

# Génetica y Arteriosclerosis

Serna, J.A.; Abad, C.

Servicio de Cirugía Cardiovascular. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

## Resumen

Se revisan conceptos actuales sobre la etiopatogenia de la arteriosclerosis humana, especialmente los factores genéticos (polimorfismo), la homocistemia, el endotelio vascular y los radicales libres de oxígeno.

## Palabras Clave

Genética. Arteriosclerosis.

## Introducción

El daño causado a la humanidad por la arteriosclerosis y en especial la enfermedad coronaria, en muertes prematuras, secuelas que afectan seriamente el bienestar, la expectativa y la calidad de vida de la población, además de los costos que origina por pérdidas de vidas y atención en recursos humanos y tecnológicos, que generan una elevada demanda en servicios de salud de alta complejidad, han convertido esta enfermedad en uno de los problemas médicos más temidos del siglo XXI (1).

La arteriosclerosis, a través de sus diferentes manifestaciones clínicas, en especial de la enfermedad coronaria, continúa siendo la causa más importante de morbilidad y mortalidad en las sociedades modernas y en el mundo occidental (1-5).

La etiopatogenia es un proceso complejo y multifactorial, parcialmente hereditario, resultado de la interacción entre diferentes genes y el medio ambiente, la cual se produce en respuesta a lesiones en el endotelio, originando un fenotipo específico, que constituye el

punto de partida de las enfermedades cardiovasculares. Se desconocen en su totalidad los genes involucrados en dicho proceso (1,5-8).

La arteriosclerosis y la trombosis son procesos íntimamente relacionados entre sí. El aumento de la actividad procoagulante o la disminución de la capacidad fibrinolítica pueden contribuir al progreso de la placa de ateroma y/o favorecer la formación del trombo y la oclusión arterial coronaria en el momento de la rotura (8).

Según el reporte "The World Health" 2001, la aterotrombosis es y será la principal responsable de la mortalidad y discapacidad en los países industrializados hasta el año 2020, pese a los progresos en el tratamiento médico y quirúrgico de la enfermedad aterotrombótica (9).

Los conocimientos sobre el origen y la fisiopatología de la enfermedad aterotrombótica se acrecientan día a día, pero aún desconocemos los aspectos claves que permitan prevenir su aparición o curarla. A pesar de los recientes avances en el estudio de la enfermedad coronaria, los mecanismos etiopatogénicos están aún por definirse (10).

Los factores de riesgo tales como la Diabetes Mellitus, la hipertensión arterial, la obesidad, la dislipemia y el tabaquismo, se han documentado ampliamente. También se sabe que los antecedentes familiares de cardiopatía isquémica, comportan un factor de riesgo coronario independiente. Esto deja en evidencia el carácter multifactorial de la enfermedad, en la que interactúan tanto factores genéticos como ambientales (1,5,11).

Sin embargo estos factores de riesgo solo contribuyen como máximo en el 50% de los casos, al desarrollo de enfermedad arterial coronaria y generalmente se encuentran asociados entre sí como causantes de la enfermedad, sin que el mecanismo exacto por el cual se produzca el fenómeno aterosclerótico este bien conocido (1,12).

Tradicionalmente la prevención de las enfermedades relacionadas con la arteriosclerosis se ha enfocado al estudio y control de los lípidos. No hay duda que se ha avanzado significativamente en este aspecto y que se han prevenido muertes por esta causa. Sin embargo, se ha observado que cerca de la mitad de los pacientes que mueren por enfermedad cardiovascular no tienen alteraciones significativas en el metabolismo de los lípidos, ni presenta los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales suficientes como para explicar su aparición y las complicaciones inherentes (1,13). Resulta obvio entender la necesidad de investigar nuevos marcadores de riesgo cardiovascular que contribuyan a dilucidar tan devastador espectro.

En este contexto, la sospecha de que la variabilidad genética ejerza un papel relevante del riesgo cardiovascular resulta intere-

## Correspondencia

Dr. Jaime A. Serna G.

Hospital Universitario de GC Dr. Negrín. Servicio de Cirugía Cardiovascular.

c/ Barranco de la Ballena s/n. 35010. Las Palmas de GC.

e-mail: jaimeaserna@hotmail.com

sante. Es por esta razón que se estén buscando activamente factores etiológicos en el ámbito de la genética molecular. Las novedosas técnicas en el campo de la biología molecular aplicadas al diagnóstico genético, hacen factible el estudio de los mecanismos implicados en la predisposición individual y familiar a padecer ciertas enfermedades.

