

Trabajo Fin de Grado

Evaluación de la frecuencia de las mutaciones R506Q y G20210A asociadas a trombofilia hereditaria en Aragón en los últimos 10 años: correlación genotipo con tipo de evento trombótico

Autor:

Andrés Velilla García

Directores:

María Santamaría González

Mauricio Tajada Duaso

Facultad de Ciencias

2023

ABREVIATURAS.

TVP: Trombosis venosa profunda.

TEP: Tromboembolismo pulmonar.

ADP: adenosín difosfato.

PAR: Receptores de proteasa activada.

FvW: Factor von Willebrand

TF: Factor tisular.

F: Factor.

TFPI: inhibidor de la vía del factor tisular.

FII: protrombina

FIIa: trombina

tPA: activador tisular del plasminógeno.

PAI: inhibidores de activador del plasminógeno.

FVL: Factor V Leiden.

PC: Proteína C.

PS: Proteína S.

AT: Antitrombina.

PGM: Mutación del gen de la protrombina.

SAF: Síndrome antifosfolípido.

HPN: Hemoglobinuria 3 paroxística nocturna.

NMP: Neoplasias mieloproliferativas.

TEV: Tromboembolismo venoso.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

MTHFR: Metilentetrahidrofolato reductasa.

RPL: Riesgo de pérdida recurrente de embarazo.

EDEV: Enfermedad tromboembólica venosa.

ACV: Accidentes cerebrovasculares.

SEMI: Sociedad Española de Medicina Interna.

RIETE: Registro Informatizado de pacientes con Enfermedad Tromboembólica.

CEICA: Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad de Aragón.

S.I.L: Sistema Informático de Laboratorio.

HUMS: Hospital Universitario Miguel Servet.

ARMS: Sistema de mutación refractaria a la amplificación.

CE: Comunidad Europea.

DNA: Ácido desoxirribonucleico.

RPCa: Resistencia a la proteína C activada.

AIT: Accidente isquémico transitorio.

FIV: Fecundación in vitro.

PTM: Mutación protrombina.

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

DVT: Trombosis venosa profunda

PE: Tromboembolismo pulmonar.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	6
2. INTRODUCCIÓN	8
2.1. Trombosis: definición y aspectos de la enfermedad.....	8
2.2. Fisiología de la coagulación	8
2.2.1. Fase vascular.....	8
2.2.2. Hemostasia primaria (activación, adhesión y agregación)	9
2.2.3. Cascada de coagulación: Propagación del coágulo.	9
2.2.4. Modelo celular de la coagulación.....	10
2.2.5. Fibrinólisis.....	11
2.3. Trombofilia y mutaciones asociadas a trombofilia hereditaria	11
2.4. Trombosis y el embarazo de riesgo.....	12
2.5. Datos en España.....	13
2.6. Procedimiento para el estudio genético de mutaciones y polimorfismos de trombofilia hereditaria (norma UNE-EN ISO 15189) en el HUMS.....	15
3. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	16
3.1. Objetivos académicos	16
4. METODOLOGÍA	17
4.1. Estrategia de búsqueda bibliográfica.....	17
4.2. Variables a analizar y estadística.....	17
4.3. Criterios de inclusión y exclusión en la base de datos filtrada.....	18
4.3.1. Criterios de exclusión generales	18
4.3.2. Criterios de inclusión generales.....	19
4.3.3. Criterios de inclusión respecto a las mutaciones	19
4.3.4. Criterios de exclusión respecto a las mutaciones.....	19
4.3.5. Criterios de exclusión respecto a otros eventos trombóticos	19
4.4. Aprobación del Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad de Aragón (CEICA).	19
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
5.1. Mutaciones trombofilia hereditaria.....	20
5.2. Principales eventos trombóticos.....	22
5.3. Otros eventos trombóticos.	23
5.4. Correlación genotipo con evento trombótico.....	23
5.5. Mutaciones trombóticas según edad y sexo.....	24
5.6. Servicios y centros de extracción de los pacientes con mutaciones de trombofilia	26
6. CONCLUSIONES.....	27
7. BIBLIOGRAFÍA.	28
8. ANEXOS.....	31

Índice de tablas.

Tabla 1. Mutaciones detectadas con el Kit Elucigene TRP-F plus.....	15
Tabla 2. Tipo de muestra primaria, recipientes y aditivos.....	15
Tabla 3. Frecuencias relativas y porcentajes de pacientes con mutaciones.....	20
Tabla 4. Casos con eventos trombóticos principales y porcentajes respecto del total.	22
Tabla 5. Otros eventos trombóticos no comentados previamente y su frecuencia relativa.	23
Tabla 6. Pacientes con mutaciones de trombofilia hereditaria y con eventos trombóticos	23
Tabla 7. Mutaciones según edad (intervalos de 20 años) y sexo (masculino o femenino).	24
Tabla 8. Parámetros calculados según la variable edad (respecto al número de mutaciones)...	25
Tabla 9. Percentiles de las mutaciones según la edad.....	25
Tabla 10 y 11. Servicios (tabla 10) y centros de extracción (tabla 11) de los pacientes con mutaciones de trombofilia hereditaria.	26

Índice de figuras.

Figura 1. Cascada de coagulación.....	10
Figura 2. Modelo celular de la coagulación y sus 3 fases.....	11
Figura 3 y 4. Total de altas hospitalarias con ETV del 1999 al 2003 (23) y total de casos de ETV (pirámide de edad) (23).....	14
Figura 5. Total de casos de ETV por Comunidades Autónomas del 1999 al 2003	14
Figura 6. Factores de riesgo en ambos sexos y teniendo en cuenta todas las edades (24).	15
Figura 7. Número de pacientes con mutaciones asociadas a trombofilia hereditaria.	20
Figura 8. Pacientes con eventos trombóticos, recogidos en la base filtrada.	22
Figura 9. Número de mutaciones según edad y sexo.....	24
Figura 10 y 11. Número de mutaciones según el sexo (Figura 10) y número de mutaciones según el rango de edad (Figura 11).	25

1. RESUMEN

La trombofilia es una anomalía del mecanismo de coagulación sanguínea, que aumenta la posibilidad de sufrir eventos trombóticos, sucedidos al formar coágulos en el interior de venas o arterias. La trombofilia, se divide en hereditaria o adquirida. Este trabajo se centró en la hereditaria, producida por trastornos genéticos de proteínas hemostáticas específicas, siendo las más relevantes la asociada a la variante de factor V Leiden y a la variante del gen de la protrombina. A partir de un estudio descriptivo y retrospectivo y analizando una base de datos pseudonimizada de resultados de estudios genéticos de trombofilia hereditaria (realizados en el laboratorio de genética del HUMS durante un periodo de diez años), se calculó la frecuencia de las mutaciones en los genes que codifican para los factores de coagulación de Leiden (mutación R506Q) y de protrombina (mutación G20210A), tanto en homocigosis, heterocigosis, y heterocigosis compuesta R506Q/G20210A en individuos que habían sufrido algún evento trombótico. Después, se observó la correlación genotipo-fenotipo, según la edad y género.

Los resultados mostraron que el evento trombótico (fenotipo) más asociado a la mutación R506Q fue la TVP (61%), al igual que en la mutación G20210A (45%). Sin embargo, en individuos heterocigotos compuestos R506Q/G20210A, el TEP fue predominante (60%). La mutación más frecuente detectada fue la R506Q en heterocigosis (50%) y el evento trombótico más común fue el TVP (53%), excepto en los individuos dobles heterocigotos, en donde el más frecuente fue el TEP (60%). Por otro lado, respecto al número de mutaciones según sexo y edad, se observó mayor frecuencia en mujeres (57%) que hombres y el intervalo de edad más frecuente fue 40-59 años (36%) y el que menos 80-99 años (1%). La mutación más frecuente fue la G20210A en heterocigosis (46%) y los principales eventos trombóticos fueron TVP (38%), seguido del TEP (23%), abortos de repetición (18%), ictus (16%) y trombosis retiniana (5%).

ABSTRACT

Thrombophilia is an anomaly in the blood coagulation mechanism that increases the likelihood of experiencing thrombotic events, which occur when blood clots form inside veins or arteries. Thrombophilia can be divided into hereditary or acquired forms. This study focuses on the hereditary form, which is caused by genetic disorders involving specific hemostatic proteins, with the most relevant being associated with the Factor V Leiden variant and the prothrombin gene variant. Using a descriptive and retrospective study approach and analyzing a pseudonymized database of results from genetic studies on hereditary thrombophilia (conducted in the genetics laboratory of HUMS over a ten-year period), the frequency of mutations in genes encoding for the coagulation factors Leiden (R506Q mutation) and prothrombin (G20210A mutation) was calculated, both in homozygosity, heterozygosity, and compound heterozygosity R506Q/G20210A in individuals who had experienced a thrombotic event. Subsequently, genotype-phenotype correlations were observed based on age and gender.

The results showed that the thrombotic event (phenotype) most associated with the R506Q mutation is DVT (61%), as is the case with the G20210A mutation (45%). However, in compound heterozygosity R506Q/G20210A, it is PE (60%). The most frequent mutation detected was R506Q in heterozygosity (50%), and the most common thrombotic event was DVT (53%), except in double heterozygous individuals, where PE was more frequent. Furthermore, regarding the number of mutations by sex and age, a higher frequency was observed in women (57%) than in men, and the most common age range was 40-59 years (36%), while the least common was 80-

99 years (1%). The most frequent mutation was G20210A in heterozygosity (46%), and the main thrombotic events were DVT (38%), followed by PE (23%), recurrent miscarriages (18%), stroke (16%), and retinal thrombosis (5%).

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Trombosis: definición y aspectos de la enfermedad.

Los eventos trombóticos suceden al formarse coágulos sanguíneos (masas de sangre solidificada) en el interior de las venas o arterias, formando trombos. Por otro lado, un trombo puede desprenderse e ir a otras regiones del cuerpo, llamado émbolo (1).

Algunas posibles causas de formación de coágulos de sangre pueden ser el reposo en cama mucho tiempo, una cirugía, un embarazo (durante o después) o tomar hormonas anticonceptivas, entre otras posibles causas. Además, es más probable que se forme un trombo tras una lesión, por ello las personas con cáncer, obesidad o enfermedad en hígado o riñón son más propensas a esto.

Los coágulos de sangre pueden generar problemas en función de la ubicación de estos (2):

- Trombosis venosa profunda (TVP): son coágulos de sangre formados en una vena profunda, generalmente en piernas, muslos o pelvis (bloquean la vena y dañan la pierna).
- Tromboembolismo pulmonar (TEP): se produce si el trombo de una vena se desprende y viaja por la sangre hasta los pulmones (daña el pulmón y evita que otros órganos reciban el oxígeno necesario).
- Trombosis en senos venosos cerebrales: Son trombos poco comunes en los senos venosos del cerebro. Se bloquea el drenaje de sangre (normalmente los senos venosos drenan sangre del cerebro), pudiendo producir accidentes cerebrovasculares provocando hemorragias.
- Coágulos de sangre formados en otras partes del cuerpo: Pueden producir isquemias cerebrales, ataques cardíacos (infarto), problemas en riñones, insuficiencia renal o problemas en embarazadas.

2.2. Fisiología de la coagulación

La hemostasia es el proceso por el que se forma un coágulo (al formarse la trombina) en la zona donde se da una lesión vascular y de esta forma se mantiene la sangre en estado líquido. Tiene varias fases (3): fase vascular (factores endoteliales), fase plaquetaria (hemostasia primaria) fase plasmática (hemostasia secundaria), terminación de la coagulación (mecanismos antitrombóticos) y disolución del coágulo (fibrinólisis). Al inicio de la coagulación (hemostasia primaria) se da vasoconstricción, adhesión y agregación plaquetaria, formándose un tapón plaquetario para después formar fibrina por la hemostasia secundaria.

