

Trascendencia de los factores ambientales y genéticos en cardiopatías congénitas: el caso de la enzima MTHFR

ROCÍO SÁNCHEZ-URBINA,^a CARLOS GALAVIZ-HERNÁNDEZ,^b
ALFREDO SIERRA-RAMÍREZ,^{c,e} VERÓNICA F. MORÁN-BARROSO,^a RICARDO GARCÍA-CAVAZOS^d

RESUMEN

Las cardiopatías congénitas (CC) en México son la tercera causa de muerte en niños menores de un año y la sexta en niños de tres años de edad. En su etiología las CC presentan una heterogeneidad genética, y en su mayoría son de herencia multifactorial. Se considera que las CC y los defectos de tubo neural (DTN) son las entidades más comunes de origen multifactorial. Se ha reconocido que la pobre ingesta de ácido fólico es uno de los factores ambientales que se relacionan con los DTN, así como la presencia del polimorfismo C677T de la enzima metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR), lo que lleva a un aumento de la homocisteína en sangre. Dada la relación entre algunos procesos de desarrollo cardíaco y del tubo neural, se cree que la enzima MTHFR puede participar en la génesis de las CC. Al respecto, se han realizado estudios acerca de cómo la ingesta de multivitamínicos, disminuyen el riesgo de CC en 24% de los casos, asociada con polimorfismo C677T de la MTHFR en pacientes con CC y aumento de homocisteína en líquido amniótico y plasma en madres de los pacientes con CC. Estudios en biología experimental sustentan que el aumento en los niveles de homocisteína tiene un efecto teratógeno que provoca DTN y CC, entre otras malformaciones. El presente artículo revisa la información acerca de la posible relación entre el polimorfismo C677T, la homocisteína y el desarrollo de CC y plantea la posible prevención de las CC a través del control de la ingesta de ácido fólico.

PALABRAS GUÍA: *Cardiopatías congénitas, homocisteína, MTHFR.*

^a Departamento de Genética del Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Secretaría de Salud SSA.

^b Laboratorio de Medicina Genómica del Hospital 20 de Noviembre del ISSSTE.

^c Laboratorio de la Subdirección de Investigación Biomédica del Instituto Nacional de Perinatología, SSA.

^d Director de Enseñanza del Instituto Nacional de Perinatología, SSA.

^e Departamento de Posgrado, Escuela Superior de Medicina, IPN.

Correspondencia:

Dra. Rocío Sánchez Urbina. Departamento de Genética del Hospital Infantil de México "Federico Gómez". Dr. Márquez No. 162 Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc, CP 06720, México, D.F. Tel.: 52 28 9917 Ext. 1495
Correo electrónico: rs_urbina@yahoo.com.mx

Recibido: 13 de marzo de 2006.

Aceptado: 18 de abril de 2006.

INTRODUCCIÓN

Los defectos congénitos del corazón, conocidos como cardiopatías congénitas (CC) denotan un trastorno estructural y funcional del corazón o de los grandes vasos.¹ Los casos de CC se presentan de 3 a 8 por mil nacidos vivos.²⁻⁵ La incidencia de formas moderadas y severas se ha estimado en seis de cada mil nacidos vivos y se incrementa a 75 por cada mil nacidos vivos si se incluyen las formas leves. En México, las CC son la tercera causa de muerte en niños preescolares de un año y la sexta causa de muerte en niños de tres años de edad.⁶



En su etiología las CC presentan heterogeneidad genética, y se han reconocido tanto patrones de herencia mendelianos, como alteraciones cromosómicas y aspectos ambientales relacionados con herencia multifactorial. Aproximadamente 13% de las CC están asociadas a alteraciones cromosómicas,^{7,8} frecuentemente encontradas en productos de abortos ocurridos durante el primer trimestre de gestación.¹ El desarrollo de nuevas tecnologías analíticas, como la hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) han permitido la detección de alteraciones estructurales cromosómicas no diagnosticadas por técnicas citogenéticas convencionales (bandas GTG), tales como la microdelección 22q11.2 (del22q11.2), la cual se asocia a un amplio espectro de CC.⁸⁻¹² Las CC, debidas a herencia mendeliana y sindrómicas, tienen una frecuencia de 5% del total de estas patologías;⁷ sin embargo, en la mayoría de los casos de CC aisladas se desconoce la etiología, por lo que se ha sugerido un origen multifactorial.

