

Relación del ácido fólico y los defectos del tubo neural en ratas Wistar

Relationship of folic acid and neural tube defects in Wistar rats

Eilín Armas-González¹ , Mariela Mosquera-Escobar²  , Katerinne Alvarez-González¹ , Madelen García-Otero¹ , Dianelys Núñez-Hernández¹ , Aymeé Lucía Carbó-Ordaz¹ 

¹Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Ernesto Che Guevara de la Serna". Pinar del Río, Cuba.

Recibido: 24 de febrero de 2022

Aceptado: 13 de marzo de 2022

Publicado: 20 de junio de 2022

Citar como: Armas-González E, Mosquera-Escobar M, Alvarez-González K, García-Otero M, Núñez-Hernández D, Carbó-Ordaz AL. Relación del ácido fólico y los defectos del tubo neural en ratas Wistar. Rev Ciencias Médicas [Internet]. 2022 [citado: fecha de acceso]; 26(3): e5501. Disponible en: <http://revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/article/view/5501>

RESUMEN

Introducción: los defectos del cierre del tubo neural son anomalías del sistema nervioso central superadas únicamente por los defectos cardíacos. En Pinar del Río existe un aumento de interrupciones de embarazo por diagnóstico de este defecto, se desconoce si los niveles de ácido fólico en las gestantes influyen en su incidencia.

Objetivo: corroborar la relación entre los defectos del cierre del tubo neural en las crías de ratas Wistar y las dosis de ácido fólico administrada en las ratas Wistar gestadas.

Métodos: se realizó un estudio experimental en ratas Wistar, se formaron cinco grupos de dos ratas hembras, dos que recibieron dosis de ácido fólico de 100 y 200 microgramos (μg) antes y durante la gestación, dos que recibieron 100 y 200 μg durante la gestación y un grupo control que no recibió ninguna dosis. La muestra estuvo constituida por 212 ratas recién nacidas, sacrificadas bajo normas internacionales. Se extrajo médula y cerebro para observar las anomalías, se tomaron fotomicrografía de los cortes realizados. El nivel de significación para todas las comparaciones estadísticas fue $\alpha \leq 0,05$.

Resultados: se observaron en total trece espinas bífidas, once en el grupo control (26,19 %) y dos (4,65 %) en el de 200 μg durante la gestación, al comparar el grupo control respecto a los grupos tratados, la variable masa corporal presentaron significación estadística. Se observó que la presencia de espina bífida fue significativa en la hembra con respecto al macho.

Conclusiones: se demostró la necesidad esencial de la ingestión de ácido fólico antes y durante la gestación en ratas Wistar y la asociación de espina bífida y sexo, el sexo femenino fue el predominante.

Palabras clave: Ratas Wistar; Ácido Fólico; Defectos del Tubo Neural; Anomalías; Sistema Nervioso.

ABSTRACT

Introduction: neural tube closure defects are anomalies of the central nervous system surpassed only by cardiac defects. In Pinar del Rio province there is an increase of pregnancy interruptions due to diagnosis of this defect, and it is not known if folic acid levels in pregnant women influence its incidence.

Objective: to corroborate the relationship between neural tube closure defects in Wistar rats' pups and the doses of folic acid administered in pregnant Wistar rats.

Methods: an experimental study was carried out in Wistar rats, forming five groups of two female rats; two of them received doses of folic acid of 100 and 200 micrograms (μg) before and during gestation, two that received 100 and 200 μg during gestation and a control group that did not receive any dose. The sample consisted of 212 newborn rats, sacrificed under international standards. Marrow and brain were extracted to observe the anomalies, and photomicrographs were taken of the sections made. The significance level for all statistical comparisons was $\alpha \leq 0,05$.

Results: a total of thirteen spina bifida were observed, eleven in the control group (26,19 %) and two (4,65 %) in the 200 μg group during gestation, when comparing the control group with the treated groups, the body mass variable presented statistical significance. It was observed that the presence of bifid spina was significant in the female with respect to the male.

Conclusions: the essential need of folic acid ingestion before and during gestation in Wistar rats and the association of spina bifida and sex were confirmed, being predominant in the female sex.

Keywords: Rats, Wistar; Folic Acid; Neural Tube Defects; Abnormalities; Nervous System.