2.2.1. Fase vascular

De todas las plaquetas, pocas son las que interactúan con la pared vascular intacta debido a la superficie no trombogénica de la pared vascular. Los glucosaminoglicanos reclutan antitrombina plasmática, para la unión y neutralización de la trombina. La trombina se une a trombomodulina y la activación de la proteína C rompe los factores V y VIII, impidiendo la generación de trombina.

2.2.2. Hemostasia primaria (activación, adhesión y agregación)

Al lesionarse el endotelio, se liberan elementos para el reclutamiento de plaquetas, otros tipos celulares y factores procoagulantes (3).

- **Activación plaquetaria:** Ocurre por estímulos por adenosín difosfato (ADP), trombina o colágeno entre otros. Al haber lesión endotelial, se exponen elementos subendoteliales (microfibrillas, laminina, colágeno). Estos promueven la adherencia, activación y secreción plaquetaria. Las integrinas son receptores de proteínas adhesivas, destacando las integrinas GPIa/IIa y GPVI, que son dos receptores de colágeno, claves para la adhesión y activación plaquetaria. La activación de la trombina se media por receptores de proteasa activada (PAR) como PAR-1 y PAR-4. En esta etapa se libera ADP de las plaquetas para poder agregar más plaquetas y así aumentar su número.
- **Adhesión:** Tras la activación, se dan cambios morfológicos en las plaquetas, produciéndose pseudópodos que aportan adhesividad plaquetaria. Esta adhesión se media por la unión de receptores de la superficie plaquetaria. GPIIb/IX/V se une al factor von Willebrand (FvW) en la matriz subendotelial (si se da alguna deficiencia en ellos se dan la enfermedad de Von Willebrand y de Bernard Soulier).
- **Agregación:** Se dan cambios en el receptor GPIIb/IIIa en la superficie de las plaquetas, haciendo que se unan el FvW y el fibrinógeno, produciendo así la unión de las plaquetas.

2.2.3. Cascada de coagulación: Propagación del coágulo. Se compone de 3 vías:

- **Vía extrínseca:** Se activa al darse un daño tisular exponiendo el factor tisular (TF). El TF que se secreta se une al FVII provocando su activación (FVIIa). El complejo TF-FVIIa converge en el FX y activa la vía común de la coagulación produciendo fibrina y también activa al FIX de forma indirecta. La fibrina generada al activarse FX por el complejo TF-FVIIa no es suficiente para formar un coágulo estable y por ello se necesita activar FIX y generar trombina por la vía intrínseca (3).
- **Vía intrínseca:** Actúan proteínas plasmáticas como FXII, FXI, precalicreína y cininógeno. Estas se activan al estar en contacto con superficies de carga negativa. Se activa FXII, el cual una vez activo, junto con el cininógeno de alto peso molecular, activan al FXI. El FIXa, gracias a FVIII, se une a FX y se convierte en Xa (3).
- **Vía común:** El TF es un cofactor importante para que se active FVII. El complejo TF-FVIIa activa a FX y FIX. El factor IX, por medio de FVIII activa a FX. Se necesita una doble activación de FX debido a la cantidad limitada que hay de TF y por la presencia del inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI), que al unirse a FXa inhibe el complejo TF-FVIIa. Los factores V, II, y I forman parte de esta vía. Cuando el factor X se activa, el factor V se une a FXa (se inactiva el calcio por la proteína C y la proteína S, para prevenir una coagulación demasiado grande). Por otro lado, el complejo protrombinasa (Xa-Va) convierte el FII (protrombina) en FIIa (trombina). Se necesita FXIII (estabilizador de fibrina) para estabilizar el coágulo y junto con el fibrinógeno, controlan el número de eritrocitos atrapados en el trombo (así controlan el tamaño del trombo). La cascada de coagulación se ve reflejada en la imagen a continuación (*Figura 1*) (3).

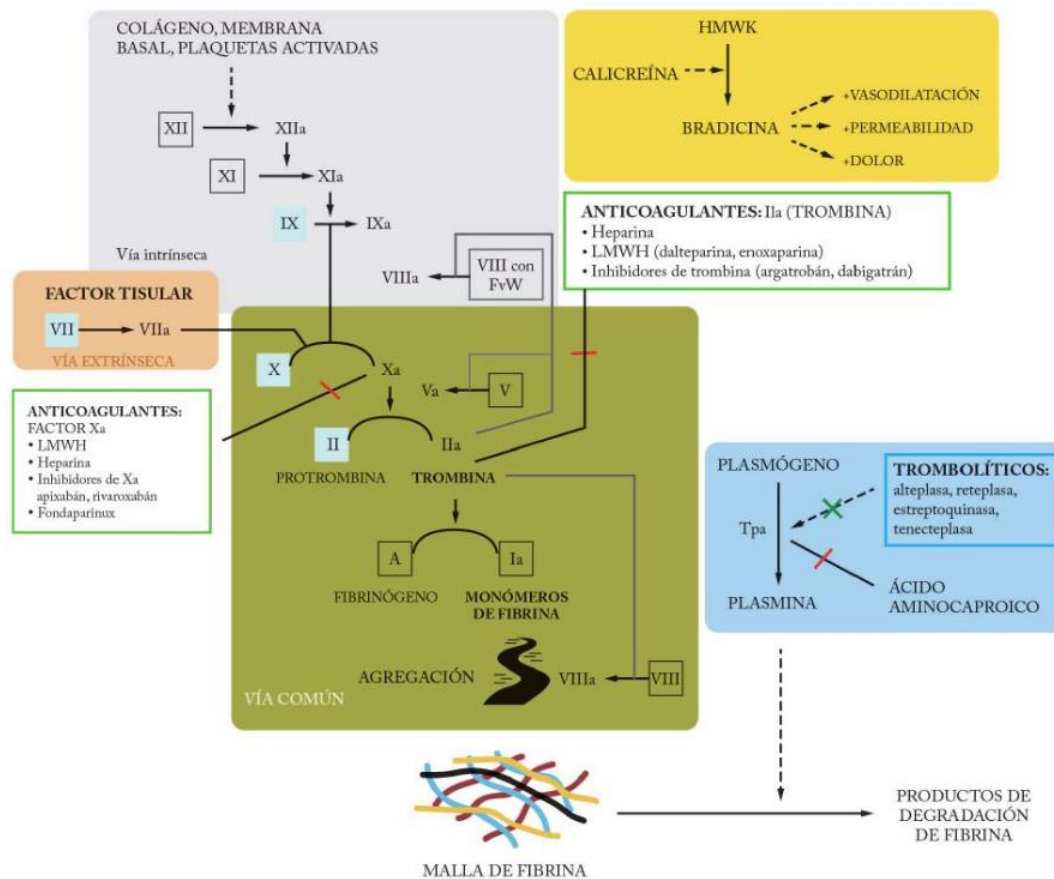


Figura 1. Cascada de coagulación. Vía común (verde), intrínseca (gris) y extrínseca (naranja) (3).

2.2.4. Modelo celular de la coagulación

Se diseñó este modelo al ser complejo y dinámico el proceso de hemostasia. En ese modelo, se explica la formación de fibrina como resultado de dos procesos: coagulación (formación de trombina) y la actividad plaquetaria, que se complementan mutuamente y en el que las 2 vías de coagulación (intrínseca y extrínseca) van unidas prácticamente desde el principio del proceso. Se divide en 3 fases (Figura 2) (3): iniciación, amplificación y propagación.

- **Iniciación:** Tras la lesión vascular, y unirse TF a FVII, el complejo TF-FVIIa activa a FX y FIX transformando protrombina en trombina. El FXa se une al factor Va. La cantidad de trombina que se produce en esta fase es insuficiente para completar el proceso de formación de fibrina, por ello se da el siguiente proceso.
- **Amplificación:** La trombina generada anteriormente (junto con calcio y fosfolípidos) activan los factores XI, IX, VIII, y V, para acelerar la activación plaquetaria (los factores comentados van a la superficie de las plaquetas y se activan).
- **Propagación:** Proceso final donde se forma trombina de forma masiva y se forma finalmente el coágulo estable.

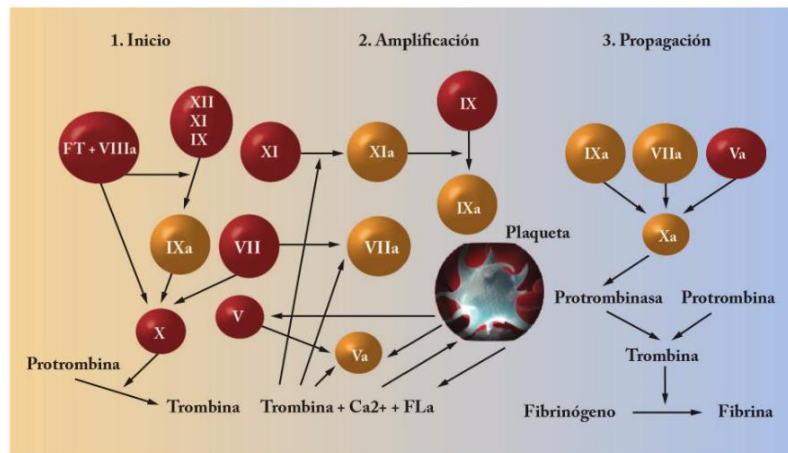


Figura 2. Modelo celular de la coagulación y sus 3 fases (3).

2.2.5. Fibrinólisis

Proceso en el que la fibrina se degrada en productos solubles. Se da de manera extravascular e intravascular, lo cual es importante para la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Tras la lesión tisular, con fibrina, se libera activador tisular del plasminógeno (tPA) de las células endoteliales. La plasmina produce sobre la fibrina productos de degradación de fibrina solubles. Así, el plasminógeno se une a la fibrina y al tPA. Este complejo convierte el plasminógeno en plasmina. La plasmina se regula por células endoteliales vasculares, que secretan activadores del plasminógeno e inhibidores de activador del plasminógeno (PAI-1 y 2) (3).

La tPA se encuentra en el plasma formando un complejo con su inhibidor PAI-1. La generación de plasmina por el tPA se da en el coágulo de fibrina. El tPA y el fibrinógeno se unen a la fibrina, de forma que se aumenta la eficiencia catalítica del tPA. Por último, destacar la uroquinasa, presente en la orina y la cual es el mayor activador de la fibrinólisis extracelularmente (3).

2.3. Trombofilia y mutaciones asociadas a trombofilia hereditaria

La trombofilia describe la trombosis tanto hereditaria como adquirida. Este trabajo se centra en la trombofilia hereditaria, la cual se produce por trastornos genéticos de proteínas hemostáticas específicas. Las trombofilias hereditarias más relevantes son las causadas por variantes patogénicas en el gen F5, la variante de factor V Leiden, (FVL) (G1691A) y en el gen de la protrombina (F2 G20210A). En menor medida se dan la deficiencia de proteína C (PC), la deficiencia de proteína S (PS) y la deficiencia de antitrombina (AT) (4).