El fundamento de la herencia multifactorial implica la participación de múltiples genes en *loci* distintos, por lo general con efecto aditivo, así como la participación de diversos factores ambientales. En el caso específico de las anomalías congénitas, existe una programación apegada a tiempos específicos en el desarrollo embriológico, por lo que se ha postulado la presencia de “umbrales” (periodos críticos del desarrollo), además de la participación de factores ambientales y genéticos, para explicar su aparición.

Entre las alteraciones multifactoriales más comunes presentes en la población general, se consideran a las CC y los defectos del tubo neural (DTN). Poco se sabe del componente genético específico de este tipo de patologías, estudios recientes han tratado de dilucidar los genes involucrados.¹³ Por otra parte, se ha reconocido que la pobre ingesta de ácido fólico en la dieta, es uno de los factores ambientales que se relacionan con los DTN y que la ingesta adecuada disminuye el riesgo de recurrencia (fenómeno que se ha identificado en diferentes poblaciones, incluyendo la mexicana). Al conjuntar el aspecto genético con el ambiental, se ha determinado que existe una asociación o predisposición a CC y/o DTN, ante la presencia del polimorfismo C677T del gen que codifica para la enzima metiltetrahidrofolato

reductasa (MTHFR), el cual fue identificado en 1995 por Frosst, et al.¹⁴ Este polimorfismo causa la sustitución de la base citosina (C) por la base timina (T) en el nucleótido de la posición 677 del gen, lo que resulta en la sustitución del aminoácido alanina por el aminoácido valina en el dominio catalítico de la MTHFR. Esta enzima es sumamente importante en la regulación del metabolismo del ácido fólico.¹⁵⁻¹⁷

El gen y la enzima MTHFR

El gen *MTHFR* está localizado en el cromosoma 1p36.3 y consta de 11 exones, los cuales tienen una extensión variable de entre 102 a 432 pares de base y 10 intrones.¹⁸

La homocigocidad para el alelo C677T (mutado), resulta en una disminución de su actividad en 70%, en comparación con sujetos no homocigotos para este polimorfismo,^{14,19} con un aumento de los niveles de homocisteína en el caso de ingesta baja de ácido fólico.^{14,20,22}

Otro polimorfismo en el gen *MTHF* es la transición A1298C, la cual en la enzima resulta en la sustitución de glutamato por alanina en el aminoácido 429, dentro del dominio regulatorio de la MTHFR. Se ha reportado que la homocigocidad del alelo A1298C (mutado) induce una disminución en la actividad enzimática. De acuerdo con algunos estudios, los individuos heterocigotos compuestos para los alelos C677T y A1298C, los cuales presentan un genotipo C677T/A1298C, tienen una reducción en la actividad *in vitro* de la MTHFR de 40 a 50% y un perfil bioquímico similar al observado en individuos con homocigocidad para el alelo C677T, con incremento en los niveles de homocisteína y disminución de los niveles de folato.²²⁻²⁵

A la fecha, además de los dos polimorfismos ya descritos, los cuales disminuyen la actividad enzimática, se han identificado más de 20 mutaciones en el gen *MTHFR*, que causan deficiencia enzimática severa. Algunos otros cambios descritos son poco frecuentes y sólo están presentes en algunas familias con un cuadro clínico que incluye: retardo psicomotor, debilidad muscular proximal, marcha inestable, patología vascular (trombosis vascular) y homocistinuria.^{21,24}

La prevalencia del polimorfismo varía dependiendo de la población estudiada. Se ha

encontrado una mayor frecuencia en población italiana (44 a 47%), en hispanos de Atlanta y California (41.1 y 42%), así como en población de Francia y Japón (36 y 34%, respectivamente).^{19, 20}

