

## Polimorfismo MTHFR A1298C en pacientes cubanos con trombofilia

### MTHFR A1298C polymorphism in Cuban patients with thrombophilia.

María Teresa Martínez-Echevarría,<sup>1</sup> Karina Casanueva-Calero<sup>1</sup>, Bisleybis Hernández-Acea,<sup>1</sup> Wilfredo Torres-Yibar,<sup>2</sup> Gissel García-Menéndez<sup>1</sup>

#### Resumen

**ANTECEDENTES:** La hiperhomocisteinemia causada por el polimorfismo A1298C en la enzima metilentetrahidrofolato reductasa puede estar relacionada con eventos tromboticos, aunque aún no existe un acuerdo en relación con su papel en la patogénesis de la trombosis. La frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C varía notablemente en cada población.

**OBJETIVO:** Evaluar, por primera vez, el comportamiento de la frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C en un grupo de pacientes cubanos jóvenes con antecedente de al menos un evento trombotico.

**MATERIAL Y MÉTODO:** Estudio descriptivo transversal, efectuado de enero de 2017 a enero de 2018, que incluyó a pacientes menores de 50 años, de uno y otro sexo, provenientes de la consulta de Hematología del Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras, La Habana, Cuba. La detección del polimorfismo MTHFR A1298C se realizó mediante el estuche comercial Lightmix® in vitro diagnostics MTHFR A1298C.

**RESULTADOS:** De 152 individuos estudiados, 93 (61.2%) tenían el genotipo normal y 59 (38.8%) tuvieron la mutación. De estos últimos 49 (32.2%) fueron heterocigóticos y 10 (6.6%) homocigóticos. No encontramos diferencias estadísticamente significativas asociadas con el género, el color de la piel y el diagnóstico clínico.

**CONCLUSIONES:** La frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C es baja entre los adultos jóvenes con trombofilia y, entre los portadores, predominan los heterocigóticos. No se encontró asociación entre el polimorfismo MTHFR A1298C y la trombosis, ni entre el polimorfismo MTHFR A1298C y el aborto espontáneo.

**PALABRAS CLAVE:** Hiperhomocisteinemia; trombofilia; metilentetrahidrofolato reductasa; polimorfismo.

#### Abstract

**BACKGROUND:** The hyperhomocysteinemia caused by the A1298C polymorphism in the enzyme methylenetetrahydrofolate reductase is related to the development of thrombotic events although there is still no agreement regarding its role in the pathogenesis of thrombosis. The frequency of the MTHFR A1298C polymorphism varies markedly for each population.

**OBJECTIVE:** To evaluate, for the first time, the behavior of the MTHFR A1298C polymorphism frequency in a group of young Cuban patients with a history of at least one thrombotic event.

**MATERIAL AND METHOD:** A descriptive cross-sectional study was carried out from January 2017 to January 2018, which included patients younger than 50 years, of both sexes, from the Hematology clinic of the Hermanos Ameijeiras Hospital, La Habana, Cuba. Detection of the MTHFR A1298C polymorphism was carried out using the Lightmix® in-vitro diagnostics commercial kit MTHFR A1298C.

**RESULTS:** From 152 studied subjects 93 (61.2%) had the normal genotype and 59 (38.8%) had the mutation. Of these last 49 (32.2%) were heterozygous and 10 (6.6%) were homozygous. We did not find statistically significant differences associated with gender, skin color and clinical diagnostics.

<sup>1</sup> Laboratorio de Genética Molecular.

<sup>2</sup> Servicio de Hematología.  
Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras, La Habana. Cuba.

**Recibido:** 8 de julio de 2018

**Aceptado:** 10 de octubre de 2018

#### Correspondencia

María Teresa Martínez Echevarría  
suchiquil@infomed.sld.cu

#### Este artículo debe citarse como

Martínez-Echevarría MT, Casanueva-Calero K, Hernández-Acea B, Torres-Yibar W, García-Menéndez G. Polimorfismo MTHFR A1298C en pacientes cubanos con trombofilia. Hematol Méx. 2019 enero-marzo;20(1):5-10.