Las características personales y de los hábitos de vida, que se relacionan de manera independiente, con la probabilidad de desarrollar enfermedad coronaria se conocen como "factores de riesgo cardiovascular". A partir del inicio del mundialmente conocido estudio de Framingham en 1948, se desarrolló por primera vez el concepto de factores de riesgo (1,14).

### **Interrelación Genotipo (alelos) - Medio Ambiente**

Aunque el papel de los factores medioambientales en el desarrollo del infarto agudo de miocardio está establecido claramente, el papel de los factores genéticos, particularmente aquellos relacionados con la trombogénesis, continúan siendo objeto de arduo estudio (15).

Mientras que el número de polimorfismo descritos y asociados con las enfermedades cardiovasculares rápidamente incrementan, los mecanismos subyacentes y las implicaciones funcionales de tales alteraciones son a menudo pobremente entendidos. Adicionalmente los hallazgos de los estudios de asociación genética son frecuentemente contradictorios, lo cual limita la aceptación universal del papel de estas variantes genéticas en el proceso de la enfermedad en los humanos (16). Se han descrito numerosos alelos de riesgo y la lista de genes candidatos no cesa de ampliarse (17). Nuestro conocimiento no obstante, tiene importantes limitaciones. En la mayoría de los casos la relación que se encuentra con el riesgo coronario es solo modesta o está en entredicho (18).

La hipótesis de que el riesgo de padecer enfermedad coronaria, sea función del número de polimorfismo desfavorables que porta un individuo y que a su vez estos puedan tener un efecto patógeno en presencia de un escenario ambiental apropiado, esta tomando auge. Esto parece ser fundamentalmente cierto en la arteriosclerosis y en la enfermedad arterial coronaria en particular, enfermedad ésta típicamente poligénica y multifactorial (7).

La identificación de los genes involucrados en el incremento del riesgo coronario, es un proceso arduo, por fortuna en creciente evolución durante la última década, merced a los avances de la biotecnología, que ha facilitado la detección de los cambios en la secuencia del ADN que puedan tener implicaciones deletéreas. Estas alteraciones se denominan mutaciones o polimorfismo (7).

Las mutaciones y los polimorfismo son palabras afines, pero el término mutaciones se aplica a los cambios que alteran considerablemente la función de la proteína o la enzima codificada. En este caso es suficiente un gen para provocar la enfermedad (enfermedad monogénica). Las mutaciones afortunadamente se presentan infrecuentemente. Por el contrario, si las variaciones genéticas son comunes (frecuencia de presentación en más del 1% de la población) se habla de polimorfismo, en cuyo caso la afectación funcional es más discreta, pero supone una minusvalía (un factor de riesgo genético), cuando el organismo se enfrenta a una mayor demanda metabólica o a un factor de riesgo ambiental (dieta rica en colesterol, el estrés o el tabaco). No obstante, diversos polimorfismo, no tienen consecuencias funcionales. La confluencia de varios polimorfismo desfavorables puede inducir la presencia de una enfermedad (poligénica), cuya manifestación requiere habitualmente la consonancia con un entorno ambiental idóneo (enfermedad multifactorial). La arteriosclerosis constituye una situación más relevante y se

han descrito un número considerable de polimorfismo posiblemente implicados (7).

Diferentes polimorfismo condicionan un incremento o una reducción en el riesgo de desarrollar infarto del miocardio, aunque ciertamente este efecto es pequeño. Amplios estudios con elevado número de pacientes confirman el efecto marginal o incluso nulo de la mayoría de los polimorfismo considerados aisladamente (19,20).

El papel de los factores genéticos en el desarrollo de la enfermedad aterotrombótica no se ha establecido en diversos estudios clínicos. En la mayoría de ellos no se ha podido establecer la asociación entre el genotipo y el síndrome clínico (6). No todos los estudios demuestran una relación directa entre los diversos polimorfismo y el riesgo cardiovascular, quizás porque intervienen, además, de los factores genéticos, los factores ambientales y porque no solamente interviene un factor genético determinado sino el conjunto de genes del organismo.

Es por ello que no existen en la actualidad criterios unificados inherentes al empleo sistemático de marcadores genéticos concernientes a la identificación, el pronóstico o el tratamiento de individuos con mayor riesgo de desarrollar enfermedad vascular aterotrombótica en la población general o en los subgrupos de riesgo (6).

