

# Concentraciones de homocisteína y su relación con el polimorfismo MTHFR C677T en pacientes con un evento trombótico y abortadoras habituales

## Homocysteine levels and their relationship with the MTHFR C677T polymorphism in patients with a thrombotic event and habitual abortions.

María Teresa Martínez-Echevarría,<sup>1</sup> Karina Casanueva-Calero,<sup>2</sup> Teddy Osmin Tamargo-Barbeito,<sup>3</sup> Ana Luisa Morales-Gómez,<sup>4</sup> Ana María Arias-Prieto,<sup>5</sup> Maiyurik Gómez-León,<sup>6</sup> Wilfredo Torres-Yibar<sup>7</sup>

### Resumen

**ANTECEDENTES:** La hiperhomocisteinemia se asocia con mayor riesgo de eventos trombóticos. Se plantea que los genotipos heterocigoto CT y homocigoto TT del gen de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) constituyen un factor de riesgo para su aparición.

**OBJETIVO:** Caracterizar las concentraciones séricas de homocisteína y su relación con el polimorfismo MTHFR C677T en adultos jóvenes cubanos.

**MATERIALES Y MÉTODOS:** Estudio descriptivo de serie de casos transversal, efectuado de septiembre de 2017 a diciembre de 2018 en un grupo de pacientes con edades comprendidas entre 18 y 50 años, de uno y otro sexo. Las concentraciones séricas de homocisteína se determinaron mediante el método comercial de CPM y la detección del polimorfismo MTHFR C677T mediante un estuche comercial de Roche.

**RESULTADOS:** Se incluyeron 50 pacientes. El 84% (n = 42) tenía concentraciones normales de homocisteína y solo el 16% (n = 8) tenía concentraciones elevadas. No encontramos asociación entre las concentraciones de homocisteína y el sexo, el color de la piel y el diagnóstico clínico. Se encontró asociación (p = 0.011) entre la hiperhomocisteinemia y el genotipo TT del polimorfismo MTHFR C677T.

**CONCLUSIONES:** La hiperhomocisteinemia no constituye la causa más frecuente del evento trombótico en adultos jóvenes cubanos con eventos trombóticos y abortadoras habituales y se asocia con el genotipo TT del polimorfismo MTHFR C677T.

**PALABRAS CLAVE:** Hiperhomocisteinemia; MTHFR; trombosis venosa profunda; ictus; abortadoras habituales.

### Abstract

**BACKGROUND:** Hyperhomocysteinemia is associated with an increased risk of thrombotic events. The heterozygous CT and homozygous TT genotypes of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene are considered a risk factor for its development.

**OBJECTIVE:** To characterize the serum levels of homocysteine and its relationship with the MTHFR C677T polymorphism in young Cuban adults.

<sup>1</sup> Investigador agregado. Instructor. Laboratorio de Genética Molecular.

<sup>2</sup> Especialista en Bioquímica. Instructor. Laboratorio de Genética Molecular.

<sup>3</sup> Especialista en Bioestadística. Investigador titular. Profesor titular. Departamento de Investigaciones.

<sup>4</sup> Especialista en Laboratorio Clínico. Laboratorio Clínico.

<sup>5</sup> Profesor auxiliar. Laboratorio Clínico.

<sup>6</sup> Especialista en Hematología. Instructor. Laboratorio Clínico.

<sup>7</sup> Especialista en Hematología. Investigador titular. Profesor titular. Laboratorio Clínico.

Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras, La Habana, Cuba.

**Recibido:** diciembre 2020

**Aceptado:** marzo 2021

### Correspondencia

María Teresa Martínez Echevarría  
trombofilia@hha.sld.cu

### Este artículo debe citarse como:

Martínez-Echevarría MT, Casanueva-Calero K, Tamargo-Barbeito TO, Morales-Gómez AL, et al. Concentraciones de homocisteína y su relación con el polimorfismo MTHFR C677T en pacientes con un evento trombótico y abortadoras habituales. Hematol Mex. 2021; 22 (1): 1-8.

[https://doi.org/10.24245/rev\\_hematol.v22i1.4937](https://doi.org/10.24245/rev_hematol.v22i1.4937)

**MATERIALS AND METHODS:** A descriptive study of a transversal case series was carried out from September 2017 to December 2018 in a group of patients aged between 18-50 years, of both sexes. Serum homocysteine levels were determined using the commercial CPM method and detection of the MTHFR C677T polymorphism was performed using a Roche commercial kit.

