

Homocisteína y mutación C677T y A1298C del gen de la 5- Metilentetrahydrofolato reductasa en embarazadas con preeclampsia-eclampsia

Dr. Carlos G. Briones Vega,* Dr. Ricardo García Cavazos,* Dr. Jesús Carlos Briones Garduño*

RESUMEN

Introducción: Históricamente existe una relación entre los niveles elevados de homocisteína y el daño arterial. La presencia de hiperhomocisteinemia denota un mal funcionamiento en las vías metabólicas de la homocisteína, y el mecanismo de exportación celular facilita la salida de homocisteína al plasma, evitando que se acumule de forma intracelular y previniendo su toxicidad dentro de la célula, dejando el tejido vascular expuesto a los efectos nocivos de este aminoácido. La síntesis defectuosa de N-5-Metiltetrahidrato debida a un defecto en la enzima N-5-metilentetrahydrofolato reductasa derivará en un aumento de la síntesis de homocisteína, y se reflejará en un aumento plasmático debido a un defecto en su transportación.

Objetivo: Determinar la presencia de las mutaciones C6667T y A1298C del gen de la 5-Metilentetrahidrofolato reductasa en pacientes con preeclampsia.

Material y métodos: Se analizó en forma comparativa una muestra de pacientes que ingresan a la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) con diagnóstico de preeclampsia (grupo de estudio) y otro grupo (control) asignados al azar en pacientes con embarazo normal que ingresaron a la tococirugía. El grupo A (estudio) formado por todas las pacientes que ingresaron a la UCI con el diagnóstico de preeclampsia, y el grupo B (control) formado por pacientes con embarazo normal del hospital de ginecoobstetricia del IMIEM Toluca Edo. Mex. durante un periodo comprendido del 1º de junio del 2001 al 30 de mayo del 2002, obteniendo el ADN de células sanguíneas, el cual se analizó por PCR-RFLP y southernblot.

SUMMARY

Introduction: Historically there is a relationship between high levels of homocysteine and arterial damage. The presence of hyperhomocysteinemia shows a dysfunction of the metabolic ways of this amino acid. The cellular export mechanism helps the going out of homocysteine from the inside of the cell to the plasma, avoiding its concentration inside the cell, preventing toxicity. The failure in the synthesis of N-5-Methyltetrahydrate due to an enzymatic defect of N-5-methyltetrahydrofolate reductase causes an increase of the synthesis of homocysteine.

Objective: Demonstrate the presence of C6667T and A1298C mutations in the gene of the N-5-methyltetrahydrofolate reductase in patients with preeclampsia.

Material and methods: We analyzed comparatively a group of patients in the critical care unit with the diagnosis of preeclampsia (study group) and other group (control group) with normal pregnancy, randomly selected. We obtained DNA blood samples for its analysis with PCR-RFLP and southernblot. The study was made between June 1st 2001 and May 30th 2002 in IMIEM Toluca, Estado de Mexico.

Results: We found 18.75% (3/16) with the C6667T mutation, the total of these patients were heterozygotes. The A1298C mutation was found in 50% (8/16) of the cases, from this total (1/8) were homozygotes and (7/8) heterozygotes.

Conclusions: We consider that is important quantify homocysteine in the preeclampsia investigation, with the purpose of finding associations between other enzymes of the homocysteine metabolism.

Resultados: Encontramos un 18.75% (3/16) de la mutación C677T, correspondiendo en el total de casos a heterocigotos. La mutación A1298C se identificó en un 50% (8/16) de los casos correspondiendo 1/8 homocigotos y 7/8 de tipo heterocigoto.

Conclusiones: Consideramos importante la cuantificación de homocisteína en esta línea de investigación con el fin de buscar asociaciones entre otras enzimas participantes del ciclo.

Palabras clave: Homocisteína, 5.metiltetrahidrofolato reductasa y preeclampsia-eclampsia.

Key words: *Homocysteine, 5 methyltetrahydrofolate reductase and preeclampsia-eclampsia.*

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Hace casi treinta años McCully reporta el caso de un niño que sufría de homocistinuria, cistationuria, y aciduria metilmalónica, secundaria a una anormalidad en el metabolismo de la cobalamina. El paciente mostraba lesiones arteriales similares a aquéllos en los que existía una deficiencia de la cistationina beta-sintasa. Esta observación llevó a la proposición de que las concentraciones plasmáticas marcadamente elevadas de homocisteína en pacientes con homocisteinuria, eran responsables del desarrollo de enfermedad vascular oclusiva en edades tempranas.

