	.	.	410	410
		OXC	1	408	.	.	.	408	408
		Total	104	722,75	379,502	648,95	796,55	189	2981

p valor para ácido fólico <0.001.

P valor para vitamina B12 <0.001

Tabla 15. Valores de folato y vitamina B12 para cada fármaco en monoterapia.

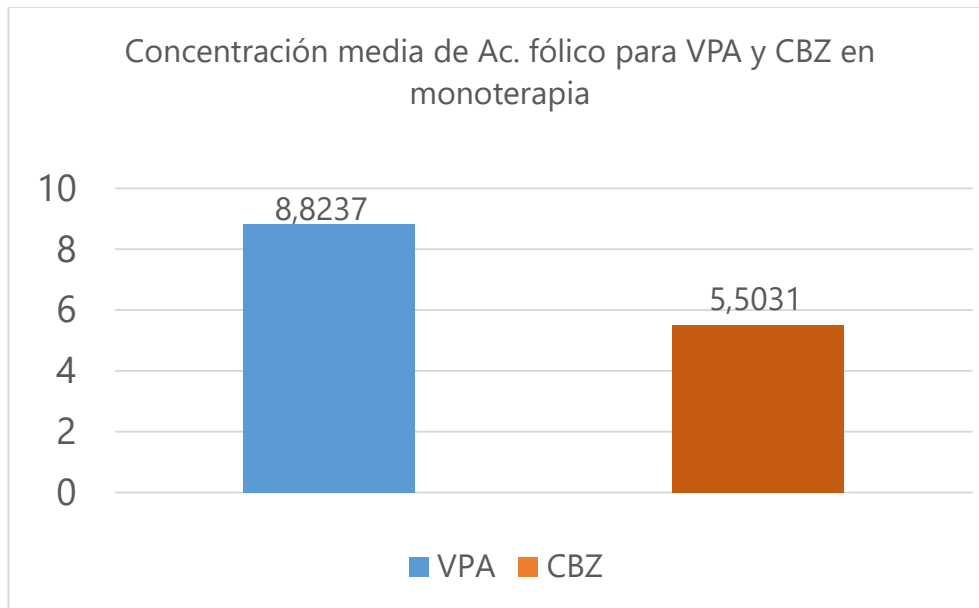


Gráfico 15

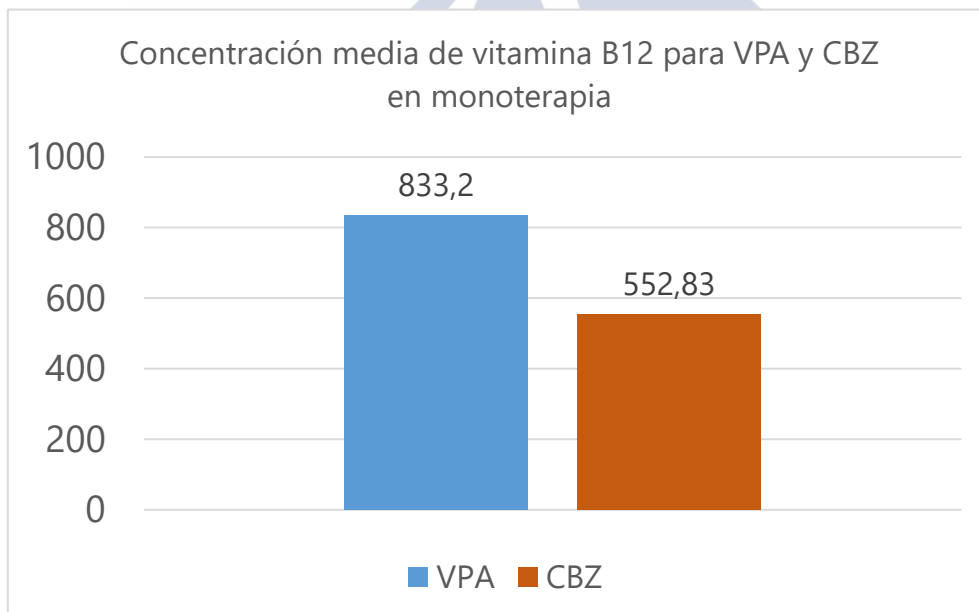


Gráfico 16

10. COMPORTAMIENTO DE LA HOMOCISTEÍNA, ÁCIDO FÓLICO Y VITAMINA B12 SEGÚN SE TRATE DE PACIENTES QUE RECIBAN MONO O POLITERAPIA

No se observaron diferencias significativas en la concentración de homocisteína, ácido fólico o vitamina B12 en función de si los pacientes recibían mono o politerapia.

VARIABLE	GRUPO	N	Media	D S	I C 95%		RANGO		p-valor
					Límite inf	Límite sup	MIN	Máx.	
Homocisteína	monoterapia	108	6,27	3,314	5,64	6,9	1	21	
	politerapia	17	7,82	5,919	4,78	10,87	2	23	
Total		125	6,48	3,779	5,81	7,15	1	23	0,115
ác fólico	monoterapia	105	7,5984	4,46801	6,7337	8,4631	1,98	20,6	
	politerapia	15	6,9873	4,70615	4,3812	9,5935	2,34	17	
Total		120	7,522	4,48259	6,7117	8,3323	1,98	20,6	0,623
B 12	monoterapia	105	719,31	379,311	645,91	792,72	189	2981	
	politerapia	15	814,8	323,194	635,82	993,78	367	1470	
Total		120	731,25	372,874	663,85	798,65	189	2981	0,356
edad en meses	monoterapia	108	121,53	59,662	110,15	132,91	18	246	
	politerapia	17	140,82	63,005	108,43	173,22	33	252	
Total		125	124,15	60,232	113,49	134,81	18	252	0,221

Tabla 16. Comportamiento de la homocisteína, ácido fólico y vitamina B12 según se trate de pacientes que reciban mono o politerapia.

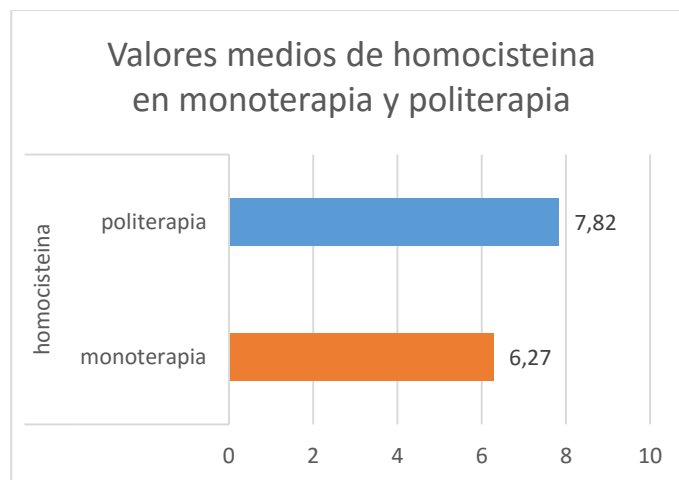


Gráfico 17

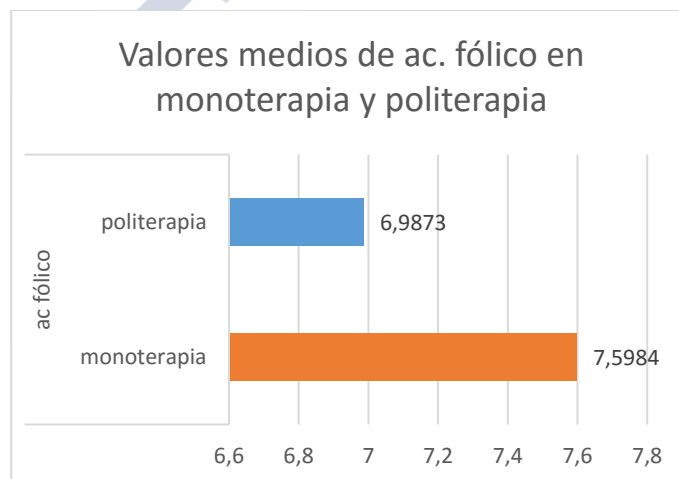


Gráfico 18

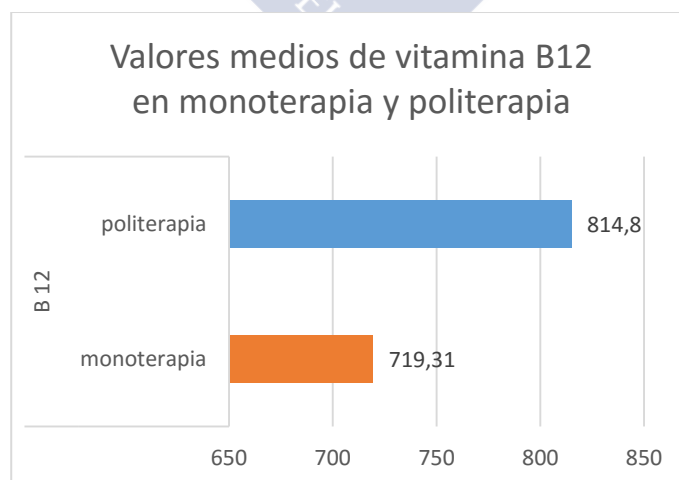


Gráfico 19

11. INFLUENCIA DE LOS NIVELES DEL FÁRMACO SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA.

11.1. Correlación entre niveles de CBZ y de homocisteína en pacientes en monoterapia

No se evidenció correlación significativa entre los niveles de CBZ y la concentración de homocisteína.

Estadísticos descriptivos

	Media	Desviación estándar	N
Homocisteína	6,11	3,904	36
Nivel CBZ	10,1528	10,32654	36

Correlaciones no paramétricas

		HOMOCISTEÍNA	
Rho de Spearman	Nivel CBZ	Coefficiente de correlación	0,052
		Sig. (bilateral)	0,761
		N	36

Tabla 17. Correlación entre niveles de CBZ y de homocisteína en pacientes en monoterapia.

11.2. Correlación entre niveles de VPA y de homocisteína en pacientes en monoterapia

No se evidenció correlación significativa entre los niveles de VPA y la concentración de homocisteína.

Estadísticos descriptivos

	Media	Desviación estándar	N
HOMOCISTEÍNA	6,39	3,104	67
Nivel VPA	67,2015	19,82923	67

Correlaciones no paramétricas

			HOMOCISTEÍNA
Rho de Spearman	Nivel VPA	Coefficiente de correlación	0,083
		Sig. (bilateral)	0,503
		N	67

Tabla 18. Correlación entre niveles de VPA y de homocisteína en pacientes en monoterapia.



12. CORRELACIÓN ENTRE DURACIÓN DE TRATAMIENTO Y NIVELES HOMOCISTEÍNA, FOLATO Y VITAMINA B12

Se observó correlación positiva estadísticamente significativa entre el tiempo de tratamiento y la concentración de homocisteína.

Se observó correlación negativa pero sin alcanzar significación estadística entre el tiempo de tratamiento y el ácido fólico.

Se observó una tendencia a la disminución del ácido fólico y la vitamina con el incremento de la duración del tratamiento, pero sin alcanzar una correlación estadísticamente significativa.

	Media	Desviación estándar	N
Tiempo en días de tto	1648,85	1272,644	124

Tabla 19. Duración media del tratamiento en días para todos los FAES.

		Tiempo en días de tto	Homocisteína	Ac Fólico	B 12
Tiempo en días de tto	Correlación de Pearson	1	0,357**	-0,164	-0,086
	Sig. (bilateral)		<0.001	0,075	0,351
	N	124	124	119	119
Homocisteína	Correlación de Pearson	0,357**	1	-,214*	-0,059
	Sig. (bilateral)	0		0,02	0,521
	N	124	124	119	119
Ac Fólico	Correlación de Pearson	-0,164	-0,214	1	0,398**
	Sig. (bilateral)	0,075	0,02		0
	N	119	119	119	119
B 12	Correlación de Pearson	-0,086	-0,059	0,398**	1
	Sig. (bilateral)	0,351	0,521	0	
	N	119	119	119	119

** La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

* La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas).

Tabla 20. Correlación entre duración de tratamiento y niveles homocisteína, folato y B12.

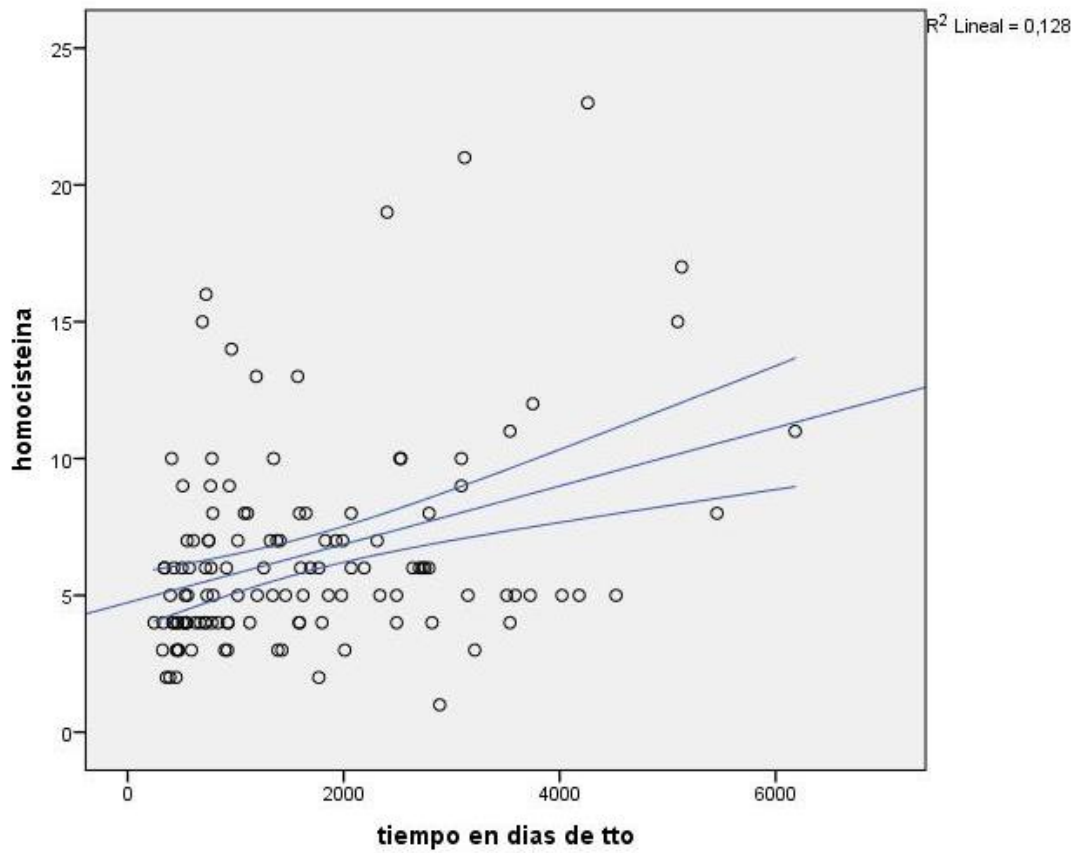


Gráfico 20. Correlación entre duración de tratamiento y niveles de homocisteína.

13. CORRELACIÓN ENTRE DURACIÓN DE TRATAMIENTO Y NIVELES DE HOMOCISTEÍNA EN MONOTERAPIA CON VPA

Se observó correlación positiva estadísticamente significativa entre la duración del tratamiento y la concentración de Hcy entre los tratados con VPA

	N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
VPA	67	1429,12	1230,957	1128,87	1729,37	244	5457
CBZ	36	1663,78	1067,855	1302,47	2025,09	390	4021
Total	103	1511,14	1176,599	1281,18	1741,09	244	5457

Tabla 21. Duración media del tratamiento en pacientes tratados con CBZ y con VPA.

No hay diferencias estadísticamente significativas en la duración de tratamiento entre los tratados con CBZ y VPA ($p=0.337$).

			Tiempo en días de tto	Homocisteína
Rho de Spearman	Tiempo en días de tto	Coefficiente de correlación	1	0,347**
		Sig. (bilateral)	0	0,004
		N	67	67
	Homocisteína	Coefficiente de correlación	0,347**	1
		Sig. (bilateral)	0,004	0
		N	67	67

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

Tabla 22. Correlación entre duración de tratamiento y niveles homocisteína en monoterapia con VPA.

14. CORRELACIÓN ENTRE DURACIÓN DE TRATAMIENTO Y NIVELES DE HOMOCISTEÍNA EN MONOTERAPIA CON CBZ

Se observó correlación positiva estadísticamente significativa entre la duración del tratamiento y la concentración de Hcy entre los tratados con CBZ.

			tiempo en días de tto	Homocisteína
Rho de Spearman	Tiempo en días de tto	Coefficiente de correlación	1	,354*
		Sig. (bilateral)	0	0,034
		N	36	36
	Homocisteína	Coefficiente de correlación	0,354*	1
		Sig. (bilateral)	0,034	0
		N	36	36
*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas).				

Tabla 23. Correlación entre duración de tratamiento y niveles homocisteína en monoterapia con CBZ.

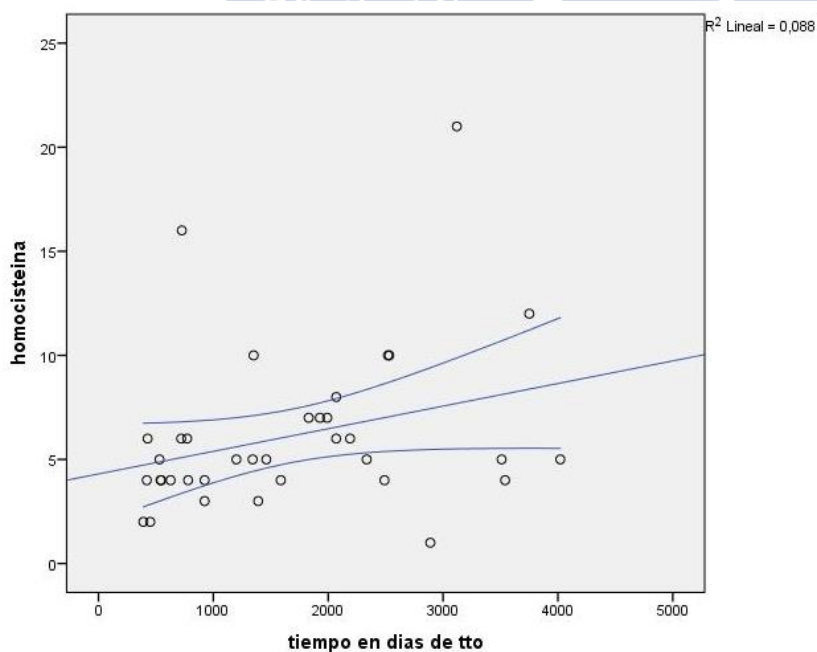


Gráfico 22. Gráfico de dispersión y recta de regresión de la concentración de la homocisteína en monoterapia con CBZ en función de la duración del tratamiento.

15. CORRELACIÓN ENTRE NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y NIVELES DE FOLATO Y VITAMINA B12

Se observó correlación negativa estadísticamente significativa entre la homocisteína y los niveles de folato pero no con la vitamina B12.

		HOMOCISTEÍNA	Ac Fólico	B12
HOMOCISTEÍNA	Correlación de Pearson	1	-0,214*	-0.059
	Sig. (bilateral)		0,02	0.0521
	N	124	119	119

Tabla 24. Correlación entre niveles de homocisteína y niveles de folato y vitamina B12.

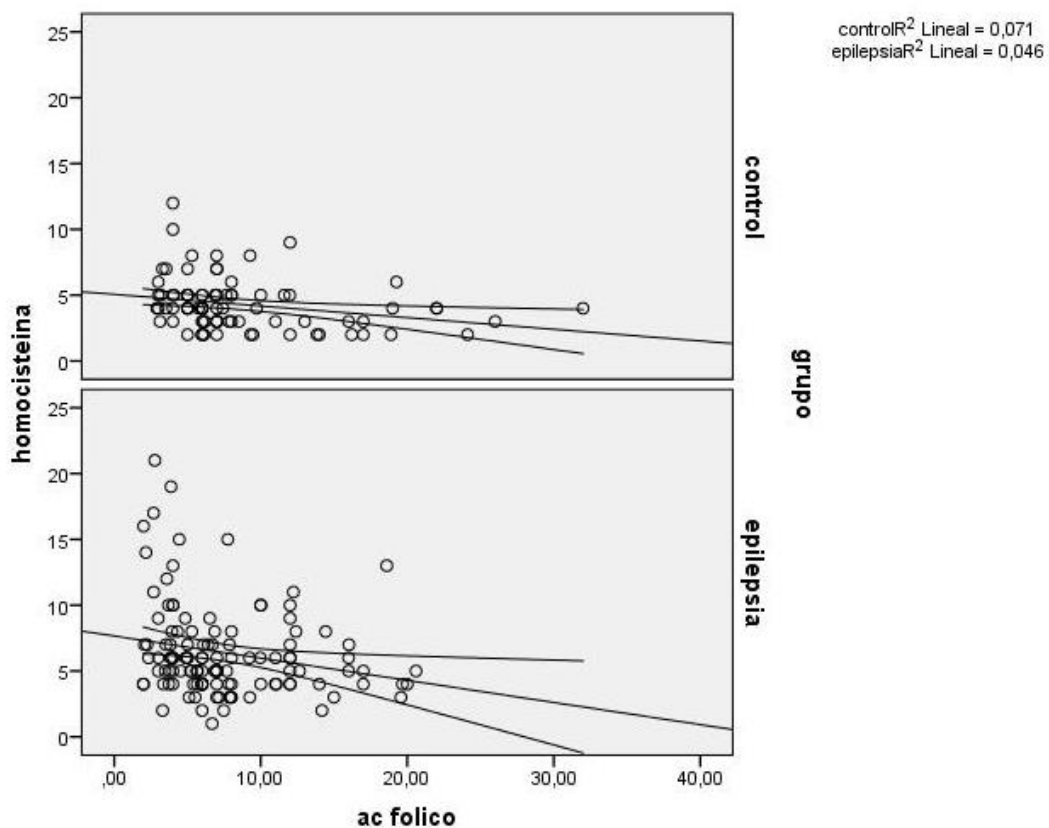


Gráfico 23. Gráfico de Correlación entre niveles de homocisteína y niveles de folato y vitamina B12 en epilépticos y controles.

16. INFLUENCIA DE LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA SOBRE EL CONTROL DE LA EPILEPSIA

De los 124 pacientes a los que se determinó la homocisteína se han excluido 2 casos por no estar adecuadamente reflejado el grado de control de la epilepsia.

En el grupo de pacientes epilépticos no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de hiperhomocisteinemia y el control adecuado de las crisis. Ji cuadrado: 1.617, $p=0.204$.

El 14.6% de los pacientes con Hcy normal tenían un mal control de las crisis versus el 26.3% de los pacientes con hiperhomocisteinemia.

			Control epilepsia		Total
			buen control	mal control	
Hiperhomocisteinemia	SIN	Recuento	88	15	103
		% dentro de hiperhomocisteinemia	85,40%	14,60%	100,00%
		% dentro de control epilepsia	86,30%	75,00%	84,40%
	CON	Recuento	14	5	19
		% dentro de hiperhomocisteinemia	73,70%	26,30%	100,00%
		% dentro de control epilepsia	13,70%	25,00%	15,60%
Total	Recuento	102	20	122	
	% dentro de hiperhomocisteinemia	83,60%	16,40%	100,00%	
	% dentro de control epilepsia	100,00%	100,00%	100,00%	

Tabla 25. Influencia de los niveles de homocisteína sobre el control de la epilepsia.