**RESULTS:** There were included 50 patients; 84% (n = 42) presented normal homocysteine levels and only 16% (n = 8) had elevated levels. We found no association between homocysteine levels and gender, skin color, and clinical diagnosis. An association ( $p = 0.011$ ) was found between hyperhomocysteinemia and the TT genotype of the MTHFR C677T polymorphism.

**CONCLUSIONS:** Hyperhomocysteinemia is not the most frequent cause of the thrombotic event in Cuban young adults with thrombotic events and habitual abortion, and it is associated with the TT genotype of the MTHFR C677T polymorphism.

**KEYWORDS:** Hyperhomocysteinemia; MTHFR; Deep venous thrombosis; Stroke; Habitual aborters.

## ANTECEDENTES

La trombofilia hereditaria o congénita se define como un incremento del riesgo de trombosis determinado genéticamente.<sup>1</sup> Sin embargo, para llegar a padecer la enfermedad en ocasiones se requiere la interacción con otros factores genéticos o ambientales. Un paradigma reciente de la trombofilia sugiere que el tromboembolismo es una enfermedad de origen multifactorial en la que están implicados uno o más trastornos genéticos asociados con factores de riesgo modificables o no. Es por ello que puede resultar difícil identificar sus causas y predecir su riesgo. Sin embargo, en los pacientes afectados por una trombofilia hereditaria, el primer tromboembolismo ocurre, por lo general, en la juventud. En ellos el trombo aparece en localizaciones inusuales y suelen tener antecedente familiar de tromboembolismo venoso en diferentes localizaciones.<sup>2</sup>

Según su localización, la trombosis puede generar enfermedades con elevada morbilidad y mortalidad, como el infarto agudo de miocardio y el accidente cerebrovascular (ictus).<sup>3</sup> Esta epidemia invisible afecta cada vez a más personas, familias, comunidades y países, consumiendo grandes recursos para el tratamiento de los pacientes. La Organización Mundial de la Salud prevé que, en 2020, la enfermedad isquémica del corazón será responsable de 11.1 millones de muertes; por lo que su prevención constituye un reto para las autoridades sanitarias de todos los países.<sup>4</sup> Los estudios realizados en Cuba mostraron que en 2018 ambos eventos fueron la segunda y tercera causas de muerte, respectivamente.<sup>5</sup>

Estudios recientes confirman que el aumento de la concentración de homocisteína en el suero sanguíneo se relaciona en forma lineal con el aumento del riesgo de padecer eventos trombó-

ticos y abortos espontáneos.<sup>6,7</sup> Una de las causas de la hiperhomocisteinemia es el polimorfismo C677T en la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR).<sup>8</sup> Esta mutación ocasiona una variedad termolábil de la enzima que, en los sujetos homocigotos mutados (genotipo TT), muestra reducción cercana al 50% en la capacidad de donar grupos metilo a la enzima metionina sintetasa, con lo que disminuye la velocidad de conversión de homocisteína a metionina y se elevan las concentraciones de homocisteína en el plasma.<sup>9</sup>

A pesar de la elevada morbilidad y mortalidad que tienen los eventos tromboticos en nuestro país, no se conocen bien las características de las concentraciones de homocisteína y del polimorfismo MTHFR C677T en la población de riesgo. Los datos disponibles se basan en estudios dirigidos a poblaciones extranjeras, por lo que se considera imprescindible la realización de este estudio en una muestra cubana representativa porque el esclarecimiento de sus causas permitirá disminuir la incidencia de esta enfermedad y sus consecuencias.

En esta investigación se determinaron las concentraciones séricas de homocisteína y su relación con el polimorfismo MTHFR C677T en pacientes con un evento trombotico y abortos habituales, lo que juega un papel importante en la evaluación del riesgo vascular en estos pacientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo de serie de casos transversal, efectuado de septiembre de 2017 a diciembre de 2018. Se incluyeron pacientes remitidos al laboratorio de Genética Molecular del Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras, menores de 50 años, de uno y otro sexo, con antecedentes patológicos personales, familiares o ambos de trombosis.