La mutación FVL provoca un fallo de coagulación del factor V, con sustitución G > A en el nucleótido 1691 del cromosoma 1 (región cromosómica 1q23) y que se hereda como rasgo autosómico dominante. La mutación del gen de la protrombina (PGM), se produce por un defecto de coagulación del factor II, heredado como rasgo autosómico dominante, con sustitución G > A en el nucleótido 20210 del cromosoma 11. La deficiencia de AT se da tras más de 250 mutaciones diferentes del gen AT (región cromosómica 1q23-25), que se hereda como rasgo autosómico dominante. La deficiencia de PC se produce al haber más de 160 mutaciones distintas del gen PC, heredado como un trastorno autosómico dominante, ubicado en el cromosoma 2 (2q13-14) (5). Por último, la deficiencia de PS se da tras más de 130 mutaciones autosómicas dominantes del gen ubicado en el cromosoma 3 (región 3q11.2) (6,7).

Por otra parte, las trombofilias adquiridas más relevantes son el síndrome antifosfolípido (SAF), la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), las neoplasias mieloproliferativas (NMP) y la presencia de una mutación JAK2 en ausencia de un fenotipo de NMP. Hay que tener en cuenta que tanto las trombofilias adquiridas como las hereditarias pueden interactuar entre ellas y aumentar el riesgo de trombosis durante el embarazo o hasta seis semanas postparto (puerperio) (4).

Como se ha comentado previamente, este estudio se centra en las variantes del factor V Leiden y las variantes del gen de la protrombina, ya que son las más analizadas y se relacionan con un TEV (tromboembolismo venoso) (8). Estas variantes se detectan por métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y su prevalencia cambia según la etnia. En heterocigotos para el factor V Leiden está presente en torno a un 5% en caucásicos, mientras que en África o Asia oriental es casi inexistente. En cuanto a la variante de gen de la protrombina se da en 1-2% de caucásicos, siendo su prevalencia menor en otras etnias (9).

La causa de la variante del factor V Leiden, se debe a la eliminación de un sitio de escisión para la proteína C activada en el factor V, aumentando la actividad procoagulante. Por otra parte, en la variante del gen de la protrombina, se trata de una mutación puntual G20210A (sustitución de guanina por adenina) en la zona no traducida 3' del gen (10), aumentando los niveles de protrombina (11). En cuanto al diagnóstico genético de trombofilia hereditaria, en los casos que experimentan un evento trombótico, se efectúa el estudio de las dos mutaciones citadas anteriormente (mutación FVL y PGM). En el caso de la trombofilia del factor V, se identifica la variante heterocigota u homocigota c.1691G>A (mutación R506Q, en la que se sustituye arginina por glutamina) del factor V Leiden en el gen F5. También se puede realizar prueba de coagulación como un ensayo de resistencia a la proteína C activada (2). Por otro lado, el diagnóstico de la trombofilia por protrombina se debe a la identificación de la variante 20210G>A homocigota u heterocigota (c.97G>A) en el gen F2, que codifica para la protrombina. Ambas variantes pueden aumentar de 3 a 5 veces el riesgo de padecer un TEV (12). Durante el embarazo incrementan el riesgo de sufrir un evento trombótico, pero no se correlacionan con un mayor riesgo de preeclampsia u otras complicaciones durante el embarazo (13).

También hay variantes en otros genes que tienen gran prevalencia y que ocasionan un mayor riesgo de que ocurra una trombosis. Estas variantes son la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), SERPINE1 (codifica el inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno) (PAI-1) y el factor XIII, y otras variantes asociadas a los cambios en los factores procoagulantes comentados (14). A pesar de esto, su relación con la trombosis no es lo suficientemente considerable y el efecto que producen es pequeño, por lo que no se consideran en los paneles de trombofilia. Además, aunque muchas variantes en un individuo podrían indicar un riesgo de recurrencia, aún no se ha determinado en la práctica (15).

2.4. Trombosis y el embarazo de riesgo.

La situación de embarazo se considera un estado de hipercoagulabilidad por cambios fisiológicos en sistemas de coagulación. Por ello, es común realizar pruebas en embarazadas para detectar trombofilias, ya que se ha demostrado que estas pueden relacionarse con fallos o complicaciones durante el embarazo (16). Hasta un 44% de coágulos relacionados con el embarazo en pacientes con antecedentes de tromboembolismo venoso (TEV) se asocian a mutaciones del factor V Leiden, mientras que en el caso de la protrombina G20210A es de un 17%. Además, se ha

estimado que 1 de cada 500 heterocigotos del factor V Leiden y 1 de cada 200 heterocigotos de protrombina G20210A experimentarán un evento trombótico durante el embarazo (17).

Por otra parte, en otros estudios previos (5), se demuestra que las mujeres embarazadas con trombofilia hereditaria pueden tener un mayor riesgo de pérdida recurrente de embarazo (RPL) en comparación con el grupo de referencia (7). Se determinó la presencia de trombofilia hereditaria incluyendo la mutación FVL, PGM, deficiencia de AT, deficiencia de PC y deficiencia de PS. El resultado de interés se vio en el RPL, definido como dos o más pérdidas de embarazos (18), y que puede ser temprano (pérdidas de embarazos antes de la semana 13 de embarazo) o tardío (después de la semana 13 de embarazo).

Al analizar los datos de 81 estudios (5) se determinó una asociación significativa entre la mutación FVL y RPL. Las diferencias en el riesgo de RPL asociado con FVL fueron significativas para diferentes regiones geográficas y tipos de RPL. Respecto a la relación entre PGM y RPL, al analizar 64 estudios, se indicó también una asociación significativa entre PGM y RPL.

Según el metaanálisis completo (5), con 89 estudios con 30.254 personas, se determinó que la trombofilia hereditaria estaba asociada con la RPL. En general, la mutación FVL, la PGM y una deficiencia de PS pueden aumentar el riesgo de RPL 2,44 veces, 2,08 veces y 3,45 veces, respectivamente. Sin embargo, no se vio asociación entre la deficiencia de AT o PC y el RPL.

Por otro lado, se determina que la región geográfica podría tener una influencia significativa en la asociación entre la trombofilia hereditaria y la RPL, lo cual se correlaciona con la heterogeneidad étnica.

Las mujeres embarazadas con trombofilia hereditaria al tener mayor riesgo de sufrir RPL, deberían realizarse pruebas de trombofilia hereditaria (teniendo en cuenta otras variables, como la etnia y la frecuencia y momento del inicio del aborto espontáneo). Se propone en el estudio la terapia anticoagulante para mejorar los resultados del embarazo y reducir el RPL, aunque no hay evidencia de ningún beneficio del tratamiento. Por todo esto, se puede concluir que se da asociación entre la trombofilia hereditaria y un mayor riesgo de RPL, especialmente para la mutación FVL, PGM y la deficiencia de PS.

2.5. Datos en España

Según un estudio retrospectivo observacional (19) en el que se evaluó la enfermedad tromboembólica en diez años en Galicia (2006-2015), la incidencia de la enfermedad tromboembólica venosa (ETEV) en España es de aproximadamente 154 casos por cada 100000 habitantes (20), teniendo una mayor incidencia con la edad, siendo la media de edad en torno a 65 años y una mayor frecuencia en el género masculino. El tromboembolismo pulmonar (TEP) tiene una mayor mortalidad (11,6%) respecto a la trombosis venosa profunda (TVP) que es en torno al 2,3% (21). Además, los ictus isquémicos representan el 80% de los accidentes cerebrovasculares (ACV), siendo causa frecuente de hospitalización y de mortalidad en la población (22).

También se deben valorar datos de ETEV recogidos en España del 1993 al 2003 (23) elaborados por la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI) y factores de riesgo de ETEV, registrados el 1 de agosto de 2023 por el Registro Informatizado de pacientes con Enfermedad Tromboembólica (RIETE), que cuenta con 107206 pacientes.

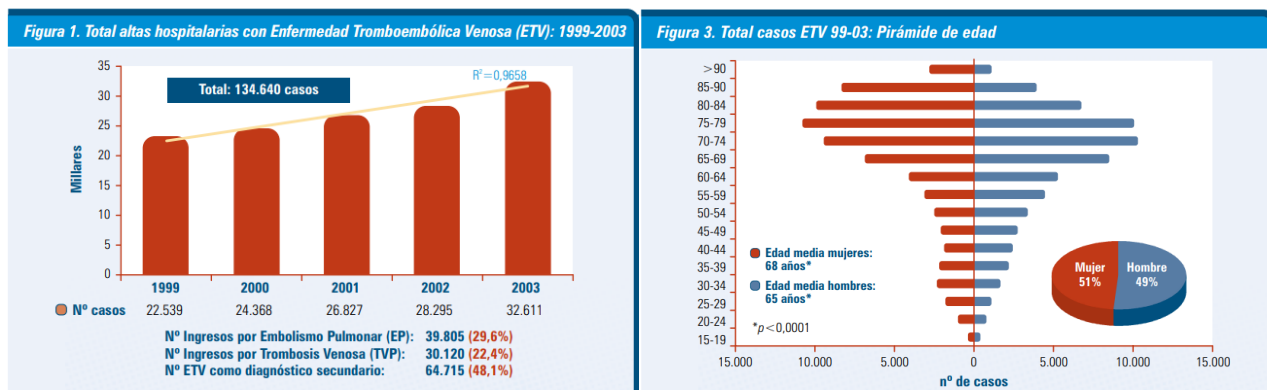


Figura 3 y 4. Total de altas hospitalarias con ETV del 1999 al 2003 (23) y total de casos de ETV (pirámide de edad) (23).

Como se puede ver en la gráfica de la izquierda (Figura 3) (23), del 1999-2003 se da un total de 134640 altas hospitalarias, siendo un 29,6 % por TEP, un 22,4% por TVP y el resto de ingresos por diagnóstico secundario (48,1%). Se observa un aumento progresivo de las altas hospitalarias con ETEV en España, lo cual es un aspecto a tener en cuenta. Por otro lado, en la gráfica de la derecha (Figura 4) (23) la mayoría de casos de ETEV se da entre los 70 y 80 años, siendo la mayor incidencia entre 75 y 79 años. La relación de ETEV entre hombre y mujer es casi 1:1 (51% y 49% respectivamente), siendo la edad media de 68 años en mujeres y de 65 años en hombres.

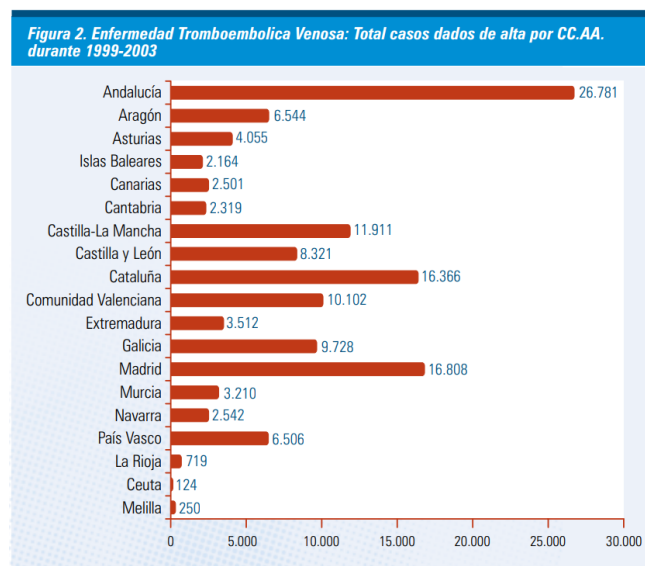


Figura 5. Total de casos de ETV por Comunidades Autonómicas del 1999 al 2003 (23).

Como se puede ver en la imagen (Figura 5) (23), del 1999 al 2003 la comunidad autónoma con más incidencia es Andalucía (26781 casos de ETEV), seguida de Madrid y Cataluña. Respecto a Aragón, es la octava comunidad con mayor incidencia, con un total de 6544 casos.

