www.medigraphic.org.mx

RESPYN
Revista Salud Pública y Nutrición

Vol 2 No.3 Julio-Septiembre 2001

Salus cum propositum vitae

POLIMORFISMOS DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA Y SU ASOCIACIÓN CON LOS DEFECTOS DEL TUBO NEURAL

Zacarias Jiménez-Salas, Pedro Cesar Cantú-Martínez, Luz Natalia Berrún-Castañón, Blanca Edelia González-Martínez.
Facultad de Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma de Nuevo León
E-mail: zjsmx@yahoo.com.mx

Introducción

Los defectos del tubo neural (DTN) son un grupo de malformaciones congénitas que comprenden la anencefalia, espina bífida y encefalocele; en México, son las mas comunes de las malformaciones congénitas con una incidencia de 3.6 por cada 1000 recién nacidos vivos y constituyen un problema de salud pública (1). Los DTN se deben a una falla en el cierre del tubo neural que ocurre en el primer mes del desarrollo embrionario que ocasiona, en la mayoría de los casos, invalidez o muerte del infante en los primeros días de vida (2). Aunque se desconoce el origen de estas alteraciones, se ha descrito que las mujeres que consumen suplementos vitamínicos conteniendo ácido fólico durante el período periconcepcional reducen las probabilidades de aparición de los DTN (3). Se estima que los DTN son de origen multifactorial y se proponen alteraciones genéticas y ambientales como factores de riesgo para su ocurrencia (4). En las primeras investigaciones se observó que la mayoría de las mujeres con embarazos afectados con DTN presentan niveles disminuidos de folato en plasma y en glóbulos rojos (5,6). También se encontró que las mujeres con embarazos afectados e hijos con defectos del tubo neural presentan niveles plasmáticos elevados de homocisteína y concentraciones disminuidas de folato y vitamina B-12 en sangre (7,8). Como se describe posteriormente, en el metabolismo de la homocisteína participan enzimas que utilizan al folato como cofactor y que resultan ser los candidatos ideales para ser considerados factores de riesgo involucrados en los DTN prevenibles por folato. En este trabajo se analizan los polimorfismos de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), una de las enzimas que participa en el metabolismo de la homocisteína y su asociación con los DTN.

Metabolismo de la homocisteína

La homocisteína (Hcy) es un aminoácido azufrado no proteico formado por la desmetilación de la metionina, y puede ser degradado irreversiblemente por la cistationina- -sintetasa (CBS) a cistationina (Figura 1)(9). Además, la Hcy se puede volver a metilar para conservar la metionina en un proceso que requiere la función adecuada de varias enzimas. La metionina sintetasa (MS) agrega un grupo metil a la Hcy en presencia de vitamina B-12 como un cofactor y utilizando como co-sustrato al 5-metiltetrahidrofolato (5-metil-THF). La producción del 5-metil-THF requiere un abastecimiento adecuado de folato reducido y la función apropiada de la MTHFR. Por lo tanto, si hay enzimas funcionando inapropiadamente o los cofactores no se presentan en cantidades adecuadas cabría la posibilidad de originar concentraciones elevadas de Hcy. La hiperhomocistinemia es un factor de riesgo de DTN así como de numerosas enfermedades vasculares, trombosis y algunos tipos de cáncer (10, 11).