Una alternativa es la estratificación del riesgo de la enfermedad cardiovascular será analizar la interacción entre el genotipo y el fenotipo e incluso entre los diversos polimorfismo debido a la complejidad de la enfermedad. El análisis del perfil genómico (diagnóstico molecular) puede facilitar el estudio del perfil de la susceptibilidad genética individual a partir de la suma de los alelos del riesgo presentes y establecer la posibilidad de realizar estudios de asociación en infinidad de personas (7). En el último decenio, con el conocimiento del genoma humano se han producido importantes avances en la genética molecular, lográndose iden-

tificar múltiples polimorfismo implicados en el proceso aterotrombótico.

La trombosis arterial es una enfermedad compleja y multifactorial, resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales. La triada de Virchow, clásicamente empleada para definir la trombosis venosa, también se aplica a la trombosis arterial; alteraciones reológicas, disfunción endotelial y alteraciones hemostáticas que producen un estado de hipercoagulabilidad sanguínea (6). No obstante y preservando su vigencia (como factores de riesgo individuales), el concepto actual define la aterotrombosis como una enfermedad inflamatoria crónica (1,2).

Durante los últimos 10 años, se han identificado numerosos polimorfismo en los genes involucrados en los componentes de esta triada, entre los que se destacan los polimorfismo de los genes relacionados con la coagulación, la fibrinólisis, los receptores plaquetarios, el metabolismo de la homocisteína, los polimorfismo asociados con las alteraciones reológicas y los referentes al estrés oxidativo. En conjunto, la contribución individual de estos polimorfismo a la trombosis arterial es modesta, mientras que las interacciones entre los genes mismos y a su vez con los factores de riesgo parece ser más relevante en el desarrollo de la trombosis arterial (6).

La trombosis arterial se produce por rotura o erosión en una placa aterosclerótica como consecuencia de un proceso inflamatorio crónico de la pared vascular, en respuesta a diversos estímulos (factores de riesgo, factores metabólicos, infecciosos). La oclusión trombótica de la placa aterosclerótica precipita la aparición de los diferentes síndromes clínicos como el infarto agudo de miocardio, el ictus isquémico y la enfermedad arterial periférica (6).

El descubrimiento de que la función endotelial puede promover tanto la formación de las placas de ateroma como la aparición de accidentes coronarios, ha sido una

de las aportaciones más relevantes de los últimos años en la comprensión de la génesis de la arteriosclerosis. El endotelio aparte de su actividad macro y microvascular, tiene también una importante acción antitrombótica, antiproliferativa, antiapoptótica y en particular, una función antioxidante que resulta decisiva para proteger la pared vascular contra el efecto aterogénico de las lipoproteínas de alta densidad (LDL) oxidadas y otros agentes lesivos (7). Es así como se entiende la disfunción endotelial como un paso clave en la iniciación y progresión de la enfermedad aterosclerótica (1,21).

### **La Homocisteína como factor de riesgo cardiovascular: determinantes genéticos**

El interés por el estudio de los factores de riesgo cardiovascular se ha retomado nuevamente por las diferentes sociedades científicas, comprometiéndose a realizar una difusión adecuada, tanto del conocimiento fundamental como son los criterios diagnósticos y sus definiciones, como de las normas y guías del manejo de cada uno de ellos (1).

Buscando aclarar este hecho, la comunidad científica viene identificando nuevos factores de riesgo y de estos, algunos de los que mayor interés a despertado son los denominados "factores de riesgo emergentes" (1). Por ello los diferentes factores de riesgo cardiovasculares fueron reclasificados por el grupo ATP III, quienes impartieron normas sobre el manejo y prevención en relación con los factores de riesgo cardiovasculares (1,22).

La homocisteína como factor de riesgo cardiovascular independiente y modificable se planteó desde 1969 por el Dr. Kilmer McKully, cuando propuso su relación con la enfermedad arterial coronaria (23). A estos trabajos no se le dio importancia hasta hace poco tiempo, cuando un número considerable de investigaciones demostraron la asociación entre los niveles de homocisteína plasmática, el

riesgo cardiovascular y su papel como fuente predictora de mortalidad en los pacientes con enfermedad coronaria (1,24). En años recientes, la correlación entre homocisteína y arteriosclerosis, se esta estudiando con creciente entusiasmo por la comunidad médica. El incremento moderado o intermedio en los niveles de homocisteína del plasma se relaciona con la presencia de enfermedad arterial temprana. En esta dirección algunos estudios demuestran como la hiperhomocistinemia actúa como un factor de riesgo en la aparición de la enfermedad coronaria, incluso aun más que la misma hipercolesterolemia, el tabaquismo, o el binomio tabaco e hipertensión, los cuales potencian categóricamente el riesgo de enfermedad coronaria. Los defectos genéticos severos del metabolismo de la homocisteína tienen como consecuencia un nivel elevado de homocisteína en el plasma ( $> 100\mu\text{M}$ ) y producen homocistinuria: este defecto genético es relativamente raro (1,25,28).