Por otro lado, se consideran los Factores de riesgo de ETEV obtenidos por el RIETE (24) y que se muestran a continuación:

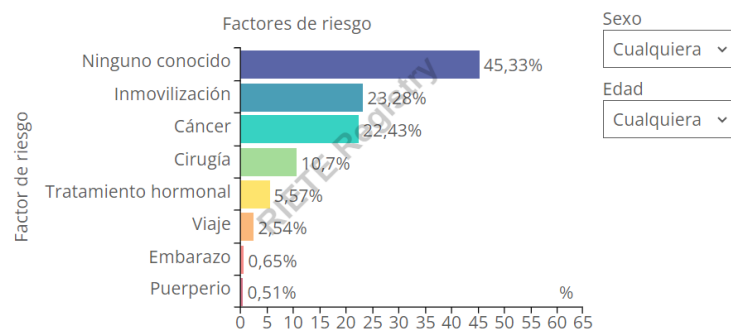


Figura 6. Factores de riesgo en ambos sexos y teniendo en cuenta todas las edades (24).

Como se puede observar en la imagen (Figura 6) (24), puede no haber factores de riesgo conocidos (45,33%), siendo el mayor factor de riesgo la inmovilización prolongada (encamamiento), seguido de cáncer, cirugía, tratamiento hormonal o viajes (y en menor medida embarazo o puerperio).

2.6. Procedimiento para el estudio genético de mutaciones y polimorfismos de trombofilia hereditaria (norma UNE-EN ISO 15189) en el HUMS

En el laboratorio de genética del Servicio de Bioquímica Clínica del HUMS se realiza el estudio genético de las mutaciones más relevantes en la trombofilia hereditaria: mutación R506Q del factor V Leiden y la mutación G20210A del factor de la protrombina.

La técnica de detección empleada se trata de la amplificación específica de alelos-ARMS (Sistema de Mutación Refractaria a la Amplificación) fluorescente usando el kit comercial Elucigene TRP-F plus, proveniente de Diagnostica LongWood, siendo una técnica estandarizada, rápida y validada por la Comunidad Europea (CE). Con el kit se pueden detectar las mutaciones mencionadas (Tabla 1).

Mutación/ polimorfismo	Nomenclatura HGVS	dbSNP	Referencia
G20210A	c.*97G>A	rs1799963	NM_000506 LRG_551
R506Q	c.1601G>A;p.Arg534Gln	rs6025	NM_000130 LRG_553

Tabla 1. Mutaciones detectadas con el Kit Elucigene TRP-F plus.

Respecto al tipo de muestra primaria (Tabla 2), se usa ácido desoxirribonucleico (ADN) de linfocitos de sangre periférica. La muestra elegida es sangre total con EDTA como anticoagulante.


Tipo de muestra	Recipiente	Contenedor	Aditivo
Sangre periférica	Tubo de vacío tapón MALVA (4 mL o similar)		EDTA

Tabla 2. Tipo de muestra primaria, recipientes y aditivos.

3. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

El objetivo principal del presente estudio es determinar la frecuencia de las mutaciones en los genes que codifican para los factores de coagulación: V o de Leiden (mutación R506Q) y II o protrombina (mutación G20210A), en homocigosis y heterocigosis, así como los casos de heterocigosis compuesta R506Q/G20210A asociadas a trombofilia hereditaria en la población aragonesa y con ello evaluar la correlación genotipo - fenotipo (tipo de evento trombótico), estableciendo asociación por edad y género.

Objetivos específicos:

- Filtrar la base de datos aportada desde la Sección de Genética del Servicio de Bioquímica Clínica del HUMS, que contiene los datos pseudoanonimizados en bruto de resultados del estudio genético de trombofilia hereditaria, en pacientes afectados por uno o varios eventos trombóticos durante el periodo de estudio del año 2012 al año 2022, ambos incluidos.
- Calcular frecuencias genotípicas según el evento trombótico del paciente.
- Relacionar los genotipos más frecuentes según edad (con variación de 20 años) y sexo (masculino o femenino).
- Calcular frecuencia de eventos trombóticos (TVP, TEP, trombosis retiniana, ictus, abortos de repetición), añadiendo una sexta categoría llamada “otros eventos trombóticos” que no incluyen los anteriores.

Plan de trabajo realizado

El proyecto se inició tan pronto como se recibieron los informes favorables del CEICA. Se realizó una filtración y posteriormente, un análisis estadístico para extraer las conclusiones pertinentes. Respecto al filtro, primeramente, se filtraron los probando de los no probando, quedándose con los datos de los probando. Tras esto, se procedió a filtrar en función del tipo de evento trombótico y, por otro lado, el número de mutaciones con pacientes homocigotos y heterocigotos de cada una de las dos mutaciones y también los heterocigotos compuestos R506Q y G20210A. Además, se filtraron los pacientes que sufrieron mutaciones de trombofilia hereditaria en función del género y edad de los pacientes. Tras esto, se analizaron otros posibles eventos trombóticos, que no fueran los principales analizados y que fueran otras trombosis. Todo ello se analizó con distintos gráficos según las variables de estudio sean cualitativas o cuantitativas.

3.1. Objetivos académicos

- Manejo de bases de datos, clasificación y filtrado, con el objetivo de facilitar el análisis de datos.
- Revisión bibliográfica y relación con los resultados obtenidos en este trabajo para una discusión argumentada de los mismos.
- Ampliación de conocimientos relacionados con la trombofilia hereditaria y las dos mutaciones más frecuentes.
- Aplicación de la estadística descriptiva para el análisis de los datos obtenidos y representaciones gráficas.
- Interiorización de la importancia de la trombofilia hereditaria en Aragón.

4. METODOLOGÍA

Este trabajo consiste en un estudio descriptivo retrospectivo observacional, proviniendo de una base de datos pseudoanonimizadas proporcionada por la directora, perteneciente a la sección de Genética del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS) en Zaragoza. La base contiene los resultados genéticos de trombofilia hereditaria de los últimos 10 años (2012-2022). Los datos que se han usado son históricos y proceden de los registros del Sistema Informático de Laboratorio (S.I.L, Modulab) del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Universitario Miguel Servet (HUMS).

4.1. Estrategia de búsqueda bibliográfica.

Respecto a la búsqueda bibliográfica, los criterios de selección se dirigieron a los trabajos que recogen datos y frecuencias de trombofilia hereditaria y de alguna de las dos mutaciones tratadas en este estudio. Por ello los criterios que se siguieron fueron:

- Tipo de estudio: se recogieron principalmente artículos y revisiones sistemáticas, aunque también se hizo uso de información de alguna página web.
- Idioma: al no dominar otro tipo de idiomas, se acotó a artículos que se encontraban en inglés o castellano.
- Fechas de los artículos: Se utilizaron artículos y revisiones de los últimos 20 años (2003-2023), centrándose en aquellos de los últimos 5 años, de forma que no se encontraran los datos desactualizados.

Por otro lado, la fuente principal de información para obtener los artículos que se evaluaron en este estudio fue Pubmed (motor de búsqueda de artículos científicos generado por la Biblioteca Nacional de Estados Unidos, que usa la base de datos MEDLINE).

Respecto a la estrategia de búsqueda utilizada, se realizaron búsquedas en la base de datos Pubmed. Para ello, se utilizaron opciones de búsqueda avanzadas teniendo en cuenta los criterios comentados previamente y así poder hacer una mejor selección de artículos. Para ello se realizaron búsquedas de revisiones sistemáticas por "hereditary thrombophilia", además de búsquedas de artículos de las 2 mutaciones de estudio ("Factor V Leiden", "prothrombin mutation" y "prothrombin G20210A mutation").

4.2. Variables a analizar y estadística

En la base de datos se recogieron las variables: fecha de nacimiento, fecha en la que se anotó la información, sexo, información adicional abreviado como "par" (en esta variable se recogía si se considera un probando o no), edad, centro, servicio, centro de extracción, indicación diagnóstica, mutación R506Q y mutación G20210A (indica si se considera normal, heterocigoto u homocigoto para esas mutaciones), y una casilla abreviada como "TRRES" (indica si es heterocigoto u homocigoto para esas mutaciones u otras).

La base de datos, su clasificación y estructura, se gestionó en Microsoft Excel 365. En este mismo programa se realizó el análisis de estos datos y cálculo de frecuencias. Las variables cualitativas fueron: genotipos (mutaciones), eventos trombóticos y sexo. Por otro lado, la variable cuantitativa que se analizó fue la edad, estableciendo intervalos de edad de 20 años desde los 19-89 años (se estableció un intervalo de 0 a 18 años para poder identificar a jóvenes no adultos).

Respecto a las variables cualitativas, se hizo un cálculo de frecuencias relativas (las frecuencias absolutas son datos), además de calcular los porcentajes. Para ello, se usaron las siguientes fórmulas:

$$\text{Frecuencia relativa} = \frac{\text{Frecuencia absoluta}}{\text{Nº total de observaciones de la muestra}}$$

$$\text{Porcentaje} = \text{Frecuencia relativa} * 100$$

Para representar las variables cualitativas, se emplearon los gráficos de sectores. Para representar la variable cuantitativa (sexo), se utilizaron gráficos de barras. Para este tipo de variables, se utilizan estadísticos descriptivos para ver la distribución y poder comparar datos. Los estadísticos utilizados fueron la media aritmética de edad, moda, mediana y desviación estándar, de forma que se pudiera determinar la distribución que siguen los datos. También se calcularon los percentiles (del 10 al 90).

4.3. Criterios de inclusión y exclusión en la base de datos filtrada

4.3.1. Criterios de exclusión generales

- Todos aquellos datos que incluyeron antecedentes familiares con eventos trombóticos, ya que se centró este estudio en antecedentes personales.
- Casos en los que no apareció información en el apartado de indicación diagnóstica, ya que no aportó información sobre el evento trombótico para el estudio.
- Casos que no fueran probando. Podrían ser casos de familiares o cónyuges, lo cual no interesaba para este estudio.
- Casos que no sufrieron un evento trombótico como tal:
 - Tromboflebitis. No representa ningún evento trombótico.
 - Resistencia a la proteína C activada (RPCa). No representa ningún evento trombótico.
 - Leucemias. No representa ningún evento trombótico.
 - Controles: Los controles no indican la situación de ningún paciente concreto.
 - Accidente isquémico transitorio (AIT): No representa ningún evento trombótico concreto.
 - Reevaluaciones: Son casos que se tienen que volver a analizar.
 - Estudio hipercoagulabilidad: Se eliminan aquellos que representan estudio.
 - Estudios familiares: Se eliminan aquellos que representan estudios.
 - Mononeuropatías: No representa ningún evento trombótico.
 - Estudios de embolia cerebral: Se eliminan aquellos que representan estudios.
 - Artritis: No representa ningún evento trombótico.
 - Estereotipia y colitis isquémica. No representa ningún evento trombótico.
 - Neuritis óptica. No representa ningún evento trombótico.
 - Síndrome de Down. No representa ningún evento trombótico.
 - Fecundación in vitro (FIV). No representa ningún evento trombótico.
 - Casos con homocisteína alta (homocisteinemia).
 - Casos de infertilidad.

- Datos que en la columna de indicación diagnóstica indicaban abortos espontáneos.
- Casos de trombosis venosa superficial

4.3.2. Criterios de inclusión generales

- Casos de indicación diagnóstica que indicaron algún evento trombótico.
- Casos con antecedentes personales de eventos trombóticos.
- Casos en los que en la columna “Información adicional” indicó probando.

En el caso de TVP, se incluyeron aquellos eventos trombóticos en extremidades inferiores (EEII) (de forma general, la mayoría de TVP ocurren en piernas y muslo, por lo que se consideró TVP).