**CONCLUSIONS:** The frequency of the MTHFR A1298C polymorphism is low among young Cuban adults with thrombophilia and, among carriers, heterozygotes predominate. No association was found between MTHFR A1298C polymorphism and thrombosis and between MTHFR A1298C polymorphism and miscarriage.

**KEYWORDS:** Hyperhomocysteinemia; Thrombophilia; Methylenetetrahydrofolate reductase; Polymorphism.

## ANTECEDENTES

La metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) es una enzima que cataliza la síntesis de 5-metiltetrahidrofolato, que constituye el principal donador de metilo para la remetilación de homocisteína a metionina.<sup>1</sup> El gen que codifica a esta enzima se encuentra en el brazo corto del cromosoma 1 (1p36.3, MIM 607093, Genbank ID 4524) y en él se describen 10 polimorfismos.<sup>2,3</sup> Uno de los polimorfismos más estudiados en este gen es el A1298C, que origina la sustitución de un residuo de alanina por uno de ácido glutámico, lo que genera una proteína con baja actividad enzimática que, en algunos casos, ocasiona hiperhomocisteinemia, condición que se ha asociado con trombofilia.<sup>4</sup>

La trombofilia es un trastorno multifactorial causado por la interacción entre una gran variedad de factores de riesgo genéticos y adquiridos.<sup>5</sup> Este trastorno constituye una de las causas más comunes de morbilidad y mortalidad en todo el mundo.<sup>6</sup> En Cuba se reportó en 2016 como la séptima causa de muerte con 2714 fallecidos.<sup>7</sup>

La manifestación más frecuente de la trombofilia es la trombosis venosa profunda en las extremidades inferiores. También se describen otras manifestaciones importantes, como el infarto agudo de miocardio y el accidente cerebrovascular en adultos jóvenes, así como la pérdida

recurrente de embriones durante el primer trimestre del embarazo.<sup>8-11</sup> La mayor parte de los estudios realizados asocian la existencia del polimorfismo MTHFR A1298C con la aparición de enfermedades neurodegenerativas y algunos tipos de cáncer.<sup>4,12</sup>

La frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C varía de una población a otra. En los países hispanos, como México, se ha observado que sólo 13.5% de los individuos estudiados portan el genotipo normal.<sup>13</sup>

En Cuba no existen datos disponibles al respecto. Por ello este trabajo tiene el objetivo de evaluar, por primera vez, el comportamiento de la frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C en un grupo de pacientes cubanos jóvenes con antecedente de al menos un evento trombótico.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio descriptivo de corte transversal, efectuado de enero de 2017 a enero de 2018.

### Extracción de ADN

Se colectaron 3 mL de sangre periférica en tubos Venosafe® (Terumo Europe nv) con ácido etilendiamintetraminoacético disódico. La extracción del ADN se realizó a partir de sangre total mediante el estuche comercial High Pure

PCR Template Preparation (Roche), siguiendo las instrucciones del fabricante. El ADN obtenido se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop One® (Thermo Scientific) y se conservó a -20°C hasta su uso.

#### Determinación del polimorfismo A1298C

Se realizó mediante PCR en tiempo real, utilizando el estuche comercial Lightmix® in-vitro diagnostics MTHFR A1298C (TIBMOBIOL) y un termociclador LightCycler® 96 (Roche). La interpretación de las curvas de fusión obtenidas fue realizada mediante el programa 1.1 del termociclador, siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el programa SPSS para Windows, versión 20.0. Para la caracterización de la muestra se usó estadística descriptiva, utilizando las frecuencias absolutas y relativas expresadas en porcentajes por tratarse de variables cualitativas. Para evaluar la asociación entre el genotipo de la MTHFR con otras variables de interés se confeccionaron tablas de contingencia y se usaron pruebas estadísticas ( $\chi^2$  de Pearson). Se consideró que existe relación entre estas variables cuando la probabilidad asociada fue menor de 0.05 ( $p \leq 0.05$ ).

#### Consideraciones éticas

Sólo se incluyeron en el estudio los pacientes que dieron su consentimiento a participar en este trabajo. Sus muestras de sangre y el ADN obtenido a partir de ellas se destruyeron una vez terminado el trabajo, por lo que no se usaron con otros fines. Los resultados obtenidos en las muestras de pacientes remitidos al laboratorio para el diagnóstico se informaron a los médicos de asistencia para la evaluación de la conducta a seguir.