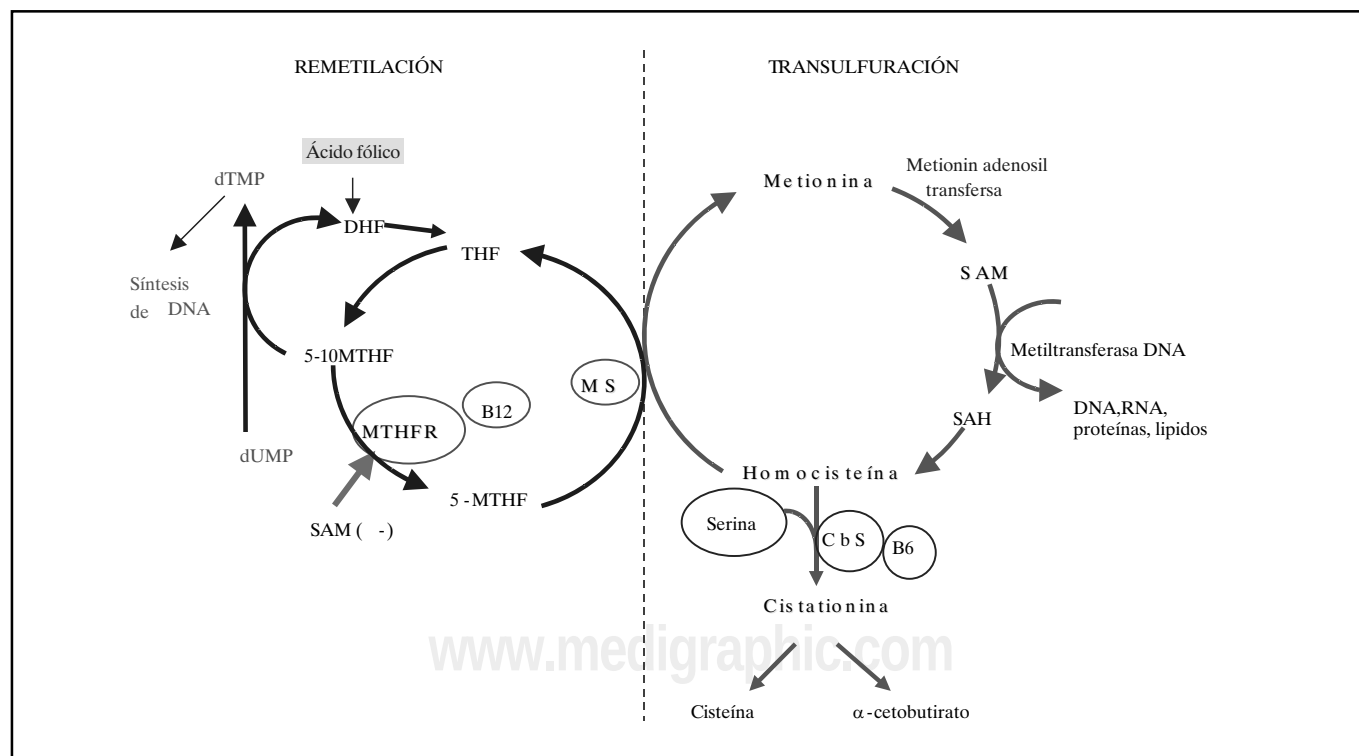
En población mexicana, el polimorfismo del gen *MTHFR* (C677T) es más frecuente que en otras poblaciones: en el grupo étnico mestizo se presenta entre 50 y 58.5%. Estudios de la población de Guadalajara reportan una frecuencia de 44% y en población de tarahumaras de 34%.^{19,26-28} La frecuencia genotípica para el homocigoto *TT* ha sido reportada de 32 a 35.7%.^{19,21,26-28} La frecuencia para el polimorfismo *A1298C* reportada para México es de 14.7% y la frecuencia genotípica para el homocigoto *CC* es de 2.3%, lo cual es una proporción baja, comparada con la reportada en otras poblaciones, como la francesa que es de 11.5%.¹⁹

La *MTHFR* es una enzima clave en el metabolismo de la homocisteína. Cataliza la

conversión de 5,10-metilentetrahidrofolato en 5-metiltetrahidrofolato (5-MTF), que es la forma circulante predominante de folato. El 5-MTF participa en la remetilación de la homocisteína, proceso dependiente de vitamina B₁₂, donando un grupo metilo para la síntesis de metionina, reacción catalizada por la enzima metionina sintasa, la cual utiliza vitamina B₁₂ como cofactor (Figura 1). La metionina es metabolizada por la enzima metionina adenosiltransferasa a S-adenosil metionina, la cual actúa como donador de grupos metilo por medio de la enzima metil transferasa, en procesos de metilación de DNA, proteínas, neurotransmisores y fosfolípidos. El producto de esta reacción genera S-adenosil homocisteína, que es metabolizada por la enzima adenosilhomocisteinasa, que elimina adenosina y forma homocisteína.²⁹⁻³²

Figura 1.

Esquema del metabolismo de la homocisteína, a través de dos vías: remetilación y transulfuración. Cistationina β sintasa (CBS), 5,10-metiltetrahidrofolato (5,10-MTHF), metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR), 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF), metionina sintetasa (MS), S-adenosilmetionina (SAM), tetrahidrofolato (THF).^{27,28} Dihidrofolato (DHF), deoxiuridina monofosfato (dUMP), deoxitimidina monofosfato (dTMP).



La homocisteína (HCY) es un aminoácido sulfurado. Es producida por desmetilación intracelular de metionina y exportada al plasma, en donde circula principalmente en forma oxidada. Se une a proteínas del plasma como bisulfuro mixto y HCY con albúmina, en forma de bisulfuro de HCY y en pequeñas cantidades en forma reducida.²⁹

Entre los factores que influyen la concentración sérica de HCY en humanos, se consideran los siguientes: genéticos (por la presencia de polimorfismos en genes que codifican para enzimas o transportadores proteicos involucrados en el metabolismo de homocisteína; nutricionales (principalmente implicados con la captación de folato y vitamina B12); demográficos; fisiológicos (como la edad y la presencia de embarazo); patológicos (presencia de enfermedades); trasplantes y el consumo de ciertos medicamentos.²⁹

Los niveles de HCY se incrementan con la edad y son menores en niños (33%). Por otra parte, los varones presentan niveles de HCY más elevados que las mujeres y la concentración sérica de HCY es mucho más baja en mujeres premenopáusicas, que en mujeres posmenopáusicas.²⁹ La concentración normal de homocisteína en sangre oscila en un rango muy amplio de 5-16 $\mu\text{mol/L}$. Sin embargo, se reconoce que la concentración adecuada no debe exceder de 10 $\mu\text{mol/L}$, ya que después de los 16 $\mu\text{mol/L}$, se considera la presencia de hiperhomocistinemia; alteración que de acuerdo con la concentración sérica, se clasifica como: leve (16-30 $\mu\text{mol/L}$), moderada (30-100 $\mu\text{mol/L}$), o severa ($> 100 \mu\text{mol/L}$).³¹

Folatos y homocisteína durante el embarazo

Durante el embarazo la concentración de ácido fólico en plasma disminuye significativamente, principalmente en los primeros estadios (14-17 semanas de gestación), mientras que las concentraciones de folato en eritrocitos son mayores durante este mismo periodo.³⁴ Los cambios en el metabolismo del ácido fólico durante el embarazo se atribuyen a diversos factores, tales como: la rápida depuración por el tejido materno, cambios en la unión proteína folato en el plasma, cambios hormonales que influyen la vía metabólica e incremento del volumen plasmático.³⁴

Durante el embarazo es posible determinar los niveles de homocisteína, debido a que en la circulación fetal se encuentran concentraciones de homocisteína más bajas que en la circulación materna. Por lo que existe una disminución en los niveles de homocisteína de la vena umbilical, comparados con los niveles en la arteria umbilical, esta diferencia es de aproximadamente 1 $\mu\text{mol/L}$. Por lo tanto, los niveles de homocisteína materna son el principal indicador de los niveles de homocisteína en el desarrollo fetal, ya que existe una relación lineal entre la circulación fetal y materna.^{35,36}

Por otra parte, los niveles de homocisteína disminuyen en el embarazo, principalmente durante el segundo trimestre de gestación.^{31,37,38} Este hecho tiene gran importancia clínica desde el punto de vista diagnóstico, ya que una paciente con hiperhomocisteinemia durante este periodo, puede representar un diagnóstico falso negativo, debido a la caída fisiológica de los niveles de homocisteína.

La función de la placenta involucra un paso metabólico trascendente para el mantenimiento de los niveles séricos de ácido fólico y HCY para el feto. Se ha observado que la presencia del polimorfismo C677T en tejido placentario, altera la función enzimática de MTHFR, en presencia del genotipo homocigoto TT, tiene una actividad de 9.7% y el genotipo homocigoto CC, de 34.6%, así la presencia del polimorfismo puede dar lugar a un estrés adicional a través de la placenta y reducir la cantidad de ácido fólico para el crecimiento del feto.³⁹

Asociación del polimorfismo C677T de la enzima MTHFR, niveles séricos de homocisteína y cardiopatías congénitas

En el estudio realizado por Botto LD et al., en 1996,⁴⁰ se encontró que existe una asociación entre la ingesta periconcepcional de multivitamínicos y disminución de 24% del riesgo de CC y una disminución de 59%, en el riesgo de los defectos cardiacos conotruncos aislados. El efecto protector de los multivitamínicos fue evidente en las mujeres que los ingirieron durante el periodo periconcepcional, en comparación con las que tomaron la suplementación después del segundo mes de la concepción, principalmente en CC del

tipo comunicación interventricular y en los defectos de la vía de salida. Además, se ha visto que en mujeres que ingirieron vitamínicos sin ácido fólico, tuvieron sus hijos un mayor índice de malformaciones congénitas, incluyendo las CC; en comparación con las mujeres que ingirieron vitamínicos con ácido fólico o vitaminas del complejo B.⁴¹

En mujeres gestantes con productos con CC se realizó un análisis del líquido amniótico, el cual reveló que en 50% de ellas se encontraban niveles elevados de homocisteína. Al analizar sus genotipos para el polimorfismo *C677T*, 35% de las madres presentaron el polimorfismo *C677T* y sólo 12% tenían, tanto polimorfismo, como niveles elevados de homocisteína en líquido amniótico. En madres de hijos con CC se ha observado hiperhomocisteinemia en 46.2% de ellas, después de permanecer en ayuno y sin suplementación con multivitamínicos; en contraste, con lo encontrado en madres de controles sanos, en quienes se encontró tal condición sólo en 14.3% de los casos.⁴² Si bien pocos estudios han encontrado la presencia de polimorfismo *C677T* en mayor proporción en pacientes con CC que en población sana, esto sugiere que la presencia de este polimorfismo podría ser un factor de riesgo para el desarrollo de CC.⁴³ Por tal razón, aún no se ha llegado a la aceptación universal de que el polimorfismo *C677T* sea un factor de riesgo asociado a las CC.

Evidencia en el campo de la biología experimental

Experimentos en aves (pollos) demuestran que la deficiencia de ácido fólico se asocia con DTN y defectos del tabique aórtico-pulmonar. La relación íntima de estas estructuras se debe al origen común de las células embrionarias; ya que es la cresta neural la que da origen a las células del músculo liso vascular del tabique cono-troncal, originado del ectodermo neural. Estas células indiferenciadas de ambos sitios, son intercambiables en el desarrollo embrionario temprano.^{44,45}

Si bien la incidencia de defectos congénitos relacionados con la interrupción de la formación del tubo neural y del tabique cono-troncal, puede reducirse con la suplementación de ácido fólico durante el embarazo, no es clara aún la base

biológica que explique dicha asociación. Una posible explicación por considerar es que debido a la participación de los folatos en el mantenimiento de los niveles de S-adenosilmetionina (donador primario de grupos metilo) (Figura 1), el efecto teratogénico mediado por la deficiencia de folatos sería resultado de una insuficiencia de ácidos nucleicos, necesarios para la fase de rápida división celular durante el desarrollo embrionario.

El ácido fólico no sólo mantiene el aporte suficiente de grupos metilo (necesarios en diferentes procesos bioquímicos), sino que también funciona como sustrato en el metabolismo de la HCY y disminuye los niveles de la misma. Por lo tanto, una deficiencia de ácido fólico llevará a un aumento en los niveles de HCY. A partir de experimentos llevados a cabo en pollos y ratones, se sabe que la HCY tiene un efecto teratogénico, ya que provoca DTN y CC, entre otras malformaciones.^{44,45}

El mecanismo por el cual la homocisteína produce malformaciones ha sido ampliamente investigado. Se ha demostrado que la HCY actúa como un antagonista para los receptores de N-metilo-D-aspartato (NMDA). Los receptores NMDA son receptores ionotrópicos para glutamato y canales iónicos para calcio.^{46,47} En el desarrollo embrionario, los receptores NMDA se encuentran activados en la etapa de cierre de tubo neural o en la migración de las células de la cresta neural, siendo el principal regulador de los eventos de migración neuronal, adhesión celular, flujo celular de calcio y apoptosis.^{45,48} Se ha demostrado experimentalmente que la exposición temprana de embriones de pollo con antagonistas de los receptores de NMDA, provoca malformaciones craneofaciales y DTN.⁴⁹ Al ser la HCY un antagonista de los receptores de NMDA, puede, como ya se ha observado, inducir un desarrollo anormal, constituyéndose así en un agente teratogénico.⁴³

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al conseguirse exitosamente el control y manejo de algunas enfermedades infecciosas, en los estudios epidemiológicos actuales se aprecia que las CC constituyen una de las causas de muerte más frecuentes en niños, tanto en México como en otros países.²⁻⁶ Esta situación expone la trascendencia que tiene el proveer un adecuado



conocimiento de estas patologías, en donde se pueda establecer su etiología hasta considerar las diferentes opciones de tratamiento.