4.3.3. Criterios de inclusión respecto a las mutaciones

Se tuvieron en cuenta aquellos casos en los que el resultado del estudio genético fue:

- Heterocigoto R506Q (genotipo GA)
- Homocigoto R506Q (genotipo AA)
- Heterocigoto G20210A (genotipo GA)
- Homocigoto G20210A (genotipo AA)
- Heterocigoto compuesto R506Q/ G20210A (genotipo GA/GA)

4.3.4. Criterios de exclusión respecto a las mutaciones

Aquellos casos con polimorfismos C677T y A1298C no fueron incluidos.

4.3.5. Criterios de exclusión respecto a otros eventos trombóticos

- Casos en los que se describieron únicamente antecedentes familiares.
- Casos con TVP, TEP, trombosis retiniana, abortos de repetición (repetidos) o ictus.
- Eventos no trombóticos.

4.4. Aprobación del Comité de Ética de la Investigación de la Comunidad de Aragón (CEICA).

Para la realización de este estudio, se dispuso del dictamen favorable del CEICA PI23/329 (se adjunta la aprobación en el anexo).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Primeramente, antes de detallar cada apartado, se realizó una descripción de la población de estudio. La base de datos en bruto tuvo un tamaño muestral de 8757 pacientes, del cual se realizó el filtro quedando 1554 pacientes (18%). De ellos, un 48% fueron mujeres y un 52% fueron hombres, con una edad media de 51 años y una desviación estándar de 14,87 años. La edad mínima observada fue de 3 años, mientras que la máxima fue de 88 años, con un rango de 85.

5.1. Mutaciones trombofilia hereditaria

Al analizar las mutaciones en el gráfico de sectores (*Figura 7*), la mutación más frecuente fue heterocigoto G20210A (46%), seguido de los heterocigotos R506Q (45%). Estas dos mutaciones componen la mayoría de mutaciones, correspondiendo con el 91% de ellas. También se dieron casos de homocigotos R506Q (5%), heterocigotos compuestos R506Q/G20210A (4%) y de homocigoto G20210A (1%). En total, de los datos filtrados (1554) hasta 447 pacientes presentaban estas mutaciones, representando a un 28,8% (porcentaje elevado). Respecto al total de pacientes de la base de datos (8757), suponían un 5,1%.

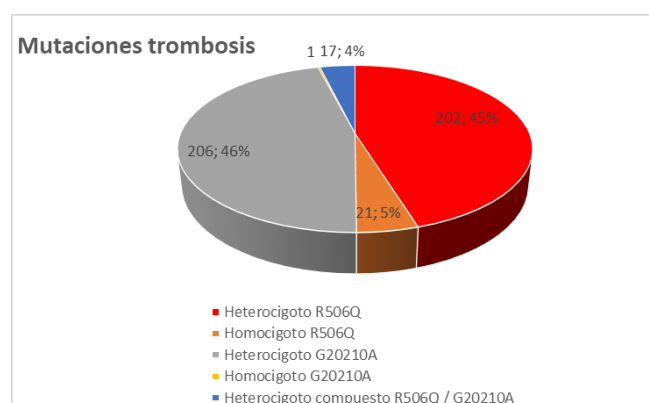


Figura 7. Número de pacientes con mutaciones asociadas a trombofilia hereditaria.

Mutaciones	Frecuencia relativa sobre el total de mutaciones	Porcentajes
Heterocigoto R506Q	0,451901566	45,19%
Homocigoto R506Q	0,046979866	4,70%
Heterocigoto G20210A	0,460850112	46,09%
Homocigoto G20210A	0,002237136	0,22%
Heterocigoto compuesto R506Q / G20210A	0,03803132	3,80%
	Suma de las frecuencias	
	1	

Tabla 3. Frecuencias relativas y porcentajes de pacientes con mutaciones.

Como se ha comentado previamente, la gran parte de los casos se concentran en los genotipos heterocigotos para alguna de las dos mutaciones (*Tabla 3*), correspondiendo con el 0,91 de frecuencia relativa. Destaca la aparición de un solo caso de homocigoto G20210A, que, aunque son menos frecuentes, en otros estudios si se observan algunos casos.

Comparando con otros estudios (25), los pacientes homocigotos para el FVL tienen mayor riesgo de evento trombótico que los heterocigotos (el riesgo del primer TEV aumenta de 10 a 80 veces). A pesar de esto, no se ha demostrado que el evento trombótico sea más o menos grave ni resistente a la coagulación en ninguno de los 2 casos. Otros estudios retrospectivos (25) de familiares de heterocigotos FVL (sintomáticos y asintomáticos) tuvieron un riesgo trombótico bajo, incluso teniendo factores de riesgo como cirugía del embarazo o inmovilización.

Por otro lado, aquellos pacientes heterocigotos u homocigotos para el factor V Leiden, deben hacerse pruebas ante una posible detección de otros eventos trombóticos y así ver cuál es el riesgo de trombosis (25). Esto se debe a que el factor V Leiden puede coexistir con otras trombofilias hereditarias o adquiridas. Por ello, las pruebas que se hacen los pacientes son:

- Prueba de DNA para detectar una posible mutación G20210A.
- Ensayos de coagulación dependientes de fosfolípidos para un inhibidor de lupus.
- Serología para detectar anticuerpos anticardiolipina y anti- β 2- glicoproteína.

En el estudio comentado previamente (25), se concluye que la mutación G20210A se da en el 2% de la población general, en el 6% de las personas con un primer TEV e incluso el 18% de las personas con antecedentes personales y familiares de trombosis (26). Los casos de heterocigotos compuestos del factor V Leiden y de la mutación de protrombina G20210A ocurre en alrededor de 1:1000 en la población general y del 1 al 5% de las personas con TEV (27,28).

Al comparar este estudio con nuestros datos, hay un 2,36% de pacientes con mutación G20210A en población general (coincide con el estudio, donde se observó un 2%) y un 13,32% en pacientes con eventos trombóticos (porcentaje superior al del estudio, donde se observó un 6%). Además, la frecuencia de heterocigotos compuestos fue del 0,19% de la base de datos total, coincidiendo con la bibliografía (0,1%). Por otro lado, el 1,09% de heterocigotos compuestos, sufrieron evento trombótico, lo cual entra en el rango del 1-5% comentado previamente.

Otros estudios (29) detallan la prevalencia de heterocigotos con mutación protrombina (PTM), que varía entre el 1% y el 6%, con una prevalencia global del 2% de la población general (30, 31), siendo los casos homocigotos menos comunes. De nuevo hay similitud con nuestros datos, con un 2,36% de heterocigotos y con una prevalencia mucho menor de homocigotos (solo un caso).

La mutación también depende de la etnia, habiendo una mayor frecuencia del alelo en personas del sur de Europa que en africanas o asiáticas (31). En la relación entre PTM y TEV, se ha determinado un riesgo de trombosis de 3 a 4 veces mayor entre los pacientes con heterocigosidad en PTM (32-34). Además, los eventos trombóticos comunes en los pacientes con PTM son TVP y TEP, aunque pueden darse en venas porta, hepáticas o cerebrales (35,36).

En otro metaanálisis (36) se determina la asociación entre la protrombina G20210A con la trombosis venosa cerebral, que también depende del país de origen. En este metaanálisis, se vio asociación en estudios en Italia (37-40), Brasil (41-43) y Alemania (44-46). Como se ha comentado previamente, la prevalencia de la mutación de la protrombina es significativa en los países del sur de Europa y no hay asociación en los países asiáticos. De este modo, se confirma una relación entre los pacientes con la mutación de protrombina G20210A con la trombosis venosa cerebral (dependiente en parte del país de origen).

5.2. Principales eventos trombóticos.

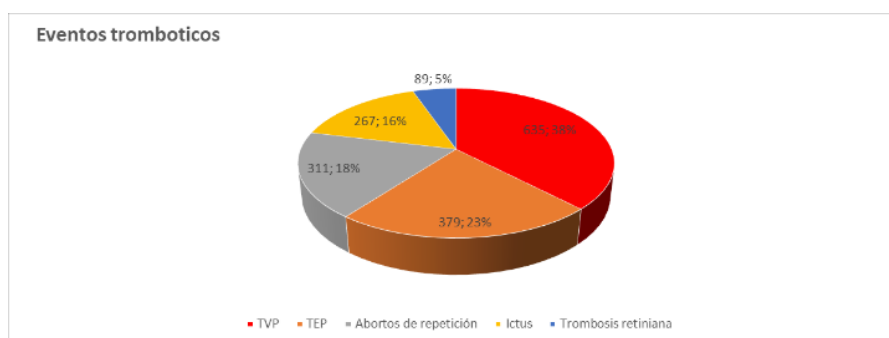


Figura 8. Pacientes con eventos trombóticos, recogidos en la base filtrada.

	Cantidad	Porcentajes
TVP	636	38%
TEP	379	23%
Abortos de repetición	311	18%
Ictus	267	16%
Trombosis retiniana	89	5%
Suma total	1682	

Tabla 4. Casos con eventos trombóticos principales y porcentajes respecto del total.

Se analizaron los eventos trombóticos de los pacientes (Figura 8), donde se puede observar un mayor número de casos de TVP (Tabla 4) (38%), seguido de TEP (23%), abortos de repetición (18%) e ictus (16%). En una cantidad bastante menor se dieron casos de trombosis retiniana (5%). Como se puede ver en el gráfico de sectores, en este caso los datos están más distribuidos entre TVP, TEP, abortos de repetición e ictus, aunque los pacientes con TVP supongan el 38% de los casos. En total se dieron 1682 casos, destacando que hay algunos datos repetidos y por ello, sale ligeramente superior al número de datos filtrados (1554), ya que hubo pacientes que sufrieron varios eventos trombóticos (por ejemplo, un mismo paciente sufre TVP y TEP).

Según datos de un estudio con 50611 casos, realizado en Galicia del 2006 al 2015 (19), los tromboembolismos son más frecuentes en hombres, a excepción del TEP en mujeres jóvenes (puede que se deba al uso de pastillas anticonceptivas al ser un factor de riesgo importante) y las de mayor edad. La incidencia de la enfermedad tromboembólica venosa (ETEV) en España es de 154 casos por cada 100.000 habitantes, siendo la media de edad de 65 años y con una incidencia que aumenta con la edad (20).

Respecto a la incidencia media de TEP, se da una gran diferencia ya que en nuestro estudio se da un 4,33% de casos con TEP respecto a los 8757 pacientes de la base de datos (4330 casos por cada 100000), mientras que en el estudio comentado se dan entre 97 y 126 casos por cada 100.000 habitantes (en población de más de 65 años).

En este mismo estudio, la mayor incidencia de tromboembolismo se dio en pacientes de más de 80 años con ictus, con hasta 941 casos nuevos por cada 100.000 habitantes. Esto se diferencia de nuestro estudio, en el cual se observó una incidencia general de ictus bastante mayor, con 267 casos en 8757 pacientes (3050 casos por cada 100000 habitantes).

Teniendo en cuenta que las enfermedades cerebrovasculares son la tercera causa de muerte más frecuente en España, por detrás de la COVID-19 y las enfermedades isquémicas (47), el gran número de casos de ictus es preocupante. Además, en Aragón se dan 112,47 casos por cada 100000 habitantes (48), superando por bastante la media en España (88,62 casos). El ictus tiene factores de riesgo modificables (49) como la hipertensión (la más importante), diabetes, obesidad y estilo de vida. Esto hace que sea un problema solucionable a tener en cuenta, frente al creciente envejecimiento de la población que provoca un aumento de la prevalencia de ictus.