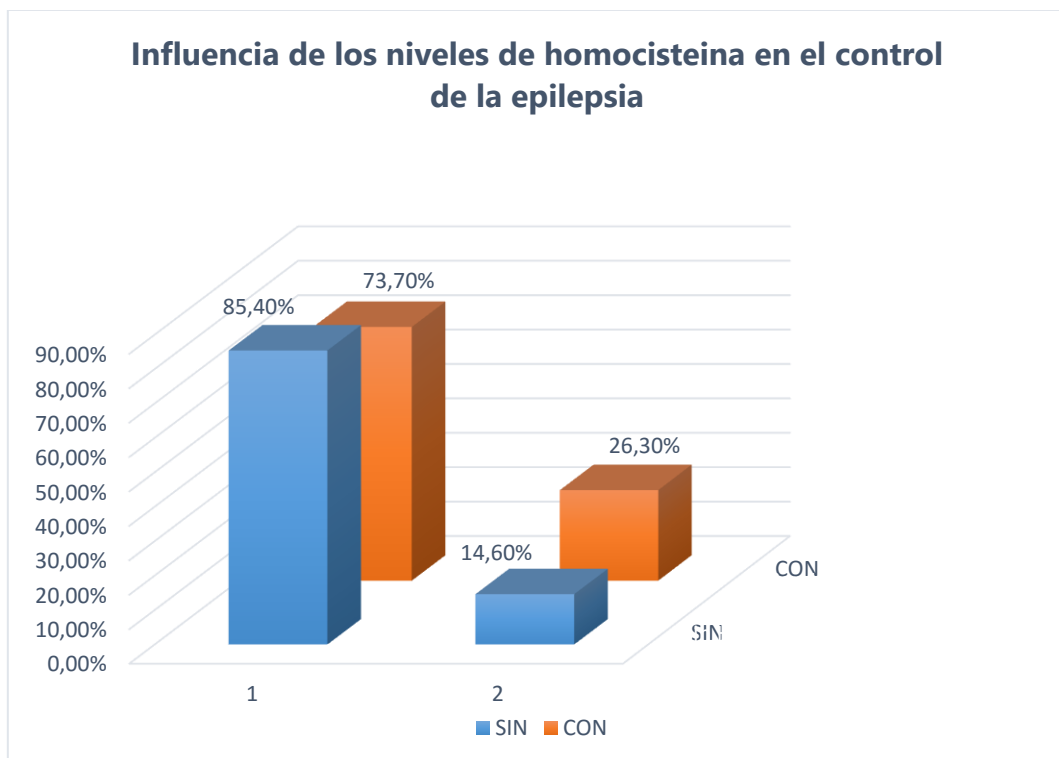


Gráfico 24.



17. ESTADO DE LA MUTACIÓN EN EPILÉPTICOS Y CONTROLES

Se realizó estudio genético en 112 epilépticos y en 82 controles

El 18.8% (21) de los casos con epilepsia eran homocigotos para MTHFR, frente al 9.8% (8) de los controles. Esta diferencia no alcanza significación estadística.

Ji cuadrado = 3.04, p=0.219

			Mutación			Total
			no mutación	heterocigoto	homocigoto	
Grupo	Control	Recuento	34	40	8	82
		% dentro de grupo	41,50%	48,80%	9,80%	100,00%
		% dentro de mutación	44,20%	45,50%	27,60%	42,30%
	Epilepsia	Recuento	43	48	21	112
		% dentro de grupo	38,40%	42,90%	18,80%	100,00%
		% dentro de mutación	55,80%	54,50%	72,40%	57,70%
Total	Recuento	77	88	29	194	
	% dentro de grupo	39,70%	45,40%	14,90%	100,00%	
	% dentro de mutación	100,00%	100,00%	100,00%	100,00%	

Tabla 26. Estado de la mutación en epilépticos y controles.

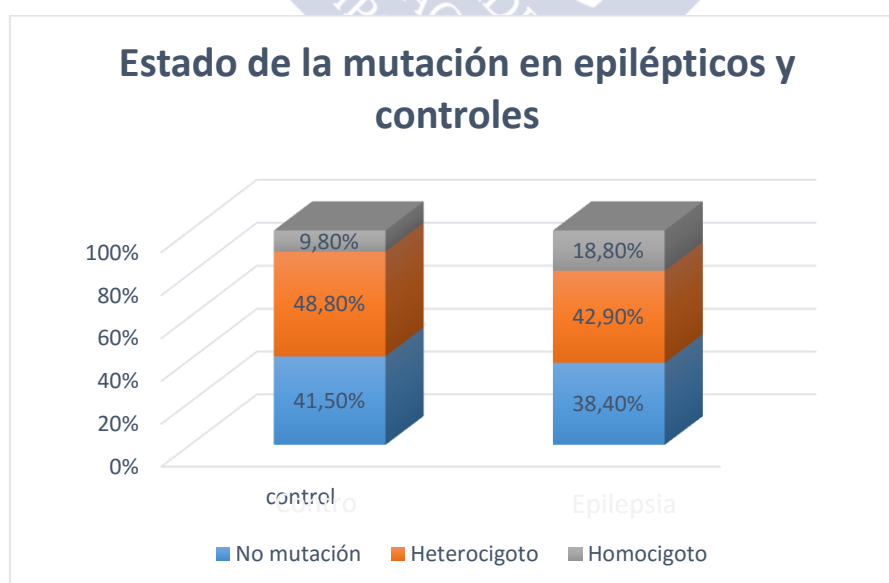


Gráfico 25

18. VALORES MEDIOS DE HOMOCISTEÍNA, FÓLICO, B12 Y ESTADO DE LA MUTACIÓN PARA LA MTHFR EN AMBOS GRUPOS

Se determinó la Hcy en 193 pacientes de los 194 a los que se le había realizado el estudio genético y el fólido y la B12 en 188.

Los niveles medios de homocisteína son significativamente superiores en el grupo de homocigotos respecto a heterocigotos y al grupo sin mutación.

Los niveles medios de ácido fólico son significativamente inferiores en homocigotos respecto al grupo sin mutación.

Las cifras de vitamina B12 no son significativamente diferentes entre los 3 genotipos.

VARIABLE	GRUPO	N	Media	D S	I C 95%		RANGO		p-valor
					Límite inf	Límite sup	MIN	Máx.	
HOMOCISTEÍNA	CC	77	4,96	2,441	4,41	5,52	2	14	
	CT	87	5,08	2,906	4,46	5,7	1	21	
	TT	29	7,52	3,97	6,01	9,03	3	16	
Total		193	5,4	3,04	4,97	5,83	1	21	0,03
Ac fólico	CC	74	9,1349	6,14757	7,7106	10,5591	1,98	32	
	CT	86	7,5565	4,24354	6,6467	8,4663	2,34	26	
	TT	28	6,3889	4,32699	4,7111	8,0668	2	19,57	
Total		188	8,0039	5,16048	7,2614	8,7464	1,98	32	0,774
B 12	CC	74	680,92	310,861	608,9	752,94	189	1675	
	CT	86	718,34	363,603	640,38	796,29	182	2981	
	TT	28	691,74	333,603	562,39	821,1	8	1539	
Total		188	699,65	337,928	651,03	748,27	8	2981	0,976
Edad en meses	CC	77	113,78	51,172	102,16	125,39	13	210	
	CT	88	111,22	56,534	99,24	123,19	18	246	
	TT	29	142,86	52,945	122,72	163	21	226	
Total		194	116,96	54,758	109,21	124,72	13	246	

Tabla. 27. Valores medios de homocisteína, fólico, B12 y estado de la mutación para la MTHFR en ambos grupos.

19. VALORES MEDIOS DE HOMOCISTEÍNA, FÓLICO, B12 SEGÚN EL GENOTIPO EN EPILÉPTICOS

Se realizó estudio genético a 112 de los 124 pacientes epilépticos. Los niveles medios de homocisteína son superiores en el grupo de homocigotos respecto a heterocigotos y al grupo sin mutación. Los niveles medios de ácido fólico son inferiores en homocigotos respecto a los heterocigotos y al grupo sin mutación.

No se observó diferencia significativa entre los 3 genotipos en las cifras de vitamina B12.

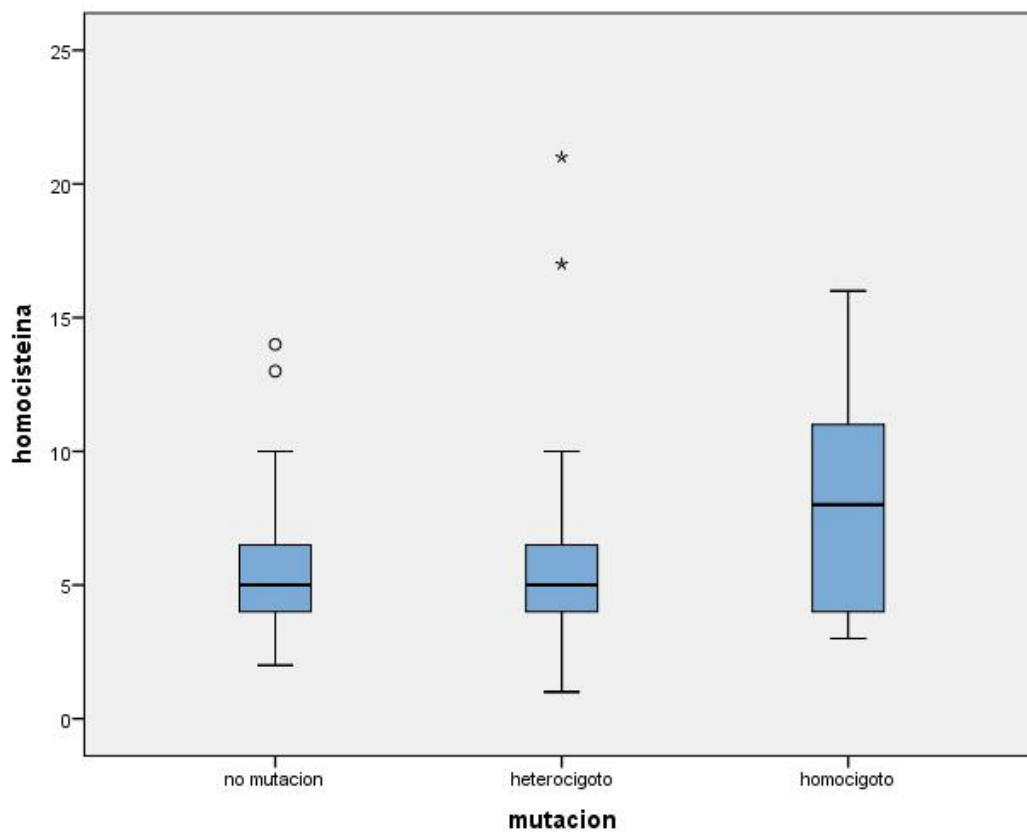


Gráfico 26. Valores medios de homocisteína según el genotipo en epilépticos.

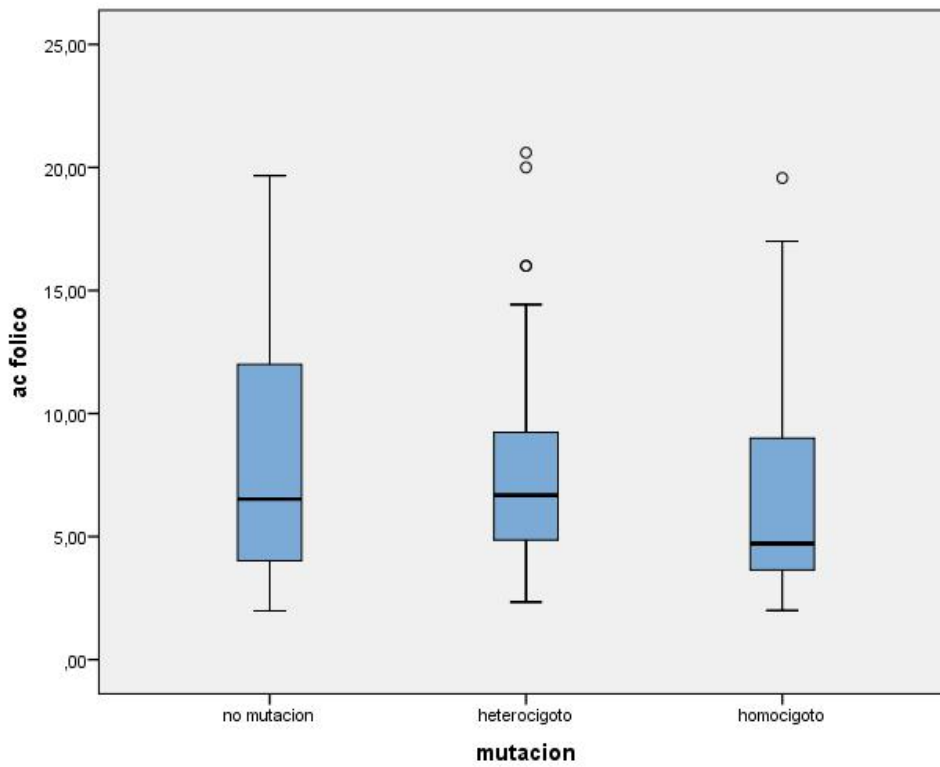


Gráfico 27. Valores medios de ácido fólico según el genotipo en epilépticos.

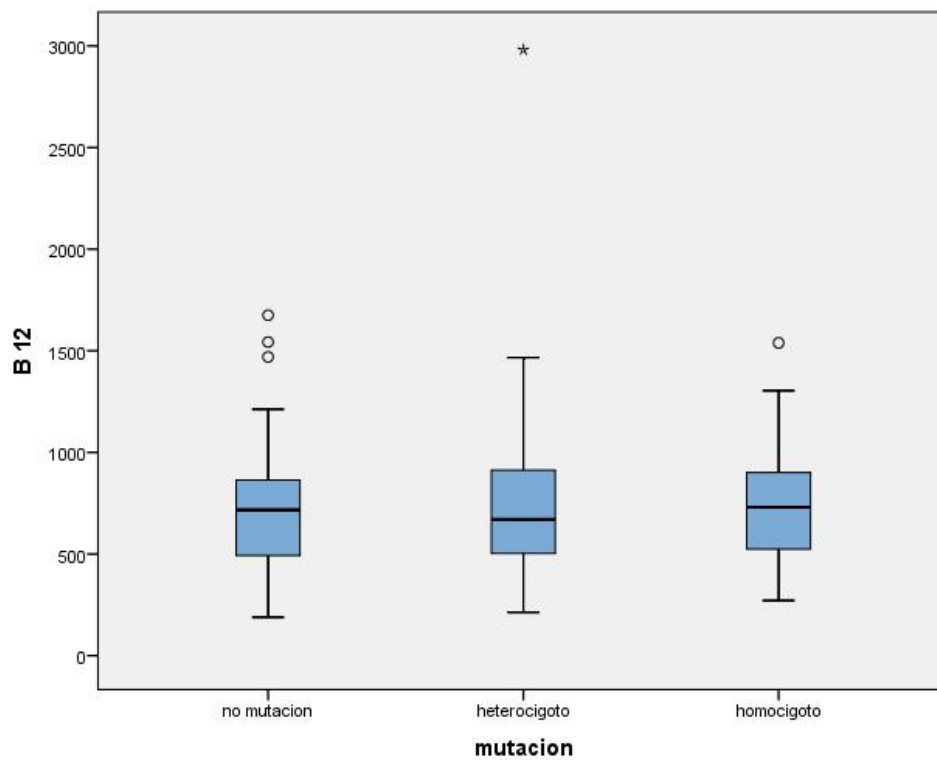


Gráfico 28. Valores medios de vitamina B12 según el genotipo en epilépticos.

		N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	p-valor
					Límite inf	Límite sup			
Homocisteína	no mutación	43	5,56	2,603	4,76	6,36	2	14	0,03
	heterocigoto	48	5,92	3,389	4,93	6,9	1	21	
	homocigoto	21	8,52	4,179	6,62	10,43	3	16	
	Total	112	6,27	3,433	5,63	6,91	1	21	
Ac fólico	no mutación	41	7,7002	4,63796	6,2363	9,1642	1,98	19,67	0,774
	heterocigoto	47	7,6151	4,24927	6,3675	8,8627	2,34	20,6	
	homocigoto	20	6,8545	4,98157	4,5231	9,1859	2	19,57	
	Total	108	7,5066	4,50661	6,6469	8,3662	1,98	20,6	
B 12	no mutación	41	737,27	338,475	630,43	844,1	189	1675	0,976
	heterocigoto	47	755,13	431,423	628,46	881,8	213	2981	
	homocigoto	20	746	328,904	592,07	899,93	271	1539	
	Total	108	746,66	376,987	674,75	818,57	189	2981	
edad en meses	no mutación	43	124,86	54,201	108,18	141,54	29	210	0,081
	heterocigoto	48	109,23	61,727	91,31	127,15	18	246	
	homocigoto	21	142,9	56,702	117,09	168,72	21	216	
	Total	112	121,54	58,825	110,53	132,56	18	246	

Tabla 28. Valores medios de homocisteína, fólico, B12 según el genotipo en epilépticos.

p valor para cada variable analizada:

Homocisteína p=0.003, fólico p=0.774, B12 p=0.976, edad p=0.081

20. CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA, FOLATO Y VITAMINA B12 EN FUNCIÓN DE MONOTERAPIA O POLITERAPIA Y DEL GENOTIPO

La concentración de homocisteína fue significativamente superior entre los pacientes homocigotos tratados en régimen de monoterapia.

En politerapia la concentración de homocisteína fue significativamente superior entre los pacientes homocigotos pero la diferencia no alcanzó significación estadística.

Ni en monoterapia ni en politerapia se observaron diferencias significativas en los niveles de ácido fólico y vitamina B12 entre los distintos genotipos.

Terapia		N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín.	Máx.	
					Límite inferior	Límite superior			
Monoterapia	B 12	No mutación	35	705,43	324,13	594,09	816,77	189	1675
		Heterocigoto	43	757,4	444,555	620,58	894,21	213	2981
		Homocigoto	16	727,69	346,513	543,04	912,33	271	1539
		Total	94	732,99	384,179	654,3	811,68	189	2981
	ac fólico	No mutación	35	7,8643	4,60165	6,2836	9,445	1,98	19,67
		Heterocigoto	43	7,793	4,35997	6,4512	9,1348	2,68	20,6
		Homocigoto	16	6,2138	4,61252	3,7559	8,6716	2	19,57
		Total	94	7,5507	4,48659	6,6318	8,4697	1,98	20,6
	Homocisteína	No mutación	37	5,49	2,704	4,58	6,39	2	14
		Heterocigoto	43	6,12	3,5	5,04	7,19	1	21
		Homocigoto	17	8,53	4,033	6,46	10,6	3	16
		Total	97	6,3	3,459	5,6	7	1	21

Terapia		N	Media	Desviación estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mín.	Máx.	
					Límite inferior	Límite superior			
Politerapia	B 12	No mutación	6	923	391,944	511,68	1334,32	367	1470
		Heterocigoto	4	730,75	293,691	263,42	1198,08	471	1152
		Homocigoto	4	819,25	275,371	381,07	1257,43	470	1126
		Total	14	838,43	321,668	652,7	1024,15	367	1470
	ac fólico	No mutación	6	6,7433	5,17759	1,3098	12,1769	3,48	17
		Heterocigoto	4	5,7025	2,32397	2,0045	9,4005	2,34	7,47
		Homocigoto	4	9,4175	6,31214	-0,6265	19,4615	4	17
		Total	14	7,21	4,80111	4,4379	9,9821	2,34	17
	Homocisteína	No mutación	6	6	2	3,9	8,1	5	10
		Heterocigoto	5	4,2	1,483	2,36	6,04	2	6
		Homocigoto	4	8,5	5,447	-0,17	17,17	4	15
		Total	15	6,07	3,369	4,2	7,93	2	15

Tabla 29. Concentración de homocisteína, folato y vitamina B12 en función de monoterapia o politerapia y del genotipo.

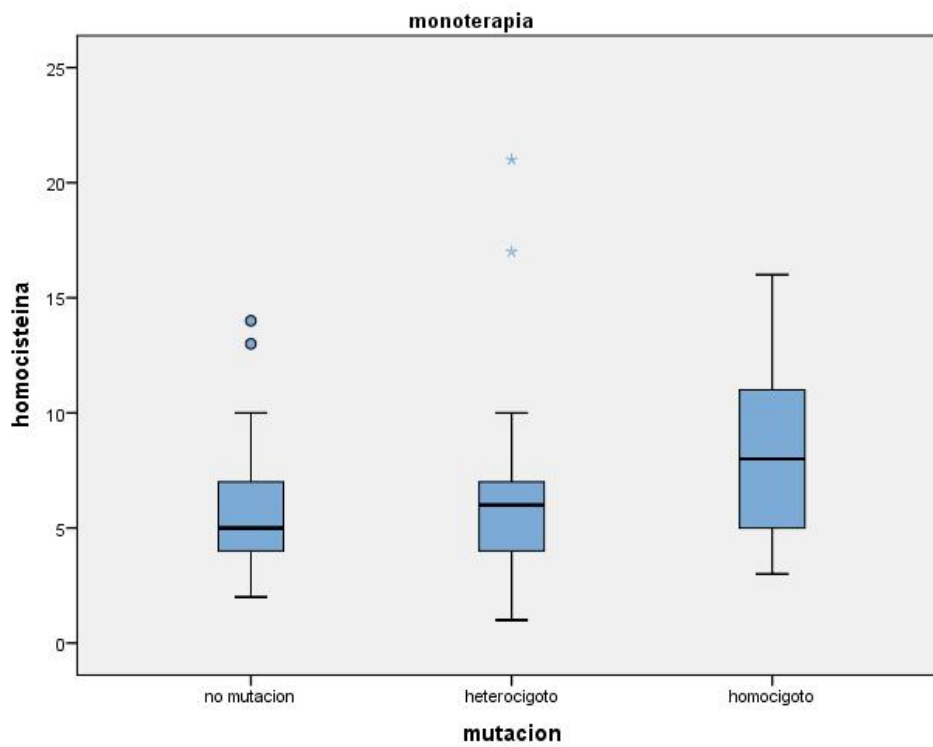


Gráfico 29. Concentración de homocisteína en monoterapia en función del genotipo.

