

ARTÍCULO ORIGINAL: Prevalencia de la mutación C677T del gen de la Metilen Tetrahydrofolato Reductasa en los estudiantes de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional Autónoma de León, Nicaragua.



Hospital San Juan de Dios, San José, Costa Rica. Fundado en 1845

Primer Reporte

Recibido: 16/05/2013
Aceptado: 30/05/2013

ISSN
2215-2741

Edel M. Paredes¹
Yondra Vanegas P.¹
María José Moreira¹
Leonardo Calvo²
Mariela Solano²
Ana Y.C Chang¹
María José Suarez^{2,3}
Juan José Madrigal^{2,3}
Lizbeth Salazar^{2,3,4}

¹Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional Autónoma de León, Nicaragua (UNAN-León).

²Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines. Universidad de Costa Rica. Hospital San Juan de Dios. Costa Rica.

³Escuela de Medicina. Universidad de Costa Rica. Costa Rica.

⁴Cátedra Humboldt. Universidad de Costa Rica.

RESUMEN

La mutación C677T es una variante polimórfica del gen de la 5,10-metilentetrahydrofolato reductasa (*MTHFR*) se ha relacionado con múltiples patologías trombóticas, se hereda de manera autosómica recesiva e influye en los niveles séricos de la homocisteína. A nivel mundial el polimorfismo C677T del gen de la *MTHFR* tiene una prevalencia relativamente variada, en población Hispanoamericana se encuentra una prevalencia alrededor del 25% y en Nicaragua, no se ha estudiado la prevalencia del gen. Con el objetivo de determinar la presencia esta variante polimórfica C677T del

gen *MTHFR*, se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal en muestras de estudiantes de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional Autónoma de León, Nicaragua, en el año 2012. Se procesaron 150 muestras de las cuales resultaron un 58% con el genotipo heterocigoto (C677T), 17% homocigotos (677T/T) y 25% silvestres (C/C677). La estimación preliminar de la prevalencia del gen *MTHFR* C677T en la población en estudio cumplió con los principios de la ley de Hardy-Weinberg y tiene un comportamiento similar al reportado para otras poblaciones hispanoamericanas.

PALABRAS CLAVE

Metilentetrahidrofolato reductasa. MTHFR C677T. Polimorfismo. Mutación genética. León. Nicaragua.

ABSTRACT

The C677T mutation is a polymorphic variant of the gene of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). It has been associated with multiple thrombotic disorders, is inherited in an autosomal recessive and influences the serum levels of homocysteine. The prevalence of C677T polymorphism of the MTHFR gene has a relatively varied over world. Reports of the Hispanic American population give a prevalence about of 25% and in Nicaragua are not report about the prevalence of the gene until now. In order to determine the presence this polymorphic variant MTHFR C677T, was conducted a cross-sectional descriptive study in samples of students of the Faculty of Medical Sciences of the Autonomous University of León, Nicaragua, in 2012. We recollected 150 samples and they were processed by PCR described technique. We found in this sample: 58% heterozygous genotype (C677T), 17% homozygotes (677T / T) and 25% wild (C/C677). This preliminary report gives an estimation of the prevalence of the C677T MTHFR gene. The studied sample of Nicaraguan population complied with the principles of the Hardy-Weinberg equilibrium and has a similar behavior to that reported for other Hispanic populations

KEY WORDS

MTHFR C677T. Polymorphisms. Genetic Mutation. Leon. Nicaragua

INTRODUCCIÓN

El gen que codifica para la enzima 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa (*MTHFR*), se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 1 banda 36.3.^(1, 2) y esta enzima es clave en el metabolismo del folato. Este gen presenta una variación polimórfica de nucleótido único, que consiste en un cambio de C por T en la posición 677 del gen *MTHFR* que se codifica para la sustitución de un aminoácido de Alanina

(Ala) por Valina (Val), originando una versión termolábil de la enzimática, que posee menor actividad influyendo en los niveles séricos de la homocisteína⁽⁴⁻⁶⁾. Esta variante polimórfica fue descrita por Frosst *et al.* en 1995⁽³⁾, presenta una herencia de tipo autosómica recesiva⁽⁴⁻⁶⁾ y se ha estudiado por posibles asociaciones con múltiples patologías tromboticas que afectan al ser humano.