## RESULTADOS

De 162 pacientes remitidos al laboratorio de Genética Molecular del Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras por el servicio de Hematología, se incluyeron en el estudio 152 pacientes menores de 50 años, de uno y otro sexo. Del total de individuos estudiados, 67 tenían antecedentes patológicos personales de trombosis venosa profunda en los miembros inferiores, 8 de accidente cerebrovascular, 2 de infarto agudo de miocardio y uno de trombocitemia esencial. En el caso de las mujeres, 74 tuvieron más de tres abortos espontáneos en el primer trimestre del embarazo y tenían antecedentes patológicos familiares de trombofilia no asociada con el factor V de Leiden o el factor II. Se excluyeron 10 pacientes con enfermedad concomitante con trombosis.

Del total de individuos estudiados 93 (61.2%) tenían el genotipo normal y 59 (38.8%) tuvieron la mutación. De estos últimos 49 (32.2%) fueron heterocigóticos y 10 (6.6%) homocigóticos.

Los individuos estudiados se caracterizaron según el color de la piel: 97 eran de color de piel blanca y 55 no blanca. No se observaron diferencias significativas entre el color de la piel respecto al polimorfismo MTHFR A1298C ( $p = 0.117$ ). **Cuadro 1**

Al analizar la posible asociación entre la existencia del polimorfismo MTHFR A1298C y el género no se encontraron diferencias significativas ( $p = 0.941$ ). **Cuadro 1**

Los pacientes estudiados tenían antecedentes patológicos personales de: trombosis venosa profunda en los miembros inferiores de repetición ( $n = 67$ ), accidente cerebrovascular ( $n = 8$ ), infarto agudo de miocardio ( $n = 2$ ) y trombocitemia esencial ( $n = 1$ ). En el caso de las mujeres, 74 habían tenido más de tres abortos espontáneos

en el primer trimestre del embarazo y tenían antecedentes patológicos familiares de trombofilia no asociada con el factor V de Leiden o el factor II. Al analizar la posible relación entre la existencia del polimorfismo MTHFR A1298C y el diagnóstico clínico no se encontraron diferencias significativas ( $p = 0.944$ ). **Cuadro 1**

DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos, en los pacientes con trombofilia estudiados predominó el genotipo normal para el polimorfismo MTHFR A1298C, mientras que en los individuos mutados, el genotipo heterocigótico predominó sobre el homocigótico.

Los estudios realizados de la frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C muestran que ésta varía de una población a otra. En las poblaciones asiáticas se observa una frecuencia relativamente baja (18%), pero ésta puede aumentar en pobla-

ciones con mayor grado de mestizaje como la europea (30%) y la latinoamericana (26%).<sup>14,15</sup> No obstante, estas cifras sugieren alta prevalencia del genotipo normal en estas poblaciones, lo que coincide con los resultados obtenidos en este estudio y nos lleva a especular que en la población cubana sana la frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C pudiera comportarse igual que en el resto de las poblaciones hispanas.

Si bien no encontramos diferencias significativas vinculadas con el color de la piel, es notable que en los individuos con color de piel blanca exista ligero predominio de genotipo normal para el polimorfismo MTHFR A1298C, que coincide con el reportado en la bibliografía para la población caucásica.<sup>12,16</sup>

En este estudio no se encontró relación entre el polimorfismo MTHFR A1298C y el género, lo que coincide con lo reportado en la bibliografía por otros autores.<sup>17</sup> Aunque en estudios