La heterogenicidad genética asociada a las CC, así como el efecto aditivo de su asociación con patrones de herencia multifactorial (en la mayoría de los casos de CC aisladas) subrayan la necesidad de dilucidar y comprender el mecanismo de acción, tanto de los factores ambientales como de los genéticos, que pudieran estar involucrados en la causalidad de las mismas. Estos aspectos tienen implicaciones importantes en el asesoramiento genético relacionado con estas enfermedades.

Los estudios que se han realizado en diferentes países para establecer la relación entre las CC, la ingesta de ácido fólico, el polimorfismo *C677T* y la hiperhomocistinemia,^{40,42,43} apoyan la suposición de que puede haber una falla en la organogénesis cardíaca en etapas tempranas del desarrollo embrionario, debida, a su vez, a la existencia de anomalías en el mantenimiento de la vía de la metionina-homocisteína, lo cual puede provocar alteraciones en diversos mecanismos celulares: como metilación, síntesis de bases nitrogenadas y apoptosis, entre otros.

Aún no se conoce qué tipo de CC congénitas son más influidas por tales mecanismos, en otras palabras, no se sabe aún que segmentos cardíacos son más susceptibles al daño por la alteración metabólica conferida por el polimorfismo *C677T* y la hiperhomocisteinemia, “materna y/o fetal”. El estudio de esta situación es importante, ya que se cree que puede causar un daño directo en el

desarrollo cardíaco embrionario. El esclarecimiento de esta situación puede proporcionar una herramienta valiosa en la prevención de las CC, ya que discerniría la importancia de ingesta de ácido fólico y de algunas otras vitaminas liposolubles (B6 y B12) que intervienen en el ciclo de la metionina-homocisteína, en la prevención de dichas enfermedades. Lo anterior ya ha sido observado por investigadores como Botto et al., en estudios retrospectivos. Sin embargo, es necesario realizar estudios prospectivos más amplios y extensos para corroborar o descartar, si existe o no, una disminución asociada a estos factores en relación con los riesgos de recurrencia de madres de pacientes con CC, lo cual ha sido comprobado en relación con los DTN.

En conclusión, aún no se han investigado muchos aspectos acerca del origen multifactorial de las CC aisladas, no sólo en lo que se refiere al factor genético, sino también, en el aspecto de los factores ambientales, los cuales podrían (hasta ciertos límites) modificarse para reducir los riesgos de la presencia de las CC. Estos factores podrían constituir una herramienta de ayuda para la prevención y recurrencia de CC en poblaciones como la mexicana, en la que son una causa frecuente de muerte en niños menores de seis años, y en la que existe una frecuencia alta de polimorfismo del gen *MTHFR* (*C677T*), siendo ésta de 50 a 58.5% y del genotipo homocigoto *TT* que va de 32 a 35.7%, comparada con lo que ocurre en otras poblaciones.^{19,21,26-28} Esto podría indicar un posible aumento en la susceptibilidad en nuestra población a presentar estas alteraciones.

ABSTRACT

Congenital heart diseases (CHD) represent the third and sixth cause of death for children of less than a year and three years old respectively in Mexico. There is a very high degree of heterogeneity for CHD, having most of them multifactorial inheritance. CHD and neural tube defects (NTD) are the most common entities with this type of inheritance. It has been recognized that poor folic acid intake and the presence of *C677T* polymorphism on the *MTHFR* gene are both important environmental and genetic factors related to NTD development, through the rise of circulating blood homocysteine levels. Based on the close embryonic relationship at some processes between cardiac and neural tube development, it is thought that MTHFR enzyme could be actively involved on CHD development. Furthermore, different studies have demonstrated that there is a 24% risk reduction for CHD development when multivitamin intake schedule is followed even on the presence of *C677T MTHFR* polymorphism. At the same time, rises on homocysteine concentrations in mothers of patients affected by CHD, have been noticed in amniotic fluid as well as maternal plasma. Experimental Biology studies show that rises on homocysteine levels have a teratogenic effect producing NTD, CHD and some other malformative events. This paper, review how information regarding the possible relation between *C677T MTHFR* polymorphism, homocysteine levels and CHD development, in an attempt to establish possible preventive measures for CC through folic acid intake.

KEY WORDS: *Congenital heart disease, homocysteine, MTHFR.*

REFERENCIAS

1. Hoffman JIE. Incidence of congenital heart disease: II. Prenatal incidence. *Pediatr Cardiol* 1995; 15: 155-65.
2. Mitchell SC, Korones SB Berendes HW, Congenital heart disease in 56,109 Births incidence and Natural History. *Circulation* 1971; XLIII: 323-32.
3. Hoffman JIE, Chistianson R, Congenital Heart Disease in a cohort of 19, 502 births with long-term follow-up. *Am J Cardiol* 1978; 42: 641-7.
4. Ferencz C, Rubin JD, McCarter RJ, Brenner JI, Neill CA, Perry LW, Herpner SI, Downing JW. Congenital Heart Disease: prevalence at live birth. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 31-6.
5. Loffredo CA. Epidemiology of cardiovascular malformations: prevalence and risk factors. *Am J Med Genet* 2000; 97: 319-25.
6. Dirección General de Información en Salud, Secretaría de Salud. Mortalidad preescolar. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México* 2005; 62: 69-82.
7. Ferencz C, Neill CA, Boughman JA, Rubin JD, Brenner JI, Perry LW. Congenital cardiovascular malformations associated with chromosome abnormalities: an epidemiologic study. *J Pediatr* 1989; 114: 79-86.
8. Johnson MC, Hing A, Wood MK, Watson MS. Chromosome abnormalities in congenital heart disease. *Am J Med Genet* 1997; 70: 292-8.
9. Maeda JH, Yamagishi H, Matsuoka R, Ishihara J, Tokumura M, Fukushima H, et al. Frequent Association of 22q11.2 Deletion With Tetralogy of Fallot. *Am J Med Genet* 2000; 92: 269-72.
10. Marino B, Digilio MC, Grazioli S, Formigari R, Mingarelli R, Giannotti A, Dallapiccola B. Associated cardiac anomalies in isolated and



- sindromic patients with tetralogy of fallot. *Am J Cardiol* 1996; 77: 505-8.
11. Melchionda S, Digilio MC, Mingarelli R, Novelli G, Scambler P, Marino B, et al. Transposition of the great arteries associated with deletion of chromosome 22q11. *Am J Cardiol* 1995; 75: 95-8.
12. Goldmuntz E, Clark BJ, Mitchell LE, Jawad A.F, Cuneo BF, Reed L, et al. Frequency of 22q11 Deletions in patients with conotruncal defects. *Pediatr Cardiol* 1998; 32: 492-8.
13. Van der Put NMJ, Gabreëls F, Stevens EMB, Smeitink JAM, Trjbels FJM, Eskes TKA, et al. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1044-51.
14. Frosst P, Blom H, Milos R. Identification of a candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10:111-3.
15. Nussbaum RL, Mc Innes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics in Medicine. 6th Ed. Edit. Saunders; 2001, p. 304-10.
16. Relton CL, Wilding CS, Pearce MS Laffing AJ, Jonas PA, Lynch SA, Tawn EJ, Burn J. Gene-gene interaction in folate-related genes and risk of neural tube defects in a UK population. *J Med Genet* 2004; 41: 256-60.
17. Boyles AL, Hammock P, Speer MC. Candidate gene analysis in human neural tube defects. *Am J Med Genet (Semin Med Genet)* 2005; 135C: 9-23.
18. Goyette P, Sumner JS, Milos R, Duncan AMV, Rosenblatt DS, Matthews RG, et al. Human methylenetetrahydrofolate reductase: isolation of cDNA, mapping and mutation identification. *Nat Genet* 1994; 7: 195-200.
19. Guéant-Rodriguez RM, Guéant JL, Debard R, Thirion S, Hong LX, Bronowicki JP, et al. Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase 6777T and 1298C alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 701-7.
20. Botto LD. 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies. *AhuGE Review. Am J Epidemiol* 2000; 151: 862-77.
21. Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Renlund M, et al. Geographical and ethnic variation of the 677C > T allele of 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet* 2003; 40: 619-25.
22. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov
23. Van der Put NMJ, Gabreëls F, Stevens EMB, Smeitink JAM, Trijbels FJM, Eskes TKA, van den Heuvel LP, Blom HJ. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1044-51.
24. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. Congenital heart defects and maternal derangement of homocysteine metabolism. *Mol Genet Metab* 1998, 64(3): 169-72.
25. Scriver CR, Beaudet AL, William SS, Valle D. The Metabolic & Molecular Bases Inherited Disease. 8th Ed. McGraw-Hill; 2001, p. 3897-933.
26. Davalos RIP, Olivares P, Castillo MT, Cantú JM, Ibarra B, Moran MC, et al. The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Mexican mestizo neural-tube defect parents, control mestizo and native populations. *Ann Genet* 2002; 43: 89-92.
27. Mutchinick OM, López MA, Luna L, Waxman J, Babinsky VE, RYVEMCE collaborative Group. High prevalence of the thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase variant in Mexico: a country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Genet Metab* 1999; 68: 461-7.
28. González-Herrera L, García-Escalante G, Castillo-Zapata I, Canto-Herrera J, Pinto-Escalante D, Díaz-Rubio F, et al. Frequency of thermolabile variant defects in the State of Yucatan, México. *Clin Genet* 2002; 62: 394-8.
29. Fonseca V, Guuba SC, Fink LM. Hyperhomocysteinemia and the endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis. *Endocr Rev* 1999; 20: 738-59.
30. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 217-46.
31. Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy-review of our pre understanding and therapeutic implications, European. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2000; 93: 157-65.