Esta enzima es clave en el metabolismo de folatos y homocisteína, catalizando el metabolismo del ácido fólico y nucleótidos necesarios para la síntesis y reparación del DNA⁽⁴⁻⁶⁾.

A nivel mundial el polimorfismo C677T del gen de la *MTHFR* tiene una prevalencia relativamente variada, en la población Hispanoamericana se encuentra una prevalencia alrededor del 25%; en Costa Rica se obtuvo una prevalencia del 47%⁽¹⁸⁾ de la forma heterocigoto para la población general^(7,8).

En Nicaragua no se ha estudiado la prevalencia de este gen en la población general, sin embargo se ha estudiado la frecuencia del polimorfismo del C677T del gen *MTHFR* en madres nicaragüenses de individuos con espina bífida reportando un 7%⁽⁹⁾.

Con el objetivo de determinar la presencia de la variante polimórfica C677T del gen de la *MTHFR* en la población nicaragüense, se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal en estudiantes de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional Autónoma de León, en el año 2012. Este artículo es un informe preliminar de los resultados del estudio, con el análisis de cerca del 68% de las muestras obtenidas.

Metodología

Obtención y procesamiento de la muestra sanguínea:

1. Se extrajeron 10 ml de sangre venosa periférica, posteriormente se siguió un protocolo de almacenamiento y transporte de muestra al laboratorio del CIHATA (Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines) para su debido procesamiento.

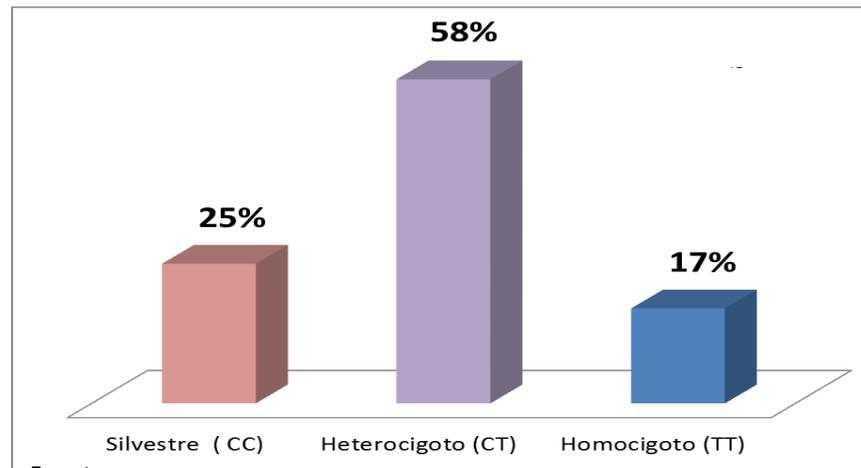
2. Una vez en el CIHATA, se procedió a la extracción del ADN de sangre total, según el método de Miller *et al.*, 1988 y el análisis del polimorfismo C677T del gen *MTHFR*, dicho análisis se realizó mediante la técnica descrita por Frosst *et al.* 1995⁽³⁾.
3. A continuación se procedió al análisis e interpretación de los resultados utilizando el programa estadístico EPIDAT. Este proyecto cuenta con la aprobación del Comité de Ética para las Investigaciones Biomédicas, de la UNAN-León Nicaragua.

RESULTADOS

En el presente estudio participaron 246 estudiantes, de donde se obtuvieron las muestras de sangre periférica, en 221 muestras se obtuvo ADN, de las cuales hasta la fecha del reporte preliminar, se procesaron 150 muestras (67.87%).

De las 150 muestras procesadas, la mayoría resultó heterocigoto (C677T) con un 58%; homocigotos (677TT) con un 17% y los silvestres (CC677) con un 25%, lo anterior se consigna en la Figura 1.