Wilcken y Wilcken publican en 1976 el primer estudio donde demuestran que los niveles elevados de homocisteína-cisteína, después de una dieta rica en metionina, eran significativamente más altos en personas con enfermedad arterial coronaria que en el grupo control, sustentando la aparición de estudios subsecuentes que en síntesis demuestran que la homocisteína es un factor de riesgo independiente para enfermedad ateroesclerótica en vasos coronarios, cerebrales y periféricos, y que un incremento en los niveles plasmáticos de homocisteína de 5 microM, está asociado a un aumento del 60% en hombres y un 80% en mujeres de riesgo de enfermedad coronaria. Existe evidencia de que niveles elevados de homocisteína en plasma también se asocian a un riesgo incrementado en defectos del tubo neural, y otros estudios demostraron asociaciones entre niveles altos de este aminoácido con enfermedad de Alzheimer, demencia y pérdida de las funciones cognitivas. Dekker, en 1995, refiere niveles plasmáticos de homocisteína en mujeres que desarrollan preeclampsia con manifestaciones clínicas, así como en aquellas mujeres donde co-existe la preeclampsia de inicio temprano con hipertensión arterial, y más recientemente, Vollset re-

porta una elevación en la homocisteína plasmática del 32% en mujeres con preeclampsia. Debido a las asociaciones ya señaladas, demostradas por estudios epidemiológicos, es especialmente importante contestar la pregunta acerca de que si éstas son significativas o producto de la casualidad, enfocándonos especialmente en el grupo de pacientes que desarrollan preeclampsia debido al impacto epidemiológico de esta patología a nivel mundial, así como establecer el papel del suplemento vitamínico en la disminución de los niveles plasmáticos de homocisteína y su repercusión en la morbi-mortalidad.

MARCO TEÓRICO

Vías metabólicas de la homocisteína

La homocisteína es un sulfuro aminoácido no formador de proteínas, cuyo metabolismo se encuentra en la intersección de dos vías metabólicas: remetilación y transulfuración.

En la remetilación, la homocisteína adquiere un grupo metilo del N-5-metiltetrahidrofolato o de la betaina con el fin de formar metionina. La reacción con el N-5-metiltetrahidrofolato ocurre en todos los tejidos y es dependiente de la vitamina B12, mientras que la reacción con la betaina es confinada principalmente al hígado independiente de la vitamina B12. La metionina resultante es posteriormente activada por ATP para formar S-adenosilmetionina (SAM), el cual sirve predominantemente como un donador metil universal. El producto intermedio de estas reacciones de metilación se conoce como S-adenosilhomocisteína (SAH), el cual es subsecuentemente hidrolizado para regenerar homocisteína que sirve para iniciar un nuevo ciclo de transferencia de grupos metilo.

En la vía de la transulfuración, la homocisteína interacciona con serina para formar cistationina me-

diante una reacción irreversible catalizada por la enzima piridoxal-5-fosfato (PLP) cistationina beta-sintasa. Esta cistationina es hidrolizada por una segunda PLP-cistationasa para formar cisteína y alfa-ketobutirato. Todo exceso de cisteína es oxidado a taurina o sulfatos inorgánicos o es excretada en la orina, por lo que este proceso de transulfuración, además de ser responsable de la síntesis de cisteína, también cataboliza efectivamente el exceso de homocisteína que no se requiere para la transferencia de grupos metilo.

Regulación nutricional del metabolismo de la homocisteína

La utilización de moléculas de homocisteína por cualquiera de las dos vías metabólicas se regula de manera nutricional.

Cuando la ingesta de grupos metilo lábiles (metionina y colina) es modificado, la síntesis de novo de metionina es afectada. Una dieta que contiene niveles basales de metionina mantiene a las moléculas de homocisteína circulando en la vía de la remetilación aproximadamente 1.5-2 ciclos antes de ser catabolizada a través de la vía de la transulfuración. Cuando la cantidad de metionina en la dieta se reduce a la mitad, el número de ciclos que siguen las moléculas de homocisteína en la vía de la remetilación se duplican, así como cuando una dieta con exceso de metionina es administrada, el número de ciclos que siguen las moléculas de homocisteína disminuyen por debajo de niveles basales.

