

# **Prevalencia del Factor V Leiden y Mutación G20210A de la Protrombina en Pacientes con Antecedentes de Fenómenos Trombóticos de la Ciudad de Temuco, Región de La Araucanía**

**Prevalence of Factor V Leiden and Prothrombin Mutation G20210A in Patients with a History of Thrombotic Phenomena in Temuco, Araucanía Region**

**Mariela Muñoz\*; Claudio Vásquez\*\* & Jaime Inostroza\*\*,\*\***

---

**MUÑOZ, M.; VÁSQUEZ, C. & INOSTROZA, J.** Prevalencia de factor V Leiden y mutación G20210A de la protrombina en pacientes con antecedentes de fenómenos trombóticos de la ciudad de Temuco, Región de la Araucanía. *Int. J. Med. Surg. Sci., 1(1):51-56, 2014.*

**RESUMEN:** Los fenómenos trombóticos son multifactoriales, algunos de tipo adquiridos y otros heredados. De estos últimos, el Factor V Leiden (FVL) y la mutación G20210A de la protrombina (FII G20210A) son los más estudiados con distintas prevalencias que varían según población y raza, alta en Europa y casi nula en países asiáticos. En Chile existe poca información en relación a la prevalencia de estas mutaciones. El objetivo fue conocer la prevalencia del FVL y la mutación FII G20210A en pacientes con antecedentes de fenómenos trombóticos de la ciudad de Temuco, Región de la Araucanía. Se realizaron análisis genéticos para el estudio de trombofilia FVL y mutación FII G20210A desde enero del 2012 hasta diciembre del 2013. Se analizaron 332 exámenes mediante la técnica de PCR en tiempo real y el genotipo de cada mutación se determinó mediante curva de Melting. Se encontró una prevalencia promedio del 2,28% para el FVL y 6.49% para la mutación FII G20210A respectivamente. No se encontraron mutaciones en estado homocigoto. Ambas mutaciones están presentes a nivel local, siendo importante evaluar el riesgo asociado a su presencia en el paciente con antecedentes de fenómenos trombóticos., teniendo la mutación FII G20210A una alta prevalencia en nuestra población, por lo que se recomienda realizar o solicitar su estudio genético.

**PALABRAS CLAVE:** Trombofilia; Factor V Leiden; Mutación de la protrombina; Trombosis venosa profunda.

---

## **INTRODUCCIÓN**

Los fenómenos trombóticos como trombosis venosa profunda (TVP) y embolismo pulmonar (EP) tienen un origen multifactorial, con factores adquiridos como el consumo de cigarrillos, períodos postoperatorios, consumo de pastillas anticonceptivas entre otros, y factores genéticos, donde los más estudiados son la mutación del factor V de la coagulación, llamado factor V Leiden (FVL) y la mutación G20210A de la protrombina (FII G20210A). Fenómenos adquiridos y genéticos forman parte de una condición clínica denominada trombofilia que es la predis-

posición de un individuo a desarrollar trombos debido a una anormalidad en la hemostasis.

El FVL es una mutación puntual en el gen del factor V de la coagulación donde existe una sustitución de Adenina por Guanina en el nucleótido 1691 (G1691A) y provoca que el factor V sea resistente a la acción anticoagulante de la proteína C (Bertina *et al.*, 1994). La mutación FII G20210A también es una mutación puntual que ocurre en el nucleótido 20210 en la región promotora del gen de la protrombina, donde

\* Escuela Tecnología Médica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Santo Tomás, Sede Temuco, Chile.

\*\* Laboratorio Inmunológico del Sur, LABISUR, Clínica Alemana de Temuco, Temuco, Chile.

\*\*\* Centro de estudios genómicos e inmunológicos (CEGIN), Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

existe una sustitución de Guanina por Adenina que ocasiona el aumento en los niveles de protrombina en el plasma (Poort *et al.*, 1996); ambas mutaciones llevan a un estado de hipercoagulabilidad lo que aumenta el riesgo de formar trombos y sufrir fenómenos trombóticos. El estatus heterocigoto y homocigoto también afecta el estado de hipercoagulabilidad siendo, en ambos casos, el estado de homocigoto para la mutación un mayor factor de riesgo para la formación de trombos (Bertina *et al.*; Poort *et al.*).

