

Polimorfismo C677T del gen metilendetrahidrofolato reductasa en madres con descendencia afectada por defectos congénitos folato-sensibles

Polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in mothers with offspring affected by folate-sensitive birth defects

Noel Taboada Lugo^{1*} <http://orcid.org/0000-0002-1254-8087>

Manuela Herrera Martínez¹ <http://orcid.org/0000-0002-5021-6091>

Raúl Pablo Ferreira Capote² <http://orcid.org/0000-0002-1534-2789>

Luis Enrique Almaguer Mederos³ <http://orcid.org/0000-0003-0887-2359>

Teresa Collazo Mesa² <http://orcid.org/0000-0002-3984-9189>

¹Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Cuba.

²Laboratorio Biología Molecular, Centro Nacional de Genética. La Habana, Cuba.

³Centro para la Rehabilitación e Investigación de las Ataxias. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: noeltl@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: En el origen de los defectos congénitos influyen factores ambientales, como el déficit de consumo de ácido fólico, y factores genéticos, como los polimorfismos génicos.

Objetivos: Relacionar el polimorfismo materno C677T del gen metilendetrahidrofolato reductasa y la aparición de defectos congénitos folato-sensibles en la descendencia.

Métodos: Se realizó un estudio observacional analítico de casos y controles poblacionales. Se incluyeron 90 madres con descendencia afectada por cinco tipos de defectos congénitos folato-sensibles entre 2013 y 2018 en la provincia de Villa Clara. Se les realizó la genotificación del polimorfismo C677T del gen metilendetrahidrofolato reductasa.

Resultados: La frecuencia del genotipo homocigótico TT resultó de 0,14 y 0,06 en las madres de casos afectados y las del grupo control, respectivamente. Se identificó una asociación entre el polimorfismo materno y los defectos congénitos en la descendencia, en el modelo de codominancia y el modelo recesivo.

Conclusiones: La mayor frecuencia del genotipo homocigótico TT, en las madres con descendencia afectada, se relaciona con la disminución descrita para la actividad enzimática de la metilendetrahidrofolato reductasa en este genotipo.

Palabras clave: defectos congénitos; ácido fólico; defectos del tubo neural folato-sensibles; polimorfismo genético; estudios de asociación genética.

ABSTRACT

Introduction: The origin of congenital defects is influenced by environmental factors, such as folic acid intake deficit, and genetic factors, such as gene polymorphisms.

Objectives: To find the relation between the maternal C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and the appearance of folate-sensitive congenital defects in the offspring.

Methods: A population-based observational case-control analytical study was performed. Ninety mothers with offsprings affected by five types of folate-sensitive congenital defects between 2013 and 2018 in Villa Clara province were included. They underwent genotyping of the C677T polymorphism of the methylenetetra gene.

Results: The frequency of the homozygous TT genotype was 0.14 and 0.06 in the mothers of affected cases and those of the control group, respectively. An association between maternal polymorphism polymorphism and congenital defects in the offspring, in the codominance model and the recessive model.

Conclusions: The higher frequency of the TT homozygous genotype, in mothers with affected offspring, is related to the decrease described for methylenetetrahydrofolate reductase enzyme activity in this genotype.

Keywords: congenital defects; folic acid; folate-sensitive neural tube defects; genetic polymorphism; genetic association studies.

Recibido: 15/03/2023

Aceptado: 22/06/2023

Introducción

Los defectos congénitos no sindrómicos tienen un origen multifactorial, relacionado con factores genéticos y ambientales. Entre los factores ambientales se encuentra la deficiencia materna de folato. El término defectos congénitos folato-sensibles se utiliza cuando se ha comprobado una disminución de la frecuencia de esta vitamina, luego de la suplementación materna preconcepcional o la fortificación de alimentos con ácido fólico.^(1,2,3) La vitamina B9 desempeña un rol crucial en la regulación epigenética del desarrollo embrionario y resulta esencial para diferentes procesos vitales, como los de división celular y crecimiento.⁽⁴⁾