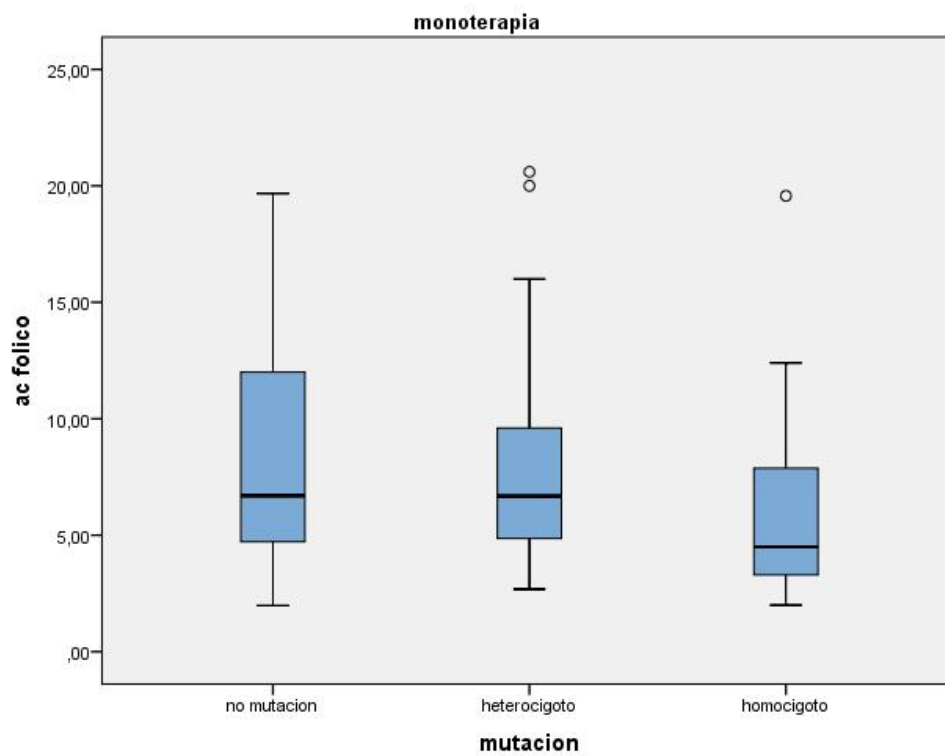


Gráfico 30. Concentración de ácido fólico en monoterapia en función del genotipo.

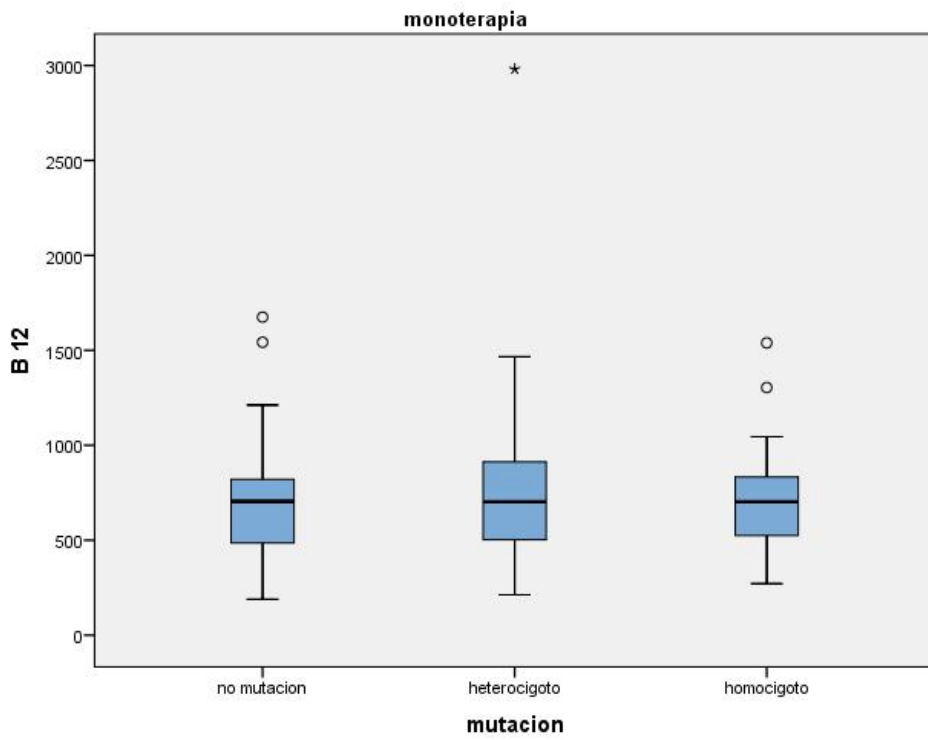


Gráfico 31. Concentración de vitamina B12 en monoterapia en función del genotipo.

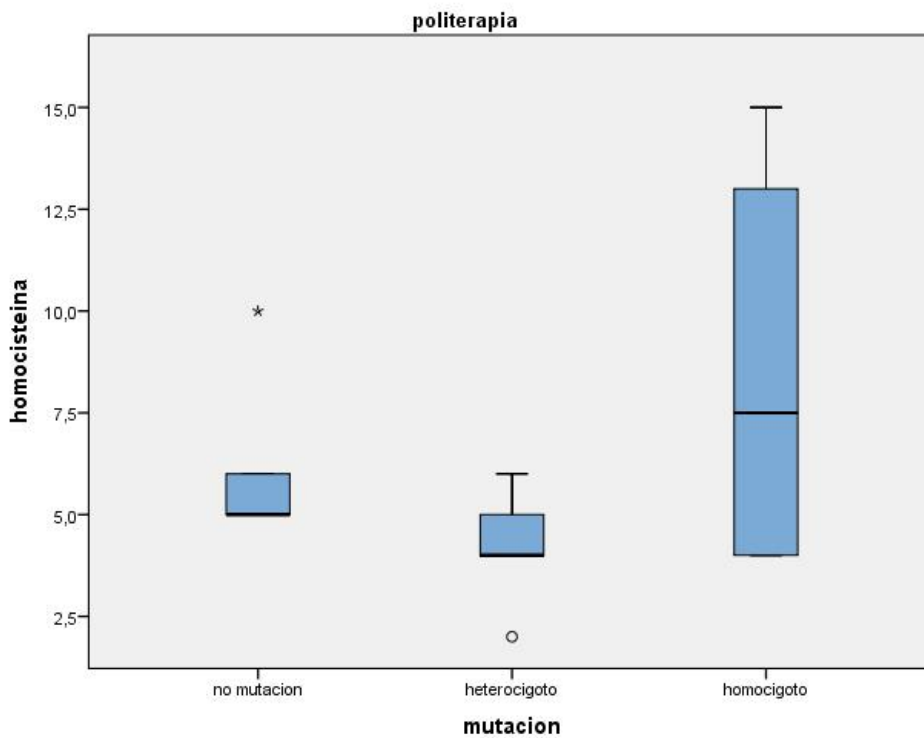


Gráfico 32. Concentración de homocisteína en politerapia en función del genotipo.

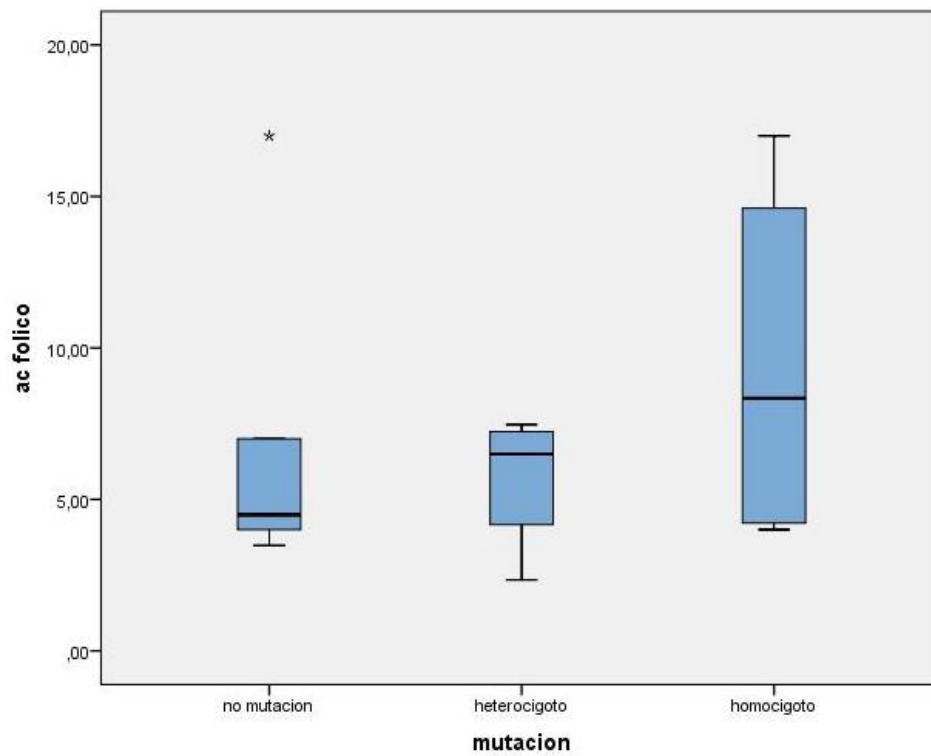


Gráfico 33. Concentración de ácido fólico en politerapia en función del genotipo.

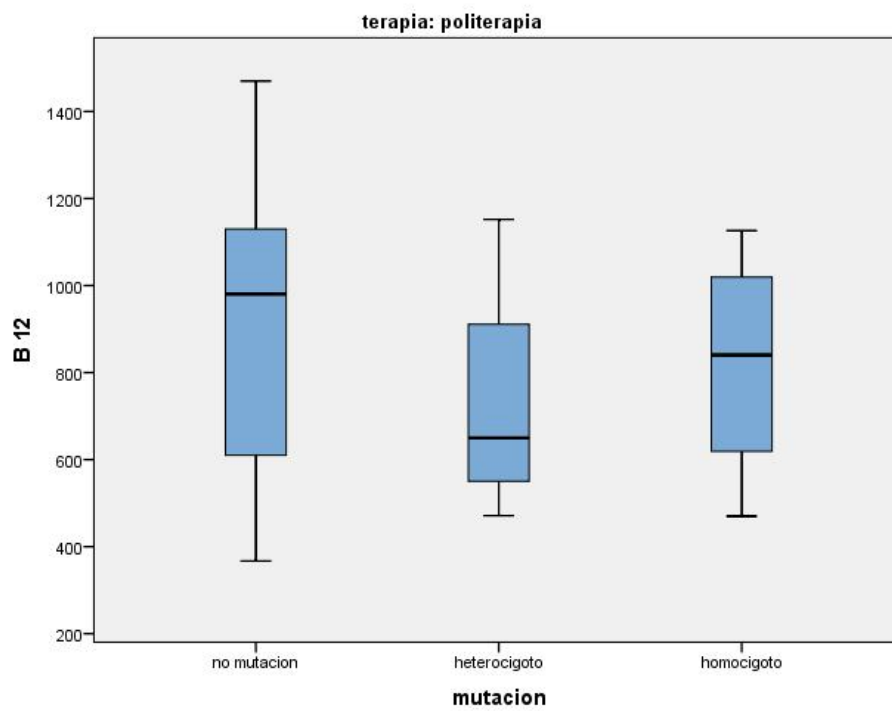


Gráfico 34. Concentración de vitamina B12 en politerapia en función del genotipo.

21. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE FOLATO PARA CADA GENOTIPO EN CASOS Y CONTROLES

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos genotipos en cuanto a la prevalencia del déficit de folato.

Grupo			Déficit Folato			Total	Valor de P
			No	Si			
Control	Mutación	no mutación	Recuento	33	0	33	0,587
			% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%	
		heterocigoto	Recuento	38	1	39	
			% dentro de mutación	97,40%	2,60%	100,00%	
		homocigoto	Recuento	8	0	8	
			% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%	
	Total	Recuento	79	1	80		
% dentro de mutación		98,80%	1,30%	100,00%			
Epilepsia	Mutación	no mutación	Recuento	38	3	41	0,486
			% dentro de mutación	92,70%	7,30%	100,00%	
		heterocigoto	Recuento	44	3	47	
			% dentro de mutación	93,60%	6,40%	100,00%	
		homocigoto	Recuento	17	3	20	
			% dentro de mutación	85,00%	15,00%	100,00%	
	Total	Recuento	99	9	108		
% dentro de mutación		91,70%	8,30%	100,00%			
Total	Mutación	no mutación	Recuento	71	3	74	0,381
			% dentro de mutación	95,90%	4,10%	100,00%	
		heterocigoto	Recuento	82	4	86	
			% dentro de mutación	95,30%	4,70%	100,00%	
		homocigoto	Recuento	25	3	28	
			% dentro de mutación	89,30%	10,70%	100,00%	
	Total	Recuento	178	10	188		
% dentro de mutación		94,70%	5,30%	100,00%			

Tabla 30. Porcentaje de déficit de folato para cada genotipo según casos y controles

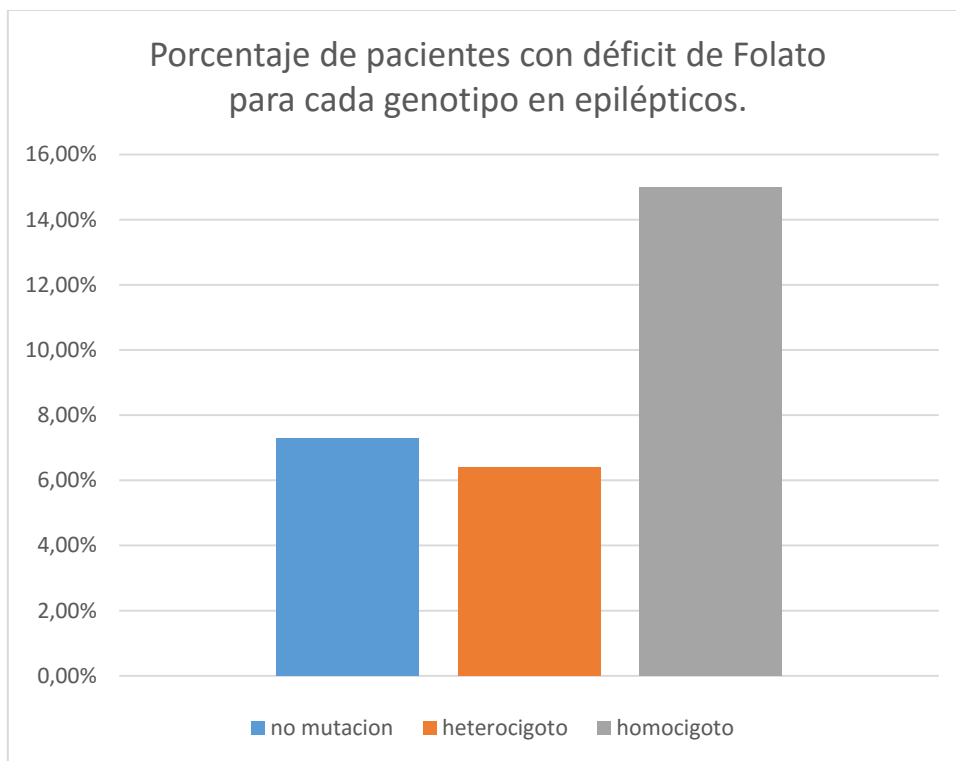


Gráfico 35

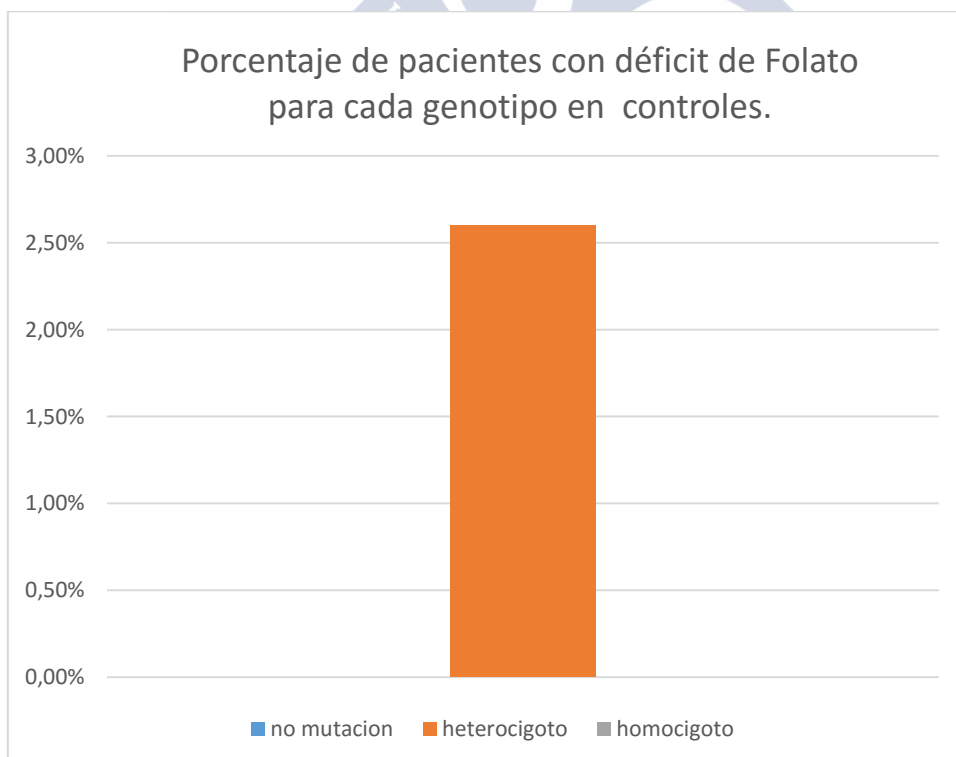


Gráfico 36

22. PORCENTAJE DE PACIENTES CON DÉFICIT DE VITAMINA B12 PARA CADA GENOTIPO EN CASOS Y CONTROLES.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos genotipos en cuanto a la prevalencia del déficit de vitamina B12.

Grupo			Déficit B12		Total	Valor de P	
			No	Si			
Control	Mutación	No mutación	Recuento	32	1	33	0,387
			% dentro de mutación	97,00%	3,00%	100,00%	
		Heterocigoto	Recuento	38	1	39	
			% dentro de mutación	97,40%	2,60%	100,00%	
		Homocigoto	Recuento	7	1	8	
			% dentro de mutación	87,50%	12,50%	100,00%	
	Total		Recuento	77	3	80	
			% dentro de mutación	96,30%	3,80%	100,00%	
Epilepsia	Mutación	No mutación	Recuento	40	1	41	0,438
			% dentro de mutación	97,60%	2,40%	100,00%	
		Heterocigoto	Recuento	47	0	47	
			% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%	
		Homocigoto	Recuento	20	0	20	
			% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%	
	Total		Recuento	107	1	108	
			% dentro de mutación	99,10%	0,90%	100,00%	
Total	Mutación	No mutación	Recuento	72	2	74	0,988
			% dentro de mutación	97,30%	2,70%	100,00%	
		Heterocigoto	Recuento	85	1	86	
			% dentro de mutación	98,80%	1,20%	100,00%	
		Homocigoto	Recuento	27	1	28	
			% dentro de mutación	96,40%	3,60%	100,00%	
	Total		Recuento	184	4	188	
			% dentro de mutación	97,90%	2,10%	100,00%	

Tabla 31. Porcentaje de pacientes con déficit de vitamina B12 para cada genotipo en casos y controles.

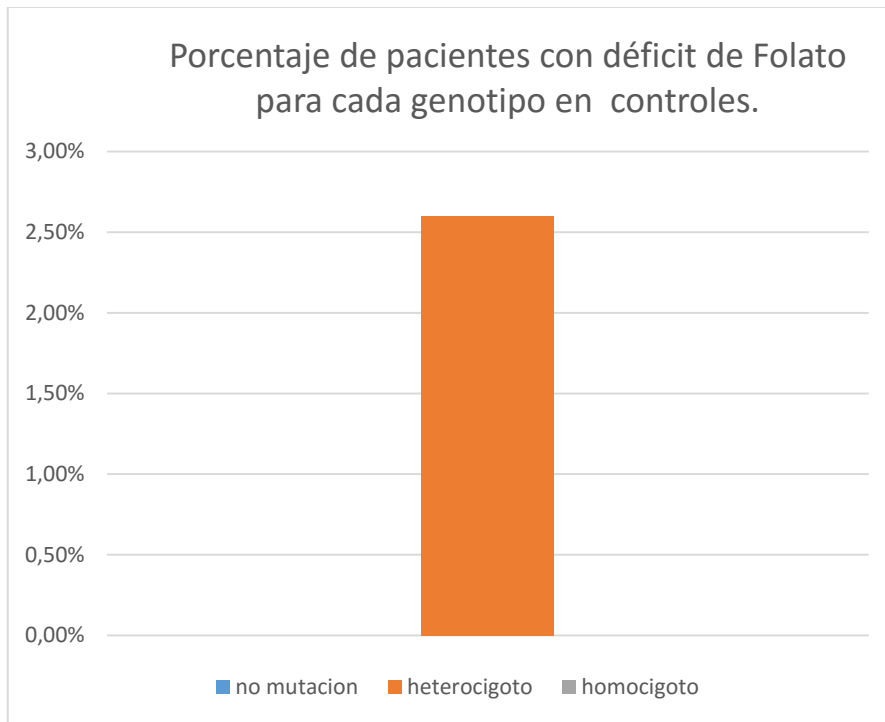


Gráfico 37



23. PORCENTAJE DE PACIENTES CON HIPERHOMOCISTEINEMIA PARA CADA GENOTIPO EN CASOS Y CONTROLES.

La prevalencia de hiperhomocisteinemia fue significativamente superior entre los pacientes epilépticos homocigotos en comparación con los otros genotipos.

Esta diferencia en la prevalencia de hiperhomocisteinemia entre los distintos genotipos no se evidenció en el grupo control.

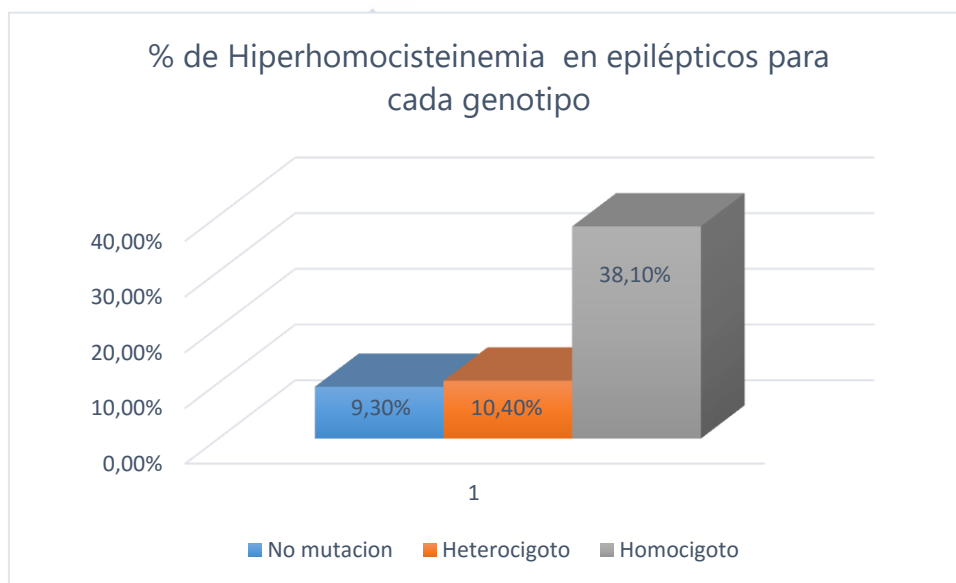


Gráfico 38

Grupo			hiperhomocisteinemia		Total	Valor de P	
			No	Si			
Control	Mutación	No mutación	Recuento	33	1	34	0,806
			% dentro de mutación	97,10%	2,90%	100,00%	
		Heterocigoto	Recuento	38	1	39	
			% dentro de mutación	97,40%	2,60%	100,00%	
		Homocigoto	Recuento	8	0	8	
			% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%	
	Total		Recuento	79	2	81	
			% dentro de mutación	97,50%	2,50%	100,00%	
Epilepsia	Mutación	No mutación	Recuento	39	4	43	0,05
			% dentro de mutación	90,70%	9,30%	100,00%	
		Heterocigoto	Recuento	43	5	48	
			% dentro de mutación	89,60%	10,40%	100,00%	
		Homocigoto	Recuento	13	8	21	
			% dentro de mutación	61,90%	38,10%	100,00%	
	Total		Recuento	95	17	112	
			% dentro de mutación	84,80%	15,20%	100,00%	
Total	Mutación	No mutación	Recuento	72	5	77	0,02
			% dentro de mutación	93,50%	6,50%	100,00%	
		Heterocigoto	Recuento	81	6	87	
			% dentro de mutación	93,10%	6,90%	100,00%	
		Homocigoto	Recuento	21	8	29	
			% dentro de mutación	72,40%	27,60%	100,00%	
	Total		Recuento	174	19	193	
			% dentro de mutación	90,20%	9,80%	100,00%	

Tabla 32. Porcentaje de pacientes con hiperhomocisteinemia para cada genotipo en casos y controles.

24. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA, DÉFICIT DE B12 Y DÉFICIT DE FOLATO EN PACIENTES TRATADOS EN MONOTERAPIA CON CBZ SEGÚN GENOTIPO.

La prevalencia de hiperhomocisteinemia fue superior entre los pacientes homocigotos tratados con CBZ en comparación con los otros genotipos.

		Hiperhomocisteinemia		Total	
		No	Si		
Mutación	No mutación	Recuento	15	0	15
		% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%
	Heterocigoto	Recuento	10	3	13
		% dentro de mutación	76,90%	23,10%	100,00%
	Homocigoto	Recuento	2	3	5
		% dentro de mutación	40,00%	60,00%	100,00%
Total		Recuento	27	6	33
		% dentro de mutación	81,80%	18,20%	100,00%

Tabla 33. Prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes tratados en monoterapia con CBZ según genotipo.

La prevalencia de déficit de folato fue superior entre los pacientes homocigotos tratados con CBZ en comparación con los otros genotipos.

		Déficit Folato		Total	
		No	Si		
Mutación	No mutación	Recuento	12	2	14
		% dentro de mutación	85,70%	14,30%	100,00%
	Heterocigoto	Recuento	12	1	13
		% dentro de mutación	92,30%	7,70%	100,00%
	Homocigoto	Recuento	4	1	5
		% dentro de mutación	80,00%	20,00%	100,00%
Total		Recuento	28	4	32
		% dentro de mutación	87,50%	12,50%	100,00%

Tabla 34. Prevalencia de déficit de folato en pacientes tratados en monoterapia con CBZ según genotipo.

No se observaron diferencias en lo que respecta al porcentaje de pacientes con déficit de vitamina B12 entre los distintos genotipos.

		Déficit B12		Total	
		No	Si		
Mutación	No mutación	Recuento	13	1	14
		% dentro de mutación	92,90%	7,10%	100,00%
	Heterocigoto	Recuento	13	0	13
		% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%
	Homocigoto	Recuento	5	0	5
		% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%
Total		Recuento	31	1	32
		% dentro de mutación	96,90%	3,10%	100,00%

Tabla 35. Prevalencia de vitamina B12 en pacientes tratados en monoterapia con CBZ según genotipo.



25. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA, DÉFICIT DE B12 Y DÉFICIT DE FOLATO EN PACIENTES TRATADOS EN MONOTERAPIA CON VPA SEGÚN GENOTIPO.

La prevalencia de déficit de folato fue superior entre los pacientes homocigotos tratados con VPA en comparación con los otros genotipos

			Déficit Folato		Total	p
			No	Si		
Mutación	No mutación	Recuento	19	1	20	0.185
		% dentro de mutación	95,00%	5,00%	100,00%	
	Heterocigoto	Recuento	28	1	29	
		% dentro de mutación	96,60%	3,40%	100,00%	
	Homocigoto	Recuento	8	2	10	
		% dentro de mutación	80,00%	20,00%	100,00%	
Total		Recuento	55	4	59	
		% dentro de mutación	93,20%	6,80%	100,00%	

Tabla 36. Prevalencia de déficit de folato en pacientes tratados en monoterapia con VPA según genotipo.

Ningún paciente tratado con VPA presentó déficit de vitamina B12

			Déficit B12	
			No	Total
Mutación	No mutación	Recuento	20	20
		% dentro de mutación	100,00%	100,00%
	Heterocigoto	Recuento	29	29
		% dentro de mutación	100,00%	100,00%
	Homocigoto	Recuento	10	10
		% dentro de mutación	100,00%	100,00%
Total		Recuento	59	59
		% dentro de mutación	100,00%	100,00%

Tabla 37. Prevalencia de déficit de vitamina B12 en pacientes tratados en monoterapia con VPA según genotipo.

La prevalencia de hiperhomocisteinemia fue superior entre los pacientes homocigotos tratados con VPA en comparación con los otros genotipos.

		Hiperhomocisteinemia		Total	p	
		No	Si			
Mutación	No mutación	Recuento	18	3	21	0.229
		% dentro de mutación	85,70%	14,30%	100,00%	
	Heterocigoto	Recuento	27	2	29	
		% dentro de mutación	93,10%	6,90%	100,00%	
	Homocigoto	Recuento	8	3	11	
		% dentro de mutación	72,70%	27,30%	100,00%	
Total		Recuento	53	8	61	
		% dentro de mutación	86,90%	13,10%	100,00%	

Tabla 38. Prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes tratados en monoterapia con VPA según genotipo.



26. PREVALENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA, DÉFICIT DE VITAMINA B12 Y DÉFICIT DE FOLATO ENTRE LOS PACIENTES TRATADOS EN MONOTERAPIA O POLITERAPIA EN FUNCIÓN DEL GENOTIPO.

Tanto en monoterapia como en politerapia no se observaron diferencias significativas en cuanto a la prevalencia de déficit de folato entre los distintos genotipos.

Terapia			Déficit Folato		Total	Valor de P
			No	Si		
Monoterapia	No mutación	Recuento	32	3	35	0,226
		% dentro de mutación	91,40%	8,60%	100,00%	
		Heterocigoto	41	2	43	
	% dentro de mutación	95,30%	4,70%	100,00%		
Homocigoto	Recuento	13	3	16	100,00%	
	% dentro de mutación	81,30%	18,80%	100,00%		
Total		Recuento	86	8	94	100,00%
		% dentro de mutación	91,50%	8,50%	100,00%	
Politerapia	Mutación	No mutación	6	0	6	0,26
		% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%	
		Heterocigoto	3	1	4	
	% dentro de mutación	75,00%	25,00%	100,00%		
Homocigoto	Recuento	4	0	4	100,00%	
	% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%		
Total		Recuento	13	1	14	100,00%
		% dentro de mutación	92,90%	7,10%	100,00%	
Total	Mutación	No mutación	38	3	41	0,484
		% dentro de mutación	92,70%	7,30%	100,00%	
		Heterocigoto	44	3	47	
	% dentro de mutación	93,60%	6,40%	100,00%		
Homocigoto	Recuento	17	3	20	100,00%	
	% dentro de mutación	85,00%	15,00%	100,00%		
Total		Recuento	99	9	108	100,00%
		% dentro de mutación	91,70%	8,30%	100,00%	

Tabla 39. Prevalencia de déficit de folato entre los pacientes tratados en monoterapia o politerapia en función del genotipo.

En monoterapia no se observaron diferencias significativas en cuanto a la prevalencia de déficit de vitamina B12 entre los distintos genotipos. En politerapia no se han calculado estadísticos porque ningún paciente presentó déficit de B12.

Terapia			Déficit B12			Total	Valor de P
			No	Si			
Monoterapia	Mutación	No Mutación	Recuento	34	1	35	0,427
		Heterocigoto	% dentro de mutación	97,10%	2,90%	100,00%	
			Recuento	43	0	43	
	Homocigoto	% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%		
		Recuento	16	0	16		
Total		% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%		
		Recuento	93	1	94		
Politerapia	Mutación	No Mutación	Recuento	6		6	--
		Heterocigoto	% dentro de mutación	100,00%		100,00%	
			Recuento	4		4	
	Homocigoto	% dentro de mutación	100,00%		100,00%		
		Recuento	4		4		
Total		% dentro de mutación	100,00%		100,00%		
		Recuento	14		14		
Total	Mutación	No Mutación	Recuento	40	1	41	0,438
		Heterocigoto	% dentro de mutación	97,60%	2,40%	100,00%	
			Recuento	47	0	47	
	Homocigoto	% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%		
		Recuento	20	0	20		
Total		% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%		
		Recuento	107	1	108		
		% dentro de mutación	99,10%	0,90%	100,00%		

Tabla 40. Prevalencia de déficit de vitamina B12 entre los pacientes tratados en monoterapia o politerapia en función del genotipo.

En monoterapia la prevalencia de hiperhomocisteinemia fue significativamente superior entre los pacientes homocigotos comparados con los otros genotipos.

En politerapia, la prevalencia de hiperhomocisteinemia fue superior entre los pacientes homocigotos comparados con los otros genotipos pero la diferencia no alcanzó significación estadística.

Terapia			Hiperhomocisteinemia		Total	Valor de P
			No	Si		
Monoterapia	No Mutación	Recuento	34	3	37	0,024
		% dentro de mutación	91,90%	8,10%	100,00%	
	Mutación Heterocigoto	Recuento	38	5	43	
		% dentro de mutación	88,40%	11,60%	100,00%	
	Homocigoto	Recuento	11	6	17	
		% dentro de mutación	64,70%	35,30%	100,00%	
Total		Recuento	83	14	97	
		% dentro de mutación	85,60%	14,40%	100,00%	
Politerapia	No Mutación	Recuento	5	1	6	0,17
		% dentro de mutación	83,30%	16,70%	100,00%	
	Mutación Heterocigoto	Recuento	5	0	5	
		% dentro de mutación	100,00%	0,00%	100,00%	
	Homocigoto	Recuento	2	2	4	
		% dentro de mutación	50,00%	50,00%	100,00%	
Total		Recuento	12	3	15	
		% dentro de mutación	80,00%	20,00%	100,00%	
Total	No Mutación	Recuento	39	4	43	0,005
		% dentro de mutación	90,70%	9,30%	100,00%	
	Mutación Heterocigoto	Recuento	43	5	48	
		% dentro de mutación	89,60%	10,40%	100,00%	
	Homocigoto	Recuento	13	8	21	
		% dentro de mutación	61,90%	38,10%	100,00%	
Total		Recuento	95	17	112	
		% dentro de mutación	84,80%	15,20%	100,00%	

Tabla 41. Prevalencia de hiperhomocisteinemia entre los pacientes tratados en monoterapia o politerapia en función del genotipo.

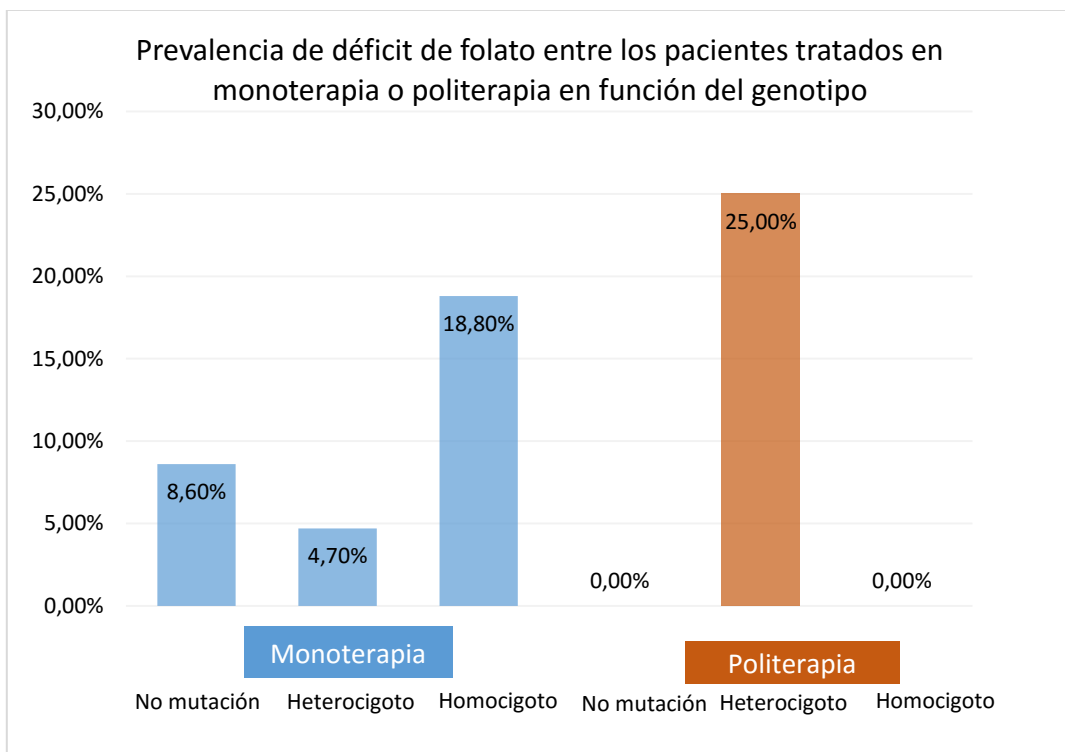


Gráfico39

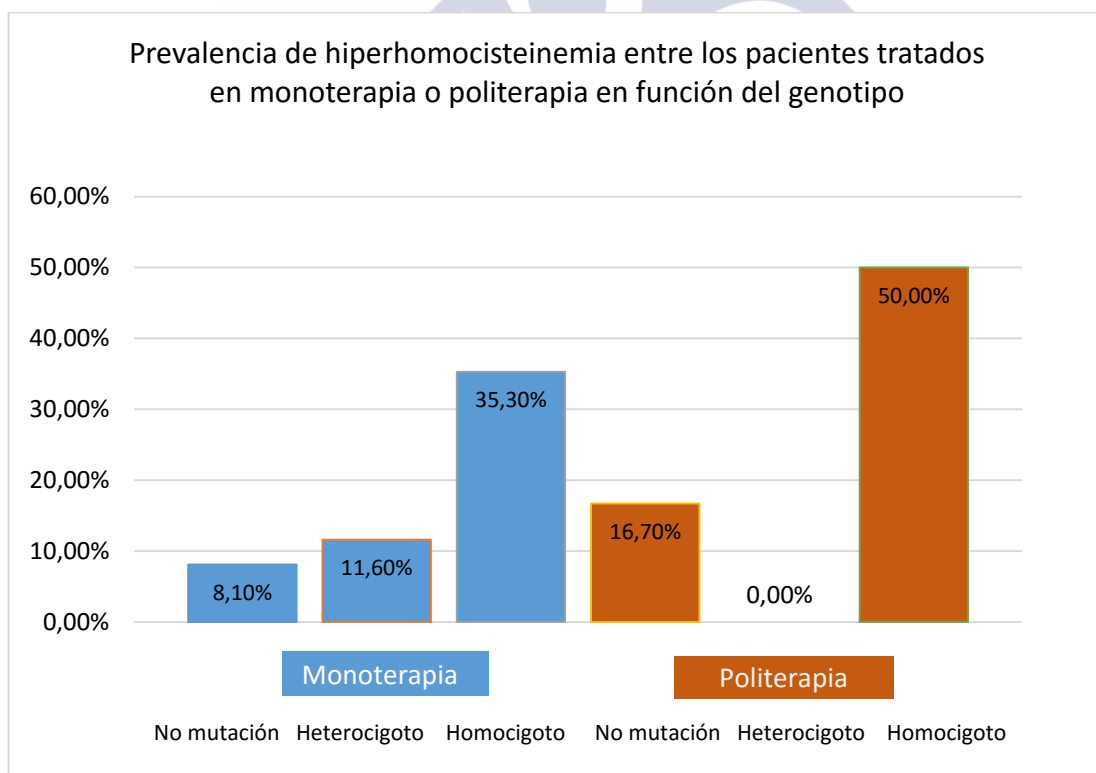


Gráfico 40

27. ANALISIS MULTIVARIANTE

27.1. Variable dependiente: niveles de homocisteína

Variables independientes: mutación, grupo (epilepsia vs. control), IMC, sexo.

La tabla muestra el análisis multivariante que predice la concentración de Hcy plasmática.

Se observa que el hecho de ser epiléptico en comparación con pertenecer al grupo control tiene un efecto directo positivo sobre la concentración plasmática de Hcy con independencia del sexo, IMC o del estado de la mutación ($p < 0.001$).

El hecho de ser homocigoto para la mutación tiene un efecto directo positivo sobre la concentración plasmática de Hcy con independencia del sexo, IMC o del estado de la mutación ($p < 0.001$).

El IMC tiene un efecto directo positivo sobre la concentración de Hcy con independencia de los otros parámetros ($p = 0.02$).

No se evidenció que el sexo influya en la concentración de Hcy ($p = 0.549$).

Parámetro	coef.	Error Estándar	95% de intervalo de confianza de Wald		Contraste de Hipótesis		
			Inferior	Superior	Chi-cuadrado de Wald	gl	p
(Interceptación)	1,939	1,2306	-0,473	4,351	2,483	1	0,115
Epilepsia	1,912	0,4174	1,094	2,731	20,992	1	<0.001
Control	0a	0	0	0	0	0	0
Homocigoto	2,179	0,613	0,977	3,38	16,632	1	<0.001
Heterocigoto	0,023	0,4378	-0,835	0,881	0,003	1	0,958
No mutación	0a	0	0	0	0	0	0
IMC	0,125	0,0537	0,2	0,23	5,423	1	0,02
Sexo	-2,45	0,4096	-1,048	0,557	0,359	1	0,549

Tabla 42. Modelo de regresión lineal múltiple que predice la concentración de Hcy plasmática en función de mutación, grupo (epilepsia vs. control), IMC y sexo.

Variable dependiente: Homocisteína

Modelo: (Interceptación), grupo (epilepsia vs. Control), MTHFR (homocigoto, heterocigoto, no mutación), IMC, sexo (varón como categoría de referencia).

27.2. Variable dependiente: niveles de ácido fólico

Variabes independientes: mutación, grupo (epilepsia vs. control), IMC, sexo.

Se observa que el hecho de ser epiléptico en comparación con pertenecer al grupo control no influye sobre los valores de folato sérico ($p=0,203$).

El hecho de ser homocigoto para la mutación tiene un efecto directo negativo sobre la concentración de folato sérico ($p=0.039$) con independencia del sexo, IMC o del estado de la mutación.

El IMC tiene un efecto directo positivo sobre la concentración de Hcy ($p=0.001$).

El sexo no influye en la concentración de Hcy ($p=0.310$).

Parámetro	coef.	Error Estándar	95% de intervalo de confianza de Wald		Contraste de Hipótesis		
			Inferior	Superior	Chi-cuadrado de Wald	gl	Sig
(Interceptación)	16,655	2,2417	12,261	21,049	55,199	1	0
Epilepsia	-0,972	0,7636	-2,469	0,525	1,62	1	0,203
Control	0a	0	0	0	0	0	0
Homocigoto	-2,321	1,127	-4,53	-0,112	4,242	1	0,039
Heterocigoto	-1,441	0,8022	-3,013	0,132	3,225	1	0,073
No mutación	0a	0	0	0	0	0	0
IMC	-0,313	0,098	-0,505	-0,121	10,178	1	0,001
Sexo	-0,763	0,751	-2,235	0,709	1,031	1	0,31

Tabla 43. Modelo de regresión lineal múltiple que predice la concentración de folato sérico en función de mutación, grupo (epilepsia vs. control), IMC y sexo.

Modelo: (Interceptación), grupo (epilepsia vs. control), MTHFR

(2=homocigoto, 1= heterocigoto, 0= no mutación, IMC, sexo (varón como categoría de referencia)

27.3. Variable dependiente: niveles de vitamina B12

Variables independientes: mutación, grupo (epilepsia vs. control), IMC, sexo

Se observa que el hecho de ser epiléptico en comparación con pertenecer al grupo control no influye sobre los valores séricos de B12 ($p=0,065$).

El hecho de ser homocigoto para la mutación no influye sobre los valores de B12 ($p=0.974$).

Parámetro	coef.	Error Estándar	95% de intervalo de confianza de Wald		Contraste de Hipótesis		
			Inferior	Superior	Chi-cuadrado de Wald	gl	Sig
(Interceptación)	785,038	150,1879	490,676	1079,401	27,322	1	0
Epilepsia	94,277	51,1614	-5,998	194,551	3,396	1	0,065
Control	0a	0	0	0	0	0	0
Homocigoto	2,427	75,5049	-145,56	150,414	0,001	1	0,974
Heterocigoto	34,27	53,7436	-71,066	139,605	0,407	1	0,524
No mutación	0a	0	0	0	0	0	0
IMC	-12,433	6,5656	-25,302	0,435	3,586	1	0,058
Sexo	57,729	50,3154	-40,888	156,345	1,316	1	0,251

Tabla 44. Modelo de regresión lineal múltiple que predice la concentración de vitamina B12 sérica en función de mutación, grupo (epilepsia vs. control), IMC y sexo.

Modelo: (Interceptación), grupo (epilepsia vs. control), MTHFR (homocigoto, heterocigoto, no mutación), IMC, sexo (varón como categoría de referencia).



V. DISCUSIÓN



1. INFLUENCIA DE LOS FÁRMACOS ANTIEPILÉPTICOS EN LA CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA

En nuestra serie de modo similar a lo observado por otros autores la hiperhomocisteinemia es un hecho frecuente en los pacientes epilépticos sometidos a tratamiento con FAES tanto en niños (15,45,99,101,103,106,107,120,148,149) como en adultos (11,60,104,116,126,150,151). En la tabla 45 se resumen los principales datos de los estudios publicados sobre la temática en niños.

En nuestra serie el porcentaje de hiperhomocisteinemia en pacientes epilépticos tratados con FAES fue del 16.1% vs el 3.4 % de los controles, diferencia que fue estadísticamente significativa. La prevalencia es similar a la evidenciada en diferentes estudios llevados a cabo en la población pediátrica (27,93,105) pero difiere considerablemente de la observada por otros autores. Así algunas publicaciones encuentran una prevalencia superior que varía entre el 25-66% (15,103,106,120) y otros estiman una prevalencia muy inferior entre el 4-2% (45). Las diferencias observadas en los distintos estudios podrían relacionarse con la heterogeneidad en la edad de los pacientes en las distintas muestras y con el punto de corte empleado para definir la hiperhomocisteinemia. La mayoría de los autores emplean los mismos valores de corte con independencia de la edad de los niños (27,45,93,103,105,106,120) e incluso algunos definen la hiperhomocisteinemia empleando los valores propios de la población adulta (27,45,106). Los estudios sobre los valores normales de Hcy en niños son escasos, tanto a nivel internacional como en España. En el presente estudio se ha utilizado como punto de corte los mismos valores empleados por Vilaseca y col (15) por tratarse de valores referenciados a niños españoles, estar estratificados por edad y ser además valores similares al

de otro estudio realizado en nuestro país (19). En el mencionado estudio (15) la prevalencia de hiperhomocisteinemia en pacientes epilépticos fue del 40.4% muy superior a la de nuestro grupo a pesar de emplear los mismos puntos de corte, tratarse de una población similar en cuanto al número y distribución por edad de los pacientes. Únicamente en el grupo de pacientes de 16-18 años los porcentajes de hiperhomocisteinemia son similares situándose en torno al 30% en ambos grupos. En los menores de 15 años la prevalencia de nuestro grupo es considerablemente inferior (1-10 años: 9.1% vs 40.5%; 11-15 años: 14% vs 48.5%). Una posible explicación- que se desarrolla en el punto 3 de esta discusión- es que las diferencias observadas se deban a diferencias en la prevalencia de los distintos genotipos del polimorfismo C677T en ambas muestras aunque no es posible asegurarlo dado que en el estudio de Vilaseca y col. sólo se realizó el estudio genético a 59 pacientes.