Los polimorfismo de los genes que codifican las enzimas involucradas en el metabolismo de la homocisteína, particularmente aquellos localizados en el gen de la metilentetrahidrofolato reductasa MTHFR como C677T, son más frecuentes y tienen como resultado una evolución más discreta de los niveles de homocisteína circulante (29).

### **Homocisteína y Óxido Nítrico: determinantes genéticos de la variación de la sintasa endotelial del óxido nítrico (eNOS)**

Todas las funciones del endotelio están íntimamente relacionadas con su capacidad de producción de óxido nítrico ON, que contrarresta la acción de los radicales libres de oxígeno (anión superóxido,  $\text{O}_2^-$ ) liberados en el metabolismo tisular (30). El ON tiene un papel fisiológico importante en la regulación del tono vascular y es además relevante en muchos procesos incluyendo la hipertensión arterial y la arteriosclerosis (31,32). La isoform

ma endotelial de la sintasa del óxido nítrico (ecNOS o eNOS) es la enzima clave en la determinación basal de la producción de ON en la pared vascular y es vital para mantener un endotelio saludable. La interrelación entre los genotipos del ON, la enfermedad arterial coronaria y otros factores de riesgo se ha descrito por diversos investigadores. Se están analizando diferentes polimorfismo del gen que codifican el gen del eNOS respecto al riesgo de inducir patología cardiovascular. Sorprendentemente, solo aproximadamente la mitad de los estudios demuestran asociación significativa entre los polimorfismo del eNOS y enfermedad cardiovascular. Las consecuencias funcionales de estos polimorfismo no están determinadas y su papel en la enfermedad cardiovascular siguen siendo objeto de investigación (33-36). Es mandatoria la realización de estudios adicionales que confirmen esta asociación, debido a que una evidencia directa que soporte un papel causal para el gen eNOS no está aún disponible.

Adolecemos de una respuesta contundente sobre la relación entre hiperhomocistinemia y arteriosclerosis. No obstante hay suficiente evidencia de que el endotelio vascular es el principal órgano diana afectado por el aumento de los niveles sanguíneos de homocisteína. Las consecuencias fisiopatológicas de la lesión del endotelio pueden incluir: disminución en la liberación de ON, resultando en una alteración significativa de la función vascular; reacciones anormales entre las paredes del vaso, las plaquetas y los macrófagos e incremento de la trombogenicidad. Todos estos presupuestos científicos hacen imperativo una revisión de los aspectos más relevantes de la homocisteína y a tratar de responder a la pregunta de si la homocisteína plasmática en rangos superiores, es un factor de riesgo cardiovascular nuevo. No obstante la respuesta definitiva sigue siendo objeto de amplio debate (1,29,35).

En condiciones normales la producción de ON predomina so-

bre la generación de aniones superóxido y mantiene bajo control el estrés oxidativo. Si la producción de ON es insuficiente o la generación de radicales libres de oxígeno es excesiva, puede romperse este equilibrio y el predominio de los fenómenos oxidativos provoca disfunción endotelial con todas sus consecuencias vasomotoras y metabólicas (30). La disminución en la producción de ON se asocia con cambios patológicos en el sistema cardiovascular. Hay considerable evidencia de que el ON juega un papel importante en la protección contra la arteriosclerosis, el proceso que subyace la enfermedad isquémica del corazón. De allí que los defectos adquiridos en su producción o en la biodisponibilidad, asociados a los factores de riesgo causen disfunción endotelial y pueden contribuir al desarrollo de la arteriosclerosis. Existe soporte científico adicional de que la diferencia hereditaria en la disponibilidad del ON pudiese jugar un papel importante en este proceso. En el ser humano, la función endotelial mediada por el ON es deficiente en los estados prearteroscleróticos tales como la hipercolesterolemia, la Diabetes Mellitus, la hipertensión arterial, el tabaquismo y se correlacionan con el perfil del factor de riesgo. Más importante aún, los estudios prospectivos identifican una deficiencia de ON endotelial tanto en función como en cantidad, constituyéndose en un predictor independiente de los eventos cardiacos adversos. Numerosos estudios en modelos animales demuestran la importancia del ON en la patogenia de la enfermedad vascular. La pérdida de los efectos vasculares protectores del ON contribuye a la progresión de la enfermedad, pero los mecanismos íntimos que resultan en la pérdida de la bioactividad del ON y de la disfunción endotelial permanecen sin dilucidar. Datos recientes demuestran que la contribución de los radicales del estrés oxidativo a la disfunción endotelial mediada por el ON es un indicador pronóstico independiente del riesgo cardiovascular (1,6,8,36).