Los factores genéticos incluyen polimorfismos en genes vinculados al metabolismo del folato, como el metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR). Se han descrito más de 40 polimorfismos del gen MTHFR: el C677T se considera, clínicamente, el más importante por su influencia en la reducción de la forma biológicamente activa del ácido fólico. La prevalencia del alelo T de esta variante de secuencia oscila entre un 24 y 64 % en la población europea, un 48 % entre los norteamericanos, un 35 % en la población africana, y alrededor de un 2 y 63 % en poblaciones asiáticas.^(3,4,5,6,7)

En Cuba no existen evidencias de estudios previos sobre la asociación entre el polimorfismo C677T del gen MTHFR y los defectos congénitos; por consiguiente, el presente estudio tuvo como objetivo relacionar el polimorfismo materno C677T del gen metilentetrahidrofolato reductasa y la aparición de defectos congénitos folato-sensibles en la descendencia.

Métodos

Se realizó un estudio observacional analítico de casos y controles poblacionales entre los años 2013 y 2018 en la provincia de Villa Clara. Se incluyeron 90 madres con descendencia afectada por cinco tipos de defectos congénitos folato-sensibles y se les hizo la genotificación del polimorfismo de nucleótido simple C677T del gen MTHFR. Los casos se obtuvieron del Registro Cubano de Malformaciones Congénitas (RECUMAC) y el Registro Cubano Prenatal de Malformaciones Congénitas (RECUPREMAC) del Centro Provincial de Genética Médica de Villa Clara.

La población se constituyó por 22 madres cuyos hijos padecían cardiopatías congénitas conotruncales (Código CIE-10: Q20-Q28), 24 con defectos del tubo neural (Código CIE-10: Q00, Q01, Q05), 18 con hendiduras labio-palatinas (Código CIE-10: Q35-Q37), 16 con síndrome de *Down* (Código CIE-10: Q90) por trisomía 21 libre y 10 con gastrosquisis (Código CIE-10: Q793).⁽⁸⁾

Se incluyeron como controles 45 madres con descendencia sin ningún defecto congénito. A toda la población se le genotipó el polimorfismo C677T. Para ello se le tomó a cada madre una muestra de 5 ml de sangre venosa por punción antecubital; la sangre se transfirió a tubos estériles de polipropileno con 200 μ L de EDTA y se refrigeró a -20°C hasta la extracción del ADN, que se hizo de manera automatizada mediante el sistema modular QIASymphony SP en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional de Genética Médica.

El polimorfismo C677T del gen MTHFR se estudió con PCR/RFLP a través de protocolos estandarizados.^(3,7) Los fragmentos obtenidos de la digestión enzimática se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa. Se definieron las siguientes variables:

- Alelos: cada una de las dos formas alternativas del polimorfismo C677T, según la corrida electroforética. Valores finales: alelo C o alelo T.
- Genotipo: combinación dos a dos, de alelos para el polimorfismo C677T, característicos de cada individuo; según la corrida electroforética. Valores finales: homocigótico CC, heterocigótico CT u homocigótico TT.

Dado el limitado número de estudios moleculares en las madres del grupo control, se utilizaron, previa autorización del investigador principal, los resultados

de la genotificación de 130 controles provenientes del único estudio poblacional sobre este polimorfismo en Cuba.⁽⁷⁾ Esta práctica resulta habitual en los estudios internacionales multicéntricos.

Los datos de la genotificación del polimorfismo C677T del gen MTHFR se introdujeron en una base de datos mediante el programa SPSS. Como estadígrafo de frecuencia se usó el porcentaje. Se empleó la dócima de hipótesis de independencia u homogeneidad, a través de la estimación del estadígrafo Chi cuadrado (X^2) de Pearson para comparar la frecuencia de los diferentes genotipos entre los casos y controles, y entre los diferentes tipos de defectos congénitos folato-sensibles.