### Determinación de las concentraciones de homocisteína

Se colectaron 5 mL de sangre periférica en un tubo seco, previo ayuno de 12 horas. Después de extraído el suero, se determinaron las concentraciones séricas de homocisteína mediante el estuche comercial Ensayo enzimático para la determinación cuantitativa de la homocisteína en suero y plasma humano en un equipo Inlab 300, siguiendo las instrucciones del fabricante.<sup>10</sup> Se consideraron valores normales de 2.78 a 14.70  $\mu\text{mol/L}$  en el sexo masculino y de 1.98 a 14.47  $\mu\text{mol/L}$  en el femenino.<sup>11</sup>

### Detección del polimorfismo

Se recolectaron 3 mL en tubos Venosafe® (Terumo Europe nv) con ácido etilendiaminotetraacético dipotásico. 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.<sup>12</sup> El ADN obtenido se cuantificó en un espectrofotómetro NanoDrop One® (Thermo Scientific) y se conservó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. La detección del polimorfismo C677T en el gen de la MTHFR se realizó mediante PCR (del inglés *polymerase chain reaction*) en tiempo real, utilizando el estuche comercial Lightmix® in-vitro diagnostics MTHFR C677T (TIMOLBIOL). Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador LightCycler® 96 (Roche). La interpretación de las curvas de fusión obtenidas se realizó mediante el programa 1.1 del equipo, siguiendo las instrucciones del fabricante.<sup>13</sup>

### Análisis de los resultados

Los datos se analizaron mediante el programa SPSS para Windows, versión 20.0. La muestra se caracterizó a través de las variables sexo (femenino y masculino, según la condición biológica del paciente) y antecedentes patológicos personales,

mediante la estadística descriptiva, utilizando las frecuencias absolutas y relativas expresadas en porcentajes por tratarse de variables cualitativas con distribución normal. La variable cuantitativa homocisteína con distribución normal se resumió mediante la media y la desviación estándar. Para evaluar la posible relación entre las concentraciones de homocisteína respecto al sexo y los antecedentes patológicos personales se usó la prueba U de Mann-Whitney. Para evaluar la posible relación entre las concentraciones de homocisteína y la existencia de la mutación en estudio se utilizó el análisis de variancia (ANOVA) de clasificación simple y para las pruebas *a posteriori* se usó la prueba de Scheffé. En todas las pruebas de hipótesis realizadas en los objetivos se utilizó un nivel de significación  $\alpha = 0.05$ .

#### Consideraciones éticas

Se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes para participar en la investigación; respetando los principios éticos para las investigaciones biomédicas planteados en la declaración de Helsinki.<sup>14</sup> Antes de proceder a los estudios complementarios se les explicó a los pacientes todos los beneficios y riesgos de cada proceder, informándoles sus resultados en el periodo establecido. También se les comunicó que, de no acceder a participar en la investigación o abandonarla, no se afectaría la atención médica requerida.

Las muestras de los pacientes que accedieron a participar en el estudio 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 se informaron a los médicos de asistencia para la evaluación de la conducta a seguir.

#### RESULTADOS

De 73 pacientes remitidos al laboratorio de Genética Molecular del Hospital Clínico Quirúrgico

Hermanos Ameijeiras, se incluyeron 50 adultos menores de 50 años, de uno y otro sexo, con antecedentes patológicos personales, familiares o ambos de trombosis. Se excluyeron 19 pacientes con enfermedad asociada con trombosis y 4 abortadoras en las que se desconocía la causa del aborto. En la muestra estudiada, 29 individuos tenían antecedentes patológicos personales de trombosis venosa profunda. En el caso de las mujeres, 21 tuvieron tres o más pérdidas gestacionales consecutivas antes de la semana 20 de gestación, asociadas con un evento trombótico.

En la muestra estudiada los valores de homocisteína se encontraron en el intervalo de 4.71 a 23.58  $\mu\text{mol/L}$  con media de  $10.51 \pm 3.95 \mu\text{mol/L}$ . Del total de pacientes estudiados, el 84% (42) tenía concentraciones normales de homocisteína en el suero sanguíneo y solo el 16% (8) mostró concentraciones elevadas.

Esta investigación incluyó 37 mujeres y 13 hombres. En las mujeres se observó una media de  $10.24 \pm 3.50 \mu\text{mol/L}$  para las concentraciones de homocisteína. En los hombres la media fue de  $10.89 \pm 5.15 \mu\text{mol/L}$ . No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre ambos sexos respecto a las concentraciones de homocisteína ( $p = 0.614$ ).