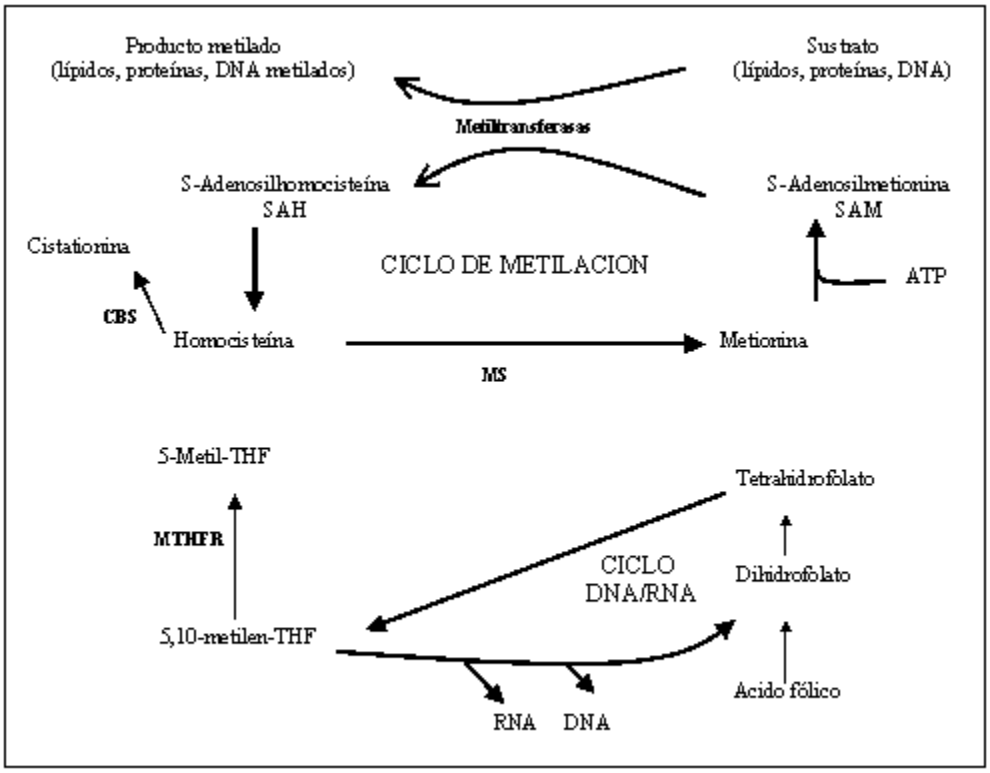

Figura 1. Enzimas dependientes de folato involucradas en el metabolismo de la homocisteína. MS Metionina sintetasa, CBS Cistationina B sintetasa, MTHFR 5,10-metilentetrahidrofolato reductasa (Tomada de la referencia 9).

Homocisteína y DTN

Se han realizado algunas investigaciones para conocer la relación de los DTN con la Hcy y el folato. Se observó que las madres con sujetos afectados con DTN presentan niveles plasmáticos elevados de homocisteína (12, 13), así como concentraciones sanguíneas de folato reducidas comparadas con los controles, aunque aparecen en cantidades que no indican deficiencia marcada de esta vitamina (14); es decir, aunque no hay alteraciones nutricionales profundas de folato, se alcanza a detectar un metabolismo deficiente de la Hcy que sugiere funciones alteradas de las enzimas involucradas. En este sentido, al analizar las posibles alteraciones genéticas y/o funcionales de algunas de las enzimas implicadas, se encontró que en los sujetos con DTN no hay alteraciones en la región del DNA que codifica para la MS que se relacionen con altos niveles de Hcy en sangre (15) y los estudios genéticos y de actividad de la CBS muestran que tampoco se relaciona sustancialmente con los DTN (16). En cambio, la MTHFR presenta alteraciones genéticas asociadas a una actividad enzimática disminuida que la señalan como un factor de riesgo para el desarrollo de espina bífida (17).

El polimorfismo C677T de la MTHFR

La MTHFR es una enzima que cataliza la conversión del 5,10-metilentetrahidrofolato (5,10-MTHF) a 5-Metil-THF, el donador de unidades de carbono utilizado en la síntesis de la metionina a partir de la homocisteína (Figura 1). La mutación mas común de la MTHFR es una sustitución de la citosina por la timina en la base 677, la mutación C677T, que origina una sustitución de valina por alanina en la enzima (18). Este cambio conduce a alteraciones en la función enzimática que se reflejan en una menor estabilidad de la proteína durante la incubación *in vitro* de los linfocitos de sujetos afectados cuando son expuestas a una temperatura de 46 ^{o}C (19). La mutación es de naturaleza autosomica recesiva; la MTHFR de individuos que son homocigotos para esta mutación, los T/T, presenta una baja actividad específica y una estabilidad reducida *in vitro*, esta enzima es denominada MTHFR "termolábil". Al analizar la forma termolábil de la MTHFR en un sistema de expresión bacteriano, se observa que pierde su actividad debido, aparentemente, a que no es capaz de mantener en el sitio alostérico a la coenzima FAD

(20). Sin embargo, falta por aclarar si los resultados encontrados en los estudios *in vitro* reflejan la estabilidad de la enzima *in vivo*.

En 1995, Frosst y colaboradores (21) describieron la mutación C677T en la MTHFR; utilizaron la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar la región genética que codifica para la MTHFR y encontraron una mutación que genera un sitio de restricción *Hinf*I el cual origina dos fragmentos, uno de 175 pb y el otro de 23 pb, que se detectan en geles de agarosa y de poliacrilamida. En este estudio se analizó esta mutación como posible factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades vasculares, actualmente se le considera marcador genético de numerosas patologías relacionadas con el metabolismo de la Hcy.

La frecuencia del polimorfismo C677T de la MTHFR varía entre diversos grupos étnicos. En la población irlandesa la tasa de homocigotos T/T es de 6-8% (22) y de 5% en los holandeses (23). En otros estudios las proporciones de genotipos T/T encontrados son de 13% en la población de Estados Unidos (24), 12 % en canadienses (25) y de 25% en hispanos blancos (26). En México se han realizado estudios de población en general y en grupos con riesgo y se informa una incidencia de 3 a 4 veces mayor comparada con la de grupos étnicos relacionados y esto se asocia a la elevada incidencia de DTN en la región (27); En Nuevo León, la proporción del genotipo T/T en una población de mujeres de un grupo control fue del 20% (28).

Importancia del polimorfismo C677T de la MTHFR en los DTN

Inicialmente, los DTN se asociaron a una baja ingesta de alimentos con folato durante el período periconcepcional así como a niveles séricos disminuidos del ácido fólico (29, 30). Posteriormente, se propuso que la hiperhomocistinemia tiene un papel fundamental en la etiología de los DTN (31, 32). Por lo anterior, cabría suponer que los DTN se relacionan con el genotipo T/T de la MTHFR dada la relación de esta enzima con el metabolismo de la homocisteína y con el bajo consumo de ácido fólico descrito. Sin embargo, no ha resultado sencillo comprobar esta relación, pues mientras que algunos trabajos indican una asociación directa entre los niveles sanguíneos bajos de ácido fólico y la hiperhomocistinemia en pacientes con DTN (33, 34), otros encuentran el fenómeno contrario (35) por lo que se cuestiona la validez de ambos resultados y queda sin determinar con precisión el papel de la mutación C677T como factor de riesgo en el desarrollo de los DTN.

Un análisis mas detallado de las publicaciones señaladas anteriormente fue realizado por Shields y colaboradores en 1999 (36) y sugiere una serie de consideraciones para estudiar la relación entre los DTN y la mutación C677T de la MTHFR. Se propone que el genotipo T/T del feto en desarrollo, y no el genotipo T/T de su madre, es el determinante genético crítico de riesgo de DTN asociado a MTHFR. Es probable que el genotipo materno T/T otorgue un riesgo adicional al feto T/T, pero este riesgo es pequeño comparativamente; es decir, el genotipo materno T/T esta asociado con una menor concentración de folato eritrocitario y esta reducción incrementa el riesgo de DTN (37, 38), por lo tanto, el genotipo materno T/T asociado a una población que consume niveles deficientes de folato incrementa las probabilidades de que aparezcan los DTN. Sin embargo, se requerirá de mayores estudios que contribuyan a aclarar este tema y a determinar el umbral de folato abajo del cual el genotipo T/T llega a ser potencialmente patogénico, será entonces cuando las políticas de salud pública podrán incorporar estrategias dirigidas a suplementar con ácido fólico para prevenir los bajos niveles de folato en mujeres embarazadas en riesgo de caer debajo de este umbral.

Otros polimorfismos de la MTHFR

En 1998, van der Put y colaboradores (39) encontraron un segundo polimorfismo en la MTHFR que implica la sustitución de A por C en el par de bases 1298, que origina la sustitución de ácido glutámico por alanina con una frecuencia de alelos semejante a la descrita para la mutación C677T. Sin embargo, el polimorfismo A1298C no se asocia con la elevación plasmática de homocisteína y no interacciona con el folato sérico como sucede con el polimorfismo C677T de la MTHFR. Se sugiere la realización de mayores estudios para conocer el significado de este polimorfismo.

Conclusiones

Los resultados anteriormente descritos hacen evidente la compleja relación existente entre la genética y la nutrición en el campo de los DTN. Se necesitan mayores estudios para asociar los polimorfismos analizados con el riesgo de aparición de los DTN y con los requerimentos de folato. Debe hacerse un mayor análisis de los genes que codifican para las enzimas involucradas en el metabolismo de la

homocisteína. Es evidente que hay interacciones muy complejas entre los genotipos y el estado nutricio que producen un fenotipo determinado, en particular en el caso de los folatos y el metabolismo de la homocisteína que resultan un campo muy amplio e interesante para su estudio.

Referencias

1. Rodríguez-Morán M, JF Guerrero-Romero, M Parra-Quezada, MJ Segura-Pineda, M Levario-Carrillo y EI Sotelo Ham. 1998. Deficiencia de folatos y su asociación con defectos de cierre del tubo neural en el norte de México. Salud Pública Méx. 40: 474 – 480.

2. Scott JM, DG Weir & PM Kirke. 1995. Folate and neural tube defects: en Folate in Health and Disease Editado por LB Bailey. Cap. 12 pp 329 – 360.

3. Medical Research Council Vitamin Study Research Group. 1991. Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. Lancet. 338: 131- 137.

4. Copp AJ, FA Brook, JP Estibeiro, ASW Shum & DL Cockroft. 1990. The embryonic development of mammalian neural tube defects. Progr. Neurobiol 35: 363-403.

5. Kirke PN, AM Molley, LE Daly, H Burke, DG Weir & JM Scott. 1993. Maternal plasme folate and vitamin B12 are independient risk factors for neural tube defects. Quarterly J. Med. 86: 703 – 708.

6. Daly S, Mills JL, AM Molloy, M Conley, YJ Lee, PN Kirke, DG Weir & JM Scott. 1997. Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural tube defects. Lancet 350:1666-1669.

7. Mills JL, JM McPartlin, PN Kirke, YJ Lee, MR Conley, DG Weir & JM Scott. 1995. Homocysteine metabolism in pregnancies complicated by neural-tube defects. Lancet 345: 149-151.

8. Steegers-Theunissen RPM, GHG Boers, FJM Trijbels, JD Finkelstein, HJ Blom, CMG Thomas & GF Borm. 1994. Maternal hyperhomocysteinaemia: a risk factor for neural-tube defects?. Metabolism 43: 1475-1480.

9. Scott JM, *et al*., Op. Cit.

10. Brattstrom L, DEI Wilchen, J Ohrvik & L Brudin. 1998. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease—the result of a meta-analysis. Circulation 98:2520-2526

11. Chen J, E Giovannucci, K Kelsey, EB Rimm, MJ Stampfer, GA Colditz, D Speigelman, WC Willet & Hunter 1996. A methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of colorectal cancer. Cancer Res. 56: 4862-4864.

12. Mills JL, *et al*., Op. Cit.

13. Steegers-Thusein RPM *et al*., Op. Cit.

14. Kirke, 1993, *et al*., Op. Cit.

15. van der Put NMJ, EF van der Molen, LAJ Kluijtmans, SG Heil, FJM Trijbels, TKAB Eskes & D van Oppenraaij-Emmerzaal. 1997. Sequence analysis of the coding region of human methionine synthase: relevance to hyperhomocisteinaemia in neural-tube defects and vascular disease. Q. J. Med. 90: 511 – 517.

16. Ramsbotton D, JM Scott, DG Weir, PN Kirke, JL Mills, PM Gallager & AS Whitehead. 1997. Are common mutations of cystathionine- -synthase involved in the aetiology of neural tube defects?. Clin Genet 51: 39-42.

17. van der Put NM, RP Steegers-Theunissen, P Frosst, FJ Trijbels, TK Eskes, LP van den Heuvel, EC Mariman, M den Heyer, R Roxen & HJ. Blom 1995. Mutated methylenehydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. Lancet 346:1070-1071.

18. Frosst P, HJ Blom, R Milos, P Goyette, CA Sheppard, RG Matthews, GJH Boers, M den Heijer, LAJ Kluijtmans, LP van den Heuvel & R Rozen. 1995. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahyrofolate reductase. Nat. Genet. 10:111-113.

19. Kang SS and PW Wong. 1996. Genetic and nongenetic factors for moderate hyperhomocyst(e)inemia. Atherosclerosis 119:135-138.

20. Matthews RG, C Sheppard & C. Goulding 1998. Methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase: biochemistry and molecular biology. Eur. J. Pediatr. 157(suppl. 2):S54-S59.

21. Frosst P. *et al*., Op. Cit.

22. Kirke PN, JL Mills & AS Whitehead. 1996. Methylenetetrahydrofolate reductase mutation and neural tube defects. Lancet. 348: 1037-1038.

23. Ou CY, RE Stevenson, VK Brown, CE Schwartz, WP Allen, MJ Khoury, R Rozen, GP Oakley & MJ Adams 1996. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism as a risk factor for neural tube defects. Am. J. Med. Genet. 63:610-614.

24. Ma J, MJ Stampfer & CH Hennekens. 1996. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, plasma folate, homocysteine, and risk of myocardial infarction in US physicians. Circulation. 94: 2410-2416.

25. Frosst P. *et al*., Op. Cit.

26. Shaw GM, R. Rozen, RH Finnell, CR Wasserman & EJ Lammer. 1998. Maternal vitamin use, genetic variation of infant methylenetetrahydrofolate reductase and risk for spina bifida. Am. J. of Epidemiol. 148: 30-37.

27. Mutchinick OM. 2000. Polimorfismos moleculares del gen de la MTHFR, ingesta periconcepcional de ácido fólico y defectos del tubo neural. En el Simposio "Defectos del tubo neural: Aspectos epidemiológicos, metabólicos, genéticos y estrategias de prevención." Congreso de Genética y Biomedicina molecular 2000 celebrado en la Cd. de Monterrey N. L.

28. Perales-Dávila J, L Martínez de Villarreal, H Triana-Saldaña, D Saldívar-Rodríguez, H Barrera-Saldaña, A Rojas-Martínez, R López-Valdez, M Garza-Elizondo, R García-Cavazos, R Valdéz-Leal & J Villarreal-Pérez. 2000. Niveles de ácido fólico, homocisteína y polimorfismo de la enzima MTHFR en pacientes con preeclampsia severa y eclampsia. Memorias del Congreso de Genética y Biomedicina molecular 2000 celebrado en la Cd. de Monterrey N. L. p 53.

29. Kirke PN. *et al*., Op. Cit.

30. Daly S. *et al*., Op. Cit.

31. Mills JL *et al*., Op. Cit.

32. Steegers-Theunissen *et al*., Op. Cit.

33. Ou CY. *et al*., Op. Cit.

34. van der Put NM. *et al*., Op. Cit.

35. Mornet E, F Muller, A Lenvoise-Furet, AL Delezoide, C Jean-Yves, B Simon-Bouy & JL Serre. 1997. Screening of the C677T mutation on the methylenetetrahydrofolate reductase gene in French patients with neural tube defects. Hum. Genet. 100:512-514.

36. Shields DC, PN Kirke, JL Mills, D Ramsbottom, AN Molloy, H Burke, DG Weir, JM Scott & AS Whitehead. 1999. The "thermolabile" variant of methylenetetrahydrofolate reductase and neural tube defects: an evaluation of genetic risk and the relative importance of the genotypes of the embryo and the mother. Am. J. Hum. Genet. 64: 1045-1055.

37. Daly S. *et al*., Op. Cit.

38. Molloy AM, S Daly, JL Mills, AS Whitehead, D Ramsbottom, MR Conley, DG Weir & JM Scott. 1997. Thermolabile variant of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates: implications for folate intake recommendations. Lancet 349:1591-1593.

39. van der Put NM, F Gabreels, EM Stevens, JA Smeitink, FJ Trijbels, TK Eskes, LP van den Heuvel & HJ Blom. 1998. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?. Am. J. Hum. Genet. 62:1044-1051.

Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición
Ave. Dr. Eduardo Aguirrre Pequeño y Yuriria ,
Col Mitras Centro, Monterrey, N.L. México 64460
Tels. (8)348-4354, 348-6080, 348-6447
respyn@uanl.mx

Universidad Autónoma de Nuevo León
webmaster@uanl.mx

Educación para la vida