La prevalencia de estas mutaciones es dependiente de la raza. El FVL y la mutación FII G20210A son más prevalentes en la población caucásica, sobre todo el FVL (Jadaon, 2011a, 2011b). En población europea, el FVL muestra hasta en un 50% de prevalencia en trombosis familiares pero la prevalencia no es homogénea en Europa más bien tiene una distribución regional, siendo Grecia considerado el país con más alta prevalencia llegando al 7%, sin embargo la migración poblacional en Europa ha llevado a que estos datos se modifiquen a lo largo del tiempo; en el año 2005 Italia reportaba una prevalencia de FVL de un 1,4% (Buaduer & Lacombe, 2005), mientras que en el sur de Italia el año 2009 se reportó una prevalencia de un 9,5% en (Sottilitta, 2009).

En Chile a diferencia de la población caucásica, FVL y mutación FII G20210A se encuentran en una prevalencia similar. En un grupo de pacientes con trombosis se detectó un 5,4% de prevalencia para FVL y para mutación FII G20210A, respectivamente (Palomo *et al.*, 2005). En otro estudio, el mismo autor encontró que en población normal no indígena del centro-sur de Chile la prevalencia de FVL y mutación FII G20210A fue de 1,25% y 1,33% respectivamente mostrando la cercanía de la prevalencia tanto en pacientes como en personas sanas (Palomo *et al.*, 2009).

Al observar grandes diferencias en la prevalencia de ambas mutaciones a nivel mundial, es necesario conocer cuál es la prevalencia a nivel local, sobre todo si pensamos que la población de la región de la Araucanía es una población con un fuerte componente de descendencia mapuche y la hace distinta al resto de la población de otras regiones de nuestro país. El objetivo de esta investigación fue determinar la

prevalencia del FVL y la mutación FII G20210A en pacientes con antecedentes de fenómenos trombóticos de la ciudad de Temuco, en la Región de la Araucanía.

## MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal sobre exámenes genéticos para el estudio de trombofilia FVL y mutación FII G20210A desde Enero del 2012 hasta diciembre del 2013 solicitados al Laboratorio Inmunológico del Sur de la ciudad de Temuco, Región de la Araucanía.

Todas las muestras fueron recolectadas por punción venosa braquial y colocadas en tubo con anticoagulante EDTA y se enviaron al laboratorio a temperatura ambiente. La extracción de ADN se realizó a partir de sangre con el kit Wizard Genomic DNA purification Kit de Promega. En breve, 900  $\mu$ l de solución de lisis y 300  $\mu$ l de sangre del paciente se colocaron en un tubo eppendorf. Se mezcló por inversión e incubó por 10 minutos a temperatura ambiente. Luego se centrifugó y eliminó el sobrenadante cuidando de no arrastrar el pellet de células blancas. Se resuspendió el pellet y agregaron 300  $\mu$ l de solución de lisis nuclear, incubando por 15 minutos a 37°C, posteriormente se agregaron 100  $\mu$ l de solución de precipitación de proteínas y se vorteo vigorosamente hasta visualizar los precipitados de proteínas en forma de grumos en el tubo. Se centrifugó y mezclaron partes iguales del sobrenadante con isorpopanol, para ser mezcladas por inversión suavemente hasta visualizar la hebra de ADN. Posteriormente se lavó con etanol 70% y dejó secar a temperatura ambiente; el ADN se resuspendió en solución de rehidratación por 1 hora a 65°C.

El estudio del genotipo se hizo mediante la técnica de PCR en tiempo real con sondas FRET en el equipo LightCycler<sup>®</sup> 1.5 de Roche con el kit Factor V Leiden kit (Roche Diagnostic) para la mutación Factor V Leiden y el kit Factor II (Prothrombin) G20210A Kit (Roche Diagnostic) para mutación FII G20210A de la protrombina siguiendo las instrucciones del fabricante, donde para cada mutación, se colocó en un capilar de vidrio 15  $\mu$ l del mix de PCR del respectivo kit

y 5 µl de ADN extraído de cada paciente. Se centrifugó y colocó en equipo LightCycler 1.5 con el programa de PCR con curva de melting. Finalmente se realizó análisis de curva de melting para determinar el genotipo de cada mutación.

Los datos extraídos fueron ingresados en una tabla de datos por un solo operador, y luego analizados de manera descriptiva.

## RESULTADOS

De un total de 332 exámenes de trombofilias hereditarias realizados entre los

años 2012 y 2013, 178 fueron dirigidos para la determinación de FVL, correspondientes a un 53,61% de las muestras, mientras que 154 fueron para la determinación de la mutación FII G20210A, correspondiente a un 46,38% del total de exámenes solicitados.