**Cuadro 1.** Frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C según el color de la piel, el sexo y el diagnóstico del paciente

|                                                          | MTHFR 1298A>C   |                         |                       | Total |
|----------------------------------------------------------|-----------------|-------------------------|-----------------------|-------|
|                                                          | Genotipo normal | Genotipo heterocigótico | Genotipo homocigótico |       |
| Color de la piel                                         |                 |                         |                       |       |
| Blanca                                                   | 54              | 37                      | 6                     | 97    |
| No blanca                                                | 39              | 12                      | 4                     | 55    |
| Total                                                    | 93              | 49                      | 10                    | 152   |
| Género                                                   |                 |                         |                       |       |
| Femenino                                                 | 72              | 37                      | 8                     | 117   |
| Masculino                                                | 21              | 12                      | 2                     | 35    |
| Total                                                    | 93              | 49                      | 10                    | 152   |
| Diagnóstico                                              |                 |                         |                       |       |
| Trombosis venosa profunda en las extremidades inferiores | 40              | 22                      | 5                     | 67    |
| Accidente cerebrovascular                                | 4               | 3                       | 1                     | 8     |
| Infarto agudo de miocardio                               | 2               | 0                       | 0                     | 2     |
| Trombocitemia esencial                                   | 1               | 0                       | 0                     | 1     |
| Abortadoras                                              | 46              | 24                      | 4                     | 74    |
| Total                                                    | 93              | 49                      | 10                    | 152   |

realizados en hombres con infertilidad de causa desconocida se ha encontrado alta frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C,<sup>18</sup> el porcentaje de hombres infértiles es relativamente bajo en comparación con el de las mujeres. Las investigaciones plantean que 1 de cada 20 hombres es infértil, y aproximadamente 75% de ellos tiene causa conocida.<sup>19</sup> Asimismo, los estudios realizados por Nan y Li<sup>10</sup> y por Leiva y colaboradores<sup>20</sup> mostraron que la frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C en mujeres es relativamente baja, lo que coincide con nuestros resultados.

Al analizar la existencia del polimorfismo MTHFR A1298C en el grupo de mujeres que tuvieron abortos incluidas en este estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas e, incluso, puede observarse el predominio del genotipo normal en ellas. En otros estudios realizados en mujeres que tuvieron abortos también se ha encontrado una frecuencia relativamente baja del polimorfismo MTHFR A1298C. En estos trabajos se le confiere mayor importancia en el aborto espontáneo a los haplotipos generados por los polimorfismos MTHFR C677T y MTHFR A1298C.<sup>10</sup> El mecanismo por el que la trombofilia estaría implicada en las pérdidas recurrentes de embriones aún no es claro. Uno de los modelos propuestos se relaciona con el metabolismo del ácido fólico o con posibles anomalías en la meiosis, que producen alteraciones cromosómicas en pacientes con las mutaciones de la MTHFR.<sup>20</sup>

En muchos estudios, el polimorfismo MTHFR A1298C se ha vinculado con la aparición de enfermedades neurodegenerativas y algunos tipos de cáncer.<sup>4,12</sup> Otros trabajos lo han encontrado relacionado con la aparición de trombosis.<sup>21,22</sup> Nuestros resultados muestran que al parecer, en nuestra población el polimorfismo MTHFR A1298C no se asocia con la trombosis venosa profunda en los miembros inferiores, el infarto

agudo de miocardio o el accidente cerebrovascular, lo que coincide con otros estudios.<sup>9,23-26</sup>

Este trabajo constituye el primero de su tipo realizado en una pequeña muestra de la población cubana con antecedentes patológicos personales de trombosis y permitió comprobar que la frecuencia del polimorfismo MTHFR A1298C en ellos es relativamente baja y, entre los portadores, predominan los heterocigóticos. Sería interesante realizar un estudio poblacional que permita determinar la frecuencia alélica del polimorfismo MTHFR A1298C en la población cubana.