32. Wenstrom KD, Johanning GL, Johnston KE, Dubard M. Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation and elevated homocysteine levels with congenital cardiac malformations. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 806-17.
33. Medina MA, Urdiales JL, Amores-Sánchez MI. Role of homocysteine in cell metabolism. *Eur J Biochem* 2001; 268: 3871-82.
34. Ek J, Magnus EM. Plasma and red blood cell folate during normal pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1981; 60: 247-51.
35. Malinow MR, Rajkovic A, Duell PB, Hess DL, Upson BM. The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocyst(e)ine suggest a potential role for a maternal homocyst(e)ine in fetal metabolism. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178: 228-33.
36. Molloy AM, Mills JL, McPartlin J, Kirke PN, Scott JM, Daly S. Maternal and fetal plasma homocysteine concentrations at birth: the influence of folate, vitamin B12, and the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T variant. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 186: 499-503.
37. Bonnette RE, Caudill MA, Boddie AM, Hutson AD, Kauwell GPA, Bailey LB. Plasma homocyst(e)ine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 167-70.
38. Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keel EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 360-4.
39. Daly SF, Molloy AM, Millis JL, Lee YJ, Conley M, Kirke PN, et al. The influence of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase genotypes on enzyme activity in placental tissue. *Br J Obstet Gynecol* 1999; 106: 1214-8.
40. Botto LD, Khoury MJ, Mulinare J, Erickson JD. Periconceptional multivitamin use and the occurrence of conotruncal heart defects: results from a population-based, case-control study. *Pediatrics* 1996; 98: 911-7.
41. Czeizel AE. Prevention of congenital abnormalities by periconceptional multivitamin supplementation. *Br Med J* 1993; 306: 1645-8.
42. Kapusta L, Haagmans MLM, Steegers EAP, Cuypers MHM, Blom HJ, Eskes TKAB. *J Pediatr* 1999; 135: 773-4.
43. Junker R, Kotthoff S, Heintich V, Halimeh S, Kosch A, Koch HG, et al. Infant methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype is a risk factor for congenital heart disease. *Cardiovasc Res* 2001; 51: 251-4.
44. Rosenquist TH, Tatashak S A, Selhub J. Homocysteine induces congenital defects of the heart and neural tube: Effect of folic acid. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 1527-32.
45. Rosenquist TH, Schneider AM, Monaghan DT. N-methyl-D-aspartate receptor agonists modulate homocysteine-induced developmental abnormalities. *FASEB J* 1999; 13: 1523-31.
46. Monyer H, Sprengel R, Schoepfer R, Herb A, Higuchi M, Lomeli H, et al. Heteromeric NMDA receptors: molecular and functional distinction of subtypes. *Science* 1992; 256: 1217-21.
47. Goodman & Guillian A. Bases farmacológicas de la terapéutica. 10a. ed. Ed. Mc Graw Hill, Interamericana; 2003.
48. Komuro H, Rakic P. Modulation of neural migration by NMDA receptors. *Science* 1993; 260: 95-7.
49. Andarolo VJ, Monaghan DT, Rosenquist TH. Dextromethorphan and Other N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antagonists are teratogenic in the avian embryo model. *Pediatr Res* 1998; 43: 1-7.