Figura 1. Frecuencia genotípica del polimorfismo del gen del MTHFR C677T en los estudiantes de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de León de Nicaragua.



Al estimar la frecuencia alélica se encontró que la prevalencia para el alelo silvestre (677 C) fue de 0.54 y para el alelo mutado (677 T) fue de 0.45; al someter dichas frecuencias a los criterios de la ley de Hardy-Weinberg (HW) deja en evidencia que dicha muestra analizada cumple los criterios y por lo tanto no presenta desviación alguna (tabla 1).

DISCUSIÓN

Estos son resultados preliminares que demuestran una tendencia similar a la reportada para poblaciones latinoamericanas en cuanto a distribución de genotipos, así tenemos que en Costa Rica, el genotipo 677 C/T presenta una menor frecuencia (45.9%) que en Nicaragua

(58.0%) en la muestra analizada. La proporción de la distribución para los genotipos 677 T/T, fue de un 26,8% en Costa Rica y un 19.3% en Nicaragua. En el caso de los genotipos silvestres (677 C/C) la distribución y frecuencia se asemeja en ambos grupos estudiados (Nicaragua 21.11% y Costa Rica 27.3%)^(8,18).

De igual forma, encontramos una distribución de frecuencia genotípica en Colombia, donde se reporta un genotipo heterocigoto con mayor frecuencia (49%), seguida del genotipo silvestre con un 33% y en menor frecuencia el genotipo homocigoto con un 18%⁽¹⁰⁾.

Por el contrario si comparamos la población nicaragüense con una población europea de Alemania y una Asiática como la de la India;

podemos observar una diferencia en la distribución genotípica, siendo en Alemania e India, el genotipo 677 C/C (silvestre) el de mayor frecuencia (49.4% y 69.3%, respectivamente). Aunque el genotipo 677 T/T sea el genotipo mutado, siempre se observa en menor frecuencia, pero realmente se detecta apenas en 7.7% y 2.7%, respectivamente Alemania como India, en relación al 19% de Nicaragua en este resultado preliminar⁽⁷⁾.

Tabla 1. Frecuencia alélica del polimorfismo del gen del MTHFR C677T en los estudiantes de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de León de Nicaragua.

MTHFR 677C>T		
Ala>Val	n	(%)
CC	37	(25)
CT	87	(58)
TT	26	(17)
Total	150	(100)
Frecuencia Alélica	1.0	
677 C	81	0.54
677 T	69	0.46

Fuente primaria

En relación a la frecuencia alélica, podemos apreciar que el alelo 677C (0.54) tiene mayor frecuencia que el alelo 677T (0.46). Similar a lo descrito en otras poblaciones latinoamericanas, por ejemplo la de Colombia, en donde el alelo 677C, es de (0.58) y el alelo 677T (0.42)⁽¹⁰⁾.

En la prevalencia reportada en la población costarricense, se indica que el 0.60 para el alelo 677C, y 0.40 del alelo 677T. En la población de Alemania se observa 0.71 para el alelo 677C, y 0.29 del alelo 677T y en India 0.83 del alelo 677C y 0.17 con respecto al alelo 677T⁽⁷⁾.

De esta forma, se observa realmente una diferencia en la prevalencia de esta variante polimórfica en las diferentes poblaciones alrededor del mundo.

Siempre es importante anotar, que la presencia de esta variante debe analizarse dentro de otros factores que pueden influir en su distribución dentro de las poblaciones, como los factores que puedan alterar la tasa normal de aparición de mutaciones, como migración de etnias, factores culturales (como la endogamia y el emparejamiento selectivo), descendos abruptos