En este estudio, 17 pacientes tenían antecedentes patológicos personales de trombosis venosa profunda, 12 de ictus y en el caso de las 21 abortadoras estudiadas, 15 tuvieron, además, trombosis venosa profunda. En el **Cuadro 1** se describen las características de los valores de homocisteína para cada grupo de pacientes con los antecedentes patológicos personales mencionados. No pudo demostrarse la asociación entre las concentraciones de homocisteína y los antecedentes patológicos personales.

Al analizar la posible asociación entre la existencia del polimorfismo MTHFR C677T y las

**Cuadro 1.** Características de los valores de homocisteína en cuanto a los antecedentes patológicos familiares y el diagnóstico del paciente

		Homocisteína			
		Núm.	Media	Desviación estándar	p*
<b>Antecedentes patológicos familiares</b>					
Trombosis	No	36	9.89	3.56	0.177
	Sí	14	11.75	4.71	
<b>Diagnóstico</b>					
Trombosis venosa profunda	No	20	10.00	3.46	0.600
	Sí	30	10.68	4.27	
Ictus	No	38	10.62	4.02	0.440
	Sí	12	9.74	3.78	
Abortadora habitual	No	29	10.69	4.21	0.529
	Sí	21	10.03	3.62	

\* prueba U de Mann-Whitney.

concentraciones de homocisteína en el suero sanguíneo se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de homocisteína de los pacientes con genotipo normal y con genotipo homocigótico mutado, tanto en el ANOVA ( $p = 0.004$ ) como en las pruebas *a posteriori* ( $p = 0.011$ ). **Cuadro 2**

## DISCUSIÓN

En los pacientes estudiados, predominaron los valores normales de homocisteína con una media ( $10.51 \mu\text{mol/L}$ ) similar a la observada en los adultos jóvenes sanos peruanos ( $7.76 \mu\text{mol/L}$ ),<sup>15</sup> costarricenses ( $9.45 \mu\text{mol/L}$ ),<sup>16</sup> mexicanos ( $10.02 \mu\text{mol/L}$ )<sup>17</sup> y tunecinos ( $10.94 \mu\text{mol/L}$ ).<sup>18</sup> Estos resultados implican una baja frecuencia de hiperhomocisteinemia en la muestra estudiada de adultos jóvenes cubanos con eventos trombóticos y abortadoras habituales.

El sexo y la edad son las causas fisiológicas más importantes de la elevación de la homocisteína en el plasma. Las concentraciones séricas de homocisteína aumentan con la edad en ambos sexos, debido, en parte, a la disminución fisioló-

gica de la función renal y también a deficiencias vitamínicas que son la consecuencia de una menor absorción intestinal.<sup>19</sup> No obstante, la mayor parte de los protocolos para el estudio de la trombofilia indican que deben investigarse las concentraciones séricas de homocisteína en los pacientes afectados por un evento trombótico,<sup>1,2</sup> ya que muchos autores han reportado que la hiperhomocisteinemia está relacionada con la trombosis venosa profunda,<sup>19</sup> el ictus,<sup>20</sup> el infarto agudo de miocardio<sup>21</sup> y los abortos espontáneos.<sup>22</sup> Sin embargo, en este estudio no pudo demostrarse la asociación entre las concentraciones de homocisteína y el diagnóstico clínico del paciente (**Cuadro 1**). En una investigación realizada por Vizcaíno en 2017, se refiere que la hiperhomocisteinemia se asocia con los eventos trombóticos en algunas poblaciones, mientras que en otras no ha podido demostrarse la asociación.<sup>21</sup>

Asimismo, en los estudios realizados en la población mexicana y guatemalteca, se encontró que las concentraciones de homocisteína en sangre son superiores en los hombres.<sup>17</sup> La diferencia entre los sexos comienza aparentemente

**Cuadro 2.** Medias de la homocisteína según polimorfismo MTHFR C677T y las concentraciones de homocisteína

MTHFR C677T	Homocisteína						
	Núm.	Media	Desviación estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
Genotipo normal	29	9.05	2.012	8.29	9.82	4.71	11.99
Genotipo heterocigótico	16	11.60	5.26	8.80	14.40	5.51	23.58
Genotipo homocigótico mutado	5	14.50	4.34	9.11	19.88	8.48	18.30
Total	50	10.41	3.95	9.29	11.53	4.71	23.58