Esta capacidad para discriminar entre las vías de remetilación y transulfuración como medida adaptativa a las variaciones en la cantidad de metionina en la dieta implica la existencia de una regulación coordinada entre estas dos vías metabólicas. Existe evidencia experimental de que esta regulación se debe a dos mecanismos. El primero obedece a una afinidad del SAM para actuar como un inhibidor alostérico de la metilentetrahydrofolato reductasa y un activador de cistationina beta-sintasa, logrando con esto una supresión importante en la producción de N-5-metiltetrahidrofolato requerido para la remetilación, y promueve la reacción de síntesis de cistationina con la que se inicia la vía de la transulfuración. El segundo mecanismo, se relaciona con el primero, debido a que éste regula la concentración intracelular de SAM a través de su síntesis hepática, la cual aumenta en condiciones donde aumenta la ingesta de metionina.

Entendiendo estos dos mecanismos de regulación se puede predecir lo siguiente: 1) cuando aumenta la ingesta de metionina en la dieta, ésta será transformada rápidamente a SAM inhibiendo la vía de la remetilación y promoviendo la vía de la transulfuración; 2) cuando la metionina ingerida en la dieta es baja, no es posible la inhibición de la vía de la remetilación, y la vía de la transulfuración no se ve estimulada, con lo que se ven favorecidos los niveles de sustratos necesarios para la vía de la remetilación, incrementando con esto la necesidad de una síntesis de novo de metionina.

Patogénesis de hiperhomocisteinemia

La pequeña cantidad de homocisteína que se encuentra normalmente en plasma, es el resultado de un mecanismo celular de exportación que complementa el catabolismo de este aminoácido a través de la transulfuración, ayudando con esto a mantener niveles intracelulares bajos de este aminoácido potencialmente citotóxico. Exceptuando la falla renal, la presencia de hiperhomocisteinemia denota un mal funcionamiento en las vías metabólicas de la homocisteína, y que el mecanismo de exportación celular facilita la salida de homocisteína al plasma, evitando que se acumule de forma intracelular y preveniendo su toxicidad en la célula, dejando al tejido vascular expuesto a los efectos nocivos de este aminoácido citotóxico. Ya sea por un defecto genético en algunas de las enzimas implicadas en el metabolismo de la homocisteína, o por una deficiencia nutricional de uno o más de los cofactores (vitaminas) que participan en el metabolismo de la homocisteína nos da como resultado una disfunción metabólica que potencialmente originaría hiperhomocisteinemia.

La síntesis defectuosa de N-5-metiltetrahydrofolato debida a una baja ingesta de ácido fólico o a un defecto de la metilentetrahydrofolato reductasa conlleva a una disminución en la síntesis de metionina, derivará en un aumento de la desviación de esta metionina hacia la vía de la transulfuración, la cual será ineficaz debido a que SAM es dependiente de metionina, y éste es un promotor de esta vía. Esto conllevará a un aumento en la síntesis de homocisteína como producto intermedio de la metilación. Este aumento intracelular de homocisteína se reflejará en un aumento plasmático debido al mecanismo de exportación.

Una remetilación ineficaz de homocisteína en deficiencia de vitamina B12 o defectos enzimáticos en

el metabolismo de éstas, predice la acumulación de N-5-metiltetrahidrofolato combinado con una disminución en la síntesis de SAM secundaria a esta deficiencia nutricional o enzimática aumentará el proceso de metilación con la consecuente acumulación de homocisteína en el espacio intracelular y consecuentemente en el plasma por los mecanismos ya mencionados.

Un tercer defecto propuesto es cuando existe una transulfuración defectuosa, la cual derivará a un aumento en la vía de la remetilación, favoreciendo aumentos en los niveles de metionina, la cual en primera instancia aumentará los niveles de SAM hasta que éstos actúen como un feedback negativo, inhibiendo la actividad de la metilentetrahidrofolato reductasa, ocasionando con ésta hiperhomocisteinemia severa. En la deficiencia de vitamina B6, existe un bloqueo parcial de la transulfuración, y la vía de la remetilación activa a toda su capacidad, producirá el efecto ya descrito (figura 1).