En lo que se refiere a los epilépticos adultos tratados con FAES los estudios muestran una prevalencia de hiperhomocisteinemia variable pero que es considerablemente superior a la de los controles y similar a las cifras arrojadas por los estudios realizados en niños. Aunque la mayoría de los autores (60,104,116,119,146,152) señalan prevalencias entre el 19% y el 36% algunos estudios muestran una prevalencia que supera el 60% (11,126) y en otros casos ronda el 10% (22,153). La explicación de esta variabilidad podría estar relacionada con las diferencias en la prevalencia de los genotipos de la MTHFR y a la heterogeneidad de los FAES administrados.

Desglosado por edades se observa que el porcentaje de hiperhomocisteinemia aumenta a medida que aumenta la edad en ambos sexos siendo mayor en el grupo de 16-18 años. Es esperable un incremento en la prevalencia de hiperhomocisteinemia en el grupo de mayor edad dado que las

concentraciones de Hcy aumentan con la edad (5,16,24,34,35) aunque también podría relacionarse con el tratamiento prolongado con FAES ya que al igual que otros autores (15,27,93,101) hemos observado que existe correlación positiva entre la duración del tratamiento y la concentración de Hcy. No es un hecho aclarado si el tratamiento prolongado con FAES se asocia con un aumento progresivo de la Hcy ya que otros estudios no encuentran relación entre el tiempo de administración y la elevación de Hcy (103,105,120). En el presente estudio se ha observado correlación positiva entre el tiempo de tratamiento tanto con CBZ como con VPA a diferencia de Vilaseca y col. (15) que encuentra correlación positiva con la duración del tratamiento solamente entre los tratados con CBZ pero no con VPA.

Al igual que en otros estudios realizados en la población pediátrica (15,45,99,101,103,106,107,148,149) hemos encontrado que los valores medios de Hcy en los pacientes tratados con FAES son significativamente superiores a los del grupo control aunque otros autores (27,94,105,154) no encuentran diferencia en las concentraciones de Hcy entre epilépticos y controles.

En consonancia con lo observado por Vilaseca y col. (15), en el presente estudio esta diferencia en la concentración de Hcy entre epilépticos y controles se observa en los 3 grupos de edad. Hemos observado que la diferencia se mantiene con independencia del sexo, dato que no se ha analizado en otros estudios en niños epilépticos pero si se ha observado en población sana (5,16,24,34,35) en los que la concentración plasmática de Hcy es independiente del sexo hasta la edad postpuberal.

Hemos analizado la influencia de la monoterapia con CBZ o con VPA por separado en los niveles de Hcy plasmática. Dado el escaso número de pacientes bajo tratamiento con otros FAES no fue posible analizar otros subgrupos. El

aumento en la concentración de Hcy plasmática fue similar con independencia de que se emplee VPA o CBZ. Hemos observado que la prevalencia de hiperhomocisteinemia también fue similar con ambos fármacos ya que de los 65 pacientes tratados con VPA en monoterapia 9 presentaban hiperhomocisteinemia (13,8%) y de los 36 tratados con CBZ en monoterapia 6 presentaban hiperhomocisteinemia (16,6%). Estos resultados son concordantes con lo observado por otros autores que analizan la influencia del tratamiento con VPA o CBZ en monoterapia en niños (15,101,106,107,148,149). Vilaseca y col. (15) llegan a la misma conclusión analizando los valores medios de Hcy en 136 niños epilépticos tratados en monoterapia con CBZ o VPA. Estos autores observan un incremento significativo de los valores medios de Hcy en epilépticos versus controles tanto en los que recibían VPA como los que recibían CBZ. Aunque, como se ha comentado anteriormente, el porcentaje global de pacientes con hiperhomocisteinemia fue notablemente superior a lo evidenciado en el presente estudio, tampoco encontraron diferencias significativas entre los pacientes que recibían VPA (39,2%) y aquellos que recibían CBZ (41,9%). En otro estudio (107) llevado a cabo en Italia en 60 adolescentes también observan un incremento significativo de los valores medios de Hcy en epilépticos tratados en monoterapia con CBZ o con VPA. En un estudio turco (106) en 62 niños epilépticos tratados con CBZ o VPA encuentran en ambos grupos un aumento significativo de los valores medios de Hcy con respecto a los controles y una prevalencia de hiperhomocisteinemia del 23,3% entre los tratados con CBZ y del 30,5% entre los tratados con VPA. Ozdemir y col. (101) en 44 niños epilépticos tratados con VPA en monoterapia encuentran un aumento significativo de las concentraciones medias de Hcy comparado con los controles. Attilakos y col. (149) en 52 niños epilépticos tratados con CBZ o VPA determinan la concentración de Hcy antes del inicio de

tratamiento y a las 20 semanas encontrando un aumento significativo de la Hcy con ambos fármacos. Vurucu y col. (148) en 93 niños tratados con CBZ o VPA en monoterapia evidencian incremento de la Hcy con ambos fármacos.

Por el contrario, otros estudios llevados a cabo en niños no evidencian asociación entre la elevación de la concentración media de Hcy y el tratamiento con CBZ, VPA u OXC en monoterapia, pero observamos que algunos evidencian un aumento de la prevalencia de hiperhomocisteinemia que se relaciona tanto con la administración de VPA como con la de CBZ (27,105,154). Así, Kumar y col. (154) estudian los niveles medios de Hcy en 51 pacientes antes de iniciar el tratamiento con CBZ y a los 6 meses y no encuentran diferencia significativa en los valores medios de Hcy tras 6 meses de tratamiento con respecto a los valores basales aunque observan que la prevalencia de hiperhomocisteinemia aumentó considerablemente tras los 6 meses de tratamiento (16% versus 27%). Keenan y col. (94) no evidencian incremento en los niveles de Hcy en un grupo de pacientes tratados con CBZ o VPA en monoterapia con respecto a los controles. Emeksiz y col. (27), comparando una serie de 53 pacientes epilépticos que recibían tratamiento en monoterapia con OXC o VPA, no observaron diferencias significativas en la concentración de Hcy entre los pacientes tratados con VPA, OXC y el grupo control, pero si observan una prevalencia de hiperhomocisteinemia significativamente mayor entre los pacientes epilépticos (22.3% cuando el punto de corte se estableció 13.1 $\mu\text{mol/L}$ y del 17% cuando se estableció en 15 $\mu\text{mol/L}$) comparado con el grupo control en el que ninguno de los sujetos presentó concentraciones de Hcy por encima del valor normal. Estos autores no encuentran diferencias en la prevalencia de hiperhomocisteinemia en función del fármaco administrado. Kurul y col. (105) tampoco encuentran diferencia en la concentración de Hcy entre epilépticos y controles en un grupo de 25 niños que recibían tratamiento en monoterapia con VPA, OXC o CBZ, pero

sin embargo la prevalencia de hiperhomocisteinemia en el grupo de epilépticos fue del 16% y nula en el grupo control. Aunque se trata de una muestra pequeña de pacientes, los autores no observaron elevación de la concentración plasmática de Hcy en ninguno de los pacientes tratados con OXC.

En algunos de los estudios realizados en adultos encuentran relación de la hiperhomocisteinemia con los FAES inductores de las enzimas hepáticas pero no con VPA. Un estudio español (60) evidencia un aumento de la prevalencia de hiperhomocisteinemia y de las concentraciones medias de Hcy en pacientes tratados con inductores enzimáticos (PTH, PB, CBZ, PRM) pero no entre los tratados con VPA. Dos estudios llevados a cabo en Noruega por Apeland y col. (116,126) llegan a las mismas conclusiones. El primero de los estudios publicado en el año 2000 observan en 34 pacientes y 34 controles que entre los pacientes tratados con VPA ninguno presentó hiperhomocisteinemia y la concentración de Hcy en ayunas y tras sobrecarga de metionina fue inferior a la de los controles, mientras que entre los pacientes tratados con inductores enzimáticos el 89% presentaban hiperhomocisteinemia y el 42% de los que recibían politerapia con VPA e inductores. En un estudio posterior en el que incluyeron 45 pacientes epilépticos tratados con inductores enzimáticos o con VPA y otros tantos controles, corroboran las conclusiones de su estudio previo. Sin embargo, otros autores han evidenciado relación entre el tratamiento con VPA y la elevación de la Hcy plasmática. Sener y col. en 75 epilépticos tratados con FAES inductores enzimáticos (CBZ y PTH) y con VPA encuentran un aumento significativo en la concentración de Hcy y en la prevalencia de hiperhomocisteinemia en comparación con el grupo control y con epilépticos sin tratamiento, pero no encuentran diferencias en función del fármaco. En un metanálisis llevado a cabo en 2014 (151) que incluyó a 266 pacientes epilépticos, analizando estudios realizados en niños y en adultos tratados con VPA y 489 controles, llegan a la

conclusión de que el VPA se asocia a un incremento de la concentración de Hcy plasmática en pacientes epilépticos. Una de las limitaciones de esta publicación es que la mayoría de los estudios que incluye se realizaron en población asiática y sólo 62 pacientes eran Europeos.

Por otra parte 2 estudios norteamericanos (153,155) no encuentran relación entre el aumento de Hcy y el tratamiento con FAES entre los que se incluye el VPA. En el primero de ellos (155) publicado en 2005 en 20 epilépticos tras 32 semanas de tratamiento con VPA o LTG no sólo encuentran asociación con hiperhomocisteinemia sino que evidencian un ligero decremento de la de Hcy plasmática en los tratados con VPA. Estos autores sugieren que estos resultados pueden estar relacionados con la fortificación con ácido fólico de todos los productos a base de cereales que se realiza desde 1998 en Estados Unidos, ya que todos los pacientes presentaban valores de folato plasmático y eritrocitario elevados. El segundo de los estudios (153) llevado a cabo en Estados Unidos en el año 2000 en 62 pacientes epilépticos tratados en monoterapia con PHT, LTG, CBZ y VPA encuentran que las concentraciones medias de Hcy estaban por debajo de 12 $\mu\text{mol/L}$ en los 4 grupos de pacientes y solamente el 11% de los pacientes presentaban hiperhomocisteinemia; sin embargo las concentraciones séricas de folato estaban disminuidas en el 85% de los tratados con PHT y en algo más de la mitad de los tratados con CBZ y VPA. Cuando el estudio fue realizado aún no se había implantado la obligatoriedad de fortificar los cereales y es posible que estos pacientes presentasen valores de folato más bajos antes del inicio del tratamiento en comparación con el estudio previo y esto podría explicar que la prevalencia de hiperhomocisteinemia fuese superior en este caso.

Con respecto a los nuevos FAES los estudios publicados son escasos y la influencia que pueden ejercer sobre la Hcy aun ha de aclararse. Además de los estudios antes mencionados de Emeksiz y col (27) y del llevado a cabo por Kurul y col. (105) en los que no se observó menor repercusión sobre la Hcy con la OXC que con VPA o CBZ. Un estudio llevado a cabo en Egipto (99) en 69 niños epilépticos (34 tratados con VPA o CBZ y 35 tratados con LEV, LTG y TPM) constató hiperhomocisteinemia en el 16% de los pacientes de los cuales, el 72% recibían FAES clásicos (CBZ y VPA). Estudios llevados a cabo en adultos (104) sometidos a tratamiento con algunos de los FAES más recientes como LTG y LEV no evidencian elevación de Hcy en estos pacientes pero si en aquellos bajo tratamiento con OXC y con TPM.

Con respecto a la influencia de la politerapia sobre los niveles de Hcy encontramos que los valores de la Hcy plasmática no fueron significativamente diferentes entre los pacientes según recibiesen mono o politerapia. Estos datos son concordantes con lo evidenciado por Tümer y col. (45) que aunque encuentran un porcentaje bajo de pacientes con hiperhomocisteinemia (2% cuando el punto de corte seleccionado es 15 $\mu\text{mol/L}$ y el 4% cuando el punto de corte es 12 $\mu\text{mol/L}$) los niveles de Hcy en plasma fueron significativamente superiores en el grupo de epilépticos independientemente de fármaco y de si recibían mono o politerapia. Por el contrario, dos estudios en niños (93,103) encuentran asociación entre la elevación de Hcy y el tratamiento con FAES en politerapia. Hüemer (93) evidencia que el 15.5% de los pacientes de su serie presentaban hiperhomocisteinemia aunque no encuentran asociación entre la elevación de la Hcy y el tratamiento en monoterapia con VPA o FAES inductores del citocromo P450 (la mayoría eran pacientes tratados CBZ y únicamente 2 con PB) pero si encuentran relación con el tratamiento en politerapia. Coppola y col. (103) en un grupo de niños epilépticos observan que las concentraciones medias

de Hcy son superiores en comparación con los controles y la prevalencia de hiperhomocisteinemia entre los epilépticos fue del 41% y de estos la mayoría recibían tratamiento con politerapia.

Al igual que otros autores (15,107,149,154), en el presente estudio no se ha observado una correlación significativa entre los niveles de los fármacos (VPA y CBZ) y la concentración de Hcy.

Se ha descrito una relación entre la Hcy y un peor control de la epilepsia a causa del potencial efecto epileptogénico de la Hcy (119). Dicha hipótesis se sustenta en lo observado en animales de experimentación en los que la administración de Hcy indujo crisis epilépticas (156) y en el hecho de que más de 20% de los pacientes con homocistinuria no tratada asocian epilepsia (11,102), pero apenas se ha documentado esta asociación en series de pacientes epilépticos. Únicamente en el estudio de Sener y col. (11) se analiza este aspecto y no se evidencia asociación entre el incremento de la concentración de Hcy y el control de las crisis. En nuestra serie no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de hiperhomocisteinemia y el control de la epilepsia. En concreto, el 26 % de los pacientes con hiperhomocisteinemia tenían un mal control de la epilepsia frente a un 14 % de los pacientes que presentaban una Hcy en rango normal.

Observamos que existe variabilidad en los resultados en los distintos estudios que podría atribuirse a factores genéticos- ya que la mayoría de los estudios no analizan la presencia del polimorfismo C677T de la MTHFR- o bien nutricionales relacionados con la ingesta de folatos ya que se trata de estudios heterogéneos desde el punto de vista geográfico y el consumo de ácido fólico es variable en los distintos países. En niños el fármaco administrado, al menos en el caso de los FAES clásicos, no parece influir sobre la prevalencia

de la hiperhomocisteinemia aunque está aún por aclarar la influencia de los FAES de nueva generación y de la politerapia.

A la vista de los resultados y de la información recabada en la revisión bibliográfica el tratamiento con FAES parece incrementar la concentración de Hcy plasmática en niños. Este incremento se observa tanto con el VPA como la CBZ y es más evidente entre los epilépticos que reciben tratamientos más prolongados.



2. INFLUENCIA DE LOS FAES SOBRE LOS NIVELES DE ACIDO FÓLICO Y VITAMINA B12. CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIONES DE HOMOCISTEÍNA, ACIDO FÓLICO Y VITAMINA B12

El folato y la vitamina B12 son esenciales en la remetilación de la Hcy a metionina. El 5-metilentetrahidrofolato actúa como donante de grupo metilo en esta reacción y la vitamina B12 como coenzima (2,5,25,26). La deficiencia de estas vitaminas produce acumulación de Hcy y disminución de la metionina (102,153). Se ha observado que algunos FAES inducen depleción de folato y de la vitamina B12. El mecanismo por el cual los FAES alteran el metabolismo de la Hcy no está aclarado. Se ha relacionado con un aumento de la inducción enzimática causada por algunos FAES que tiene como resultado una degradación acelerada del folato, una interferencia con la absorción de vitaminas en la mucosa intestinal y un aumento de los requerimientos de vitaminas debido a una disfunción en el metabolismo de la Hcy (27). En comparación con la CBZ el VPA se ha asociado a una menor disminución de los niveles de folato y esto se ha relacionado con un menor efecto inductor enzimático del VPA (107). En relación a la influencia del tratamiento con FAES sobre la vitamina B12 los datos son contradictorios. Se ha observado tanto elevación (15,101), valores normales (27,45,93,102,105,107,154) y excepcionalmente déficit (106).

En nuestro estudio observamos que los niveles de folato son inferiores en el grupo de epilépticos aunque la diferencia no alcanzó significación estadística. Si analizamos porcentajes de deficiencia de folato en epilépticos y controles observamos que el 8,4% de los epilépticos presentaban folato bajo mientras que esto solamente ocurría en el 1,2% de los controles, siendo esta diferencia significativa. Sin embargo, del análisis multivariante en

nuestro estudio se desprende que el hecho de pertenecer al grupo de pacientes tratados con FAES versus al grupo control no modifica los niveles séricos de folato con independencia del estado de la mutación C677T para la MTHFR, el sexo y el IMC. En ninguno de los estudios publicados en la edad pediátrica revisados se ha realizado el análisis multivariante incluyendo el genotipo para la mutación C677T y en muy pocos estudios se cuantifica la prevalencia del déficit de folato (15,27,93,102). Por otra parte, al igual que otros autores (15,102) hemos evidenciado correlación negativa entre la concentración de Hcy y los niveles séricos de folato.

Las cifras de folato fueron significativamente inferiores en pacientes tratados con CBZ en comparación con los tratados con VPA, ya que en estos últimos los valores eran similares a la población control. La prevalencia de déficit de folato también fue superior entre los tratados con CBZ (12,5%) versus los que recibían VPA (6,8%). Ambos datos sugieren que la CBZ se asocia a una mayor disminución del folato sérico al igual que han observado otros autores en niños (15,148). No se observaron diferencias significativas en los niveles de folato en función de si los pacientes recibían tratamiento con uno o más fármacos. Se ha observado correlación negativa entre las concentraciones plasmáticas de Hcy y los niveles séricos de folato. También se observó correlación negativa, aunque sin alcanzar significación estadística, entre el tiempo de tratamiento y el folato sérico. En el presente estudio no se ha podido analizar la correlación entre la Hcy plasmática y el folato para cada uno de los fármacos por tratarse de un número reducido de pacientes ya que solamente 15 pacientes presentaban hiperhomocisteinemia en monoterapia. De estos 9 pertenecían al grupo de VPA y 6 al grupo tratado con CBZ. De los 9 pacientes con hiperhomocisteinemia y tratamiento con VPA 3 (33%) presentaban además

déficit de folato. En el grupo tratado con CBZ de los 6 casos con hiperhomocisteinemia 2 (33%) presentaban déficit de folato.

Al contrario que en la presente serie, diversos autores encuentran relación entre el tratamiento con FAES y la disminución del folato sérico (15,102,106,107,148,149). Salvo en una de las aportaciones (102) -en la que no se detallan los niveles de Hcy- la concentración de Hcy en los epilépticos fue significativamente superior a la de los controles, lo que sugiere que el déficit de folato se relaciona con la hiperhomocisteinemia. En consonancia con nuestra casuística, en 3 (15,148,149) de estos 6 estudios no se encuentra asociación entre el tratamiento con VPA (148,149) o se observa una menor influencia del VPA con respecto a la CBZ (15) y el déficit de folato a pesar de que se evidenció aumento de la Hcy con ambos fármacos. Así, Vilaseca y col. (15) encuentran una disminución significativa en las cifras de folato en 59 niños epilépticos que recibían tratamiento en monoterapia con CBZ o VPA en comparación con la población control y el 37% de los epilépticos presentaban cifras de folato por debajo del valor normal. Al analizar el comportamiento de ambos FAES por separado observan que el porcentaje de deficiencia de folato fue superior en la población tratada con CBZ (el 62% tenían déficit de folato) en comparación con los tratados con VPA (solamente el 10% tenían déficit de folato). Encuentran correlación negativa entre la concentración de Hcy y los niveles de folato en los pacientes tratados con CBZ. Por su parte, Verroti y col. (107) encuentran en 60 epilépticos tratados en monoterapia con VPA o CBZ que las cifras de folato fueron significativamente inferiores a los controles y no observan diferencia entre los FAES. En la serie de Karabiber y col. (106) los niveles de folato fueron significativamente más bajos en los pacientes tratados con CBZ y con VPA comparados con los controles, con independencia del fármaco recibido. En el estudio de Ono y col. (102) en politerapia el 7,7 % de los pacientes menores de

14 años y el 17.6% de los mayores de 15 años presentaban déficit de folato. No se encontró ningún paciente con depleción de folato en el grupo de monoterapia. Al igual que en el presente estudio encuentran correlación inversa entre las concentraciones de folato y Hcy, y el coeficiente de correlación fue mayor en el grupo de epilépticos mayores de 15 años. En el estudio de Attilakos y col. (149) en 52 niños epilépticos tratados con CBZ o VPA se determina la concentración de folato antes del inicio de tratamiento y a las 20 semanas encontrándose disminución del folato solamente en los tratados con CBZ. En la publicación de Vurucu y col. (148) en 93 pacientes epilépticos tratados con CBZ y VPA se observa una disminución significativa de los niveles séricos de folato en los tratados con CBZ pero no en los tratados con VPA.

Al igual que en la presente serie, otros estudios no encuentran asociación entre la disminución de folato sérico y el tratamiento con FAES (27,45,93,94,101,105,154), pero al contrario de lo observado en la presente casuística en la mayoría de éstos la concentración de Hcy no estaba aumentada con respecto a los controles (27,94,105,154). Entre ellos, Hüemer y col (93), en 123 pacientes tratados con FAES tanto en monoterapia como en politerapia, ningún paciente presentó deficiencia de folato aunque los pacientes con hiperhomocisteinemia presentaban concentraciones de folato más bajas que los controles. La politerapia y la duración del tratamiento mostraron correlación positiva con la Hcy y negativa con el folato. Tümer y col. (45) en un estudio que incluyó 111 pacientes epilépticos tratados en mono o politerapia con VPA, CBZ, y PB no observan diferencia significativa en los niveles de fólico y encuentran correlación negativa entre el fólico y la Hcy. En la casuística de Emeksiz y col. (27) en pacientes tratados en monoterapia con VPA u OXC ningún paciente asoció déficit de folato ni tampoco se observó diferencia significativa en sus niveles entre los pacientes con hiperhomocisteinemia ni entre aquellos con Hcy

normal. Kurul y col. (105) en niños tratados con CBZ, VPA y OXC en monoterapia tampoco han evidenciado diferencias en los niveles de folato entre epilépticos y controles. Analizando cada uno de los fármacos por separado tampoco encuentran diferencias estadísticamente significativas. Ozdemir y col. (101) en 44 pacientes tratados con VPA evidencian que el folato sérico fue similar al de los controles. Kumar y col. (154) no encuentran disminución del folato sérico en pacientes tratados con CBZ tras 6 meses de tratamiento. Keenan y col. (94) en 30 niños epilépticos tratados fundamentalmente con CBZ y VPA no evidencian disminución del folato con ninguno de los dos fármacos.

A la vista de lo evidenciado en la revisión bibliográfica y de lo observado en la presente serie, no puede asegurarse que la administración de FAES se relacione con el déficit de folato. En particular, el tratamiento con CBZ en monoterapia sí parece disminuir los valores de folato sérico a diferencia del VPA en monoterapia que parece tener una influencia escasa sobre el folato sérico.