Se han descrito numerosos polimorfismo del gen eNOS, encontrándose asociación con la enfermedad vascular a través del fenotipo "disminución de la producción basal de ON" en algunos pero no en todos los estudios realizados. La capacidad de contrarrestar el estrés oxidativo y mantener la integridad de la función endotelial pudiera depender, entre otros factores del polimorfismo(s) en el gen eNOS que codifica la regulación y la disponibilidad del ON contribuyendo así el desarrollo y progresión de la enfermedad arterial coronaria. El gen eNOS podría ser catalogado como un gen candidato para el desarrollo de cardiopatía isquémica (33,34,36,37).

#### **Fuentes de producción de anión superóxido: determinantes genéticos**

La fuente principal de producción de radicales libres de oxígeno son las enzimas oxidativas, entre las cuales destacan la NADH / NAFDPH oxidasa, la xantonooxidasa, la mieloperoxidasa, la lipooxigenasa y la ciclooxigenasa. Un estado antioxidante es crucial para preservar la función endotelial y prevenir la trombosis (6).

En las arterias y en las venas del organismo en los humanos, la liberación de superóxido se disminuye por el ON producido por el endotelio; la disrupción del endotelio o la inhibición de la eNOS normalmente resulta en un incremento en la liberación de superóxido, acompañado por una disminución en la formación de peroxinitrilo (36).

Las arterias humanas tales como la arteria radial y la arteria mamaria interna parecen tener aumento en la bioactividad del ON comparado con la venas in vitro, pero además generan altos niveles de superóxido bajo condiciones de estrés (36).

Las subunidades de la proteína de la NAD(P) oxidasa están presentes en los vasos sanguíneos humanos incluyendo las arterias co-



ronarias ateroscleróticas, en la vena safena, en la arteria mamaria de los pacientes con enfermedad coronaria, en las células del músculo liso vascular y en las células endoteliales en los cultivos celulares (36).

Se han descrito dos polimorfismos de interés C242T y A640G en el gen CYBA que codifica la proteína p22phox, uno de los elementos del transporte de electrones de la NADH oxidorreductasa microsómica en las células musculares li-

sas, que disminuye la producción de anión superóxido en la pared vascular y mejora la función del endotelio coronario, por lo que se sospecha que puede reducir la sensibilidad a la enfermedad coronaria (6,36).