Tratamiento de hiperhomocisteinemia

Las elevaciones en la homocisteína plasmática son comunes en la población general, y los niveles de vitaminas son determinantes primarios de hiperhomocisteinemia moderada a severa, y da cuenta de

aproximadamente 2/3 de todos los casos. Los suplementos vitamínicos resultan en la casi normalización de los niveles plasmáticos de homocisteína en la mayoría de los casos. El suplemento de ácido fólico, de acuerdo a varios estudios, disminuye los niveles de este aminoácido y con esto el riesgo cardiovascular, así como la recurrencia de enfermedad tromboembólica en pacientes con hiperhomocisteinemia se ve reducida. También aquellos pacientes con intolerancia aislada a la metionina se pueden beneficiar con suplementos de vitaminas B6.

Hiperhomocisteinemia en preeclampsia

Las concentraciones plasmáticas de homocisteína están aumentadas en individuos con ateroesclerosis. Cuando se encuentra en concentraciones elevadas, la homocisteína actúa aumentando el estrés oxidativo al formar superóxidos. La homocisteína también está aumentada en mujeres que manifiestan preeclampsia clínicamente. Debido a que la preeclampsia es una patología predominante en mujeres de estrato socioeconómico poco favorecido y el impacto nutricional es más evidente, es probable un efecto benéfico mediante el suplemento vitamínico con el fin de disminuir los niveles plasmáticos de homocisteína.

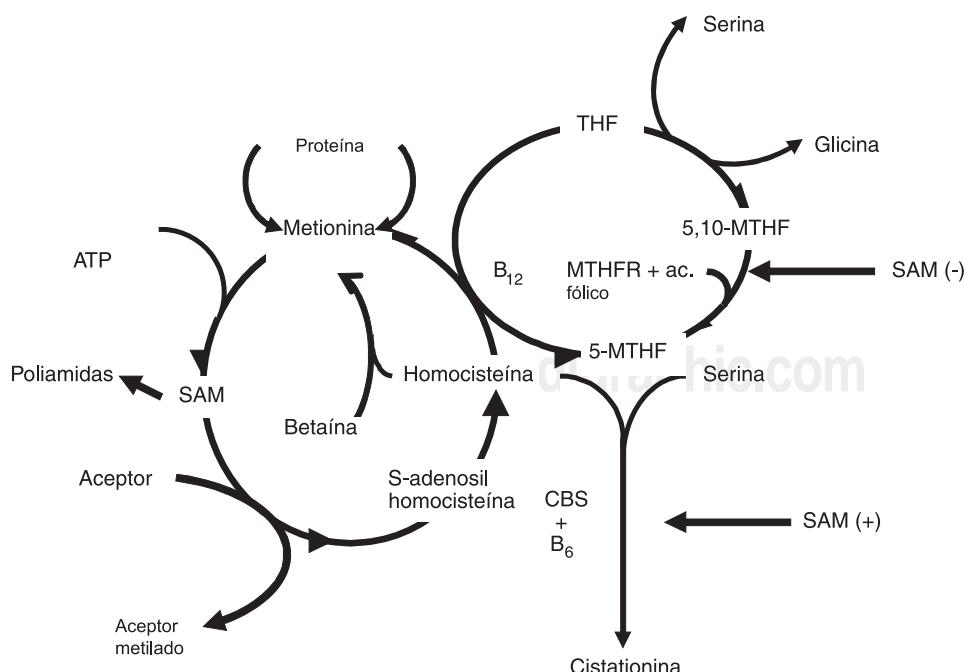


Figura 1. Vías metabólicas de la homocisteína.

OBJETIVO

Identificar las mutaciones C677T y A1298C del gen de la enzima 5-Metilentetrahydrofolato reductasa ubicado en el cromosoma 1p36.3 en pacientes con preeclampsia-eclampsia.

MATERIAL Y PACIENTES

Se diseña mediante una cohorte, una encuesta comparativa en forma prospectiva, longitudinal y comparativa de una muestra por conveniencia de pacientes que ingresan a la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) con diagnóstico de preeclampsia (grupo de estudio) y otro grupo (control) asignados al azar de pacientes con embarazo normal que ingresan a la unidad de toco-cirugía u hospitalización en razón de 1:2 de la siguiente forma (*figura 2*).