En lo referente a la vitamina B12 los valores medios fueron superiores significativamente en el grupo de pacientes epilépticos y sólo un paciente de este grupo presentó déficit de B12. Las cifras de B12 fueron significativamente superiores en el grupo tratado con VPA con respecto a los tratados con CBZ. El significado de esta elevación es desconocido pero se ha descrito elevación de la vitamina B12 en epilépticos tratados con FAES y, especialmente entre los tratados con VPA (15,94,101,149). La mayoría de los autores no observan diferencias en la concentración de vitamina B12 entre los epilépticos y los controles (27,45,93,102,105,107,154) y, excepcionalmente algunos autores han encontrado disminución de los niveles séricos de B12 entre los tratados con CBZ con respecto al grupo control (106) como en la serie de Túmer y col. (45) en la que los niveles medios estaban disminuidos en los pacientes con

hiperhomocisteinemia. El mecanismo por el cual la vitamina B12 aumenta es desconocido. Algunos autores (157) sugieren que se debe a un incremento en la capacidad de unión de la vitamina B12 a la TC II en los pacientes que reciben VPA. En vista de estos datos el tratamiento con FAES no disminuye los niveles de vitamina B12 y el VPA se asocia con una elevación de los mismos.

No se observaron diferencias significativas entre los valores séricos de B12 en función de si los pacientes recibían mono o politerapia al igual que en las series publicadas por Ono y col. (102,147).

Al igual que Tümer y col. (45) en el presente trabajo se evidencia correlación negativa entre los niveles séricos de vitamina B12 y las concentraciones de Hcy aunque en este caso no alcanzó significación estadística. Por su parte, Vilaseca y col. (15) encuentran correlación negativa entre Hcy y B12 solamente entre los tratados con CBZ y Ono y col. (147) no encuentran correlación entre Hcy y B12.

En cuanto a la duración del tratamiento se correlacionó negativamente con las cifras de vitamina B12 en el grupo de pacientes epilépticos pero la diferencia no alcanzó significación estadística. Por su parte, Vilaseca y col. (15) encuentran correlación negativa con la duración del tratamiento entre los tratados con CBZ y Ozdemir y col. (101) no observan relación entre la duración del tratamiento y los niveles de B12. En otras publicaciones en niños no se analiza este aspecto.

En la población adulta la mayoría de los autores observan que el tratamiento con FAES se asocia a un descenso de los valores de folato sérico

pero algunos autores no observan esta disminución entre los tratados con VPA. Así, en el estudio de Gidal y col. (155) en 20 pacientes epilépticos tras 32 semanas de tratamiento con VPA o con LTG no encuentran disminución de la concentración de folato ni aumento de la de Hcy. Encontraron aumento de los valores de B12 entre los tratados con VPA y ausencia de modificación significativa en los tratados con LTG. A esta misma conclusión llega Apeland en 3 estudios diferentes. El primero de ellos (126) en 34 pacientes y 34 controles encuentra que los pacientes que reciben inductores enzimáticos tenían valores de folato significativamente más bajos que los controles y concentraciones de Hcy más altas, y los tratados con VPA mostraban niveles séricos y eritrocitarios de folato mayores que los controles y concentraciones de Hcy menores observando al igual que en nuestra serie una correlación negativa entre Hcy y folato sérico. La vitamina B12 no varió significativamente en ninguno de los 3 grupos. En otro estudio posterior, estos autores (116) llegan a las mismas conclusiones con respecto a los inductores enzimáticos, y en lo que se refiere al VPA observan valores similares a los de los controles tanto para la Hcy como para el folato y mayores que los controles para la vitamina B12. Otro estudio de estos autores (150) en el que participaron 42 pacientes tratados con CBZ encuentra que los epilépticos tenían concentraciones de Hcy significativamente más altas y de folato significativamente más bajas que los controles. Tampoco observan descenso del folato en los tratados con VPA ni con CBZ. Sener y col. (11) observan disminución significativa de los niveles de folato en los tratados con PHT pero no con VPA ni con CBZ, aunque con todos estos fármacos habían evidenciado aumento de la concentración de Hcy. Se encuentra una correlación negativa entre la duración del tratamiento y los valores séricos de ácido fólico al igual que en nuestra serie. No observan diferencias entre epilépticos y controles en la vitamina B12.

Por el contrario otros autores encuentran relación entre la disminución del folato y el tratamiento con VPA. Schwaninger y col. (119) en 51 pacientes epilépticos tratados con distintos FAES (CBZ, PHT, PB, VPA) en mono y politerapia, encuentran valores de folato significativamente más bajos entre los epilépticos asociándose a concentraciones de Hcy superiores y sin mostrar diferencias en los valores de vitamina B12 con respecto a los controles. Analizando el grupo de pacientes tratados en monoterapia con CBZ, debido a que los otros subgrupos contaban con un reducido grupo de pacientes, observan que los pacientes con CBZ mostraban valores más bajos de folato que los controles pero no concentraciones medias de Hcy más elevadas, aunque la prevalencia de hiperhomocisteinemia fue del 40%. La vitamina B12 fue similar en epilépticos y controles. Tamura y col. (153) en 62 epilépticos tratados con PHT, LTG, CBZ y VPA observan una prevalencia de hiperhomocisteinemia del 11,4% y una alta prevalencia de déficit de folato entre los tratados con PHT (85%), los tratados con CBZ (65%), los tratados con VPA (54%) y sólo del 11% entre los tratados con LTG. No encuentran déficit de vitamina B12 con ninguno de los FAES. Linnebank y col. (117) en 2.730 epilépticos tratados con FAES en mono y politerapia encuentran que los epilépticos tenían valores significativamente más bajos de folato que los controles y que 170 epilépticos no tratados. Los tratados con CBZ, gabapentina (GBP), OXC, PHT O VPA se asociaron a cifras de folato sérico menores o a una mayor frecuencia de déficit de folato. El tratamiento con PB, PRM o TPM se asoció con niveles bajos de B12. El VPA se asoció a niveles más elevados de vitamina B12.

A diferencia de lo observado en la presente serie y de otras publicaciones referidas a la edad pediátrica, en adultos el tratamiento con FAES se asocia a la deficiencia de folato aunque el VPA parece tener una menor influencia.

Con respecto a la B12, en consonancia con lo observado en el presente trabajo y en otras series pediátricas los FAES no parecen disminuir los niveles séricos de vitamina B12 y el VPA se relaciona con un aumento de los mismos.



3. INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO C677T DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA (MTHFR) EN LA CONCENTRACIÓN DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN PACIENTES EPLILÉPTICOS TRATADOS CON FAES

Diversos estudios (28,31,34) han evidenciado una relación entre el aumento de la Hcy y el estado homocigoto para la mutación C677T aunque otros autores (14,80) no observan esta asociación. La mayoría de los estudios sugieren que la Hcy se eleva en los pacientes homocigotos para el polimorfismo C677T en los que se asocia una deficiencia de folato y/ o B12 (16,18,31,32,113,147) y este sería uno de los motivos que podría explicarla discrepancia en los resultados entre los distintos estudios. Dado que los FAES pueden inducir depleción de folato la presencia del polimorfismo C677T en estado homocigoto podría suponer un incremento del riesgo de desarrollar hipermocisteinemia en los epilépticos bajo tratamiento.

Tras realizar la revisión bibliográfica en PubMed, EMBASE y biblioteca Cochrane se comprueba que únicamente constan 5 estudios que analizan la influencia del estado homocigoto para la mutación C677T sobre la concentración de Hcy plasmática en niños epilépticos tratados con FAES. Los detalles de los 5 estudios se muestran en la tabla 47. Estos estudios son heterogéneos en cuanto a los resultados y no permiten establecer conclusiones relativas a la influencia de los genotipos de la mutación C677T de la MTHFR sobre la Hcy plasmática en niños epilépticos. En dos de estos estudios evidencian relación entre la hiperhomocisteinemia y el genotipo TT. El primero de ellos es el llevado a cabo por Vilaseca y col. (15) que estudia la relación entre la Hcy plasmática, el folato, vitamina B12 y los genotipos de la MTHFR en 59 epilépticos en tratamiento con CBZ o VPA en monoterapia y en 28 controles. El segundo de los estudios fue publicado por Ono y col. (147), y estudian la

influencia de los genotipos del polimorfismo C677T en la concentración plasmática de Hcy, folato y vitamina B12 en 81 pacientes epilépticos de entre 1-32 años tratados en mono y politerapia. Estos autores encuentran relación entre la hiperhomocisteinemia y el genotipo TT en los pacientes que reciben politerapia pero no entre los que reciben monoterapia. Los tres estudios restantes no encuentran asociación entre la prevalencia de hiperhomocisteinemia y el genotipo TT. El llevado a cabo por Coppola y col. (103) en 78 epilépticos que recibían tanto mono como politerapia encuentra una prevalencia de hiperhomocisteinemia del 41% pero no evidencia relación significativa entre la elevación de Hcy y los diferentes genotipos de la MTHFR. Vurucu y col (148) en 93 niños epilépticos en tratamiento con VPA o CBZ en monoterapia observan que las concentraciones de Hcy están significativamente aumentadas y las de folato significativamente disminuidas en los pacientes epilépticos tratados con CBZ o con VPA en comparación con los controles pero no encuentran que la hiperhomocisteinemia se relacione con los distintos genotipos del polimorfismo C667T. Hüermer y col. (93) aportan un estudio de intervención llevado a cabo en 123 epilépticos y se centra fundamentalmente en la influencia de los distintos FAES sobre la Hcy, vitamina B12 y folato plasmáticos y en el efecto de la suplementación de folato sobre las cifras de Hcy plasmáticas. Los detalles que aportan en relación a los aspectos genéticos son escasos, pero los autores no encuentran correlación entre la concentración de Hcy ni de folato con el genotipo de la MTHFR.

En nuestra serie se estudió el genotipo del polimorfismo C677T en 194 niños de los cuales 112 pertenecían al grupo control y 82 al grupo de epilépticos. En el conjunto de la población, el 14,9% de los pacientes eran homocigotos para la mutación C677T, el 45,4 % eran heterocigotos y el 39% de los niños no presentaban la mutación. La prevalencia de los tres genotipos es

similar a la de otros estudios llevados a cabo en niños y adolescentes españoles (16,17).

La prevalencia del genotipo TT (18%) entre los pacientes epilépticos fue similar a la observada por otros autores en pacientes epilépticos (15,20,32,103,147). No se observó diferencia significativa con respecto a los controles a diferencia de lo evidenciado en un estudio escocés (158) en el que observan una prevalencia superior del genotipo TT en mujeres afectas de epilepsia generalizada idiopática en comparación con los controles y plantean la posibilidad de que el mencionado polimorfismo se relacione con el riesgo de desarrollar epilepsia.

En la presente serie los niveles medios de Hcy fueron significativamente mayores entre los epilépticos homocigotos para la mutación C677T con respecto a los heterocigotos y a los pacientes sin la mutación y además la prevalencia de hiperhomocisteinemia fue significativamente superior entre los epilépticos homocigotos- el 38,1% de los epilépticos homocigotos presentaban hiperhomocisteinemia versus el 10.4 % de los epilépticos heterocigotos y el 9.3% de los epilépticos sin mutación-. Por otra parte ningún homocigoto del grupo control presentó valores de Hcy por encima de lo normal. En el análisis multivariante se evidenció que el hecho de ser portador de la mutación en estado homocigoto se asocia con aumento de la homocisteína. Estos datos sugieren que el genotipo TT677 parece incrementar el riesgo de hiperhomocisteinemia en los niños epilépticos sometidos a tratamiento crónico con FAES y están en consonancia con lo observado por Vilaseca y col (15) y Ono y col. (147), aunque la prevalencia de hiperhomocisteinemia entre los homocigotos en el presente estudio fue inferior a la observada por estos autores. Así, Vilaseca y col. (15) evidenciaron que el 100% de los niños

epilépticos portadores del genotipo TT presentaban hiperhomocisteinemia y Onoy col. (147) detectaron hiperhomocisteinemia en el 88.9% de los homocigotos que recibían politerapia.

Con respecto al ácido fólico se observó que los niveles medios son inferiores en los epilépticos homocigotos aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística. El 15% de los homocigotos epilépticos presentaban déficit de folato y aunque esta cifra fue superior a la de los otros genotipos la diferencia tampoco fue significativa. En ambos casos, posiblemente, la diferencia no fue significativa por el escaso número de pacientes (N= 20) pero al analizar a todos los homocigotos, tanto epilépticos como controles (N= 28) la diferencia entre los niveles de folato sí alcanzó significación estadística ($p=0,03$). Esta hipótesis está avalada por los resultados del análisis multivariante del que se desprende que el hecho de ser portador homocigoto de la mutación se asocia a una disminución de los niveles de folato con independencia de ser o no epiléptico.

En consonancia con lo observado por Vilaseca y col. (15) la prevalencia de hiperhomocisteinemia fue superior tanto en los homocigotos tratados con CBZ como en los tratados con VPA con respecto a los otros genotipos, si bien en el caso del tratamiento con CBZ no se pudo realizar análisis estadístico porque entre los portadores del genotipo no mutado no había ningún caso con hiperhomocisteinemia. La prevalencia de deficiencia de folato fue superior tanto en los homocigotos tratados con CBZ como en los tratados con VPA con respecto a los otros genotipos. A diferencia de lo observado en el presente estudio Vilaseca y col. evidencian un aumento de la prevalencia de déficit de folato en los homocigotos tratados con CBZ comparado con los otros genotipos pero no encuentran relación entre el déficit de folato y el genotipo homocigoto

entre los tratados con VPA. Estos autores sugieren que tanto el VPA como la CBZ parecen influir en la prevalencia de hiperhomocisteinemia relacionada con el genotipo de la MTHFR y en el caso de la CBZ parece relacionarse con los bajos niveles de folato pero no en el caso del VPA.

Entre los tratados en monoterapia, los niveles medios de Hcy y la prevalencia de hiperhomocisteinemia fueron significativamente superiores entre los homocigotos para la mutación C677T comparado con los otros genotipos, resultados que difieren de los de Ono y col. que evidencian que en monoterapia la prevalencia de hiperhomocisteinemia no fue significativamente diferente entre los 3 genotipos. Al igual que en nuestra serie en monoterapia, el genotipo TT no se asoció a deficiencia de folato. Los mismos autores observan que el genotipo TT se asocia a hiperhomocisteinemia y a déficit de folato en tratamientos con politerapia. En el presente estudio tanto los niveles medios como la prevalencia de hiperhomocisteinemia fueron superiores en los pacientes homocigotos con politerapia (el 50% de los homocigotos que recibían politerapia presentó hiperhomocisteinemia, frente al 16% de los pacientes sin mutación y ninguno de los heterocigotos) pero la diferencia no alcanzó significación estadística posiblemente porque en nuestro estudio solamente 4 pacientes homocigotos recibían politerapia, lo que permite especular que con un mayor número de pacientes los resultados fuesen concordantes. En politerapia no se observaron diferencias significativas en la concentración de folato ni en la prevalencia de déficit de folato entre los 3 genotipos.

No se encontró diferencia significativa entre los 3 genotipos en los valores medios de la vitamina B12 ni en cuanto al porcentaje de pacientes con déficit de esta vitamina. De hecho solo un paciente epiléptico presentó déficit de B12. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los 3 genotipos

tanto en mono como en politerapia ni en los homocigotos tratados con CBZ o VPA con respecto a los otros genotipos.

La mayoría de los estudios llevados a cabo en adultos evidencian que la hiperhomocisteinemia es más frecuente entre los epilépticos portadores de la mutación C677T en homocigosis (20,32,104,146) y algunos también observan que se asocia al estado heterocigoto (20,32,150,152). En 3 estudios (20,32,159) se analiza la relación del polimorfismo A1298C con la hiperhomocisteinemia en pacientes bajo tratamiento con FAES. Este polimorfismo, ya mencionado en la introducción, es responsable en homocigosis de una disminución del 35% de la actividad de la MTHFR. En 2 de estos estudios observan que los epilépticos tratados con FAES y que son portadores del diplotipo CT677/AC1298 presentan un mayor riesgo de hiperhomocisteinemia.

Apeland y col. (150) observan en 42 pacientes tratados con CBZ que la concentración de Hcy fue superior y la de folato fue inferior en los pacientes portadores de la mutación C677T tanto en heterocigosis como homocigosis aunque el número de homocigotos fue insuficiente como para realizar análisis estadístico.

Yoo y col. (146), en 103 epilépticos y al igual que en la presente serie encuentran que la hiperhomocisteinemia fue más frecuente entre los portadores del genotipo TT (58%) versus el genotipo CT (17%) y el CC (16%). Encontraron asociación entre hiperhomocisteinemia y genotipo TT en los tratados con PHT y CBZ.

En el estudio publicado por Belcastro y col. (104) en 259 epilépticos tratados con diversos FAES en monoterapia, los portadores del genotipo TT

mostraron una concentración plasmática de Hcy significativamente superior a la de los otros genotipos.

El estudio de Caccamo y col. (32) en el que determinan en 95 pacientes epilépticos y en 98 controles el riesgo de hiperhomocisteinemia asociada a los polimorfismos C677T y A1298C, muestra que los valores medios de Hcy fueron significativamente superiores en los epilépticos en comparación con los controles. Observan que el diplotipo CT677/AC 1298 fue más frecuente entre los epilépticos y el CT677/AA1298 fue más prevalente entre los controles. Todos los pacientes con los diplotipos TT677/AA1298; CT677/AC1298 o CT677/AA1298 mostraron un incremento significativo de la concentración de Hcy y descenso también significativo de las cifras de folato. Todos los pacientes tratados con FAES inductores enzimáticos y portadores de TT677/AA1298 o CT677/AA1298 mostraron hiperhomocisteinemia lo que sugiere que confieren un mayor riesgo de desarrollar hiperhomocisteinemia en epilépticos tratados con este tipo de FAES. Otro hallazgo relevante fue que todos los individuos, sin excepción, con el alelo TT 677 fueron portadores del alelo AA1298 (es decir de la forma no mutada) y los homocigotos CC1298 se asociaron invariablemente con el alelo no mutado del polimorfismo C677T, lo que indica que existe un desequilibrio de ligamiento entre ambos polimorfismos, y probablemente, las otras combinaciones sean incompatibles con la vida como sugiere el hecho de que se haya observado una alta frecuencia de estos diplotipos en embriones de abortos espontáneos. La prevalencia del genotipo TT677 fue del 20% en epilépticos- similar a la observada en el presente estudio- y del 18% en los controles- superior a la observada en el presente estudio-mientras que la del genotipo CC1298 fue de 6% y la del diplotipo que combina las formas heterocigotas de ambos alelos fue del 32%. Se desconoce el significado de la mayor prevalencia del diplotipo C677T/AC1298 entre los epilépticos dado que

no hay otros estudios con lo que se pueda contrastar. Los resultados de este estudio demuestran que existe un aumento significativo de Hcy en los polimorfismos T677 solos o combinados con los polimorfismos C1298.

Otro de los estudios que analizan la influencia de los polimorfismos C677T y A1298C en la hiperhomocisteinemia en pacientes tratados con FAES es el llevado a cabo por Belcastro y col en 2007 (20). En 359 epilépticos tratados con FAES clásicos y nuevos FAES observan que la hiperhomocisteinemia se asoció a los genotipos TT677/1298AA, TT677/1298AA y CT677/AC1298, y que los pacientes tratados con inductores enzimáticos que eran portadores del diplotipo TT 677/1298 AA mostraron niveles de Hcy superiores a los de los otros grupos.

Snieszawska y col. (152) en un grupo de 65 epilépticos tratados con diversos FAES en mono y politerapia evidencian que los heterocigotos para el polimorfismo C677T presentan un incremento significativo de la concentración de Hcy. Debido al escaso número de pacientes homocigotos en la muestra no fue posible realizar el análisis estadístico.

Por su parte Semmler y col. (159) en 498 epilépticos tratados con FAES no encuentran relación entre los niveles de Hcy y los polimorfismos C677T y C1298A.

Algunos autores (32,104,146) han observado en adultos epilépticos portadores del genotipo TT y tratados con CBZ o PTH un incremento del riesgo de hiperhomocisteinemia. Hasta la fecha, ninguno de los escasos estudios realizados en niños ha evidenciado un incremento del riesgo con un determinado fármaco.

Es especialmente relevante conocer la influencia de los distintos genotipos sobre los diferentes fármacos antiepilépticos dado que se trata de tratamientos crónicos que pueden causar déficit vitamínico y aumentar el riesgo de hiperhomocisteinemia en pacientes con determinados genotipos (homocigotos) bajo tratamiento con determinados FAES.

Autor y año	Ono et al 1997	Vilaseca et al 2000	Verroti et al 2000	Ono et al 2002
Grupo epilépticos	130	136	60	81
Grupo Control	81	185	63	No
Edad (años)	2 -35 (1)	4-18	14-17	1-32 años
Tiempo tratamiento	1-24 años	10 m-16años	1 año	Media en monoterapia: 3,4 años Media en politetp 6,5 años
Monoterapia	100 VPA 42 CBZ 34 PB 11 PHT 10 PRM 1 ZNS 2	VPA 74 CBZ 62	VPA 32 CBZ 28	53 VPA 24 CBZ 13 PB 8 PHT 5 ZNS 3
Politerapia	30	No	No	28
HC epilépticos	↑ en los que tenían deficit de folato	↑ vs controles	valores medios ↑ vs controles	No consta media
Prevalencia hiperHC	No consta	40,40%	No consta	20,90%
Déficit Folato/Valores medios en Epilépticos	Déficit de folato: Monoterapia 0% Politerapia 1-14 a: 7.7% ≥15 años: 17,6%	Déficit de folato: 37% con VPA: 10% con CBZ: 67% valores medios ↓ vs controles	valores medios ↓ vs controles	No consta
B12 Epilépticos	Normal	Déficit de B12 11,3% con VPA: 0% con CBZ: 21,8% valores medios ↑ con VPA	Normal	Normal
Estudio mutación C677T		SI		SI

Tabla 45. Principales datos de los estudios publicados en la edad pediátrica respecto a la repercusión de los FAES sobre la homocisteína, el ácido fólico y vitamina B12.

Autor y año	Karabiber et al 2003	Huemer et al 2005	Kurul et al 2007	Coppola et al 2012
Grupo epilépticos	62	123	25	78
Grupo Control	29	No	10	63
Edad (años)	2-16 años	2-18	6-18 casos 8-17 control	3-15
Tiempo tratamiento	>1 año	> 3 meses	>1 año	> 6 meses
Monoterapia	36 VPA 30 CBZ	CBZ 26 PB 2 VPA 40 LTG 6 OXC 3 TPM1 ESM 1 SLT 4	CBZ 11 OXC 6 VPA 8	VPA 20 CBZ 10 LEV 5
Politerapia	No	40	No	43
HC epilépticos	↑ vs controles	No consta media	No diferencia significativa vs controles	↑ vs controles
Prevalencia hiperHC	23,3 % con CBZ 30,5 % con VPA	15,50%	16%	41%
Déficit Folato/Valores medios en Epilépticos	valores medios ↓ vs controles	No deficit Valores medios ↓ en los que tenían Hiper-Hcy	No diferencia significativa vs controles	No consta deficit
B12 Epilépticos	Con VPA no diferencias con controles Con CBZ ↓ con respecto a controles	↑ en Politerapia y con VPA	No diferencia significativa vs controles	No consta deficit
Estudio mutación C677T		SI		SI

Tabla 45. Principales datos de los estudios publicados en la edad pediátrica respecto a la repercusión de los FAES sobre la homocisteína, el ácido fólico y vitamina B12 (Continuación).