5.3. Otros eventos trombóticos.

Datos filtrados: Otros eventos trombóticos	286
Nº total datos de base filtrada	1554
Frecuencia con respecto a la base filtrada	0,18

Tabla 5. Otros eventos trombóticos no comentados previamente y su frecuencia relativa.

También se contabilizaron otros eventos trombóticos que no correspondieran con los 5 tipos comentados previamente (*Tabla 5*). Para ello se filtró por “trombosis” sin que hubiera antecedentes familiares, con un total de 286 casos respecto al total de la base filtrada (1554). Como se ve, la frecuencia relativa respecto a la base filtrada es de 0.18, correspondiendo casi con 1 de cada 5 casos de eventos trombóticos, lo cual resalta la variedad de eventos trombóticos. Esto sugiere la necesidad de evaluar mutaciones cuando ocurren otros eventos trombóticos que no sean los principales.

5.4. Correlación genotipo con evento trombótico.

	TVP	TEP	Abortos de repetición	Ictus	Trombosis retiniana	Porcentaje
Heterocigotos R506Q	30	12	4	6	0	50%
Homocigotos R506Q	4	0	0	0	0	4%
Heterocigotos G20210A	18	13	3	7	0	40%
Homocigotos G20210A	1	0	0	0	0	1%
Heterocigoto compuesto R506Q / G20210A	2	3	0	0	0	5%
Porcentaje	53%	27%	7%	13%	0	
Suma total de eventos trombóticos	103					

Tabla 6. Pacientes con mutaciones de trombofilia hereditaria y con eventos trombóticos.

Se correlacionaron los pacientes que sufrían mutación de trombofilia hereditaria y que sufrieran algún tipo de evento trombótico (*Tabla 6*). Por un lado, la mutación más frecuente fue los pacientes heterocigotos R506Q (50%), seguido de heterocigotos G20210A (40%), heterocigotos compuestos (5%), homocigotos R506Q (4%) y homocigotos G20210A (1%). Los dos casos de heterocigosidad (heterocigotos R506Q y heterocigotos G20210A) han sido las mutaciones más frecuentes, lo cual es esperable ya que de forma general son más frecuentes que el resto. El evento trombótico más común en todas las mutaciones (excepto en dobles heterocigotos que fue TEP) fue el TVP (53%), seguido de TEP (27%), ictus (13%) y abortos de repetición (7%). Como se puede observar, la gran mayoría de eventos trombóticos que sufrieron los pacientes con trombofilia hereditaria corresponden a TVP y TEP (80%), lo cual es esperable al ser eventos trombóticos bastante frecuentes.

Si se realiza una comparativa con datos bibliográficos, respecto a la relación entre PTM y la aparición de TEV, en otros estudios se determinó un mayor riesgo de trombosis (de 3 a 4 veces mayor) entre los pacientes con heterocigosidad en PTM (32-34). Esto se corrobora con los datos del estudio, en el cual aparecen hasta 41 pacientes heterocigotos G20210A con algún tipo de trombosis. En el mismo estudio comentado antes, los eventos trombóticos de TEV que más se dieron en los pacientes con PTM fueron TVP y TEP (35,36), lo cual también se refleja en este estudio con 18 y 13 casos respectivamente (75,6% de los heterocigotos G20210A).

5.5. Mutaciones tromboticas según edad y sexo.

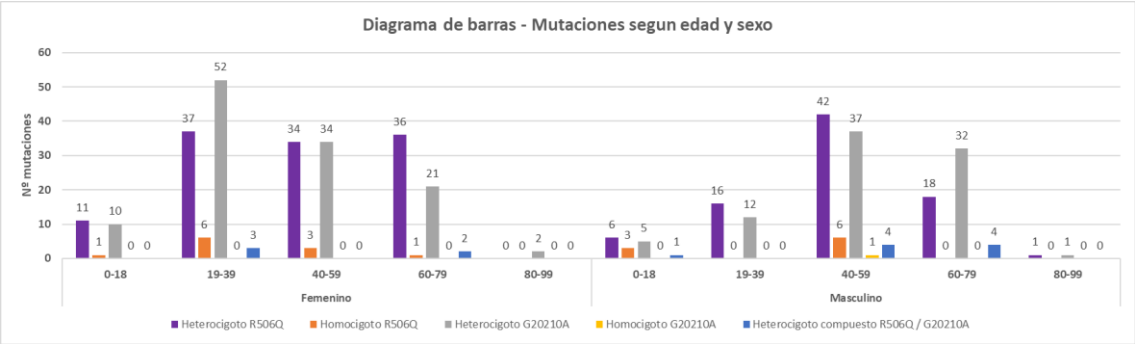


Figura 9. Número de mutaciones según edad y sexo.

Se analizaron las mutaciones según la edad y sexo (Figura 9), con el objetivo de valorar qué intervalo de edad y en qué sexo se obtuvieron más casos. Como se puede observar en la figura 9, en el sexo masculino la mayor cantidad de mutaciones se dieron entre los 40-59 años con un 48% de casos, (42 heterocigotos R506Q (morado), 6 homocigotos R506Q (naranja), 37 heterocigotos G20210A (gris), 1 homocigoto G20210A (amarillo) y 4 heterocigotos compuestos R506Q/G20210A (azul)). Sin embargo, en el sexo femenino la mayor cantidad de mutaciones se observó en una edad más temprana, entre los 19-39 años, con un 39% de casos (Tabla 7) (37 heterocigotos R506Q, 6 homocigoto R506Q, 52 heterocigotos G20210A y 3 heterocigotos compuestos R506Q/G20210A). Destaca el número de mutaciones en el sexo femenino en edad fértil y reproductiva, lo que se relaciona con la gran cantidad de abortos de repetición comentado previamente (18%). Con esto se demuestra la relación que existe entre las mutaciones de trombofilia hereditaria y el embarazo de riesgo.

Por otro lado, en ambos sexos se destaca que entre la franja de edad de los 80-99 años es donde menos casos se concentran, con tan solo dos casos en el sexo femenino (dos heterocigotos G20210A) y dos casos en el masculino (heterocigoto R506Q y heterocigoto G20210A) (Tabla 7), probablemente debido a una menor cantidad de pacientes analizados en este rango de edad. Cabe destacar que en las figuras y tablas de este apartado aparecen 442 de 447 pacientes con mutaciones, ya que hubo 5 casos en la base de datos en los que no se identificó el sexo.

Sexo	Años	Heterocigoto R506Q	Homocigoto R506Q	Heterocigoto G20210A	Homocigoto G20210A	Heterocigoto compuesto R506Q / G20210A	Porcentajes respecto de cada sexo
Femenino	0-18	11	1	10	0	0	9%
	19-39	37	6	52	0	3	39%
	40-59	34	3	34	0	0	28%
	60-79	36	1	21	0	2	24%
	80-99	0	0	2	0	0	1%
Masculino	0-18	6	3	5	0	1	8%
	19-39	16	0	12	0	0	15%
	40-59	42	6	37	1	4	48%
	60-79	18	0	32	0	4	29%
	80-99	1	0	1	0	0	1%

Tabla 7. Mutaciones según edad (intervalos de 20 años) y sexo (masculino o femenino).

En esta tabla (*Tabla 7*) se recogen los datos comentados previamente de forma más visual. Si se comparan ambos sexos (*Figura 10*), se observa un mayor número de pacientes con mutaciones en el sexo femenino (57%) respecto del sexo masculino (43%), por lo que se concluye que hay una mayor prevalencia de mutaciones de trombofilia hereditaria en el sexo femenino. Valorando el número de mutaciones según la edad (*Figura 11*), se puede ver que el intervalo de edad con mayor frecuencia es el de 40-59 años (36% casos), seguido del de 19-39 años (29%), 60-79 años (26%), de 0-18 años (8%) y mayores de 80 años (1%).

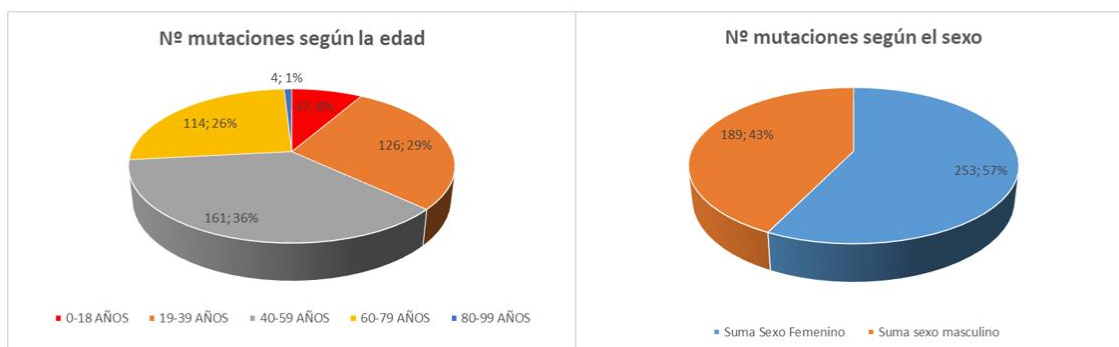


Figura 10 y 11. Número de mutaciones según el sexo (Figura 10) y número de mutaciones según el rango de edad (Figura 11).

Respecto al número de mutaciones según la edad, al ser la edad una variable cuantitativa, se pueden sacar varias conclusiones que se ven a continuación recogidas en las siguientes tablas:

Edad	
Media	45,38
Mediana	45,50
Moda	40,00
Desviación estándar	18,18

Tabla 8. Parámetros calculados según la variable edad (respecto al número de mutaciones).

Como se observa en la *Tabla 8*, la media de edad de pacientes con mutaciones es de 45,38 años, pudiendo considerarse una edad temprana. La media aritmética tiene un valor cercano a la mediana (45,5) y la moda (40), por lo que se concluye que se sigue una distribución con tendencia simétrica. Respecto a la desviación estándar es de 18,18 años, lo que indica que la mayoría de datos se agrupan cerca de la media.

Percentil	Nomenclatura	Edad
0,1	P10	18,7
0,2	P20	31
0,3	P30	35,1
0,4	P40	40
0,5	P50	45,5
0,6	P60	52
0,7	P70	58
0,8	P80	62
0,9	P90	68

Tabla 9. Percentiles de las mutaciones según la edad.

Por otro lado, se observaron los diferentes percentiles (*Tabla 9*) (medida que indica el valor de una variable por debajo del cual se da un porcentaje determinado de observaciones en un conjunto de datos). Al tratar estos datos, el 90% de los pacientes con mutaciones (P90) tuvo una edad inferior a los 68 años mientras que el 50% de los pacientes con mutaciones tuvo una edad inferior a los 45,5 años. Con esto, se ve de forma clara que en edades avanzadas en este estudio se han encontrado pocos pacientes con mutaciones, pero también se dan pocos pacientes con mutaciones con menos de 18,7 años (el 10% de los pacientes).