Análisis de variancia de un factor:  $p = 0.004$ . Comparaciones *a posteriori*: Scheffé: Genotipo normal - genotipo heterocigótico  $p = 0.011$ .

en la pubertad y se cree que se debe a factores hormonales, estilos de vida, dieta e ingesta de vitaminas.<sup>23</sup> Estas diferencias son posiblemente el reflejo del efecto de las hormonas sexuales en la homocisteína. Se sugiere que el mecanismo implicado podría estar relacionado con el incremento de la actividad de la metionina-sintasa en el riñón. Además, los cambios inducidos por las hormonas en la transaminación de la metionina pueden ser el mecanismo potencial por el que los estrógenos disminuyen las concentraciones de homocisteína.<sup>22</sup> Sin embargo, en este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos sexos respecto a las concentraciones de homocisteína. Este resultado indica que en los pacientes estudiados la hiperhomocisteinemia afecta a ambos sexos por igual, lo que concuerda con lo reportado por Párraga-Díaz y colaboradores.<sup>24</sup>

Debido al carácter multifactorial de la hiperhomocisteinemia, las concentraciones de homocisteína en sangre deben investigarse en la trombofilia primaria y en la secundaria.<sup>25</sup> En este trabajo solo se incluyeron individuos con sospecha de trombofilia primaria. No obstante, la mayor parte de ellos ( $n = 36$ ) no tenían antecedentes patológicos familiares de trombosis (**Cuadro 1**). Coincidentemente los 8 pacientes que tuvieron hiperhomocisteinemia estaban

en el grupo de los individuos con antecedentes patológicos familiares de trombosis. Este hallazgo es similar al reportado por Martinelli y colaboradores, quienes refieren que los individuos con antecedentes patológicos familiares de enfermedad trombótica tienen concentraciones de homocisteína superiores a los que carecen de ellos.<sup>26</sup> Esto pudiera sugerir una posible asociación entre los antecedentes patológicos familiares de trombosis y la hiperhomocisteinemia; sin embargo, en este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que sí mostraron antecedentes patológicos familiares de trombosis y los que no, respecto a las concentraciones de homocisteína ( $p = 0.136$ ).

Entre los mecanismos por los que se genera la hiperhomocisteinemia se proponen las deficiencias en la MTHFR, generadas por el polimorfismo MTHFR C677T.<sup>27</sup> En un estudio anterior, en pacientes con características similares, se observó alta frecuencia genotípica ( $n = 67$ , 80%) de este polimorfismo.<sup>28</sup> Sin embargo, al analizar la posible asociación entre la presencia del polimorfismo MTHFR C677T y las concentraciones de homocisteína en el suero sanguíneo, se encontró asociación estadísticamente significativa solo en los pacientes que tenían el genotipo homocigoto mutado.

Se han realizado numerosos estudios de asociación entre las concentraciones de homocisteína y el polimorfismo MTHFR C677T en diversas poblaciones, sanas o enfermas, con resultados controvertidos. Los resultados de las investigaciones realizadas en Argentina, Estados Unidos, Colombia, Irán e Inglaterra son similares a los obtenidos en este trabajo y también refieren asociación entre la existencia de esta mutación y la hiperhomocisteinemia.<sup>29-33</sup> Sin embargo, otros autores de Brasil, Japón, India y México no encontraron asociación entre ambas variables.<sup>17,34-36</sup> Se ha propuesto que estas diferencias pudieran explicarse por variaciones en el tipo de población y el número de muestras analizadas, en los métodos de la cuantificación de la homocisteína y en otros factores ambientales, especialmente en la ingesta de ácido fólico.<sup>17</sup>

Los resultados obtenidos en esta investigación indican que la hiperhomocisteinemia no constituye la causa más frecuente del evento trombótico en los adultos jóvenes cubanos con eventos trombóticos y abortadoras habituales. No obstante, la hiperhomocisteinemia encontrada en algunos de estos pacientes se asocia con la existencia del genotipo homocigoto mutado del polimorfismo MTHFR C677T. Por ello, se recomienda realizar la determinación de los valores séricos de homocisteína en los adultos jóvenes cubanos con eventos trombóticos y abortadoras habituales que acuden a la consulta de trombofilia del HCQ Hermanos Ameijeiras y luego, si se demuestra la hiperhomocisteinemia, realizar la determinación del polimorfismo MTHFR C677T para esclarecer el riesgo genético y orientar el manejo de estos pacientes.