INTRODUCCIÓN

Los defectos congénitos son un importante problema de salud a nivel mundial, porque contribuyen a la mortalidad infantil, a la discapacidad física y psíquica. Se define a los defectos congénitos como toda anomalía del desarrollo morfológico, funcional o molecular, presente al nacer (aunque puede manifestarse más tarde), sea interna o externa, familiar o esporádica, hereditaria o no, única o múltiple, que resulta de una embriogénesis defectuosa.^(1,2)

Los defectos del cierre del tubo neural, se encuentran entre las anomalías congénitas humanas más frecuentes, solo superados por los defectos cardíacos.⁽³⁾

Surge durante la embriogénesis, cuando el tubo neural abierto, presente en las primeras etapas de desarrollo del embrión, no logra el cierre durante el primer mes del embarazo (tercera a cuarta semana de gestación); su complejidad depende del momento en que se produjo y el campo embrionario que afecta, es con frecuencia de origen genético pero muchas veces son el resultado del efecto de un agente ambiental sobre el genoma (herencia multifactorial) donde el déficit materno de ácido fólico (AF) se defiende con mucha fuerza como causa importante.⁽⁴⁾

La asociación entre el desarrollo de los defectos del tubo neural y la carencia de ácido fólico fue sugerida inicialmente en 1960, pero la primera evidencia sobre la relación entre los micronutrientes y la prevención de los defectos del tubo neural se publicó en 1981 y hasta la actualidad se investiga por las dudas que existen sobre la etiología de estos defectos y su asociación con la carencia de folato.⁽⁵⁾

Los defectos al nacimiento se encuentran entre las primeras causas de muerte infantil a nivel mundial. Se estima mundialmente que de 2 a 3 % de los nacidos vivos, tienen un defecto congénito y de estos de 65 a 70 % son de causa desconocida. Las malformaciones congénitas en los países desarrollados pasan a ser la primera causa de mortalidad infantil. En la mayoría de los países de América Latina, ocupan entre el segundo y el quinto lugar como causa de muerte en menores de un año. En Cuba constituye la segunda causa de muerte en niños menores de un año, al igual que en el grupo etario de uno a cuatro años y el tercer lugar en el grupo comprendido entre cinco y catorce años; se encuentra entre las diez primeras causas de muerte en todas las edades.⁽¹⁾ En Cuba tienen una prevalencia de 1,8 por cada 10 000 nacidos vivos, por lo cual el Ministerio de Salud Pública (MINSAP) le ha conferido un lugar prioritario en los programas médico-sociales del país.^(1,6,7)

En Pinar del Río los defectos del tubo neural se encuentran en las primeras causas más frecuente de interrupciones de embarazo por Genética, se desconoce si algunos factores como los niveles de ácido fólico influyen en su incidencia. Los estudios realizados sobre los defectos del tubo neural y su relación con la ingesta de ácido fólico por la madre, son limitados. Se considera importante realizar investigaciones experimentales relacionadas con la influencia que ejerce los niveles de ácido fólico en la prevención de los defectos del tubo neural, al aportar conocimiento teórico ya que se define la dosis media más efectiva para prevenir los defectos del tubo neural en este caso en ratas Wistar y conocimientos prácticos ya que corroboran la necesidad de un mayor control de consumo de ácido fólico por la mujer en edad fértil y durante el primer trimestre del embarazo, la importancia de asistir a la consulta de planificación familiar en su área de salud para disfrutar de un embarazo planificado sin riesgos. También en la mejora continua de la calidad de la atención médica, al diagnóstico y al asesoramiento genético a familias afectadas y en riesgo de este defecto congénito y para que todos los profesionales contribuyan y realicen las acciones pertinentes encaminadas a la prevención.

Por todo lo anterior se decide como objetivo del presente artículo corroborar la relación entre los defectos del cierre del tubo neural en las crías de ratas Wistar y las dosis de ácido fólico administrada en diferentes momentos de la investigación en las ratas Wistar gestadas.

MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental, en la Facultad de Ciencias Médicas Ernesto Guevara de la Serna de la Universidad de Ciencias Médicas de Pinar del Río, durante el periodo comprendido entre febrero y octubre de 2018. Se utilizaron las crías recién nacidas de ratas Wistar, procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB).