Autor y año	Tümer 2002	Attilakos 2006	Ozdemir 2011	Emeksiz 2012
Grupo epilépticos	111	52	44	53
Grupo Control	46	Los pacientes antes de iniciar el tratamiento	28	24
Edad (años)	10,89 control 10,28 epilepticos	4.5-14	Casos: 4-15 años Controles; 5-14 años	12,1± 2.3
Tiempo tratamiento	3,08± 1,04 años	20 semanas	> 6 meses	> 1 año
Monoterapia	VPA 45 CBZ 27 PB 10	VPA 32 CBZ 20	VPA	VPA 26 OXC 27
Politerapia	29	No	No	No
HC epilépticos	↑ vs controles	↑ con respecto a los valores basales	↑ vs controles	No diferencia significativa vs controles
Prevalencia hiperHC	4% con Hcy > 12 2% con Hcy > 15	25% con VPA 15% con CBZ	No conta	22,60%
Déficit Folato/Valores medios en Epilépticos	Valores medios ↓ en los que tenían HiperHC Normal en el resto	↑ con VPA ↓ con CBZ	Sin cambios comparado con controles	No diferencia significativa vs controles
B12 Epilépticos	Valores medios ↓ en los que tenían HiperHC Normal en el resto	↑ con VPA No diferencias con respecto a los valores iniciales con CBZ	↑ vs controles	No diferencia significativa vs controles
Estudio mutación C677T				

Tabla 45. Principales datos de los estudios publicados en la edad pediátrica respecto a la repercusión de los FAES sobre la homocisteína, el ácido fólico y vitamina B12 (Continuación).

Autor y año	Kumar 2013	Jeeja 2014	Keenan 2014	Ono 2002
Grupo epilépticos	51	45	30	81
Grupo Control	Los pacientes antes de iniciar el tratamiento	Estudio de intervención con suplementación de folatodel que se extraen los valores basales	30	No
Edad (años)	2-12	5-12	8-18	1-32
Tiempo tratamiento	6 meses	> 6 meses	1-10 años	3,4 en monoterapia y 6.5 politerapia
Monoterapia	CBZ	VPA 28 CBZ 13 PHT 7 PB 7	VPA 12 CBZ 7 CLB 2 LTG 2 LEV 2 TPM 1	VPA 24 CBZ 13 PB 8 PHT 5 ZNS 3
Politerapia	No	No	4	28
HC epilépticos	No diferencia significativa vs controles	↑	No diferencia significativa vs controles	
Prevalencia hiperHC	Al inicio del tto 16%al final 27%	66%	No consta	20,9% (9.4% en monoterapia y 42% en politerapia)
Déficit Folato/Valores medios en Epilépticos	No diferencia significativa vs controles	No consta	No diferencia significativa vs controles	No en monoterapia 14.2% en politerapia
B12 Epilépticos	No diferencia significativa vs controles	No consta	Globalmente ↑.No diferencia significativa vs controles con CBZ	Normal
Estudio mutación C677T				

Tabla 45. Principales datos de los estudios publicados en la edad pediátrica respecto a la repercusión de los FAES sobre la homocisteína, el ácido fólico y vitamina B12 (Continuación).

Autor y año	Vurucu 2008	El-Farahaty 2015
Grupo epilépticos	93	69
Grupo Control	62	34
Edad (años)	3-15	16,1 ± 5,4
Tiempo tratamiento	> 6 meses	> 2 años
Monoterapia	CBZ 29 VPA 64	VPA 20 CBZ 14 LTG 11 TPM 12 LEV 12
Politerapia	No	No
HC epilépticos	↑	↑
Prevalencia hiperHC	No consta	16% (72% con FAES clásicos)
Déficit Folato/Valores medios en Epilépticos	↓ con CBZ ↑ con VPA	No consta
B12 Epilépticos	No dif.sig vs controles con CBZ ↑ con VPA	No consta
Estudio mutación C677T	SI	

Tabla 45. Principales datos de los estudios publicados en la edad pediátrica respecto a la repercusión de los FAES sobre la homocisteína, el ácido fólico y vitamina B12 (Continuación).



VI. CONCLUSIONES



Conclusiones.

1. Al igual que en los adultos, el tratamiento crónico con FAES se relaciona con el desarrollo de hiperhomocisteinemia en niños y esta relación se observa tanto con la CBZ como con el VPA en monoterapia.
2. No se ha aclarado si la politerapia incrementa el riesgo de desarrollar hiperhomocisteinemia.
3. Los niveles de CBZ y de VPA no se relacionan con la concentración de Hcy.
4. El aumento de la concentración de Hcy en plasma es más marcado cuanto más prolongado es el tratamiento en el tiempo.
5. El tratamiento con CBZ en monoterapia se asocia con una disminución del folato sérico mientras que el tratamiento con VPA en monoterapia tiene una escasa influencia sobre el mismo.
6. Existe una correlación inversa entre la concentración de Hcy y los niveles séricos de folato.
7. El tratamiento con FAES no disminuye los niveles séricos de vitamina B12 mientras que el tratamiento con VPA produce un incremento de los mismos.
8. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR incrementa el riesgo de desarrollar hiperhomocisteinemia en niños tratados con FAES.

9. Tanto el VPA como la CBZ influyen en la prevalencia de hiperhomocisteinemia relacionada con el genotipo homocigoto de la MTHFR.
10. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR se relaciona con una disminución de los valores séricos de folato con independencia del tratamiento con FAES.
11. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR se relaciona con una disminución de los valores séricos de folato en los pacientes tratados con CBZ y con VPA.
12. No se ha aclarado si la politerapia incrementa el riesgo de desarrollar hiperhomocisteinemia en el estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR.
13. El estado homocigoto para la mutación C677T de la MTHFR no influye sobre los valores séricos de vitamina B12 en pacientes tratados con FAES tanto en politerapia como en monoterapia con CBZ o VPA.
14. Es necesario determinar la concentración plasmática de Hcy y los niveles de folato sérico en pacientes epilépticos con el fin de minimizar el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares en la edad adulta.
15. En el momento actual la determinación del genotipo C677T de la MTHFR en pacientes epilépticos debe contemplarse sólo con fines de investigación mientras no se defina la existencia de una relación fármaco-genotipo al margen de la observada con VPA y CBZ.



VII. BIBLIOGRAFÍA



BIBLIOGRAFÍA.

1. Byron Riegel and Vincent du Vigneaud. The isolation of homocysteine and its conversion to a thiolactone. *J Biol Chem* 1935;112:149–54.
2. Couce Pico ML, Fraga Bermúdez JM. Homocistinuria y alteraciones del metabolismo de los folatos y vitamina B12. En: Sanjurjo Crespo P, Baldellou Vazquez A. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 2ª edición. Madrid: Ergon; 2001:357-366.
3. Sepúlveda-Sánchez JM, Matía-Francés R, Martínez-Salio A, González de la Aleja-Tejera J, Rodríguez-Peña Marín M, Porta-Etessam J. Homocisteína y enfermedad cerebrovascular. *Rev Neurol* 2004;38:347–58.
4. Christen WG, Ajani U a, Glynn RJ, Hennekens CH. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease: causal or casual? *Arch Intern Med* 2000;160:422–34.
5. Dalmau Serra J. Importancia de la homocisteína en pediatría. *Acta Pediatr Española* 2003;61:592–4.
6. Danvila Carbonell J, Aparicio M. Homocisteína: factor de riesgo cardiovascular en pediatría. *Acta Pediatr Española* 2001;59:88–94.
7. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969 ;56:111–28.
8. Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976;57:1079–82.
9. Peng HY, Man CF, Xu J, Fan Y. Elevated homocysteine levels and risk of cardiovascular and all-cause mortality: a meta-analysis of prospective studies. *J Zhejiang Univ Sci B* 2015;16:78–86.

10. Ueland PM, Refsum H, Beresford SA, Vollset SE. The controversy over homocysteine and cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2000;72:324–32.
11. Sener U, Zorlu Y, Karaguzel O, Ozdamar O, Coker I, Topbas M. Effects of common anti-epileptic drug monotherapy on serum levels of homocysteine, Vitamin B12, folic acid and Vitamin B6. *Seizure* 2006;15:79–85.
12. Ansari R, Mahta A, Mallack E, Luo J. Hyperhomocysteinemia and Neurologic Disorders: a Review. *J. Clin Neurol* 2014;10:281–8.
13. Zhou S, Zhang Z, Xu G. Notable epigenetic role of hyperhomocysteinemia in atherogenesis. *Lipids Health Dis* 2014;13:134.
14. Alsayouf H, Zamel KM, Heyer GL, Khuhro AL, Kahwash SB, de los Reyes EC. Role of methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) 677C>T polymorphism in pediatric cerebrovascular disorders. *J Child Neurol* 2011 ;26:318–21.
15. Vilaseca MA, Monrós E, Artuch R, Colomé C, Farré C, Valls C, et al. Anti-epileptic drug treatment in children: hyperhomocysteinaemia, B-vitamins and the 677C-->T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Eur J Paediatr Neurol* 2000;4:269–77.
16. Gil-Prieto R, Hernández V, Cano B, Oya M, Gil A. Plasma homocysteine in adolescents depends on the interaction between methylenetetrahydrofolate reductase genotype, lipids and folate: a seroepidemiological study. *Nutr Metab (Lond)* 2009;6:39.
17. Gutiérrez Revilla J, Pérez Hernández F, Tamparillas Salvador M, Calvo Martín M^a. Influencia de factores bioquímicos y genéticos en las concentraciones de homocisteína. *An Pediatr* 2004;60:215–21.

18. Dalmau Serra J, Ferrer Lorente B, Modesto Alapont V, Guillén Domínguez M, Vázquez Gomis R, Corella Piquer D, et al. Total plasma homocysteine levels. Relationship with plasmatic folic acid levels and 677C T polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *An esp pediater* 2002 ;56:409–15.
19. Mainou Cid C, García Giralt N, Vilaseca Buscà MA, Ferrer Codina I, Meco López JF, Mainou Pintó A, et al. Hyperhomocystinemia and 677C T methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism as a cardiovascular risk factor in childhood. *An esp pediater* 2002;56:402–8.
20. Belcastro V, Gaetano G, Italiano D, Oteri G, Caccamo D, Pisani LR, et al. Antiepileptic drugs and MTHFR polymorphisms influence hyperhomocysteinemia recurrence in epileptic patients. *Epilepsia* 2007;48:1990–4.
21. Jakubus T, Michalska-Jakubus M, Lukawski K, Janowska A, Czuczwar SJ, Łukawski K, et al. Atherosclerotic risk among children taking antiepileptic drugs. *Pharmacol Rep* 2009;61:411–23.
22. Elliott JO, Jacobson MP, Haneef Z. Cardiovascular risk factors and homocysteine in epilepsy. *Epilepsy Res* 2007;76:113–23.
23. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993;270:2693–8.
24. Leal AADF, Palmeira AC, Castro GMA De, Simões MODS, Ramos AT, Medeiros CCM. Homocysteine: cardiovascular risk factor in children and adolescents? *Rev Assoc Med Bras* 2013;59:622–8.
25. Llevadot J, Blanco Vaca F, González Sastre F. Determinación y utilización de la concentración plasmática de homocisteína en la práctica clínica. *Med Clin* 2005;14:544–53.

26. Zschocke J, Hoffman GF. Vademecum Matabolicum. Manual de enfermedades metabólicas pediátricas. 1ª edición. Alemania: Milupa; 2001: 39
27. Emeksiz HC, Serdaroglu A, Biberoglu G, Gulbahar O, Arhan E, Cansu A, et al. Assessment of atherosclerosis risk due to the homocysteine-asymmetric dimethylarginine-nitric oxide cascade in children taking antiepileptic drugs. *Seizure* 2013;22:124–7.
28. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J* 2015;14:6.
29. Couce Pico ML, Fernández Lorenzo JR, Fraga Bermúdez JM. Trastorno del metabolismo de los aminoácidos azufrados. En: Sanjurjo P, Baldellou A. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. 4ª ed. Madrid: Ergon;2014;509-514.
30. Tallur KK, Johnson DA, Kirk JM, Sandercock PAG, Minns RA. Folate-induced reversal of leukoencephalopathy and intellectual decline in methylene-tetrahydrofolate reductase deficiency: variable response in siblings. *Dev Med Child Neurol* 2005;47:53–6.
31. Liew S-C, Gupta E Das. Methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: Epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur J Med Genet* 2015;58:1–10.
32. Caccamo D, Condello S, Gorgone G, Crisafulli G, Belcastro V, Gennaro S, et al. Screening for C677T and A1298C MTHFR polymorphisms in patients with epilepsy and risk of hyperhomocysteinemia. *Neuromolecular Med* 2004;6:117–26.
33. Souto JC, Blanco-Vaca F, Soria JM, Buil A, Almasy L, Ordoñez-Llanos J, et al. A Genomewide Exploration Suggests a New Candidate Gene at Chromosome 11q23 as the Major Determinant of Plasma Homocysteine Levels: Results from the GAIT Project. *Am J Hum Genet* 2005 ;76:925–33.

34. 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.
35. Van Beynum IM, Smeitink JA, den Heijer M, te Poele Pothoff MT, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for ischemic stroke in children. *Circulation* 1999;99:2070–2.
36. Tonstad S, Refsum H, Ueland PM. Association between plasma total homocysteine and parental history of cardiovascular disease in children with familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1997;96:1803–8.
37. Tojo R, Leis R, Peña J. Alteraciones en el metabolismo de los lípidos y las lipoproteínas. Prevención e intervención nutricional. En: *Tratado de Nutrición pediátrica*. 1ª ed. Barcelona: Doyma; 2001:599–637.
38. Hong YM. Atherosclerotic cardiovascular disease beginning in childhood. *Korean Circ J* 2010;40:1–9.
39. McGill HC Jr, McMahan CA, Herderick EE, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP. Origin of atherosclerosis in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2000;72(S5): 1307-15.
40. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, Tracy RE, Wattigney WA. Association between Multiple Cardiovascular Risk Factors and Atherosclerosis in Children and Young Adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med* 1998; 338:1650-6.
41. Centeno Malfaz F, Alcalde Martín C. Cardiología preventiva en pediatría. Enfermedad cardiovascular. En: *Cardiología Pediátrica y cardiopatías congénitas del niño y del adolescente Volumen II*. 3ª ed. Madrid:CTO;2015: 509–12.

42. O'Donnell CJ, Elosua R. Factores de riesgo cardiovascular. Perspectivas derivadas del Framingham Heart Study. *Rev Española Cardiol* 2008 ;61:299–310.
43. Dalmau Serra J. Nuevos factores de riesgo cardiovascular detectables en la edad pediátrica. *An Esp Pediatr* 2001; 54:4-8.
44. Carreras-González G, Ordóñez-Llanos J. Adolescencia, actividad física y factores metabólicos de riesgo cardiovascular. *Rev Española Cardiol* 2007;60:565–8.
45. Tümer L, Serdaroğlu A, Hasanoğlu A, Biberoglu G, Aksoy E. Plasma homocysteine and lipoprotein (a) levels as risk factors for atherosclerotic vascular disease in epileptic children taking anticonvulsants. *Acta Paediatr* 2002;91:923–6.
46. Eiris J, Novo-Rodríguez MI, Del Río M, Meseguer P, Del Río MC, Castro-Gago M. The effects on lipid and apolipoprotein serum levels of long-term carbamazepine, valproic acid and phenobarbital therapy in children with epilepsy. *Epilepsy Res* 2000;4:1–7.
47. Eltayeb AA, Askar GA, Abu Faddan NH, Kamal TM. Prothrombotic risk factors and antithrombotic therapy in children with ischemic stroke. *Ther Adv Neurol Disord* 2015;8:71–81.
48. Jacobsen DW. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem* 1998;44:1833–43.
49. Schaffer A, Verdoia M, Casseti E, Marino P, Suryapranata H, De Luca G. Relationship between homocysteine and coronary artery disease. Results from a large prospective cohort study. *Thromb Res* 2014;134:288–93.
50. Naghshtabrizi B, Shakerian F, Hajilooi M, Emami F. Plasma homocysteine level and its genotypes as a risk factor for coronary artery disease in patients undergoing coronary angiography. *J Cardiovasc Dis Res* 2012;3:276–9.

51. 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;9:e1001177.
52. He Y, Li Y, Chen Y, Feng L, Nie Z. Homocysteine level and risk of different stroke types: A meta-analysis of prospective observational studies. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014;24:1158–65.
53. Jeon S, Kang D, Kim JS, Kwon SU. Homocysteine, small-vessel disease, and atherosclerosis: An MRI study of 825 stroke patients. *Neurology* 2014;83: 695-701.
54. Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001;104:2569–75.
55. 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(10):e108223.
56. Lim U, Cassano PA. Homocysteine and Blood Pressure in the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Epidemiol* 2002;156:1105–13.
57. Sundström J, Sullivan L, D'Agostino RB, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH, et al. Plasma homocysteine, hypertension incidence, and blood pressure tracking: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 2003;42:1100–5.
58. Den Heijer M, Lewington S, Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies. *J Thromb Haemost* 2005;3:292–9.
59. den Heijer M, Koster T, Blom HJ, Bos GM, Briet E, Reitsma PH, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:759–62.

60. Fernández-Miranda C, de la Peña P, Penas M, Saiz R, Gómez P, Gómez de la Cámara A. Hyperhomocysteinemia and treatment with antiepileptic drugs. Effects of different doses of folic acid. *Med Clin (Barc)* 2005;124:521–4.
61. Martí-Carvajal AJ, Solà I, Lathyris D. Homocysteine-lowering interventions for preventing cardiovascular events. *Cochrane database Syst Rev* 2015;1:CD006612.
62. Wang X, Qin X, Demirtas H, Li J, Mao G, Huo Y, et al. Efficacy of folic acid supplementation in stroke prevention: a meta-analysis. *Lancet* 2007;369:1876–82.
63. Zhou Y-H, Tang J-Y, Wu M-J, Lu J, Wei X, Qin Y-Y, et al. Effect of Folic Acid Supplementation on Cardiovascular Outcomes: A Systematic Review and Meta-Analysis. Wright JM, editor. *PLoS One* 2011;6:e25142.
64. Spence JD. Perspective on the efficacy analysis of the Vitamin Intervention for Stroke Prevention trial. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:1582–5.
65. Hooshmand B, Solomon A, Kåreholt I, Leiviskä J, Rusanen M, Ahtiluoto S, et al. Homocysteine and holotranscobalamin and the risk of Alzheimer disease: a longitudinal study. *Neurology* 2010;75:1408–14.
66. Beydoun MA, Beydoun HA, Gamaldo AA, Teel A, Zonderman AB, Wang Y. Epidemiologic studies of modifiable factors associated with cognition and dementia: systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2014;14:643.
67. Kim H, Lee KJ. Serum homocysteine levels are correlated with behavioral and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2014;10:1887–96.
68. Stott DJ, MacIntosh G, Lowe GDO, Rumley A, McMahon AD, Langhorne P, et al. Randomized controlled trial of homocysteine-lowering vitamin treatment in elderly patients with vascular disease. *Am J Clin Nutr* 2005;82(6):1320–6.

69. Moghaddasi M, Mamarabadi M, Mohebi N, Razjouyan H, Aghaei M. Homocysteine, vitamin B12 and folate levels in Iranian patients with Multiple Sclerosis: a case control study. *Clin Neurol Neurosurg* 2013;115:1802–5.
70. Salemi G, Gueli M, Vitale F, Battaglieri F, Guglielmini E, Ragonese P, et al. Blood lipids, homocysteine, stress factors, and vitamins in clinically stable multiple sclerosis patients. *Lipids Health Dis* 2010 ;9:19-25.
71. Zhang D, Wen X, Wu W, Guo Y, Cui W. Elevated homocysteine level and folate deficiency associated with increased overall risk of carcinogenesis: meta-analysis of 83 case-control studies involving 35,758 individuals. *PLoS One* 2015;10:e0123423.
72. Numata S, Kinoshita M, Tajima A, Nishi A, Imoto I, Ohmori T. Evaluation of an association between plasma total homocysteine and schizophrenia by a Mendelian randomization analysis. *BMC Med Genet* 2015;16:54.
73. Ozdemir O, Turksoy N, Bilici R, Tufan AE, Ornek I, Kara A, et al. Vitamin B12, folate, and homocysteine levels in patients with obsessive–compulsive disorder. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2014;10:1671-5.
74. Puig-Alcaraz C, Fuentes-Albero M, Calderón J, Garrote D, Cauli O. Increased homocysteine levels correlate with the communication deficit in children with autism spectrum disorder. *Psychiatry Res* 2015;229:1031–7.
75. Kałużna-Czaplińska J, Żurawicz E, Michalska M, Rynkowski J. A focus on homocysteine in autism. *Acta Biochim Pol* 2013;60:137–42.
76. Vilaseca MA, Moyano D, Artuch R, Ferrer I, Pineda M, Cardo E, et al. Selective screening for hyperhomocysteinemia in pediatric patients. *Clin Chem* 1998;44:662–4.
77. Ganji V, Kafai MR. Population references for plasma total homocysteine concentrations for U.S. children and adolescents in the post-folic acid fortification era. *J Nutr* 2005;135:2253–6.

78. Joachim E, Goldenberg NA, Bernard TJ, Armstrong-Wells J, Stabler S, Manco-Johnson MJ. The methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (MTHFR c.677C>T) and elevated plasma homocysteine levels in a U.S. pediatric population with incident thromboembolism. *Thromb Res* 2013;132:170–4.
79. Cardo E, Vilaseca MA, Campistol J, Artuch R, Colomé C, Pineda M. Evaluation of hyperhomocysteinaemia in children with stroke. *Eur J Paediatr Neurol* 1999;3:113–7.
80. Cardo E, Monrós E, Colomé C, Artuch R, Campistol J, Pineda M, et al. Children with stroke: polymorphism of the MTHFR gene, mild hyperhomocysteinemia, and vitamin status. *J Child Neurol* 2000;15:295–8.
81. Leniček Krleža J, Đuranović V, Bronić A, Coen Herak D, Mejaški-Bošnjak V, Zadro R. Multiple presence of prothrombotic risk factors in Croatian children with arterial ischemic stroke and transient ischemic attack. *Croat Med J* 2013;54:346–54.
82. Haywood S, Liesner R, Pindora S, Ganesan V. Thrombophilia and first arterial ischaemic stroke: a systematic review. *Arch Dis Child* 2005;90:402–5.
83. Sarecka-Hujar B, Kopyta I, Pienczk-Reclawowicz K, Reclawowicz D, Emich-Widera E, Pilarska E. The TT genotype of methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism increases the susceptibility to pediatric ischemic stroke: Meta-analysis of the 822 cases and 1,552 controls. *Mol Biol Rep* 2012;39:7957–63.
84. Cardo E, Monrós E, Colomé C, Artuch R, Campistol J, Pineda M et al. Children With Stroke: Polymorphism of the MTHFR Gene, Mild Hyperhomocysteinemia, and Vitamin Status. *J Child Neurol* 2000; 15: 295–8.