Para verificar si el polimorfismo C677T se hallaba en equilibrio génico de Hardy-Weinberg en el grupo de 173 controles, se calculó el Chi cuadrado de bondad del ajuste. Previo a la incorporación de las muestras al grupo control, se valoró el equilibrio génico de Hardy-Weinberg en los controles de cada provincia por separado.

Obtenidos los genotipos correspondientes al polimorfismo de los casos y los controles, y comprobada la existencia de equilibrio génico de Hardy-Weinberg, se estudiaron modelos de asociación genética de relaciones hipotéticas, bajo siete referencias de dominancia entre los alelos cuatro de codominancia, y los modelos de dominancia, recesividad y aditivo. Para determinar la asociación genética se utilizó el paquete estadístico Microstat; se calculó el valor del Chi cuadrado de Pearson para dos grados de libertad, la p asociada, el *Odds Ratio* y el intervalo de confianza al 95 %. Se empleó un nivel de significación $\alpha = 0,05$.

La investigación se aprobó por el Comité de Ética de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Las madres incluidas en el estudio consintieron participar en la investigación, y autorizaron la toma de muestras biológicas y la extracción de ADN.

Resultados

La frecuencia del genotipo homocigótico TT fue de 0,14 (13/90) y 0,06 (11/173), respectivamente, en las madres con hijos con defectos congénitos folato-sensibles y las madres del grupo control, diferencias consideradas significativas ($p = 0,041$). El alelo T tuvo una frecuencia de 0,37 (66/180) en los casos y 0,32

(109/346) en los controles. Las frecuencias alélicas entre casos y controles no resultaron diferentes para ninguno de los dos alelos (tabla 1).

Tabla 1 - Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C677T del gen MTHFR en casos y controles

Grupos	Genotipos (Frecuencia genotípica)				Alelos (Frecuencia alélica)		
	CC	CT	TT	n	C	T	n
Casos	37 (0,41)	40 (0,44)	13 (0,14)	90	114 (0,63)	66 (0,37)	180
Controles	75 (0,43)	87 (0,50)	11 (0,06)	173	237 (0,68)	109 (0,32)	346
<i>p</i>	0,793	0,435	0,041		0,242	0,242	

Las frecuencias genotípicas más elevadas se observaron para el genotipo mutado TT en las madres de casos con deterioro del tubo neural, seguido por hendiduras labio-palatinas y cardiopatías congénitas conotruncuales; mientras que las frecuencias alélicas más altas para el alelo mutado T se constataron en las madres de hijos con deterioro del tubo neural, cardiopatías congénitas conotruncuales y síndrome de Down. La distribución de frecuencias de los genotipos y los alelos en la muestra de casos con diferentes defectos congénitos folato-sensibles resultó homogénea (tabla 2).

Tabla 2 - Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo C677T del gen MTHFR en los diferentes tipos de defectos congénitos

DC	Genotipos (Frecuencia genotípica)				χ^2		Alelos (Frecuencia alélica)			χ^2	
	CC	CT	TT	n	Valor	<i>p</i>	C	T	n	valor	<i>p</i>
CCCT	8 (0,36)	11 (0,50)	3 (0,14)	22			27 (0,61)	17 (0,39)	44	2,61	0,624
DTN	7 (0,29)	12 (0,50)	5 (0,21)	24	11,85	0,458	26 (0,54)	22 (0,46)	48		
HLP	8 (0,44)	7 (0,39)	3 (0,17)	18			23 (0,64)	13 (0,36)	36		
SD	6 (0,38)	8 (0,50)	2 (0,12)	16			20 (0,62)	12 (0,38)	32		
GS	8 (0,80)	2 (0,20)	0 (0,00)	10			18 (0,90)	2 (0,10)	20		

Leyenda: DC: defectos congénitos; CCCT: cardiopatías congénitas conotruncuales; DTN: deterioro del tubo neural; HLP: hendiduras labio-palatinas; SD: síndrome de Down; GS: gastrosquisis.

En la tabla 3 se muestran los diferentes modelos de asociación genética en el polimorfismo C677T del gen MTHFR en el grupo de madres de casos con los cinco tipos de defectos congénitos folato-sensibles y los controles. Se observaron diferencias significativas en el modelo de codominancia TT vs. CT

[OR 2,57 (IC 95 % 1,06-6,23) ($p = 0,033$)] y el modelo recesivo TT vs. CT + CC [OR 2,48 (IC) 95 % 1,06 -5,80) ($p = 0,031$)].

Tabla 3 - Estudios de asociación alélica del polimorfismo C677T del gen MTHFR en las madres de casos y controles

Modelos de asociación	Genotipos (%)			OR (95% IC)	χ^2	
	TT	CT	CC	TT vs. CC	Valor	p
Modelo de codominancia						
Casos	13 (14,44)	40 (44,44)	37 (41,11)	2,40 (0,97 - 5,85)	3,77	0,052
Controles	11 (6,36)	87 (50,29)	75 (43,35)			
Modelo de Codominancia				TT vs. CT		
				2,57 (1,06 - 6,23)	4,52	0,033
Modelo de Codominancia				CT vs. CC		
				0,93 (0,54 - 1,60)	0,06	0,799
Modelo de Codominancia				CC vs. TT		
				0,41 (0,17 - 1,02)	3,77	0,052
Modelo de dominancia						
	CT + TT	CC		CT + TT vs. CC	0,12	0,727
Casos	53 (58,89)	37 (41,11)		1,09 (0,65 - 1,83)		
Controles	98 (56,65)	75 (43,35)				
Modelo recesivo						
	TT	CT + CC		TT vs. CT + CC	4,65	0,031
Casos	13 (14,44)	77 (85,56)		2,48 (1,06 - 5,80)		
Controles	11 (6,36)	162 (93,64)				
Modelo aditivo						
	T	C		T vs. C	1,41	0,233
Casos	66 (36,67)	114 (63,33)		1,25 (0,86 - 1,83)		
Controles	109 (31,50)	237 (68,50)				

Discusión

Las investigaciones para evaluar equilibrio génico y los análisis para detectar asociación genética, entre polimorfismos y entidades clínicas, se realizan, por regla general, en estudios colaborativos con muestras de varias poblaciones.^(9,10,11) En el presente estudio, más de la mitad del grupo control eran heterocigotas (CT) y alrededor de un 6 %, homocigotas (TT9). La frecuencia del alelo mutado T se destacó más en el grupo de casos que en los controles, lo cual coincide con *Nauman* y otros⁽¹²⁾ quienes observaron que la frecuencia de los

genotipos TT y CT era mayor en las mujeres con descendencia con defectos congénitos que en el grupo control; igualmente, el alelo T superó al C en los casos.

La frecuencia de heterocigotos CT del grupo control resultó inferior a la identificada en un estudio poblacional hecho en Colombia (52,6 %); mientras que la frecuencia de individuos homocigóticos para el alelo de riesgo T en la población colombiana duplicó (13,2 %) a la constatada en el presente trabajo.⁽¹³⁾

Las madres de los casos con deterioro del tubo neural mostraron las frecuencias genotípicas más elevadas del genotipo homocigoto TT. Esto se corresponde con lo descrito por *Cai* y otros.⁽¹⁴⁾ Para algunos investigadores el polimorfismo MTHFR C677T se asocia con un aumento de la susceptibilidad para el deterioro del tubo neural y para otros no, lo cual puede relacionarse con diferentes ajustes de las variables. Se requieren muestras más grandes para obtener resultados más sólidos.^(15,16,17) Sin embargo, en el oeste de México al comparar la frecuencia de dos polimorfismos en el gen MTHFR entre 101 recién nacidos con deterioro del tubo neural y 247 controles no hubo evidencias de que el estado de homocigocidad TT estuviera vinculado con este defecto.⁽¹⁸⁾