## BIBLIOGRAFÍA

- Jaramillo NI, Torres Y. Aspectos epidemiológicos: factores de riesgo a la luz del Framingham. En: Jaramillo NI, ed. Factores de riesgo Cardiovascular "Mitos y realidades". Marín Vieco Ltda., Medellín. 2004; 15-50.
- Tracy RP. Inflammation in cardiovascular disease: cart, horse, or both?. *Circulation* 1998; 97: 2000-2002.
- Hunt SC, Williams RR, Barlow GK. A comparison of positive family history definitions for defining risk of future disease. *J Chronic Dis* 1986; 39: 809-821.
- Spence MS, McGlinchey PG, Patterson CC, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and ischemic heart disease. *Am Heart J* 2004; 148 (5): 847-851.
- Fatini C, Sofi F, Sticchi E, et al. Influence of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (G894T, 4a4b, T-786C) and hyperhomocysteinemia on the predisposition to acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2004; 147 (3): 516-21.
- Paramo JA, Lecumberri R, Orbe J. Arterial thrombosis and genetic polymorphisms: too many actors, complex scenario. *Med Clin (Barc)* 2005; 124 (2): 69-74.
- Navarro F. Bases genéticas de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55: 413-431.
- Casas JP, Bautista LE, Humphries SE, et al. Endothelial nitric oxide synthase genotype and ischemic heart disease: meta-analysis of 26 studies involving 23028 subjects. *Circulation* 2004; 109 (11): 1359-65.
- Murray CJL, López AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1999-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349: 1498-1504.
- Hawe E, Talmud PJ, Miller GJ, et al. Family history is a coronary heart disease risk factor in the Second Northwick Park Heart Study. *Ann Hum Genet* 2003; 67: 97-106.
- Smith SC, Greenland JP, Grundy SM. AHA Conference Proceedings. Prevention conference V: beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention: executive summary: American Heart Association. *Circulation* 2000; 101: 111-116.
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: the European concerted action project JAMA 1997; 277 (22): 1775-1781.
- Stampfer MJ, Malinow MR, Willet WC, et al. A prospective study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268 (7): 877-882.
- Pearson TA. New tools for coronary risk assessment. What are their advantages and limitations?. *Circulation* 2002; 105: 886.
- Atherosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology Italian Study Group. No Evidence of Association Between Prothrombotic Gene Polymorphisms and the Development of Acute Myocardial Infarction at a Young Age. *Circulation* 2003; 107: 1117-1122.
- Naber CK, Siffert W, Erbel R, et al. Genetics of human coronary vasomotion. *Arch Mal Coeur Vaiss* 2004; 97 (3): 255-60.
- Humphries SE, Morgan L. Genetic risk factors for stroke and carotid atherosclerosis: insights in to pathophysiology from candidate gene approaches. *Lancet* 2004; 3: 227-36.
- Lane DA, Grant PJ. Role of hemostatic gene polymorphisms in venous and arterial thrombotic disease. *Blood* 2000; 95: 1517-32.
- Marín F, Roldán V, Tello A. Podemos esperar de los polimorfismos las respuestas a nuestras dudas?. *Rev Esp Cardiol* 2004; 57: 1129-1129.
- Roldán V, González C, Marín F, et al. Short alleles of p selectin glycoprotein glicoprotein ligand-1 protec against premature myocardial infarction. *Am Heart J* 2004; 148: 602-5.
- Hingorani AD. Polymorphisms in endothelial nitric oxide synthase and atherogenesis: John French Lecture 2001. *Atherosclerosis* 2000; 154: 521-7.
- Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults executive summary of the third report of the National Cholesterol Education program (NCEP) (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
- McCully K. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-128.
- McCully K. Chemical pathology of homocysteine. *Atherogenesis. Anal Clin lab Sci* 1993; 23 (6): 477-493.
- Mayer EL, Jacobsen D, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 517-527.
- Boers G, Smals A, Trijbels F, Fowler B, et al. Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N England J Med* 1985; 313: 709-715.
- Clark R, Daly L, Robinson K, et al. Hyperhomocystinemia: and independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-1155.
- Nygard O, Nordrehaug J, Refsum H, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-236.
- Brattstrom L, Wilcken DE, Ohrvik J et al. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* 1998; 98: 2520-2526.
- Patterson C. Temas actuales de biología vascular: puesta al día para el siglo XXI. *Rev Esp Cardiol* 2001; 54: 635-42.
- Matyar S, Attila G, Acarturk E, Akpinar O, Inal T. eNos gene intron 4 a/b VNTR polymorphism is a risk factor for coro-

- nary artery disease in Shouthern Turkey. *Clin Chim Acta* 2005; 354: (1-2): 153-158.
32. Czarnecka D, Kawecka K, Stolarz K, et al. Ambulatory blood pressure, left ventricular mass and vascular phenotypes in relation to the wndothelial nitric oxide synthase gen Glu298Asp abd intron 4 polumorphisms in a population-based family study. *J Hum Hypertens* 2005; 19(5): 413-420.
  33. Via M, López A, Valveny N. Lack of association between eNOS gene polymorphisms and ischemic heart disease in the spanish population. *Am J Med Genet A* 2003; 116(3): 243-248.
  34. Wattanapitayakul SK, Mihm MJ, Young AP, Bauer JA. Therapeutic implications of human endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism. *Trends Pharmacol Sci* 2001; 22(7): 361-368.
  35. Pasquale M, Stefano V, Coppola A, et al. Hyperhomocysteinemia an other Inherited Prothrombotic Conditions in Young Adults With a History of Ischemic Stroke 2002; 33: 51-56.
  36. Channon KM, Guzik TJ. Mechanism of superoxide production in human blood vessels: relationship to endothelial dysfunction, clinical and genetic risk factors. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53 (4pt1): 515-524.
  37. Soma M, Nakayama T, Kanmatsuse K. Nitric oxide synthase gene polymorphism and its influence on cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hipertens* 1999; 8(1):83-7.