## REFERENCIAS

1. Kumar A, Misra S, Hazarika A, et al. Association between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism and risk of ischemic stroke in North Indian population: A hospital based case-control study. *Egyptian J Med Human Gen* 2016;17:359-65.
2. Goyette P, Summer JRM. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 1994;195-200.
3. Oliveira KC, Verreschi ITN, Sugawara EK, et al. C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR gene and their relation to homocysteine levels in Turner syndrome. *Genetic Testing Mol Biomark* 2012;16:396-400.
4. Gutiérrez Revilla JI, Pérez Hernández F, Calvo Martín MT, Tamarillas Salvador M, Gracia Romero J. Implicación de los polimorfismos C677T y A1298C del gen MTHFR en el desarrollo de los defectos del tubo neural en la población española. *Medicina Clínica* 2003;120:441-2.
5. Zafra Ceres M. Desarrollo de un nuevo método para la detección de las mutaciones mas frecuentes en los principales genes implicados en la trombofilia hereditaria [Tesis Doctoral]. Editorial de la Universidad de Granada: Universidad de Granada; 2011.
6. WHO. World health statistics 2017: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals: World Health Organization 2017.
7. Ministerio de Salud Pública. Anuario estadístico de salud 2016. 45° ed. Cuba: Bess Constanten, 2017.
8. Reitsma PH, Versteeg HH, Middeldorp S. Mechanistic view of risk factors for venous thromboembolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012;32:563-8.
9. González-Devia J, Mendieta-Zerón H. Hiperhomocistemia/homocisteinuria como factor de riesgo cardiovascular en niños y adolescentes. *Rev Costarr Cardiol* 2013;15:15-22.

10. Nan Y, Li H. MTHFR genetic polymorphism increases the risk of preterm delivery. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8:7397-402.
11. van Hylckama Vlieg A, Flinterman LE, Bare LA, et al. Genetic variations associated with recurrent venous thrombosis. *Circulation: Cardiovascular Genetics* 2014;7:806-13.
12. Semmler A, Moskau S, Lutz H, Meyer P, Linnebank M. Haplotype analysis of the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) c.1298A>C (E429A) polymorphism. *BMC Research Notes* 2011;4:439.
13. Parra-Ortega I, Martínez-Arias M, López-Valladares K, et al. Variaciones en los alelos 677 C>T y 1298 A>C en el gen que codifica para la enzima 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y su efecto en la concentración de homocisteína en mestizos mexicanos. *Rev Hematol Mex* 2015;16:115-20.
14. Rengifo Ramos L, Gaviria Arias D. Genotypic analysis of c677t and a1298c polymorphisms in the methylene tetrahydrofolate reductase gene and a66g polymorphism in the methionine sintase reductase gene in down syndrome BAG. *J Basic Appl Genet* 2014;25:21-30.
15. González-Mercado M, Rivas F, Salazar-Páramo M, et al. Homocisteína, polimorfismos MTHFR C677T, A1298C y variables clínico-bioquímicas en población mexicana. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 2014;48:23-31.
16. [www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=1801131](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=1801131).
17. Alghasham A, Settlin AA, Ali A, Dowaidar M, Ismail H. Association of MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms with hypertension. *Int J Health Sci* 2012;6:3-11.
18. Eloulid A, Abidi O, Charif M, et al. Association of the MTHFR A1298C variant with unexplained severe male infertility. *PLoS ONE* 2012;7.
19. Mallok A, Flores-Sánchez RM, Alonso-Rodríguez CA, Martínez-Sánchez G. Desbalance redox en la infertilidad masculina. *Revista Cubana de Farmacia* 2011;45:283-96.
20. Leiva B JL, Pons G A, Rencoret P G, et al. Rol de las trombofilias en infertilidad: ¿juegan un rol? *Revista Médica Clínica Las Condes* 2010;21:424-31.
21. Cizmeci MN, Kanburoglu MK, Akelma AZ, et al. Cerebral sinovenous thrombosis associated with MTHFR A1298C mutation in the newborn: a case report. *J Thrombosis and Thrombolysis* 2013;35:279-81.
22. Yıldız İ, Torun D, Özeisancak R, Özkan U, Canpoiat T. The association of upper extremity deep vein thrombosis and homozygosity for the MTHFR 1298A-C mutation in a young women with membranoproliferative glomerulonephritis. *Turk Neph Dial Transpl* 2014;23:145-9.
23. Connors JM. Thrombophilia testing and venous thrombosis. *N Engl J Med* 2017;377:1177-87.
24. Hernández-Cuervo H, Usme S, Yunis JJ. Genotipos frecuentemente asociados a trombofilias. *Revista Biomédica* 2014;34:-89.
25. Ramos Molina MA. Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular asociados a marcadores genéticos en población andaluza [Tesis Doctoral]: Universidad de Sevilla; 2015.
26. Steed M, Tyagi S. Mechanisms of cardiovascular remodeling in hyperhomocysteinemia. *Antioxid Redox Signal* 2011;15:1927-43.