Las frecuencias genotípicas más elevadas del genotipo homocigoto TT, luego del deterioro del tubo neural, resultaron hendiduras labio-palatinas y cardiopatías congénitas conotruncales; debido a que el tubo neural, la cavidad oral y el tracto de salida del corazón se relacionan embriológicamente.^(11,19) La asociación del polimorfismo materno C677T y la hendidura labio-palatina se ha observado por varios autores. Investigadores italianos encontraron que el genotipo homocigoto TT en las madres incrementó el riesgo en la descendencia de presentar el labio con o sin paladar hendido.⁽²⁰⁾ En cambio, otros estudios no hallaron asociación entre el polimorfismo en las madres y los defectos congénitos en la descendencia.⁽²¹⁾

En cuanto a las cardiopatías congénitas, existen controversias a la hora de arribar a conclusiones específicas.⁽²²⁾ En este trabajo, la frecuencia genotípica para el genotipo homocigótico TT en las madres de los casos con cardiopatías congénitas conotruncales resultó inferior a la constatada por *Raina* y otros,⁽²³⁾ quienes, en un estudio de casos y controles de base hospitalaria, identificaron una frecuencia del genotipo homocigótico TT de 0,40. Asimismo, científicos egipcios demostraron relación significativa entre el polimorfismo C677T y las cardiopatías congénitas conotruncales, con mayor relevancia en el modelo de asociación aditivo entre los alelos T vs. C (OR 1,85, 95 % CI: 1.41-2.43; $p < 0,0001$).⁽²⁴⁾

Las frecuencias génicas más altas para el alelo T se observaron en las madres de los casos con deterioro del tubo neural y cardiopatías congénitas conotruncuales, seguidos por síndrome de Down y hendiduras labio-palatinas. *Li* y otros⁽²⁵⁾ señalan el vínculo entre el menor alelo T en las madres y su descendencia con deterioro del tubo neural, cardiopatías congénitas, síndrome de Down y hendiduras labio-palatinas.

La deficiencia de ácido fólico y los polimorfismos del gen MTHFR alteran la metilación del ADN y la segregación cromosómica. Las irregularidades en el patrón de metilación de los centrómeros conllevan a la formación aberrante de los cinetocoros, lo cual provoca una segregación anormal de los cromosomas durante la meiosis.^(26,27,28) Aunque la literatura científica no indica consenso sobre la relación entre los polimorfismos del gen MTHFR y la aparición del síndrome de Down, en diferentes poblaciones se ha hallado asociación.⁽²⁷⁾

La información obtenida en seres humanos y modelos animales apunta que el origen de la gastrosquisis se encuentra en el cierre defectuoso del anillo umbilical y la ruptura del amnios. Estos dos eventos podrían ocurrir por la activación de una vía patogénica común en la que convergen un factor con potencial inductor y algún tipo de predisposición genética en los embriones afectados.⁽²⁹⁾ Al considerar la dualidad de un posible mecanismo patogénico vascular/trombótico en la génesis de la gastrosquisis, *Makhmudi* y otros⁽³⁰⁾ estudiaron tres polimorfismos, y solamente el C677T se relacionó con la gastrosquisis.

Este estudio no reconoció el genotipo homocigoto TT en ninguna de las madres con descendencia afectada por gastrosquisis, quizás porque solo se genotiparon 10 casos con este defecto congénito; además de la baja frecuencia del menor alelo del polimorfismo C677T en la población. Las asociaciones alélicas encontradas para la presencia del alelo T, por la deficiencia materna de ácido fólico, se corresponde con lo referido en la literatura. Diferentes publicaciones describen una correlación significativa entre los polimorfismos del gen MTHFR y los defectos congénitos de origen multifactorial.^(4,14,15,20,22,31,32,33)

Un metaanálisis con los mismos tipos de defectos congénitos folato-sensibles del presente estudio, excepto la gastrosquisis, vinculó el genotipo de riesgo TT en las madres con las cardiopatías congénitas y el deterioro del tubo neural en su descendencia, excepto para el modelo de codominancia (TT vs. CC) y el modelo de dominancia (TT + TC vs. CC); en el caso de las madres con síndrome de *Down* y hendiduras labio-palatinas, el riesgo se evidenció en el modelo de

codominancia (TC vs. CC).⁽²⁵⁾ La asociación en los modelos de codominancia (TT vs. CT) y el modelo recesivo (TT vs. CT + CC) resulta la más frecuentemente.^(23,34)

Se concluye que la mayor frecuencia del genotipo homocigótico para el menor alelo T en las madres con descendencia con defectos congénitos folato-sensibles, en particular los del tubo neural, se halla potencialmente relacionada con la disminución de la actividad enzimática de la MTHFR en este genotipo.

Referencias bibliográficas

1. Taboada N, Herrera M, Hernández G, Hernández H. Spatiotemporal distribution of non-syndromic orofacial clefts in Villa Clara province, Cuba, 2013-2018. MEDICC Rev. 2021;23(2):27-33. DOI: <https://doi.org/10.37757/mr2021.v23.n2.8>
2. Wilson RD, O'Connor DL. Maternal folic acid and multivitamin supplementation: International clinical evidence with considerations for the prevention of folate-sensitive birth defects. Prev Med Rep. 2021;24:101617. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmedr.2021.101617>
3. Taboada N. Factores genéticos y ambientales en madres con descendencia afectada por defectos congénitos folato-sensibles en Villa Clara [Tesis Doctoral]. Santa Clara, Cuba: Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara; 2022
4. Vidmar M, Šmid A, Karas N, Trontelj J, Geršak K, Mlinarič-Raščan I. Folate insufficiency due to MTHFR deficiency. J Clin Med. 2020;9(9):2836. DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fjcm9092836>
5. Taboada N. Factores epigenéticos involucrados en el origen de defectos congénitos relacionados con la deficiencia materna de ácido fólico y otros micronutrientes. Acta Med Centro. 2019 [acceso 05/01/023];13(3):439-54. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=88255>
6. Elsaid HH, El-Hefnawy KA, Elalawi SM. C677T MTHFR gene polymorphism is contributing factor in renal impairment in young hypertensive patients. Indian J Clin Biochem. 2021;36(2):213-20. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12291-020-00890-w>
7. Almaguer LE, Jorge Y, Almaguer D, Aguilera R, Rodríguez R, Velázquez L, et al. One carbon metabolism factor MTHFR variant is associated with saccade latency

in Spinocerebellar Ataxia type 2. *J Neurol Sci.* 2020;409:116586. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.116586>

8. National Center for Health Statistics (CDC). International Classification of Diseases-10th Revision. CDC; 2021 [acceso 05/01/023]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/nchs/icd/icd10.htm>

9. Du X, Xiao L, Sun R, Kunpeng L, Liang L, Song L, *et al.* A prospective cohort study of MTHFR C677T gene polymorphism and its influence on the therapeutic effect of homocysteine in stroke patients with hyperhomocysteinemia. *BMC Neurol.* 2020;20(1):128-35. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12883-020-01701-8>

10. Su Y, Yan H, Guo L, Lu T, Zhang D, Yue W. Association of MTHFR C677T polymorphism with antipsychotic-induced change of weight and metabolism index. *Front Psych.* 2021;12:673715. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.673715>

11. Carinci F, Palmieri A, Scapoli L, Cura F, Borelli F, Morselli PG, *et al.* Non-syndromic cleft palate : Association analysis on three gene polymorphisms of the folate pathway in Asian and Italian populations. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2019;33:2058738419858572. DOI: <https://doi.org/10.1177%2F2058738419858572>

12. Nauman N, Jalali S, Shami S, Rafiq S, Grobe G, Hilger A, *et al.* Low maternal folate concentrations and maternal MTHFR C677T polymorphism are associated with an increased risk for neural tube defects in offspring: a case-control study among Pakistani case and control mothers. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2018;27(1):253-60. DOI: <https://doi.org/10.6133/apjcn.032017.10>

13. Herrera M, Muñoz A, Parra S. Factores determinantes del estado nutricional del folato y el rol de la variante genética C677T de la enzima metilen tetrahidrofolato reductasa (MTHFR). *Rev Chil Nutr.* 2016;43(4):336-45. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182016000400001>

14. Cai C, Fang Y, Shu J, Zhao L, Zhang R, Cao L. Association of neural tube defects with maternal alterations and genetic polymorphisms in one-carbon metabolic pathway. *It J Pediatr.* 2019;45(1):37. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13052-019-0630-1>

15. Tabatabaei RS, Fatahi MN, Meibodi B, Javaheri A, Abbasi H, Hadadan A, *et al.* Association of fetal MTHFR C677T polymorphism with susceptibility to neural tube defects: A systematic review and update meta-analysis. *Fetal Pediatr Pathol.* 2022;41(2):225-41. DOI: <https://doi.org/10.1080/15513815.2020.1775734>

16. Goyal A, Kumawat M, Vashisth M, Gill PS, Sing I, Dhaulakhandi DB. Study of C677T Methylene Tetrahydrofolate Reductase gene polymorphism as a risk factor for neural tube defects. *Asian J Neurosurg.* 2021;16(3):554-61. DOI: https://doi.org/10.4103%2Fajns.AJNS_372_20
17. Fang Y, Zhang R, Zhi X, Zhao L, Cao L, Wang Y, *et al.* Association of main folate metabolic pathway gene polymorphisms with neural tube defects in Han population of Northern China. *Childs Nerv Syst.* 2018;34(4):725-9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00381-018-3730-0>
18. Aranda CI, Bobadilla L, Corona A, Cuero I, Santana J, Baldomero A, *et al.* MTHFR C677T and A1298C variants in Mexican mestizo infants with neural tube defects from Western Mexico. *Congenit Anom (Kyoto).* 2021;61(5):188-92. DOI: <https://doi.org/10.1111/cga.12429>
19. Taboada N. Avances en el conocimiento de las bases moleculares y celulares de las cardiopatías congénitas. Parte 2 y última: Cardiopatías congénitas. *CorSalud.* 2019 [acceso 05/01/2023];11(4):307-16. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2078-71702019000400307
20. Pezzetti F, Martinelli M, Scapoli L. Maternal MTHFR variant forms increase the risk in offspring of isolated nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Hum Mutat.* 2004;24(1):104-5. DOI: <https://doi.org/10.1002/humu.9257>
21. Moslem M, Golchin N, Safaei M, Rezaei F, Abbasi H, Sadegh M, *et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is not associated with the risk of nonsyndromic cleft lip / palate : An updated meta-analysis. *Sci Rep.* 2020;10:1531-44. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58357-0>
22. Liu P, Ding B, Zhang J, Mei X, Li F, Wu P, *et al.* Association between MTHFR C677T polymorphism and congenital heart disease. *Int Heart J.* 2020;61:553-61. DOI: <https://doi.org/10.1536/ihj.19-38>
23. Raina JK, Panjaliya RK, Dogra V, Sharma S, Anupriya, Kumar P. Association of MTHFR and MS/MTR gene polymorphisms with congenital heart defects in North Indian population (Jammu and Kashmir): a case-control study encompassing meta-analysis and trial sequential analysis. *BMC Pediatr.* 2022;22(1):223-44. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12887-022-03227-z>
24. Esmail Nn, Ashaat EA, AlEttribi GM, *et al.* Association between MTHFR C677T variant and risk for conotruncal heart defects in Egyptian Children: A Meta-

analysis based on 217 cases and 213 controls. Res Square. 2022;1-12. DOI: <http://dx.doi.org/10.21203/rs.3.rs-1715546/v1>