#### Conflicto de interés

Los autores declaramos que no existe un posible conflicto de intereses en este manuscrito.

#### Consideraciones éticas

Este estudio fue aprobado por la dirección del laboratorio de la institución participante. La investigación se realizó conforme a los principios de la ética médica, a las normas éticas institucionales y nacionales vigentes y a los principios de la Declaración de Helsinki.<sup>14</sup>

#### REFERENCIAS

1. Torres-Yribar W, Gómez-León M, Carballo-Treto TI. Trombofilia. Expertos de validación interna. In: Ameijeiras HH, ed. Manual de Prácticas Médicas HCQ Hermanos Ameijeiras. IV ed. 2012.
2. Gallo MdC, Sánchez-Luceros A. Hemostasia y trombosis. In: Hematología SAd, ed. Guías de diagnóstico y tratamiento. 2017; 229-39.
3. Bustamante-Cabrera G, Ticona-Segales SY. Trombosis-Embolia. Patología. Revista de Actualización Clínica 2014; 43: 2287-90.
4. Moldes-Acanda M, González-Reguera M, Hernández-Rivero MdC, Prado-Solar LA, et al. Comportamiento del infarto agudo del miocardio en Cuidados Intensivos. Centro Diagnóstico Integral Simón Bolívar. Venezuela. Revista Médica Electrónica 2017; 39: 43-52.
5. Cuba MdSPd. Anuario estadística de Salud 2018. Cuba: MINSAP; 2019.
6. Santiso-Ramos M, López-Santiso P, Robert-Companini L, Cabrera-Espinosa O. Homocisteína, marcador de riesgo vascular. Revisión bibliográfica. Mediciego 2016; 22: 66-76.
7. Montalván-Ayala V, Palacin-Arias L, Morales-Cuervo V, Pachas-Vicuña C. Relación entre la hiperhomocisteinemia plasmática y la enfermedad cerebrovascular de pequeños vasos en el servicio de neurología del Hospital Almenara-Essalud, Lima. Rev Neuropsiquiatr 2016; 79: 137-41.
8. Oliveira KC, Verreschi ITN, Sugawara EK, Silva VC, et al. C677T and A1298C polymorphisms of MTHFR gene and their relation to homocysteine levels in turner syndrome. Genet Test Mol Biomark 2012; 16: 396-400. doi: 10.1089/gtmb.2011.0222.
9. Vizcaíno G, Vizcaíno J. Homocisteína: bases genéticas y sus implicaciones cardiovasculares y cognitivas como factor de riesgo. Investigación Clínica 2017; 58: 406-36.
10. CPM. Homocisteína. Abril 2014.
11. Alfonso-Font MY. Valores de referencia de homocisteína en individuos con bajo riesgo aterosclerótico. Hospital Hermanos Ameijeiras. 2015-2017. La Habana, Cuba: Universidad de Ciencias Médicas de La Habana; 2017.
12. Roche. High Pure PCR Template Preparation Kit. April 2017.