85. Greenlund KJ, Srinivasan SR, Xu JH, Dalferes E, Myers L, Pickoff A, et al. Plasma homocysteine distribution and its association with parental history of coronary artery disease in black and white children: the Bogalusa Heart Study. *Circulation* 1999;99:2144–9.
86. De Laet C, Wautrecht JC, Brasseur D, Dramaix M, Boeynaems JM, Decuyper J, et al. Plasma homocysteine concentration in a Belgian school-age population. *Am J Clin Nutr* 1999;69:968–72.
87. 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.
88. Hamed SA, Hamed EA, Hamdy R, Nabeshima T. Vascular risk factors and oxidative stress as independent predictors of asymptomatic atherosclerosis in adult patients with epilepsy. *Epilepsy Res* 2007;74:183–92.
89. Katsiki N, Mikhailidis DP, Nair DR. The effects of antiepileptic drugs on vascular risk factors: a narrative review. *Seizure* 2014;23:677–84.
90. Nilsson L, Tomson T, Farahmand BY, Diwan V, Persson PG. Cause-specific mortality in epilepsy: a cohort study of more than 9,000 patients once hospitalized for epilepsy. *Epilepsia* 1997;38:1062–8.
91. Muuronen A, Kaste M, Nikkilä EA, Tolppanen EM. Mortality from ischaemic heart disease among patients using anticonvulsive drugs: a case-control study. *Br Med J* 1985;291:1481–3.
92. Nakken KO, Kornstad S. Do males 30-50 years of age with chronic epilepsy and on long-term anticonvulsant medication have lower-than-expected risk of developing coronary heart disease? *Epilepsia* 1998;39:326–30.
93. Huemer M, Ausserer B, Graninger G, Hubmann M, Huemer C, Schlachter K, et al. Hyperhomocysteinemia in children treated with antiepileptic drugs is normalized by folic acid supplementation. *Epilepsia* 2005;46:1677–83.

94. Keenan N, Sadlier LG WE. Vascular function and risk factors in children with epilepsy: associations with sodium valproate and carbamazepine. *Epilepsy res* 2014;108:1087-94.
95. Eirís JM, Lojo S, Del Río MC, Novo I, Bravo M, Pavón P, et al. Effects of long-term treatment with antiepileptic drugs on serum lipid levels in children with epilepsy. *Neurology* 1995;45:1155-7.
96. Castro-Gago M, Novo-Rodríguez MI, Blanco-Barca MO, Urisarri-Ruíz de Cortázar A, Rodríguez-García J, Rodríguez-Segade S, et al. Evolution of serum lipids and lipoprotein (a) levels in epileptic children treated with carbamazepine, valproic acid, and phenobarbital. *J Child Neurol* 2006;21:48-53.
97. Brämwig S, Sudhop T, Luers C, von Bergmann K, Berthold HK. Lipoprotein(a) concentration increases during treatment with carbamazepine. *Epilepsia* 2003;44:457-60.
98. Castro-Gago M, Novo-Rodríguez MI, Gómez-Lado C, Rodríguez-García J, Rodríguez-Segade S, Eirís-Puñal J. Evolution of Subclinical Hypothyroidism in Children Treated With Antiepileptic Drugs. *Pediatr Neurol* 2007;37:426-30.
99. El-Farahaty RM, El-Mitwalli A, Azzam H, Wasel Y, Elrakhawy MM, Hasaneen BM. Atherosclerotic Effects of Long-Term Old and New Antiepileptic Drugs Monotherapy: A Cross-Sectional Comparative Study. *J Child Neurol* 2015;30:451-7.
100. Oz O, Gökçil Z, Bek S, Cakir E, Odabasi Z. Is asymmetric dimethylarginine responsible for the vascular events in patients under antiepileptic drug treatment?. *Epilepsy res* 2009;87:54-8.
101. Ozdemir O, Yakut A, Dinleyici EC, Aydogdu SD, Yazar C, Colak O. Serum asymmetric dimethylarginine (ADMA), homocysteine, vitamin B(12), folate levels, and lipid profiles in epileptic children treated with valproic acid. *Eur J Pediatr* 2011;170:873-7.

102. Ono H, Sakamoto A, Eguchi T, Fujita N, Nomura S, Ueda H, et al. Plasma total homocysteine concentrations in epileptic patients taking anticonvulsants. *Metabolism* 1997;46:959–62.
103. Coppola G, Ingrosso D, Operto FF, Signoriello G, Lattanzio F, Barone E, et al. Role of folic acid depletion on homocysteine serum level in children and adolescents with epilepsy and different MTHFR C677T genotypes. *Seizure* 2012;21:340–3.
104. Belcastro V, Striano P, Gorgone G, Costa C, Ciampa C, Caccamo D, et al. Hyperhomocysteinemia in epileptic patients on new antiepileptic drugs. *Epilepsia* 2010;51:274–9.
105. Kurul S, Unalp A, Yiş U. Homocysteine levels in epileptic children receiving antiepileptic drugs. *J Child Neurol* 2007;22:1389–92.
106. Karabiber H, Sonmezgoz E, Ozerol E, Yakinci C, Otlu B, Yologlu S. Effects of valproate and carbamazepine on serum levels of homocysteine, vitamin B12, and folic acid. *Brain Dev* 2003;25:113–5.
107. Verrotti a., Pascarella R, Trotta D, Giuva T, Morgese G, Chiarelli F. Hyperhomocysteinemia in children treated with sodium valproate and carbamazepine. *Epilepsy Res* 2000;41:253–7.
108. Díez N, Pérez R, Urdaneta E, Marzo F, Santidrian S. Acido fólico I. *Acta Pediatr Española* 2003;61:547–55.
109. Díez N, Pérez R, Urdaneta E, Marzo F, Santidrian S. Acido fólico II. *Acta Pediatr Española* 2003;61:614–23.
110. Fleta J, Olivares JL. Vitaminas hidrosolubles en la nutrición infantil. En: *Nutrición en Pediatría*. 3ª ed. Madrid: Ergon; 2007:91–101.
111. Reynolds EH. The neurology of folic acid deficiency. *Handb Clin Neurol* 2014;120:927–43.

112. Araújo JR, Martel F, Borges N, Araújo JM, Keating E. Folates and Ageing: role in mild cognitive impairment, dementia and depression. *Ageing Res Rev* 2015;22:9–19.
113. González Ordóñez AJ. Homocysteine and low dietary intake: two complementary forms of impairment (correction of improvement). *Med Clin (Barc)* 2005;124:541–3.
114. Ji Y, Kong X, Wang G, Hong X, Xu XX, Chen Z, et al. Distribution and Determinants of Plasma Homocysteine Levels in Rural Chinese Twins across the Lifespan. *Nutrients* 2014;6:5900–14.
115. Taguchi T, Mori H, Hamada A, Yamori Y, Mori M. Serum folate, total homocysteine levels and methylenetetrahydrofolate reductase 677C>T polymorphism in young healthy female Japanese. *Asia Pac J Clin Nutr* 2012;21:291–5.
116. Apeland T, Mansoor MA, Strandjord RE. Antiepileptic drugs as independent predictors of plasma total homocysteine levels. *Epilepsy Res* 2001;47:27–35.
117. Linnebank M, Moskau S, Semmler A, Widman G, Stoffel-Wagner B, Weller M, et al. Antiepileptic drugs interact with folate and vitamin B12 serum levels. *Ann Neurol* 2011;69:352–9.
118. James GK, Jones MW, Pudek MR. Homocysteine levels in patients on phenytoin therapy. *Clin Biochem* 1997;30:647–9.
119. Schwaninger M, Ringleb P, Winter R, Kohl B, Fiehn W, Rieser PA, et al. Elevated plasma concentrations of homocysteine in antiepileptic drug treatment. *Epilepsia* 1999;40:345–50.
120. Jeeja MC, Jayakrishnan T, Narayanan P V, Kumar MS V, Thejus T, Anilakumari VP. Folic acid supplementation on homocysteine levels in children taking antiepileptic drugs: A randomized controlled trial. *J Pharmacol Pharmacother* 2014;5:93–9.

121. Morrell MJ. Folic Acid and Epilepsy. *Epilepsy Curr* 2002;2:31–4.
122. Mariño JE, Monedero I, Peláez C. Deficiencia de vitamina B12 y tratamiento por vía oral. Una opción tan eficaz como (todavía) poco utilizada. *Aten Primaria* 2003; 32:382–7.
123. Mariño Suárez JE, Monedero Recuero I, Peláez Laguno C. [B12 vitamin deficiency and oral treatment. An option as efficient as (still) infrequently used]. *Aten Primaria* 2003;15 ;32:382–7.
124. Vry M-SS, Haerter K, Kastrup O, Gizewski E, Frings M, Maschke M. Vitamine-B12-deficiency causing isolated and partially reversible leukoencephalopathy. *J Neurol* 2005;252:980–2.
125. Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, Nouri M, Heshmat R, Bandarian F, et al. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 status in healthy Iranian adults: the Tehran homocysteine survey (2003-2004)/a cross-sectional population based study. *BMC Public Health* 2006;6:29.
126. Apeland T, Mansoor MA, Strandjord RE, Kristensen O. Homocysteine concentrations and methionine loading in patients on antiepileptic drugs. *Acta Neurol Scand* 2000;101:217–23.
127. Prengler M, Sturt N, Krywawych S, Surtees R, Liesner R, Kirkham F. Homozygous thermolabile variant of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: a potential risk factor for hyperhomocysteinaemia, CVD, and stroke in childhood. *Dev Med Child Neurol* 2001;43:220–5.
128. B. Ferrer Lorente, V. Modesto i Alapont JDS. Determinantes de la concentración de homocisteína plasmática. *An Pediatr* 2004;61:344-52.
129. Li P, Qin C. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphisms and susceptibility to ischemic stroke: a meta-analysis. *Gene* 2014 ;535:359–64.

130. Kumar A, Kumar P, Prasad M, Sagar R, Yadav AK, Pandit AK, et al. Association of C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR gene) with ischemic stroke: a meta-analysis. *Neurol Res* 2015;37:568–77.
131. Kang S, Zhao X, Liu L, Wu W, Zhang D. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with hemorrhagic stroke: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers* 2013;17:412–7.
132. Xuan C, Bai X-Y, Gao G, Yang Q, He G-W. Association between polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T and risk of myocardial infarction: a meta-analysis for 8,140 cases and 10,522 controls. *Arch Med Res* 2011;42:677–85.
133. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR 677C-->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002;288:2023–31.
134. Brattström L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* 1998;98:2520–6.
135. Rubino E, Ferrero M, Rainero I, Binello E, Vaula G, Pinessi L. Association of the C677T polymorphism in the MTHFR gene with migraine: a meta-analysis. *Cephalalgia* 2009;29:818–25.
136. Azimova JE, Sergeev A V, Korobeynikova LA, Kondratieva NS, Kokaeva ZG, Shaikhaev GO, et al. Effects of MTHFR gene polymorphism on the clinical and electrophysiological characteristics of migraine. *BMC Neurol* 2013;13:103-109.
137. Gómez-Lado C, Pérez-gay L, Eiris-Puñal J, Castro-Gago M. Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene Polymorphism and Migraine. *J Child Neurol* 2012;27:544–544.

138. Yang K-M, Jia J, Mao L-N, Men C, Tang K-T, Li Y-Y, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism and essential hypertension: A meta-analysis of 10,415 subjects. *Biomed reports* 2014;2:699–708.
139. Wu Y-L, Hu C-Y, Lu S-S, Gong F-F, Feng F, Qian Z-Z, et al. Association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/A1298C polymorphisms and essential hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Metabolism* 2014;63:1503–11.
140. Cai W, Yin L, Yang F, Zhang L, Cheng J. Association between Hcy levels and the CBS844ins68 and MTHFR C677T polymorphisms with essential hypertension. *Biomed reports* 2014;2:861–8.
141. Chen H, Yang X, Lu M. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in China: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet* 2015. Artículo publicado online el 23 septiembre de 2015 disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26399758>. Pendiente de publicación en papel.
142. Niu W-Q, You Y-G, Qi Y. Strong association of methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism with hypertension and hypertension-in-pregnancy in Chinese: a meta-analysis. *J Hum Hypertens* 2011;26:259–67.
143. Wu Y-L, Ding X-X, Sun Y-H, Yang H-Y, Sun L. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T/A1298C polymorphisms and susceptibility to Parkinson's disease: a meta-analysis. *J Neurol Sci* 2013;335:14–21.
144. Hu C-Y, Qian Z-Z, Gong F-F, Lu S-S, Feng F, Wu Y-L, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism susceptibility to schizophrenia and bipolar disorder: an updated meta-analysis. *J Neural Transm* 2015;122:307–20.

145. Wu Y-L, Ding X-X, Sun Y-H, Yang H-Y, Chen J, Zhao X, et al. Association between MTHFR C677T polymorphism and depression: An updated meta-analysis of 26 studies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013;46:78–85.
146. Yoo JH, Hong SB. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is a determinant of hyperhomocysteinemia in epileptic patients receiving anticonvulsants. *Metabolism* 1999;48:1047–51.
147. Ono H, Sakamoto A, Mizoguchi N, Sakura N. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene contributes to hyperhomocysteinemia in patients taking anticonvulsants. *Brain Dev* 2002;24:223–6.
148. Vurucu S, Demirkaya E, Kul M, Unay B, Gul D, Akin R, et al. Evaluation of the relationship between C677T variants of methylenetetrahydrofolate reductase gene and hyperhomocysteinemia in children receiving antiepileptic drug therapy. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008;32:844–8.
149. Attilakos A, Papakonstantinou E, Schulpis K, Voudris K, Katsarou E, Mastroianni S, et al. Early effect of sodium valproate and carbamazepine monotherapy on homocysteine metabolism in children with epilepsy. *Epilepsy Res* 2006;71:229–32.
150. Apeland T, Mansoor MA, Strandjord RE, Vefring H, Kristensen O. Folate, homocysteine and methionine loading in patients on carbamazepine. *Acta Neurol Scand* 2001;103:294–9.
151. Ni G, Qin J, Fang Z, Chen Y, Chen Z, Zhou J, et al. Increased homocysteine levels in valproate-treated patients with epilepsy: a meta-analysis. *BMJ Open* 2014;4:e004936–e004936.

152. Sniezawska A, Dorszewska J, Rozycka A, Przedpelska-Ober E, Lianeri M, Jagodzinski PP, et al. MTHFR, MTR, and MTHFD1 gene polymorphisms compared to homocysteine and asymmetric dimethylarginine concentrations and their metabolites in epileptic patients treated with antiepileptic drugs. *Seizure* 2011;20:533–40.
153. Tamura T, Aiso K, Johnston KE, Black L, Faught E. Homocysteine, folate, vitamin B-12 and vitamin B-6 in patients receiving antiepileptic drug monotherapy. *Epilepsy Res* 2000;40:7–15.
154. Kumar V, Aggarwal A, Sharma S, Chillar N, Mittal H, Faridi MM. Effect of carbamazepine therapy on homocysteine, vitamin B12 and folic acid levels in children with epilepsy. *Indian Pediatr* 2013;50:469–72.
155. Gidal BE, Tamura T, Hammer A, Vuong A. Blood homocysteine, folate and Vitamin B-12 concentrations in patients with epilepsy receiving lamotrigine or sodium valproate for initial monotherapy. *Epilepsy Res* 2005;64:161–6.
156. Marangos PJ, Loftus T, Wiesner J, Lowe T, Rossi E, Browne CE, et al. Adenosinergic modulation of homocysteine-induced seizures in mice. *Epilepsia* 1990;31:239–46.
157. May RB, Sunder TR. Hematologic manifestations of long-term valproate therapy. *Epilepsia* 1993;34:1098–101.
158. Dean JCS, Robertson Z, Reid V, Wang Q, Hailey H, Moore S, et al. A high frequency of the MTHFR 677C>T polymorphism in Scottish women with epilepsy: possible role in pathogenesis. *Seizure* 2008;17:269–75.
159. Semmler A, Moskau-Hartmann S, Stoffel-Wagner B, Elger C, Linnebank M. Homocysteine plasma levels in patients treated with antiepileptic drugs depend on folate and vitamin B12 serum levels, but not on genetic variants of homocysteine metabolism. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:665–9.





ANEXO I





Consellería de Sanidade
SERGAS
 División de Farmacia e Produtos Sanitarios

www.sergas.es

Edificio Administrativo San Lázaro
 15703 Santiago de Compostela
 Teléfono (981) 54 28 12 - Fax (981) 54 18 04

Comité Ético de Investigación Clínica
 Edificio Administrativo San Lázaro, s/n
 15703 Santiago de Compostela
 Telf. (981) 54 64 25 — Fax (981) 54 18 04
 E-mail: ceic@sergas.es

Informe del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

D. Miguel Amor Otero, Secretario del Comité Ético de Investigación Clínica de Galicia

CERTIFICA:

Que este Comité ha evaluado en su reunión del 3 de diciembre de 2003 la propuesta del Servicio de Pediatría.C.H. Universitario de Santiago para que se realice el estudio titulado "*Repercusión de los fármacos antiepilépticos sobre la concentración sanguínea de homocisteína, de ácido fólico y de vitamina B12*", con nuestro número de registro: **2003/260**, y considera que:

Se cumplen los requisitos éticos aplicables a este tipo de estudios, están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto y es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.

Y que este Comité acepta, de conformidad con sus Procedimientos Normalizados de Trabajo, que dicho estudio sea realizado en el Centro/s C.H. Universitario de Santiago por Manuel Castro Gago como investigador/es principal/es.

Lo que firmo en Santiago de Compostela a 04 de diciembre de 2003.

Firmado:

Miguel Amor Otero

NOTA genérica: Debido a las connotaciones éticas y la especial naturaleza del consentimiento informado, es exigible que, con anterioridad al reclutamiento de pacientes, esté disponible una versión fidedigna y redactada en gallego normativo del mismo (hojas de información y de firmas). Garantizándose así, el derecho del paciente al acceso a la información en los idiomas oficiales de Galicia y la completa comprensión del consentimiento informado.

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA.

SERVICIO DE NEUROPEDIATRÍA.

Jefe de Servicio: Prof. Dr. M. Castro Gago.

INFORMACIÓN AL PACIENTE (PADRES “MADRE Y/O PADRE” DEL NIÑO) Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE HOMOCISTEINA, VITAMINA B12 Y DE ÁCIDO FÓLICO, Y VALORACIÓN DEL ESTADO HOMOCIGOTO Y/O HETEROCIGOTO PARA LA MUTACIÓN T677C DEL GEN DE LA METILENTETRAHIDROFOLATORREDUCTASA EN LOS NIÑOS EPILÉPTICOS A TRATAMIENTO CON UN FÁRMACO ANTIEPILÉPTICO.

Estimados Sres.:

Su

hijo/a:

,
como ya se le informó en su momento padece una epilepsia que está siendo tratada y controlada con un fármaco antiepiléptico denominadoCon la finalidad de valorar su evolución y los posibles efectos secundarios del fármaco, están realizando desde su diagnóstico controles periódicos en este Servicio Especializado (aproximadamente uno al

año) en los que se valoran los siguientes aspectos: la evolución clínica del niño, la evolución del electroencefalograma, los denominados niveles séricos del fármaco, y sus posibles efectos secundarios (clínicos y/o bioquímicos).

Un aspecto muy importante en relación con el problema que padece su hijo/a es que recientemente se ha observado en un porcentaje variable de adultos y de niños tratados con algunos fármacos antiepilépticos, entre los que se incluye el que recibe su hijo/a, aumento en la sangre de una sustancia denominada homocisteína, asociado en ocasiones a un descenso de otras dos sustancias que se llaman vitamina B12 y ácido fólico, respectivamente. Estas alteraciones en ocasiones guardan relación con el estado homocigoto y/o heterocigoto para la mutación T677C del gen de la Metilentetrahidrofolato reductasa. Se preguntará que problemas pueden plantear estas alteraciones en la sangre y si es posible corregirlas. El aumento de homocisteína en la sangre aumenta discretamente el riesgo para padecer un accidente vascular cerebral, y esta alteración (el aumento de la homocisteína) puede en teoría corregirse tomando por la boca una determinada cantidad de ácido fólico. De lo anterior se deduce la importancia que tiene el conocer la concentración sanguínea de homocisteína, de vitamina B12 y de ácido fólico en los niños epilépticos a tratamiento con un determinado fármaco antiepiléptico, entre los que se incluye su hijo/a.

Con la finalidad de valorar el efecto que ejerce el fármaco antiepiléptico que toma su hijo/a sobre la concentración sanguínea de homocisteína, de vitamina B12 y de ácido fólico, así como su posible relación con el citado gen, solicitamos su consentimiento informado para obtener una pequeña muestra de sangre extra de paso que se le hace la extracción sanguínea para la

determinación rutinaria del nivel sérico del fármaco antiepiléptico.

D.

DNI:

Parentesco con el paciente:

Una vez leída y comprendida la información previa, y haber preguntado todas las posibles dudas que me surgieron, autorizo que a mi hijo/a en el presente control evolutivo le hagan una pequeña extracción extra de sangre de paso que le hacen la extracción sanguínea para la determinación rutinaria del nivel sérico del fármaco.

Fdo.:

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA.**SERVICIO DE NEUROPEDIATRÍA.**

Jefe de Servicio: Prof. Dr. M. Castro Gago.

INFORMACIÓN AL PACIENTE (PADRES “MADRE Y/O PADRE” DEL NIÑO) Y CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE HOMOCISTEINA, VITAMINA B12 Y DE ÁCIDO FÓLICO, Y VALORACIÓN DEL ESTADO HOMOCIGOTO Y/O HETEROCIGOTO PARA LA MUTACIÓN T677C DEL GEN DE LA METILENTETRAHIDROFOLATOREDUCTASA EN PACIENTES PERTENECIENTES AL GRUPO CONTROL.

Estimados Sres.:

En nuestro Servicio estamos llevando a cabo un estudio en pacientes epilépticos tratados con determinados fármacos para controlar su enfermedad. Recientemente se ha observado en un porcentaje variable de adultos y de niños tratados con algunos fármacos antiepilépticos un aumento en la sangre de una sustancia denominada homocisteína, asociado en ocasiones a un descenso de otras dos sustancias que se llaman vitamina B12 y ácido fólico, respectivamente. Estas alteraciones en ocasiones guardan relación con el estado

homocigoto y/o heterocigoto para la mutación T677C del gen de la Metilentetrahidrofolato reductasa. El aumento de homocisteína en la sangre aumenta discretamente el riesgo para padecer un accidente vascular cerebral, y esta alteración (el aumento de la homocisteína) puede en teoría corregirse tomando por la boca una determinada cantidad de ácido fólico. De lo anterior se deduce la importancia que tiene el conocer la concentración sanguínea de homocisteína, de vitamina B12 y de ácido fólico en los niños epilépticos a tratamiento con un determinado fármaco antiepiléptico.

Con la finalidad de valorar el efecto que ejercen los fármacos antiepilépticos sobre la concentración sanguínea de homocisteína, de vitamina B12 y de ácido fólico, así como su posible relación con el citado gen, necesitamos disponer de un grupo de pacientes que no sean epilépticos ni reciban tratamiento antiepiléptico para poder compararlos con los niños epilépticos.

Su hijo..... va a realizarse una analítica sanguínea como parte de su estudio, solicitamos su consentimiento para poder extraer una pequeña muestra de sangre adicional para determinar los parámetros objeto de nuestro estudio en la misma.

D.

DNI:

Parentesco con el paciente:

Una vez leída y comprendida la información previa, y haber preguntado todas las posibles dudas que me surgieron, autorizo que a mi hijo/a en el presente control evolutivo le hagan una pequeña extracción extra de sangre de paso que le hacen la extracción sanguínea para las determinaciones bioquímicas indicadas para la valoración de su proceso clínico básico.

Fdo.:

