

Mutações no gene da metilenotetrahidrofolato redutase e síndrome de Down

Mutations in the methylene-tetrahydrofolate reductase gene and Down syndrome

Laura Brunelli das Neves Grillo ¹
 Gregório Lorenzo Acácio ²
 Ricardo Barini ²
 Walter Pinto Jr. ¹
 Carmen Silvia Bertuzzo ¹

¹ Departamento de Genética Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. Rua Tessália Vieira de Camargo 126, Campinas, SP 13081-970, Brasil. bertuzzo@unicamp.br
² Departamento de Tocoginecologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas. Rua Tessália Vieira de Camargo 126, Campinas, SP 13081-970, Brasil.

Abstract Down syndrome (DS) is a complex genetic and metabolic disorder attributed to the presence of three copies of chromosome 21. The extra chromosome derives from the mother in 93% of cases and is due to abnormal chromosome segregation during meiosis (nondisjunction). Except for advanced age at conception, maternal risk factors for meiotic nondisjunction are not well established. A recent preliminary study suggested that abnormal folate metabolism and the 677 (C→T) mutation in the methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene may be maternal risk factors for DS. Frequency of the MTHFR 677 (C→T) and 1298 (A→C) mutations was evaluated in 36 mothers of children with DS and in 200 controls. The results are consistent with the observation that the MTHFR 677 (C→T) and 1298 (A→C) mutations are more prevalent among mothers of children with DS than controls. In addition, the most prevalent genotype was the combination of both mutations. The results suggest that mutations in the MTHFR gene are associated with maternal risk for DS

Key words Genetics; Down Syndrome; Metabolism

Resumo Síndrome de Down (SD) é uma alteração genética e metabólica complexa atribuída à presença de três cópias do cromossomo 21. O cromossomo extra em 93% dos casos é de origem materna e é resultante de uma segregação anormal durante a meiose (não-disjunção). Com exceção da idade materna avançada, fatores de risco para a não-disjunção meiótica não estão bem estabelecidos. Um estudo preliminar sugeriu que o metabolismo anormal do folato e a mutação 677 (C→T) no gene da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) podem ser fatores de risco maternos para a SD. A frequência das mutações MTHFR 677 (C→T) e 1.298 (A→C) foram avaliadas em 36 mães de crianças com SD e em 200 indivíduos-controle. Os resultados demonstraram que as mutações 677 (C→T) e 1.298 (A→C) são mais prevalentes entre mães de crianças com SD do que nos controles. A heterozigose das duas mutações foi a combinação mais frequente. O resultado desse estudo inicial sugere que mutações no gene da MTHFR seriam um fator de risco para a SD.

Palavras-chave Genética; Síndrome de Down; Metabolismo

Introdução

A metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) atua na regulação das reações de metilação celulares, catalisando a conversão do 5,10 metilenotetrahidrofolato para 5-metiltetrahidrofolato, onde o radical metil é doado para a remetilação da homocisteína para metionina. Esta reação é importante para a síntese de 5-adenosilmetionina (SAM), o mais importante doador de metil para o DNA, proteínas de construção e reações de metilação de lipídios. Da atividade reduzida da MTHFR, resulta um aumento da necessidade de consumo do ácido fólico, para manter normais as remetilações de homocisteína para metionina. Na ausência de ácido fólico suficiente, a homocisteína intracelular se acumula e a ressíntese de metionina é reduzida, comprometendo as principais reações de metilação (Frosst et al., 1995). Diversas doenças, principalmente neurológicas, cardíacas e vasculares, com presença de homocistinúria e/ou homocistinemia, têm sido relacionadas à deficiência de enzimas que atuam na metilação, principalmente a MTHFR (van der Put et al., 1995).

James et al. (1999) investigaram a deficiência da MTHFR em mães de portadores de síndrome de Down (SD) e encontraram um acúmulo de mães portadoras da deficiência. Há evidências de que a falha na disjunção do cromossomo 21 na meiose I materna possa ocorrer em virtude de fenômenos de hipometilação, que poderiam ser oriundos do metabolismo anormal do folato, decorrente das mutações 677 (C→T) e 1298 (A→C) do gene da MTHFR, localizado no cromossomo 1.

O objetivo deste estudo foi o de avaliar a presença dessas mutações em mães que tive-

ram filhos com SD, verificando se há uma concentração significativa de genitoras com essas mutações.

Casuística e métodos

A amostra estudada é constituída de 36 mães de portadores da SD (78% caucasóides e 22% negróides). A idade das mães variou de 16 a 42, com uma média de 28,47 e desvio padrão de 5,83. Todas as crianças tinham diagnóstico de trisomia livre por cariótipo. Foram analisados aleatoriamente 200 indivíduos adultos da população geral para controle (77% caucasóides e 23% negróides). A extração de DNA foi procedida conforme o método descrito por Woodhead et al. (1986), com algumas modificações. O método de análise foi a reação em cadeia da polimerase seguida de digestão enzimática específica (van der Put et al., 1998).