en la cantidad de pobladores de la zona, entre otros.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La estimación preliminar de la prevalencia de la variante polimórfica de la MTHFR C677T en una muestra de estudiantes de Medicina de la Facultad de Ciencias Médicas, de la UNAN-León, Nicaragua, es de 58%, se debe aumentar la cantidad de individuos de la nuestra población y de otras áreas, de esta forma se lograrían valores estadísticos y se definiría si se mantendrá las prevalencias reportadas por este reporte preliminar.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue posible a través del Proyecto Centroamericano para el Estudio Molecular de las Enfermedades Hemorrágicas Hereditarias apoyada por la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica (Nº 807-A6-610) y a la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de León, Nicaragua (UNAN-León).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Genomics.energy.gov. human genome Project Information. [Online] [Cited:01 03, 2010.] http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/faq/snps.shtml
2. OMIM, Online Mendelian Inheritance in Man, a database of human genes and genetic disorders developed by staff at Johns Hopkins OMIM: MTHFR Gene: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/dgi/spomim.cgi?id=607093>
3. Frosst R Blom H J Milos R Goyette P Sheppard CA. *A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase*. *Ata. Genet* 1995;10(1):13-23
4. Strachan T Read A. *Genética Humana*. Tercera Edición. Editorial McGrawHill. Cap. 7, 10, 13. Pág.676 ISBN: 0-8153-4184-9.
5. Jordan Carey Bamshad White. *Genética Médica*. Segunda edición. Editorial

- Harcourt, S.A., 1999. Madrid – España. pág 372.
6. Nussbaum RL McInnes RR Willard HF Thompson & Thompson. *Genética en Medicina*. 7ma Edición. Editorial El Servier. ISBN 978-84-458-1870-1.
 7. Herrmann F Salazar-Sánchez L Gudrun S *et al.* *Prevalence of Eight Molecular Markers Associated With Thrombotic Diseases in Six Amerindian Tribes and Two African Groups of Costa Rica*. *American Journal of Human Biology* 2004;16:82–86.
 8. Salazar-Sánchez L Chaves L Cartin M *et al.* *Common polymorphisms and cardiovascular factors in patients with myocardial infarction of Costa Rica*. *Rev. biol. trop* [revista en la Internet]. 2006 Mar [citado 2012 Mar 27]; 54(1): 1-11.
 9. García Rodríguez M. *Frecuencias del polimorfismo C677T del gen de la 5,10 metiltetrahidrofolato reductasa de madres de individuos con espina bífida*. San José. UCR. 2010 (Tesis para optar al título de Magister Scientiae en Microbiología).
 10. González-Galofre Z. *Determinación del polimorfismo C677T del metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) en una población piloto de estudiantes de la Universidad del Rosario*. *Revista Ciencias de la Salud*, 2010;8:7-21.
 11. Jacques PF Bostom AG Williams RR *et al.* *Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductasa, and plasma homocysteine concentrations*. *Circulation* 1996;93:7-9.
 12. Den Hejler M Lewington S Clarke R. *Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis a meta-analysis of published epidemiological studies*. *Thromb Haemost* 2005;3:292-299.
 13. Chavez L Salazar L Brilla A, Herrmann F. *Estudio de factores trombogénicos en pacientes menores de 45 años con infarto del miocardio*. *Rev. costarric. cardiol* [revista en línea]. 2002 Dic [citado 2012 Mar 27]; 4(3):05-10.
 14. Wilcken B Bamforth F Li Z *et al.* *Geographical and ethnic variation of the 677C-T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas worldwide*. *J. Med. Genet.* 2003;40:619-625.
 15. Botto LD Yang Q. *Atlanta, USA: 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review*. *Am J Epidemiol*, 2000;151:862-877. 0002-9262.
 16. Micronutrientes vitaminas y minerales. [book auth.] Marek H. Dominiczak John W. Baynes. *Bioquímica Medica*, segunda edición. *Madrid: Elsevier España, S.A., 2007, 10, p. 140*.
 17. Miller SA Dikes DD Polesky HF. *Simple and rapid method for DNA preparation with white blood cells*. *Nucl Ac Res* 1988;16:1215
 18. Salazar-Sánchez L. *Geographic and Ethnic differences in the prevalence of thrombophilia*. In *Thrombophilia* pp:39-58. In *Theck Publishers* 2011:Rijeka, Croatia.

CONFLICTO DE INTERÉS

En el presente trabajo no existió ningún conflicto de interés.