En relación a el FVL, sólo se encontró la mutación en estado heterocigoto con una prevalencia en la población estudiada de un 1,08% el año 2012 (1 caso) y un 3,48% el año 2013 (3 casos). Para la mutación FII G20210A también se encontró la mutación sólo en estado heterocigoto, con una prevalencia de un 6,49% para el año 2012 y 2013 (5 casos cada año) (Fig. 1).

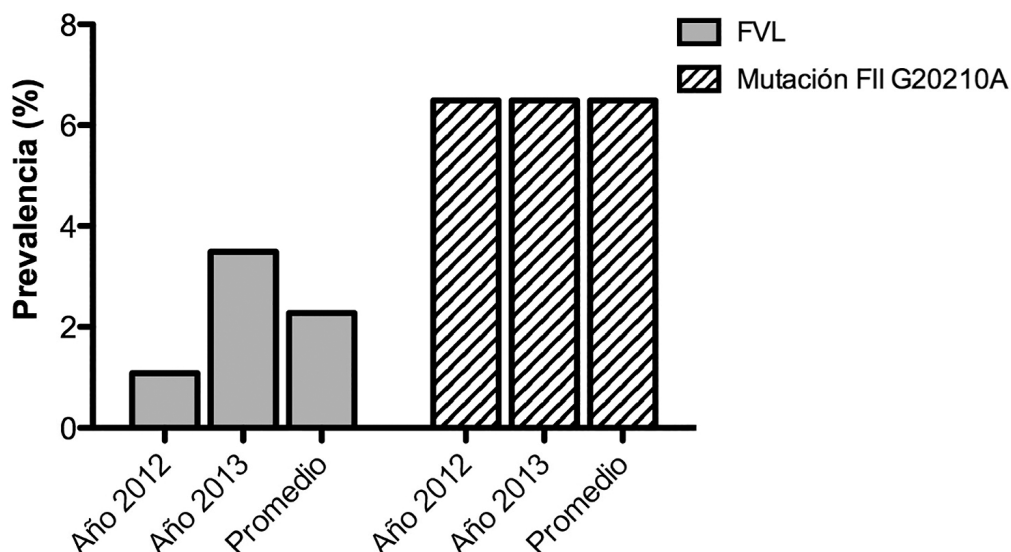


Fig. 1. Factor V Leiden y mutación G20210A de la protrombina en pacientes con antecedentes de fenómenos trombóticos en la ciudad de Temuco entre los años 2012 y 2013.

Tabla I. Genotipo Factor V Leiden. G/G es genotipo homocigoto wild type, G/A es genotipo heterocigoto y A/A genotipo homocigoto para la mutación.

Año	FVL G/G	FVL G/A	FVL A/A	Total
2012	91	1	0	92
2013	83	3	0	86
<b>Total</b>	174	4	0	178

Tabla II. Genotipo mutación FII G20210A de la protrombina. G/G es genotipo homocigoto wild type, G/A es genotipo heterocigoto y A/A genotipo homocigoto para la mutación.

Año	FII G/G	FII G/A	FII A/A	Total
2012	72	5	0	77
2013	72	5	0	77
<b>Total</b>	144	10	0	154

El detalle de la distribución individual por genotipos en los pacientes con trombofilias hereditarias se puede ver en las Tablas I y II tanto para el FVL y mutación FII G20210A, respectivamente.

## DISCUSIÓN

Cada año va en aumento la esperanza de vida de la población en nuestro país (DEIS, 2004) y con ello las enfermedades relacionadas con la edad; si a esto agregamos el estilo de vida y factores genéticos, existe una creciente demanda en atención de salud. Los fenómenos tromboticos se encuentran dentro de los gatillantes de enfermedades cerebrovasculares, una de las principales causas de muerte en nuestro país (DEIS, 2010). Así, la demanda de estudios genéticos que evalúen el riesgo de sufrir trombosis, han adquirido importancia en los últimos años. El aumento de demanda de estos tipos de exámenes trae consigo la necesidad de conocer como es la distribución de estas mutaciones en nuestra población, ya que su prevalencia y asociación a fenómenos tromboticos es dependiente de la raza.

De los exámenes realizados para estudio genético de trombofilia entre los años 2012 y 2013, el 16,85% sólo solicitó la determinación del genotipo para FVL. Sin embargo, el estudio genético para trombofilia debería contemplar como base el FVL y la mutación FII G20210A, lo cual deja a éste grupo de pacientes sin la determinación de ésta última mutación, la que según el análisis de nuestros datos, 2,28% vs. 6,40% para el FVL y la mutación FII G20210A (respectivamente), es la trombofilia genética más prevalente en pacientes con antecedentes de trombosis.