25. Li J, Feng D, He S, Yang H, Su Z, Ye H. Association of MTHFR 677C>T gene polymorphism with neonatal defects: a meta-analysis of 81444 subjects. J Obstet Gynaecol. 2022;42(6):1811-22. DOI: <https://doi.org/10.1080/01443615.2022.2039908>

26. Lim KK, Teo HY, Tan YY, Zeng YB, Lam UTF, Choolani M, Chen ES. Fission yeast Methylenetetrahydrofolate Reductase ensures mitotic and meiotic chromosome segregation fidelity. Int J Mol Sci. 2021;22(2):639. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020639>

27. Azevedo CT, Duarte JR, Silva SV, Coppedè F, Graças M. Association between MTHFR C677T and A1298C gene polymorphisms and maternal risk for Down syndrome: A protocol for systematic review and/or meta-analysis. Medicine. 2022;101(3):e28293. DOI: <https://doi.org/10.1097%2FMD.00000000000028293>

28. Kaur A, Kaur A. Role of folate metabolizing genes and homocysteine in mothers of Down syndrome children. Tzu Chi Med J. 2022;34(4):456-61. DOI: https://doi.org/10.4103%2Ftcmj.tcmj_258_21

29. Chuaire L. Nuevas pistas para comprender la gastrosquisis. Embriología, patogénesis y epidemiología. Colomb Méd. 2021;52(3):e4004227. DOI: <https://doi.org/10.25100/cm.v52i3.4227>

30. Makhmudi A, Sadewa A, Aryandono T, Chatterjee S, Heij H, Gunadi H. Effects of MTHFR c.677C>T, F2 c.20210G>A and F5 Leiden polymorphisms in gastroschisis. J Invest Surg. 2016;29(2):88-92. DOI: <https://doi.org/10.3109/08941939.2015.1077908>

31. Li Q, Xu L, Jia X, Saleem K, Zaib T, Sun W, *et al.* SNPs in folate pathway are associated with the risk of nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate, a meta-analysis. Biosci Rep. 2020;40(3):BSR20194261. DOI: <https://doi.org/10.1042/bsr20194261>

32. Zhong T, Song X, Liu Y, Sun M, Zhang S, Chen L, *et al.* Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and maternal folic acid use with the risk of congenital heart disease. Front Pediatr. 2022;10:939119. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.939119>

33. Petrone I, Bernardo PS, Dos Santos EC, Abdelhay E. MTHFR C677T and A1298C Polymorphisms in breast cancer, gliomas and gastric cancer: a review. *Genes*. 2021;12(4):587. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes12040587>

34. Sun M, Wang T, Huang P, Diao J, Zhang S, Li J, et al. Association analysis of maternal MTHFR gene polymorphisms and the occurrence of congenital heart disease in offspring. *BMC Cardiovasc Disord*. 2021;21(1):298-314. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12872-021-02117-z>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: Noel Taboada Lugo.

Curación de contenidos y datos: Noel Taboada Lugo y Manuela Herrera Martínez.

Análisis formal: Noel Taboada Lugo y Manuela Herrera Martínez.

Adquisición de fondos: Manuela Herrera Martínez.

Investigación: Raúl Pablo Ferreira Capote, Luis Enrique Almaguer Mederos y Teresa Collazo Mesa.

Metodología: Noel Taboada Lugo y Manuela Herrera Martínez.

Administración del proyecto: Manuela Herrera Martínez.

Recursos: Raúl Pablo Ferreira Capote, Luis Enrique Almaguer Mederos y Teresa Collazo Mesa.

Software: Noel Taboada Lugo.

Supervisión: Noel Taboada Lugo.

Validación: Noel Taboada Lugo.

Visualización: Noel Taboada Lugo.

Redacción-borrador original: Noel Taboada Lugo.

Redacción-revisión y edición: Manuela Herrera Martínez, Raúl Pablo Ferreira Capote, Luis Enrique Almaguer Mederos y Teresa Collazo Mesa.