Resultados

Os resultados encontram-se sumarizados na Tabela 1. A análise da amostra-controle se encontra em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 5,51$; 3 g.l.; $0,20 > p > 0,10$), mas não a das mães de SD ($\chi^2 = 11,40$; 3 g.l.; $p < 0,01$). A comparação entre os diferentes alelos da amostra de mães com SD e controle mostrou que as proporções desses alelos diferem significativamente (Tabela 2), ($\chi^2 = 9,004$; 2 g.l.; $p < 0,02$), sendo essa diferença por causa da maior proporção dos alelos mutantes na amostra de mães de SD ($\chi^2 = 8,134$; 1 g.l.; $p < 0,01$). Quando se compararam as proporções dos heterozigotos para ambas as mutações em relação às outras combi-

Tabela 1

Genótipos de metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) em mães de portadores de síndrome de Down e controles.

Genótipo	Amostra	Mães de portadores
677/1.298	33	17
677/677	11	3
1.298/1.298	15	1
677/N	62	4
1.298/N	39	7
N/N	40	4
Total	200	36

n = sem nenhuma das duas mutações; 677 = 677 (C→T) e 1.298 = 1.298 (A→C).

Tabela 2

Proporções de alelos estudados da metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) na amostra-controle e na de mães de pessoas com síndrome de Down.

Alelos	Controles		Mães de portadores de síndrome de Down		Total
	n	%	n	%	
677	117	0,2925	27	0,3750	144
1.298	102	0,2550	26	0,3611	128
N	181	0,4525	19	0,2639	200
Total	400	1,0000	72	1,0000	472

n = sem nenhuma das duas mutações; 677 = 677 (C→T) e 1.298 = 1.298 (A→C).

nações de alelos, nota-se que existe uma concentração significativa dessa heterozigose na amostra de mães de SD ($\chi^2 = 17,245$; 1 g.l.; $p < 0,001$). Infelizmente, James et al. (1999) não estudaram a mutação 1.298 (A→C) em sua amostra, o que poderia ter reforçado esta interessante associação. Encontramos um acúmulo de mães heterozigotas compostas para as duas mutações. A atividade enzimática do heterozigoto composto é de cerca de 50%-60% (Van der Put et al., 1998) e, dependendo da dieta do indivíduo, poderia levar a um estado de hipometilação do DNA. Um dado importante que foi levantado entre as mães é que nenhuma fez uso do ácido fólico antes ou durante a gestação.

Agradecimentos

Agradecemos às mães da Fundação Síndrome de Down, Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais Campinas e aos Drs. João Nery e Tarcísio Moura pelo envio de amostras.

Referências

- FROSST, P.; BLOM, H. J.; MILOS, R. & GOYETTE, P., 1995. A candidate genetic risk factor for vascular disease: A common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Genetics*, 10:111-113.
- JAMES, S. J.; POGRIBNA, M.; POGRIBNY, I. P.; MELNYK, S.; HINE, J.; GIBSON, J. B.; YI, P.; TAFOYA, D. L.; SWENSON, D. H.; WILSON, V. L. & GAYLOR, D. W., 1999. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70:495-501.
- van der PUT, N. M. J.; GABREËLS, F.; STEVENS, E. M. B.; SMEITINK, J. A. M.; TRIJBELS, F. J. M.; ESKES, T. K. A. B.; van den HEUVEL, L. P. & BLOM, H. J., 1998. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: An additional risk factor for neural-tube defects? *American Journal of Human Genetics*, 62:1044-1051.
- van der PUT, N. M. J.; STEEGERS-THEUNISSEN, R. P. M. & FROSST, P., 1995. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. *Lancet*, 346:1070-1071.
- WOODHEAD, J. L.; FALLON, R.; FIGUERED, H.; LONGDALE, J. & MALCOM, A. D. B., 1986. Alternative methodology of gene diagnosis. In: *Human Genetic Diseases – A Practical Approach* (K. E. Davies, ed.), pp. 51-64, Oxford: IRL Press.

Conclusão

Por esses dados preliminares, pudemos constatar que o genótipo 677 (C→T)/1.298 (A→C) seria um fator de risco importante na Síndrome de Down. Esse dado vem confirmar a importância da administração do ácido fólico antes da concepção, que, além de diminuir a chance de nascimento de crianças com defeitos de fechamento de tubo neural, poderia reduzir a chance de nascimento de crianças com síndrome de Down.

Recebido em 28 de agosto de 2001

Versão final reapresentada em 10 de janeiro de 2002

Aprovado em 6 de março de 2002