En un estudio realizado en Santiago de Chile el año 2004, se reportó una prevalencia del FVL de 18,2% y de mutación FII G20210A del 9,6% en pacientes pertenecientes al instituto de enfermedades circulatorias (IEC). La alta prevalencia del FVL discrepa con nuestros resultados y muestra una mayor semejanza a la prevalencia de poblaciones europeas (Srur *et al.*, 2004); esto podría explicarse por características propias de las poblaciones en nues-

tro país, lo que evidencia además de diferencias de tipo cultural, algunas médicas y genéticas. Por otra parte, la alta prevalencia de ambas trombofilias podrían deberse a los criterios de selección utilizados en éste estudio y que se obtuvieron de exámenes derivados al laboratorio según la solicitud criterio del médico tratante. Un estudio realizado en la región de la Araucanía el año 2010, sobre un grupo de pacientes con TVP encontró una prevalencia de FVL del 0% y no se realizó estudio de mutación FII G20210A (Guzmán & Salazar, 2010). Esta nulaprevalencia de FVL es algo inusual y está en contraste con otros estudios realizados en nuestro país (Srur *et al.*; Palomo *et al.*, 2005; Palomo *et al.*, 2009), donde se ha reportado el FVL tanto en población con TVP y población sana (control).

También difiere con lo encontrado en nuestro trabajo donde vemos una prevalencia de FVL del 2,28%. Esta diferencia podría deberse a la técnica de laboratorio utilizada para la determinación del genotipo, ya que en nuestro estudio se utilizó la técnica de PCR en tiempo real con sondas FRET y extracción de ADN mediante kit comercial, mientras que en el estudio de Guzmán & Salazar se utilizó el clásico estudio de PCR-RFLP para el screening de FVL, técnica menos sensible y más engorrosa; además, resulta interesante que en el estudio no se determinó la mutación FII G20210A de la protrombina que según nuestros datos, es una mutación que se encuentra en nuestra población. Francès *et al.* (2006) en España encontraron una prevalencia de FVL y mutación FII G20210A del 2,03% y 5,3% respectivamente, planteando que esta distribución en la población española ha influido en las frecuencias en la población americana.

El haber sólo encontrado presencia de FVL y mutación FII G20210A en estado heterocigoto, concuerda con lo reportado a nivel mundial, donde siempre es mayor la prevalencia en éste estado, por lo que deberían ser evaluados un mayor número de pacientes con el fin de observar si en nuestra población hay presencia de mutación en estado homocigoto. La mutación FII G20210A en estado heterocigoto es considerada un medianofactor de riesgo para fenómenos tromboticos, pero si agregamos factores adquiridos crecientes en nuestra población

como sedentarismo, consumo de cigarrillos, anticonceptivos orales, entre otros, existe un factor de riesgo para fenómenos trombóticos aumentado. Especial relevancia tiene éste tipo la mutación FII G20210A en mujeres en edad reproductiva, ya que el retraso en la maternidad lleva consigo el consumo de anticonceptivos orales por más años y es éste mismo grupo de mujeres donde el consumo de cigarrillos ha aumentado significativamente.

De acuerdo a los datos aquí presentados de prevalencia de FVL y FII G20210A, se pone en evidencia la importancia de hacer el estudio genético de ambas mutaciones y no solo de una, ya que sería un estudio genético incompleto. En nuestra población específica encontramos la presencia del FVL y la mutación FII G20210A con una alta prevalencia, por lo que es importante evaluar el riesgo asociado a su presencia en el paciente con antecedentes de fenómenos trombóticos.

---

**MUÑOZ, M.; VÁSQUEZ, C. & INOSTROZA, J.** Prevalence of Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutation in patients with a history of thrombotic phenomena in Temuco, Araucanía region. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 1(1):51-56, 2014.