5.6. Servicios y centros de extracción de los pacientes con mutaciones de trombofilia

Servicio	Cuenta de TRRES
Alto Riesgo - Consulta	1
Angiología y Cirugía Vascular - Consulta	34
Cirugía General Endocrinológica C2 - Hospitalizaci	1
Cirugía General Pediátrica - Consulta	1
Dermatología - Consulta	1
Digestivo	3
Digestivo - Consulta	2
Endocrinología	1
Endocrinología - Consulta	1
Genética - Consulta	10
Ginecología - Consulta	1
Hematología	37
Hematología - Consulta	73
Hematología CEX	5
Hematología Clínica - Hospitalización	1
Hematología y Hemoterapia	96
Hemoterapia - Servicio de Transfusión	1
Hospital de Jaca	1
Hospital de Soria	1
Laboratorio	15
Laboratorio de Hematología	3
Medicina de Familia	44
Medicina Interna	15
Medicina Interna - Consulta	5
Medicina Interna - Hospitalización	2
Neumología	6
Neumología - Consulta	10
Neumología - Hospitalización	1
Neurología	25
Neurología - Consulta	7
Neurología - Hospitalización	7
Obstetricia y Ginecología	9
Oftalmología	1
Oftalmología - Consulta	1
Oncopediatría - Hospitalización	1
Pediatría	3
Reproducción Asistida - Consulta	16
Tocología - Consulta	3
Transplante Renal - 6ª Planta	1
UCI de Trauma	1
Total general	447

Centro de Extracción	Cuenta de TRRES
Laboratorio-UCL HUMS	210
Centro de Salud Almozara GP	1
Centro de Salud Fernando el Católico	1
Centro de Salud Torrero-La Paz GP	1
H.General - 06A PARES (HEMATOLOGIA)	1
H.General - 07A IMP	1
H.General - 07A IMP (COMI/CONM)	6
H.General - 07A PARES (COMI/CONM)	1
H.General - 09A PARES (NEUMOLOGIA)	1
H.General - 11A IMP (M. INTERNA)	1
H.General - Banco de Sangre	1
H.Infantil - 03B ONCOPEDIATRIA	1
H.Trauma - 03 CIR.GRAL-HEPATO-ESOF	1
H.Trauma - 06 UROLOGIA	1
Hospital de Alcañiz	31
Hospital de Barbastro	23
Hospital de Jaca	1
Hospital de la Defensa	5
Hospital de Soria	5
Hospital Obispo Polanco - Teruel	24
Hospital Provincial de Zaragoza	9
Hospital Royo Villanova	52
Hospital San Jorge - Huesca	54
Laboratorio de Genética	11
Laboratorio de Hematología	3
UCI MF.1 - UCI HRTQ	1
Total general	447

Tabla 10 y 11. Servicios (tabla 10) y centros de extracción (tabla 11) de los pacientes con mutaciones de trombofilia hereditaria.

El servicio más solicitado fue el de hematología (*Tabla 10*), con un 48% de los pacientes. Esto podría ser indicativo de que el seguimiento de la mayoría de pacientes con eventos trombóticos y solicitud de estudios genéticos la realiza el servicio de hematología. El centro de extracción en el que se atendieron más pacientes fue el laboratorio-UCL del HUMS (*Tabla 11*), con un 47%.

6. CONCLUSIONES

1. El evento trombotico más asociado a las mutaciones R506Q y G20210A (tanto en homocigotos como en heterocigotos) fue la TVP (61% y 45% respectivamente). Sin embargo, en heterocigotos compuestos R506Q/G20210A, el evento trombotico más común fue el TEP (60%).
2. La mutación que presentaban mayoritariamente los pacientes que habían sufrido eventos tromboticos era la R506Q en heterocigosis (50%), seguido de la mutación G20210A en heterocigosis (40%), siendo la heterocigosidad lo más frecuente.
3. Se observó un mayor número de eventos tromboticos de TVP (38%), seguido de TEP (23%), abortos de repetición (18%), ictus (16%) y trombosis retiniana (5%). El evento trombotico más común en todas las mutaciones fue el TVP (53%), a excepción de los dobles heterocigotos, en los que el TEP fue predominante (60%).
4. Se observó una mayor frecuencia de mutaciones en mujeres (57%) que hombres. Respecto a la edad, el intervalo más y menos frecuente es 40-59 años (36%) y 80-99 años (1%).

CONCLUSIONS

1. The thrombotic event most associated with the R506Q and G20210A mutations (homozygotes and heterozygotes) was DVT (61% and 45%, respectively). However, in compound heterozygotes R506Q/G20210A, the most common thrombotic event was PE (60%).
2. The mutation predominantly found in patients who had experienced thrombotic events was R506Q in heterozygosity (50%), followed by the G20210A mutation in heterozygosity (40%), with heterozygosity being the most common.
3. A higher number of thrombotic events were observed for DVT (38%), followed by PE (23%), recurrent miscarriages (18%), stroke (16%), and retinal thrombosis (5%). The most common thrombotic event across all mutations was DVT (53%), except in double heterozygotes, where PE was predominant (60%).
4. A higher frequency of mutations was observed in women (57%) compared to men. Regarding age, the most and least frequent age interval was 40-59 years (36%) and 80-99 years (1%), respectively.

7. BIBLIOGRAFÍA.

1. MedlinePlus. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001124.htm>. (Consulta: 12/7/2023).
2. MedlinePlus. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/bloodclots.html>. (Consulta: 12/7/2023).
3. Ruiz Argüelles GJ. Fundamentos de hematología. México, D.F.: Editorial Médica Panamericana; 2021.
4. Arachchillage DRJ, Makris M. Inherited Thrombophilia and Pregnancy Complications: Should We Test? *Semin Thromb Hemost*. 2019;45(1):50-60.
5. Liu X, et al. Hereditary Thrombophilia and Recurrent Pregnancy Loss: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Hum Reprod*. 2021;36(5):1213-1229.
6. Zoller B, Garcia DFP, Hillarp A, Dahlback B. Thrombophilia as a Multigenic Disease. *Haematologica*. 1999;84:59-70.
7. Mitriuc D, Popușoi O, Catrinici R, Friptu V. The obstetric complications in women with hereditary thrombophilia. *Med Pharm Rep*. 2019;92:106-110.
8. Campello E, Spiezia L, Simioni P. Diagnosis and Management of Factor V Leiden. *Expert Rev Hematol*. 2016;9(12):1139-1149.
9. Saemundsson Y, Sveinsdottir SV, Svantesson H, Svensson PJ. Homozygous factor V Leiden and double heterozygosity for factor V Leiden and prothrombin mutation. *J Thromb Thrombolysis*. 2013;36(3):324-331.
10. van Ommen CH, Nowak-Gottl U. Inherited thrombophilia in pediatric venous thromboembolic disease: why and who to test. *Front Pediatr*. 2017;5:50.
11. Young G, Manco-Johnson M, Gill JC, et al. Clinical manifestations of the prothrombin G20210A mutation in children: a pediatric coagulation consortium study. *J Thromb Haemost*. 2003;1(5):958-962.
12. Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review. *Arch Intern Med*. 2006;166(7):729-736.
13. Kujovich JL. Prothrombin Thrombophilia. 2006 Jul 25 [Updated 2021 Feb 4]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023.
14. Tregouet DA, Morange PE. What is currently known about the genetics of venous thromboembolism at the dawn of next-generation sequencing technologies. *Br J Haematol*. 2018;180(3):335-345.
15. van Hylckama VA, Flinterman LE, Bare LA, et al. Genetic variations associated with recurrent venous thrombosis. *Circ Cardiovasc Genet*. 2014;7(6):806-813.
16. Baglin T, Gray E, Greaves M, et al. Clinical guidelines for testing for heritable thrombophilia. *Br J Haematol*. 2010;149(2):209-220.
17. Battinelli EM, Marshall A, Connors JM. The role of thrombophilia in pregnancy. *Thrombosis* 2013; 2013:516420.

18. Hong LY , Marren A. Recurrent pregnancy loss: A summary of international evidence-based guidelines and practice. *Aust J Gen Pract* 2018;47:432-436.
19. Simón-Montero, E. et al. Evolución de La Incidencia de La Enfermedad Tromboembólica Venosa En Galicia Durante Diez Años (2006-2015). *Medicina de Familia*. 2020. *SEMERGEN* 46(5): 339–46.
20. Guijarro-Merino R, Montes-Santiago J, San Román-Terán CM. Epidemiología hospitalaria de la enfermedad tromboembólica venosa en España. *Med Clin*. 2008;131:2-9.
21. Instituto Nacional de Estadística. Disponible en: https://www.ine.es/prensa/edcm_2018.pdf. Consulta: 9/8/2023.
22. Instituto Nacional de Estadística. Disponible en: https://www.ine.es/prensa/emh_2018.pdf. Consulta: 9/8/2023.
23. Grupo Multidisciplinar para el Estudio de la ETV en España. Enfermedad Tromboembólica Venosa en España. 2006. Disponible en: <https://www.fesemi.org/sites/default/files/documentos/publicaciones/estudio-etv.pdf>
24. Registro Informatizado de Pacientes con la Enfermedad Tromboembólica (RIETE). Disponible en: <https://www.riete.org/info/charts/risk-factors.php>. (Consulta: 7/8/2023).
25. Kujovich, Jody Lynn. Factor v Leiden Thrombophilia. *Genetics in Medicine*. 2011;13(1):1-16.
26. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*. 1996;88:3698–3703.
27. De Stefano V, Martinelli I, Mannucci PM, et al. The risk of recurrent Deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med*. 1999;341:801– 806.
28. Emmerich J, Rosendaal FR, Cattaneo M, et al. Combined effect of factor V Leiden and prothrombin 20210A on the risk of venous thromboembolism—pooled analysis of 8 case-control studies including 2310 cases and 3204 controls. Study Group for Pooled-Analysis in Venous Thromboembolism. *Thromb Haemost*. 2001;86:809 – 816.
29. Elkattawy S, Alyacoub R, Singh KS, Fichadiya H, Kessler W. Prothrombin G20210A Gene Mutation-Induced Recurrent Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism: Case Report and Literature Review. *J Investig Med High Impact Case Rep*. 2022; 10:23247096211058486.
30. Zivelin A, Rosenberg N, Faier S, et al. A single genetic origin for the common prothrombotic G20210A polymorphism in the prothrombin gene. *Blood*. 1998;92(4):1119-1124.
31. Rosendaal FR, Doggen CJ, Zivelin A, et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. *Thromb Haemost*. 1998;79(4):706-708.
32. Leroyer C, Mercier B, Oger E, et al. Prevalence of 20210 A allele of the prothrombin gene in venous thromboembolism patients. *Thromb Haemost*. 1998;80(1):49-51.
33. Margaglione M, Brancaccio V, Giuliani N, et al. Increased risk for venous thrombosis in carriers of the prothrombin G→A20210 gene variant. *Ann Intern Med*. 1998;129(2):89- 93.
34. Hillarp A, Zöller B, Svensson PJ, Dahlbäck B. The 20210 A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep venous thrombosis. *Thromb Haemost*. 1997;78(3):990-992.