13. TIBMOLBIOL. LightMix in-vitro diagnostics kit MTHFR C677T. 2016.
14. Association WM. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 2017 ed: World Medical Association Inc; 2017: 9.
15. Soberón M, Charaja A, Agüero Y, Oriondo R, et al. Estudio de los niveles plasmáticos de homocisteína, ácido fólico y vitamina B-12 en una población limeña de jóvenes adultos. *An Fac Med* 2004; 65: 89-96.
16. Holst-Schumacher I, Monge-Rojas R, Barrantes-Santamaría M. Niveles séricos de homocisteína total y lipoproteínas en adultos jóvenes de áreas rurales y urbanas de Costa Rica. *Arch Latinoam Nutrición* 2006; 56: 335-41.
17. González-Mercado MG, Rivas F, Salazar-Páramo M, Gallegos-Arreola MP, et al. Homocisteína, polimorfismos MTHFR C677T, A1298C y variables clínico-bioquímicas en población mexicana. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2014;48:23-31.
18. Messedi M, Frigui M, Chaabouni K, Turki M, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and variations of homocysteine concentrations in patients with Behcet's disease. *Gene* 2013; 527: 306-10. doi: 10.1016/j.gene.2013.06.041.
19. Rosabal-Nieves EL. Sobre el metabolismo de la homocisteína. Implicaciones para la nutrición. *RCAN* 2016; 26: 157-71.
20. Viruez-Soto JA, Alí-Yucra N, Chuquimia-Rodríguez GN, Re-Gutiérrez S, et al. Craniectomía descompresiva, recomendaciones actuales. *Rev Med La Paz* 2018; 24: 49-52.
21. Vizcaíno G, Vizcaíno J. Homocisteína: bases genéticas y sus implicaciones cardiovasculares y cognitivas como factor de riesgo. *Invest Clin* 2017; 58: 406-36.
22. Guerra M, Hernández P. Homocisteína, implicaciones en el riesgo cardiovascular. *Ciencia Actual* 2015; 4: 82-92.
23. Alfonso-Font MY. Valores de referencia de homocisteína en individuos con bajo riesgo aterosclerótico. Hospital Hermanos Ameijeiras. 2015-2017. La Habana, Cuba: Universidad de Ciencias Médicas de La Habana; 2017.
24. Párraga-Díaz M, Melero-Rubio E, Gómez-Sánchez MP. Estudio prospectivo de cinco años de los niveles de homocisteinemia y riesgo cardiovascular en pacientes de una unidad de hemodiálisis. *Enfermería Nefrológica* 2014; 17: 277-82.
25. Sanz-Alonso M, Carreras I, Pons E. Manual Práctico de Hematología Clínica. 5ª ed. Barcelona: Escofet Zamora; 2015.
26. Martinelli I, Bucciarelli P, Mannucci P. Thrombotic risk factors: basic pathophysiology. *Crit Care Med* 2010; 38: S3-9. doi: 10.1097/CCM.0b013e3181c9cbd9.
27. Liew S-C, Gupta ED. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur J Med Genet* 2015; 58: 1-10. doi: 10.1016/j.ejmg.2014.10.004.
28. Martínez-Echevarría MT, Casanueva-Calero K, Tamargo-Barbeito TO, Hernández-Acea B, et al. Frecuencia del polimorfismo MTHFR C677T en pacientes cubanos con trombofilia. *Rev Acta Médica* 2019; 2019; 20.
29. Castañón M, Lauricella A, Genoud V, Quintana I. Importancia de la determinación de homocisteinemia y metilentetrahydrofolato reductasa C677T. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2006; 40: 335-9.
30. Yang Q, Botto L, Gallagher M, Friedman J, et al. Prevalence and effects of gene-gene and gene-nutrient interactions on serum folate and serum total homocysteine concentrations in the United States: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey DNA Bank. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 232-46. doi: 10.1093/ajcn/88.1.232.
31. Bermúdez M, Briceño I, Gil F, Bernal J. Homocisteína y polimorfismos de cistationina sintasa y metilentetrahydrofolato reductasa en población sana de Colombia. *Colomb Med* 2006; 37: 46-52.
32. Golbahar J, Fathi Z, Tamadon M. Distribution of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (C667T) polymorphism and its association with red blood cell 5-methylenetetrahydrofolate in the healthy Iranians. *Clin Nutr* 2005; 24: 83-7. doi: 10.1016/j.clnu.2004.07.019.
33. Dekou V, Whincup P, Papacosta O, Ebrahim S, et al. The effect of the C677T and A1298C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene on homocysteine levels in elderly men and women from the British regional heart study. *Atherosclerosis* 2001; 154: 659-66. doi: 10.1016/s0021-9150(00)00522-0.
34. Aléssio A, Annichino-Bizzacchi J, Bydlowski S, Eberlin M, et al. Polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase genes and homocysteine levels in Brazilian children. *Am J Med Genet A* 2004; 128A: 256-60. doi: 10.1002/ajmg.a.30108.
35. Nakai K, Fusazaki T, Suzuki T, Ohsawa M, et al. Genetic polymorphism of 5,10-methylenetetrahydrofolate increases risk of myocardial infarction and is correlated to elevated levels of homocysteine in the Japanese general population. *Coron Artery Dis* 2000;11:47-51. doi: 10.1097/00019501-200002000-00009.
36. Kumar J, Das S, Sharma P, Karthikeyan G, et al. Homocysteine levels are associated with MTHFR A1298C polymorphism in Indian population. *J Hum Genet* 2005; 50: 655-63.