El grupo A (estudio) formado por todas las pacientes que ingresan a la UCI con diagnóstico de preeclampsia, y el grupo B (control) formado por pacientes con embarazo normal escogidas al azar en relación a dos controles por cada paciente problema de pacientes del Hospital de Ginecoobstetricia del DIF Toluca Edo. Méx. durante un periodo comprendido del 1° de junio del 2001 al 30 de mayo del 2002 y que acepten, mediante consentimiento informado, participar en forma voluntaria. La encuesta busca obtener datos de variables consignadas en el expediente clínico y permitir la toma de una muestra de sangre periférica, previo consentimiento informado, en la cual el DNA se analizará por PCR-RFLP. Los protocolos estarán autorizados por ambos Comités de Enseñanza e Investigación hospitalarios.

Criterios de inclusión: Mujeres con 20 o más semanas de gestación con diagnóstico de preeclampsia y mujeres con 20 o más semanas de gestación con embarazo normal que acepten participar en el estudio.

Criterios de no-inclusión: Pacientes con patología previa o concomitante.

Criterio de exclusión: Pacientes que por razones técnicas no se puedan hacer la toma de la muestra o tengan un expediente incompleto.

Análisis de resultados: Utilizamos estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión, como son media y desviación estándar, así como porcentajes.

RESULTADOS

Los resultados de las variables clínicas del grupo estudiado se muestran en el *cuadro I*, y los resulta-

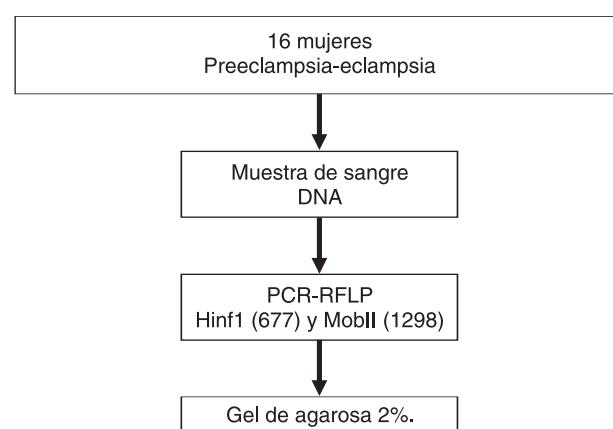


Figura 2. Metodología.

Cuadro I. Resultados.

Variable	Características de la población estudiada (N = 22)	
	Media	Desviación estándar
Edad	26.0 años	8.1
PAM	121.8 mmHg	11.6
Sistólica	159.0 mmHg	14.4
Diastólica	107.0 mmHg	10.5
Albuminuria	0.322 g/L	0.106

Cuadro II. Frecuencia de las mutaciones en las mujeres con preeclampsia-eclampsia

N = 16.

Variable	677 C/C	677 C/T	677 T/T	1,298 A/A	1,298 A/C	1,298 C/C
Preeclampsia	13/16	3/16	0/16	8/16	7/16	1/16
Primigesta (6/16)	5/6	1/6	0/6	2/6	3/6	1/6
Eclampsia (5/16)	4/5	1/5	0/5	4/5	1/5	0/5

dos de las mutaciones genéticas se presentan en el cuadro II.

CONCLUSIONES

- Encontramos 18.75% (3/16) de la mutación C677T correspondiendo en el total de casos a heterocigotos.
- La mutación 1298 se identificó en 50% (8/16) de los casos, correspondiendo a 1/8 homocigotos y 7/8 de tipo heterocigoto.
- Consideramos importante la cuantificación de homocisteína en esta línea de investigación con el fin de buscar asociaciones entre otras enzimas participantes del ciclo.

BIBLIOGRAFÍA

1. J. Selhub Jean Mayer. Homocysteine metabolism. USDA Human Nutrition Research Center on Aging. *Annu Rev Nutr* 1999;19:217-246.
2. Ueland PM, Refsum H. *Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and a drugs therapy*. The clinical Pharmacology Unit Dept. of Phar. And Tox; Univ. of Bergen 1989;473-501.
3. Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. *Journal Am Coll Cardiol* 1996;27:517-527.
4. Olszwska AJ, McCully KS. Homocysteine metabolism and the oxidative modification of proteins and lipids. *Free Rad Biol Med* 1993;14:683-693.
5. Dekker GA, Devries JJP, Doelitzsch PM et al. Underlying disorders associated with severe early onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-1048.