Se utilizaron previamente, 10 ratas hembras vírgenes de doce semanas de nacidas y peso entre 160 y 180 gramos y se gestaron con dos ratas macho adultas que tenían un peso entre 200 - 220 gramos, utilizados en el estudio solamente como sementales. La muestra estuvo constituida por 212 ratas recién nacidas, sacrificadas bajo normas internacionales.

Diseño experimental

El diseño del experimento se conformó con cinco grupos experimentales de dos animales cada uno: un grupo control que no recibió ninguna dosis de ácido fólico, un grupo que recibió una dosis de 100 microgramos (μg) 10 días antes y durante la gestación, un grupo que recibió 200 μg 10 días antes y durante la gestación, otro grupo con 100 μg durante 10 días a partir de la gestación y un último grupo con dosis de 200 μg durante 10 días a partir de la gestación.

El ácido fólico se administró por vía oral, unida al agua de beber, se garantizó el suministro de la dosis prescrita en μg por Kg por día. Estos grupos experimentales se mantuvieron en condiciones óptimas (ambientales, de alimentación y suministro de agua), se cambiaron únicamente las dosis de ácido fólico de acuerdo con el diseño antes expuesto. Cada animal estuvo en una caja independiente con una tarjeta de identificación.

Se desarrollaron dos experimentos con los mismos animales (ratas Wistar), aproximadamente del mismo peso con el mismo diseño, bajo las mismas condiciones de tenencia. Solo se cambió el día del sacrificio, en el primer experimento las ratas recién nacidas se sacrificaron el primer día y en el segundo se sacrificaron al séptimo día.

El personal que laboró en el estudio experimental fue un personal acreditado y con los conocimientos necesarios para la ejecución del mismo. El estudio fue conducido y regido por lo establecido en la Guía de Buenas Prácticas para el cuidado, uso, y reproducción de los animales para la experimentación en el CENPALAB.

Se escogió la rata pues es una especie aceptada para el estudio planteado por la factibilidad de su manejo, número de fetos, factibilidad económica de tenencia y alimentación. Además, por tiempo de gestación corto y estabilidad genética.

Dieta comercial granulada esterilizable EAO: 1004 (CENPALAB, AlyCo®) para roedores, con certificado de calidad, que se suministró a libertad durante el estudio. El agua se esterilizó y se suministró junto al ácido fólico.

Durante el estudio los animales fueron identificados mediante tarjetas colocadas en cada caja, donde se registraron los datos siguientes: tipo y grupo de ensayo, especie, línea, sexo, edad y fecha del primer apareamiento.

Todas las ratas se gestaron, lo que se comprobó por los métodos descritos por los investigadores del CENPALB. Posterior al apareamiento fueron cambiadas las tarjetas por otras que reflejaron igualmente todos los datos de los animales y del estudio, así como la fecha de comienzo de la gestación y la fecha probable de parto fisiológico.

El parto se produjo de forma fisiológica en todos los grupos. La muestra de estudio la constituyeron las 212 crías de todas las ratas y fueron identificadas por grupo conformado, según sexo.

El método utilizado para el sacrificio de los animales fue inhalación de éter (considerado método indirecto por sobredosis). Después de sacrificadas, se extrajeron médula y cerebro, se observaron las anomalías ocurridas con la utilización de un estéreo-microscopio, las fotomicrografías de cortes normales y patológicos fueron tomadas con una cámara Kodak 10.2 megapíxeles.

RESULTADOS

En el grupo control con $0\mu\text{g}$ de ácido fólico, 11 ratas hijas presentaron espinas bífidas como defecto representando un 5,2 % del total de la muestra. En el resto de los grupos tratados con ácido fólico no hubo defectos excepto en el grupo 4 en los que el ácido fólico se administró 10 días a partir de la gestación (20 %). La incidencia total de espinas bífidas en los grupos tratados con ácido fólico fue de un 1,1 %. (Tabla 1)

Tabla 1. Defectos del tubo neural en las crías de ratas Wistar tratadas con ácido fólico. Facultad de Ciencias Médicas "Ernesto Guevara de la Serna". Febrero- octubre 2018.

Ratas Wistar	Crías por grupos según μg y momento de administrar Ácido fólico											
	Grupo control (0 μg)		Grupo 1 (100 μg 10 días antes y durante la gestación)		Grupo 2 (200 μg días antes y durante la gestación)		Grupo 3 (100 μg 10 días a partir de la gestación)		Grupo 4 (200 μg 10 días a partir de la gestación)		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Crías	42	19	38	18	45	22	44	21	43	20	212	100
DTN	11	5,2	0	0	0	0	0	0	2	0,9	13	6,1

Leyenda: defectos del tubo neural (DTN).

La relación entre la aparición de defectos del tubo neural y el sexo se observó un predominio en el sexo femenino (92,85 %). (Tabla 2)

Tabla 2. Relación entre defectos del tubo neural en las crías de ratas y sexo.

Ratas Wistar crías	Femenino		Masculino	
	No.	%	No.	%
Defecto del tubo neural	13	92,85	1	7,15

DISCUSIÓN

Los defectos del tubo neural son un grupo heterogéneo de malformaciones resultantes de fallos del cierre normal temprano del tubo neural durante el desarrollo embrionario. Incluyen presentaciones craneales tales como anencefalia y encefalocele.⁽⁸⁾

Dentro de los defectos congénitos al nacer, se encuentran las malformaciones congénitas que se definen como un defecto en el desarrollo morfológico que afecta a un órgano o sistema de órganos, y se debe fundamentalmente, a una alteración intrínsecamente anormal del desarrollo, detectable o no a la hora del nacimiento; surge durante la embriogénesis, su complejidad depende del momento en que se produjo y el campo embrionario que afecta es con frecuencia de origen genético pero muchas veces son el resultado del efecto de un agente ambiental sobre el genoma (herencia multifactorial) donde el déficit materno de ácido fólico (AF) se defiende con mucha fuerza como causa importante en la prevención de malformaciones congénitas,⁽⁹⁾ el mismo interviene en la síntesis de los ácidos nucleicos que forman el ADN.

Se ha demostrado, que una carencia de AF en la dieta preconcepcional y durante el embarazo, produce mutaciones genéticas que se traducen en malformaciones congénitas (MC), entre estas, las que mejor se han comprobado que se deben a carencia de ácido fólico, son los defectos del tubo neural.⁽¹⁰⁾

El ácido fólico es una vitamina hidrosoluble (B9) que contribuye al cierre del tubo neural que aumenta la proliferación celular. Es un cofactor esencial en el metabolismo del carbono y participa en la regulación epigenética de la transcripción de genes que controlan el cierre neural. La recomendación diaria de ingestión durante el embarazo es de 600-750 mcg/d.⁽¹¹⁾

La espina bífida que se produce por la falta de unión de los arcos neurales de las vértebras y no formación de la apófisis espinosa, es una hendidura de los arcos vertebrales que puede o no afectar al tejido neural vecino. La incidencia de defectos severos del tubo neural varía entre diferentes poblaciones, espina bífida oculta que es un defecto de los arcos vertebrales que está cubierto por la piel y frecuentemente no afecta al tejido neural subyacente; por lo general se presenta en la región lumbosacra. La espina bífida abierta, en este caso el tejido neural, las meninges o ambos protruyen a través de un defecto en los arcos vertebrales y piel para formar un saco herniario.

La mayoría de las personas con esta anomalía presentan déficit neurológico. Cuando solo líquido y meninge protruyen a través del defecto se le denomina espina bífida con meningocele; en otros casos el tejido neural está incluido en el saco, espina bífida con mielomeningocele. En algunos, el tubo neural permanece aplanado y origina la espina bífida con mielosquisis o raquisquisis.⁽¹²⁾ La espina bífida se trata como una de las anomalías más frecuentes.⁽¹⁰⁾

Los factores de riesgo para espina bífida incluyen los antecedentes familiares de espina bífida o anencefalia, que pueden ser el factor de riesgo más fuerte, ingesta materna inadecuada de ácido fólico o ácido fólico natural durante la periconcepción y el embarazo temprano, entre otros.⁽²⁾

Los recién nacidos con esta condición tienen abierta la columna con una mayor frecuencia a nivel lumbar por falta de cierre del arco posterior de las vértebras y la médula espinal queda expuesta (espina bífida abierta). Esta condición puede producir meningocele, hidrocefalia y anencefalia.⁽¹³⁾

Por ello, es importante recomendar que las medidas preventivas para MC sea la suplementación con folato periconcepcional durante tres meses previos a la concepción y el primer trimestre del embarazo para la prevención de defectos del tubo neural. Dicha suplementación periconcepcional materna con ácido fólico solo o con multivitaminas que contienen ácido fólico, reducen el riesgo de espina bífida y anencefalia hasta en un 70 %.⁽²⁾

La disponibilidad de vitaminas y minerales durante la gestación puede influir sin dudas en la morfogénesis del producto de la concepción y modular su fenotipo, sin afectar su secuencia normal de nucleótidos, mediante diferentes mecanismos epigenéticos. Esto puede resultar en alteraciones en la metilación del ADN y la modificación de las histonas y provocar desregulación en la expresión de los genes que programan el desarrollo corporal. Está claramente demostrado que el AF desempeña un rol crucial en la regulación epigenética del programa de desarrollo embrionario, y su deficiencia implica, además de las consecuencias hematológicas conocidas, la aparición de diferentes defectos congénitos, defectos placentarios y prematuridad.^(10,14)

Según estudio realizado del producto de la concepción el sexo femenino predominó en casi la mitad en los casos que tenían defectos del tubo neural, seguido de los del sexo masculino y de los indiferenciados.⁽⁵⁾

El desarrollo de la medicina y la genética han permitido dilucidar la etiología multifactorial de los DTN, a partir de lo cual se han generado políticas en salud para prevenirlos; la fortificación con ácido fólico (Vitamina B9) en mujeres en edad reproductiva es la intervención costo efectiva más eficaz hasta el momento, con la cual se ha logrado la disminución de la incidencia de los DTN hasta en un 70 %.

Por lo cual, las políticas basadas en la suplementación con ácido fólico durante el período preconcepcional y el primer trimestre del embarazo suponen un pilar fundamental en la prevención de DTN, principalmente en la ocurrencia de embarazos no planificados, los cuales son frecuentes en mujeres que presentan embarazos a edades tempranas, multíparas, solteras, con bajo nivel educativo, bajo ingreso familiar y desempleadas; en quienes son frecuentes las carencias nutrimentales con ingesta deficiente de ácido fólico.⁽⁵⁾

Se corroboró la relación entre los defectos del cierre del tubo neural en las crías de ratas Wistar y las dosis de ácido fólico administrada en diferentes momentos de la investigación en las ratas Wistar gestadas. El defecto del tubo neural que se identificó en los grupos estudiados fue la espina bífida con predominio en el sexo femenino. El ácido fólico tiene su efecto beneficioso en la prevención de los defectos del tubo neural desde antes de la gestación y si falta, aun cuando se administre una vez gestadas, pueden aparecer estos defectos congénitos.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Todos los autores participaron en la conceptualización, análisis formal, administración del proyecto, redacción - borrador original, redacción - revisión, edición y aprobación del manuscrito final.

Financiación

Los autores no recibieron financiación para el desarrollo de la presente investigación.

Material adicional

Se puede consultar material adicional a este artículo en su versión electrónica disponible en: www.revcmpinar.sld.cu/index.php/publicaciones/rt/suppFiles/5501

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Hernández Suárez D, Blanco Pereira ME, Martínez Leiva G, et al. Factores asociados a hidrocefalia congénita. Rev Méd Electrón [Internet]. 2020 Ene.-Feb. [citado 12/02/2022]; 42(1): 1-15. Disponible en: <http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/3044/467a>
2. Ayala FD, Guevara E, Carranza C, Luna A, Espinola-Sanchez M, Racchumí A, et al. Factores asociados a malformaciones congénitas. Rev Peru Investig Matern Perinat [Internet]. 2019 [citado 12/02/2022]; 8(4): 30-40. Disponible en: <https://doi.org/10.33421/inmp.2019171>
3. Yanes Calderón M, Mesa Suárez M, Marrero Escobedo D. Defecto del tubo neural. Rev Cubana Obstet Ginecol [Internet]. 2017 Mar [citado 03/02/2022]; 43(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2017000100010&lng=es
4. Mejias Quintero ME, Salem Salem H. Defecto amplio del tubo neural: A propósito de un caso. Rev. peru. ginecol. obstet. [Internet]. 2017 Oct [citado 03/02/2022]; 63(4): 635-639. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-51322017000400018&lng=es

5. García Camacho A, Martínez Campos JF, Bernal Vázquez E, Ruvalcaba Ledezma JC, Muñoz Pérez VM. Tendencia de los Defectos de Tubo Neural en el Estado de Hidalgo México del 2013-2018. JONNPR [Internet]. 2020 [citado 03/02/2022]; 5(11): 1262-1463. Disponible en: <https://doi.org/10.19230/jonnpr.3782>
6. Boira Muñoz E, Rivas Cantínosé J, García Bruñen M, Parra Oliva D, Royo Tolosana R, Plumed Tejero M, et al. Neural tube defects in prenatal care: Etiology and literature review Rev Electrón de PortalesMedicos.com. [Internet]. Septiembre 2021 [citado 03/02/2022]; 16(18): 909. Disponible en: <https://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/defectos-del-tubo-neural-en-atencion-pre-natal-etilogia-y-revision-de-la-literatura/>
7. García V, Páez S, Sarmiento K, Valencia S, Deáquiz B, Puentes S, et al. Descripción y prevalencia de las anomalías del sistema nervioso central en los programas de vigilancia de defectos congénitos en Bogotá y Cali, Colombia, en el periodo del 2001 a 2016. Pediatría [Internet]. 2020 Ene [citado 04/02/2022]; 52(3): 61-68. Disponible en: <https://revistapediatria.emnuvens.com.br/rp/article/view/138>
8. Gonçalves ID, Quincoces JA, Santos RP, dos Santos GAA, Olave E, Pardi P. Efectos Sobre el Comportamiento de Ratas Wistar Tratadas con el Compuesto Fenólico DM1. Int. J. Morphol [Internet]. 2015 Dic [citado 03/02/2022]; 33(4): 1518-1524. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022015000400053&lng=es
9. Carrillo-Gómez CS, Molina-Noyola LD, Torres-Bugarín O. Ácido fólico: económico modulador de la estabilidad genómica, epigenética y el cáncer; deficiencias, fuentes, efectos adversos por exceso y recomendaciones gubernamentales. Residente [Internet]. 2017 [citado 03/02/2022]; 12(3): 89-103. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=75578>
10. Hernández Ugalde F, Martínez Leyva G, Rodríguez Acosta Y, Hernández Suárez D, Pérez García A, Almeida Campos S. Ácido fólico y embarazo, ¿beneficio o riesgo? Rev Méd Electrón [Internet]. 2019 Ene [citado 02/02/2022]; 41(1): 156-162. Disponible en: <http://www.revmedicaelectronica.sld.cu/index.php/rme/article/view/3047/4207>
11. Perichart-Perera O, Rodríguez-Cano AM, Gutiérrez-Castrellón P. Importancia de la suplementación en el embarazo: papel de la suplementación con hierro, ácido fólico, calcio, vitamina D y multivitamínicos. GACETA MÉDICA DE MÉXICO [Internet]. 2020 [citado 02/02/2022]; 156(Supl3): s1-s26. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/gmm/v156s3/0016-3813-gmm-156-Supl3-S1.pdf>
12. Castaño E, Piñuñuri R, Hirsch S, Ronco AM. Folatos y Embarazo, conceptos actuales: ¿Es necesaria una suplementación con Acido Fólico?. Rev. chil. pediatr [Internet]. 2017 Abr [citado 02/02/2022]; 88(2): 199-206. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062017000200001&lng=es
13. Zumeta-Dubé M, Herrera-Batista A, González-Bravo M. Efectos del ácido fólico sobre el crecimiento de la descendencia de ratas tratadas con alcohol. Medisur [Internet]. 2013 [citado 02/02/2022]; 11(3): 345-349. Disponible en: <http://www.medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/2478>

14. Taboada Lugo N, Herrera Martínez M. Mecanismos epigenéticos y vía deseñalización Notch en el origen de diferentes defectos congénitos. *Medicent Electrón [Internet]*. 2018 [citado 13/02/2022]; 22(3): 197-207. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medicentro/cmc-2018/cmc183b.pdf>