35. Zhang P, Zhang J, Sun G, et al. Risk of Budd-Chiari syndrome associated with factor V Leiden and G20210A prothrombin mutation: a meta-analysis. *PLoS ONE*. 2014;9(4):e95719.
36. Gonzalez JV, Barboza AG, Vazquez FJ, Gándara E. Prevalence and geographical variation of prothrombin G20210A mutation in patients with cerebral vein thrombosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*. 2016;11(3):e0151607
37. Boncoraglio G, Carriero MR, Chiapparini L, Ciceri E, Ciusani E, Erbetta A, et al. Hyperhomocysteinemia and other thrombophilic risk factors in 26 patients with cerebral venous thrombosis. *Eur J Neurol*. Blackwell Science Ltd. 2004;11: 405–409.
38. Madonna P, De Stefano V, Coppola A, Albinini R, Cerbone AM. G20210A PRTH Gene Mutation and Other Trombophilic Polymorphisms in Patients With Cerebral Vein Thrombosis. *Stroke*. 2000;31: 1785–1790.
39. Ventura P, Cobelli M, Marietta M, Panini R, Rosa MC, Salvioli G. Hyperhomocysteinemia and Other Newly Recognized Inherited Coagulation Disorders (Factor V Leiden and Prothrombin Gene Mutation) in Patients with Idiopathic Cerebral Vein Thrombosis. *Cerebrovasc Dis*. 2004;17: 153–159.
40. Martinelli I, Battaglioli T, Pedotti P, Cattaneo M, Mannucci PM. Hyperhomocysteinemia in cerebral vein thrombosis. *Blood*. 2003;102: 1363–1366.
41. Gadelha T, André C, Jucá AA V, Nucci M. Prothrombin 20210A and Oral Contraceptive Use as Risk Factors for Cerebral Venous Thrombosis. *Cerebrovasc Dis*. 2005;19: 49–52.
42. Rodrigues CA, Rocha LKA, Morelli VM, Franco RF, Lourenço DM. Prothrombin G20210A mutation, and not factor V Leiden mutation, is a risk factor for cerebral venous thrombosis in Brazilian patients. *J Thromb Haemost*. Blackwell Science Inc; 2004;2: 1211–1212.
43. Voetsch B, Damasceno BP, Camargo ECS, Massaro A, Bacheschi LA, Scaff M, et al. Inherited Thrombophilia as a Risk Factor for the Development of Ischemic Stroke in Young Adults. *Thromb Haemost*. Schattauer Publishers; 2000;83: 229–233.
44. Reuner KH, Ruf A, Grau A, Rickmann H, Stolz E, Jüttler E, et al. Prothrombin Gene G20210→A Transition Is a Risk Factor for Cerebral Venous Thrombosis. *Stroke*. 1998;29: 1765–1769.
45. Lichy C, Dong-Si T, Reuner K, Genius J, Rickmann H, Hampe T, et al. Risk of cerebral venous thrombosis and novel gene polymorphisms of the coagulation and fibrinolytic systems. *J Neurol*. Steinkopff-Verlag; 2006;253: 316–320.
46. Ringelstein M, Jung A, Berger K, Stoll M, Madlener K, Klötzsch C, et al. Promotor polymorphisms of plasminogen activator inhibitor-1 and other thrombophilic genotypes in cerebral venous thrombosis: a case-control study in adults. *J Neurol*. Springer-Verlag; 2012;259: 2287–2292.
47. Instituto Nacional de Estadística. Disponible en: https://www.ine.es/prensa/edcm_2021.pdf. (Consulta: 9/8/2023).
48. Ministerio de Sanidad y Consumo. Disponible en: http://www.semg.es/doc/documentos SEMG/estrategias_ictus_SNS.pdf. (Consulta: 9/8/2023)
49. Takamiya O, Ishida F, Kodaira H, Kitano K. APC-resistance and Mnl I genotype (Gln 506) of coagulation factor V are rare in Japanese population. *Thromb Haemost*. 1995; 74:996.

8. ANEXOS.

Anexo I. Dictamen favorable del CEICA.



Informe Dictamen Favorable Trabajos académicos

C.P. - C.I. PI23/329

28 de junio de 2023

Dña. María González Hínjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 28/06/2023, Acta Nº 13/2023 ha evaluado la propuesta del Trabajo:

Título: Evaluación de la frecuencia de las mutaciones R506Q y G20210A asociadas a trombofilia hereditaria en Aragón en los últimos 10 años: correlación genotipo con tipo de evento trombótico

Alumno: Andrés Velilla García

Tutores: María Santamaría González, Mauricio Tajada Duaso

Versión protocolo: Versión 01/06/2023

Se acepta la exención de consentimiento para la recogida de datos retrospectivos

2º. Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.
- El Tutor/Director garantiza la confidencialidad de la información, la obtención de los permisos necesarios para el acceso a los datos, el adecuado tratamiento de los datos en cumplimiento de la legislación vigente y la correcta utilización de los recursos materiales necesarios para su realización.

3º. Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE a la realización del proyecto.**

Lo que firmo en Zaragoza

GONZALEZ
HINJOS MARIA
DNI 03857456B

Firmado digitalmente
por GONZALEZ HINJOS
- MARIA - DNI 03857456B
Fecha: 2023.07.03
11:20:57 +02'00'

María González Hínjos
Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

Procedimiento para el estudio genético de mutaciones y polimorfismos de trombofilia hereditaria (norma UNE-EN ISO 15189) en la Sección de Genética del Servicio de Bioquímica del HUMS.

Anexo II. Ejemplos donde se pueden ver las diferentes mutaciones y/o polimorfismos, mostrados según el código de colores que se indica en la siguiente tabla (relación alelo/color del pico).

	Wildtype	Mutante
677C>T	Negro	Rojo
R506Q	Verde	Azul
20210G>A	Verde	Azul
1298A>C	Negro	Rojo

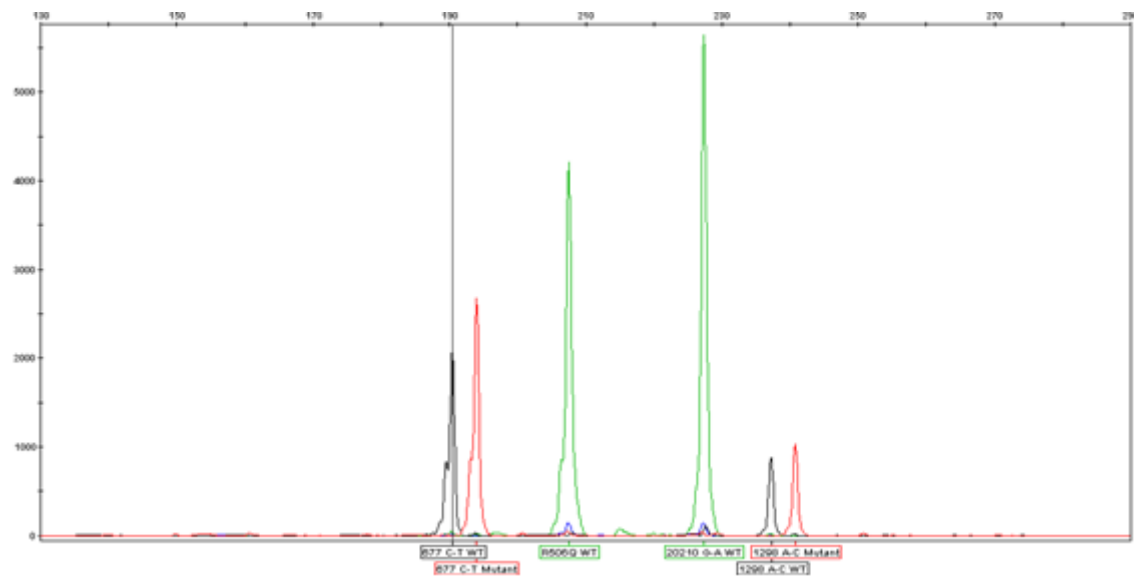


Figura 1. Paciente heterocigoto para los polimorfismos 667C>T y 1298A>C y normal para las mutaciones

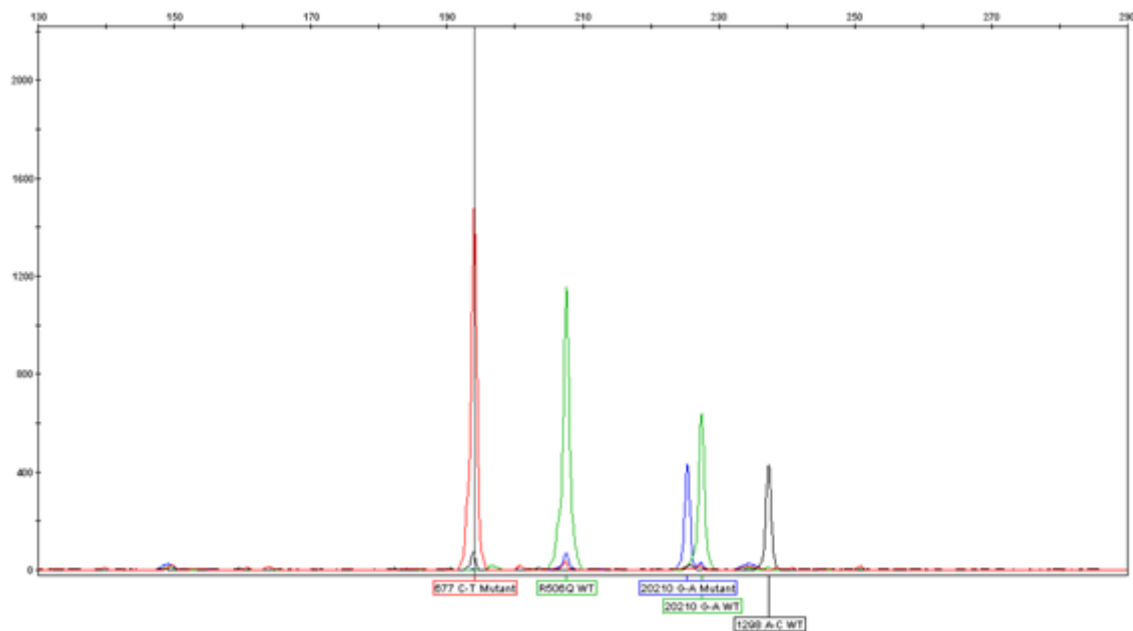


Figura 2. Paciente mutante homocigoto para el polimorfismo 667C>T y heterocigoto para la mutación 20210G>A y normal para el resto.

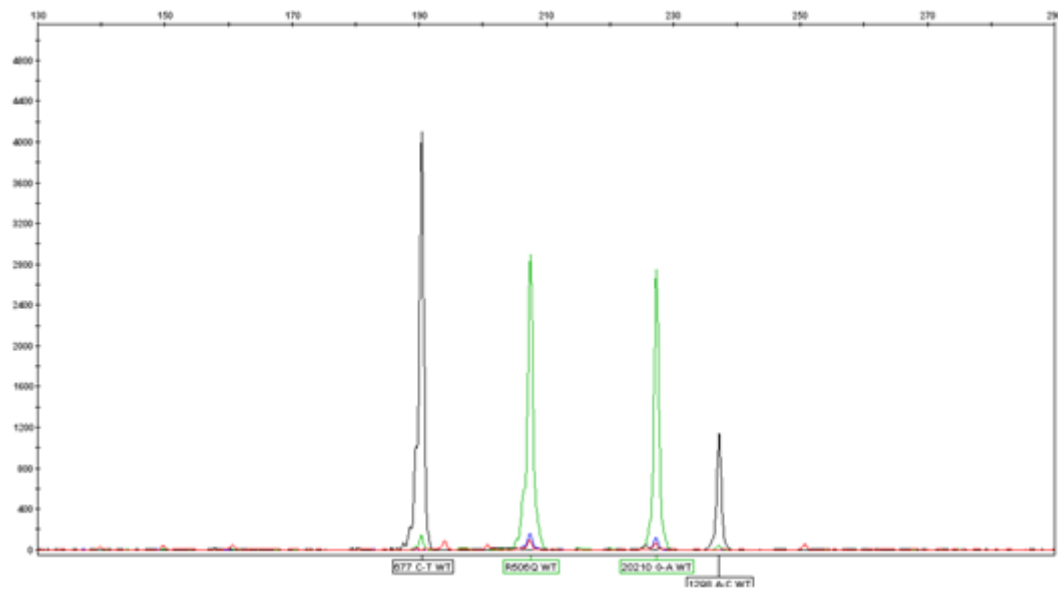


Figura 3. Paciente homocigoto normal para todas las mutaciones y polimorfismos

Anexo IV. Diagrama del procedimiento para el estudio genético realizado en el laboratorio de genética del HUMS.