**SUMMARY:** Thrombotic phenomena are multifactorial phenomena with both acquired and inherited factors. Factor V Leiden (FVL) and G20210A mutation of prothrombin (FIIG20210A) are the most studied inherited factors, with a prevalence that varies by population and race, high in Europe and almost nil in Asian countries. Information concerning the prevalence of these mutations in Chile is scarce. The aim of this study was to determine the prevalence of FVL and FII G20210A mutation in patients with a history of thrombotic events in the city of Temuco, Araucanía region. Genetic analysis for FVL Thrombophilia and FIIG20210A mutation was performed from January 2012 to December 2013. Three hundred thirty-three screenings by PCR in real time and the genotype of each mutation were determined and analyzed by Melting curve. We found an average prevalence of 2.28% for the FVL, whereas FIIG20210A mutation was 6.49%. No mutations were found in homozygous state. Both mutations are present in our population, it is therefore important to evaluate the risk associated with their presence in patients with a history of thrombotic events. In our specific population FII G20210A mutation is highly prevalent, thus genetic studies should be realized or requested.

**KEY WORDS:** Thrombophilia; Factor V Leiden; Prothrombin mutation; Deep venous thrombosis.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bauduer, F. & Lacombe, D. Factor V Leiden, prothrombin G20210A, methylenetetrahydrofolate reductase 677T, and population genetics. *Mol. Genet. Metab.*, 86(1-2):91-9, 2005.
- Bertina, R. M.; Koeleman, B. P.; Koster, T.; Rosendaal, F. R.; Dirven, R. J.; de Ronde, H.; van der Velden, P. A. & Reitsma, P. H. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*, 369(6475):64-7, 1994.
- Departamento de Estadísticas e Información en Salud (DEIS). *Esperanza de vida al nacer (en años) por periodo y sexo. Chile, 1950-2025*. Santiago, Ministerio de Salud, 2004. Disponible en: [http://deis.minsal.cl/deis/ev/esperanza\\_de\\_vida/index.asp](http://deis.minsal.cl/deis/ev/esperanza_de_vida/index.asp)
- Departamento de Estadísticas e Información en Salud (DEIS). *Defunciones y Mortalidad por causas. Diez primeras causas de muerte. Chile 2000 a 2010*. 2010. Disponible en: <http://www.deis.cl/defunciones-y-mortalidad-por-causas/>
- Francès, F.; Portolès, O.; Gabriel, F.; Corella, D.; Sorlí, J. V.; Sabater, A.; Alfonso, J. L. & Guillén, M. Factor V Leiden (G1691A) and prothrombin-G20210A alleles among patients with deep venous thrombosis and in the general population from. *Rev. Med. Chile*, 134(1):13-20, 2006.
- Guzmán, N. & Salazar, L. A. Frequency of prothrombotic risk factors in patients with deep venous thrombosis and controls: Their implications for thrombophilia screening in Chilean subjects. *Genet. Test. Mol. Biomarkers*, 14(5):599-602, 2010.
- Jadaon, M. M. Epidemiology of Prothrombin G20210A mutation in the mediterranean region. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.*, 3(1):e2011054, 2011a.
- Jadaon, M. M. Epidemiology of activated protein C resistance and factor V Leiden in the mediterranean region. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.*, 3:e2011037, 2011b.

Palomo, I.; Pereira, J.; Alarcón, M.; Pinochet, C.; Vélez, M. T.; Hidalgo, P.; Skagerberg, K. & Poblete, F. Factor V Leiden and prothrombin G20210A among Chilean patients with venous and arterial thrombosis. *Rev. Med. Chile*, 133(12):1425-33, 2005.

Palomo, I.; Segovia, F.; Parra, D.; Alarcón, M. & Rojas, E. Low prevalence of factor V Leiden and the prothrombin G20210A mutation in a healthy population from the central-south region of Chile. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, 31(3):143-6, 2009.

Poort, S. R.; Rossendaal, F. R.; Reistma, P. H. & Bertina, R. M. A common genetic variation in the 3' untranslated region of prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin level and an increase in venous thrombosis. *Blood*, 88(10):3698-703, 1996.

Sottilotta, G.; Mammì, C.; Furiò, G.; Oriana, V.; Latella, C. & Trapani Lombardo, V. High incidence of factor V Leiden y prothrombin G20210A in healthy southern Italians. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*, 15(3):356-9, 2009.

Srur, E.; Vargas, C.; Salas, S.; Parra, J.; Bianchi, V.; Mezzano, D.; Muñoz, D.; Vásquez, M. & Pacheco, E. Primary thrombophilia. Report of 93 cases and 12 asymptomatic relatives. *Rev. Med. Chile*, 132(12):1466-73, 2004.

Dirección para Correspondencia:  
Mariela Muñoz Ortega  
Rodríguez 060  
CHILE

E-mail: marielamunozor@santotomas.cl  
mmunoz.ust@gmail.com

Recibido: 14-12-2013

Aceptado: 04-01-2014