

## REPORTE DE CASO

# Adultos jóvenes con deficiencia de metilentetrahidrofolato reductasa y aciduria etilenmalónica. Reporte de dos casos y revisión de tema

Female adults with ethylenmalonic aciduria and methylenetetrahydrofolate reductase deficiency: two cases report and review the literature / Adultos jovens com deficiência de metilentetrahidrofolato reductasa e aciduria etilenmalónica. Reporte de dois casos e revisão de tema

Beatriz Helena Aristizábal<sup>1</sup>, Olga L. Rincón<sup>2</sup>

### RESUMEN

La combinación de la Aciduria etilmalónica y la homocistinuria son desórdenes del metabolismo heredados con un amplio espectro de manifestaciones clínicas que se pueden presentar desde la infancia hasta los adultos mayores. Sin embargo, con la detección temprana de estas enfermedades, en el periodo neonatal, se tendría la oportunidad de mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados.

**Palabras clave:** errores innatos del metabolismo de los aminoácidos; metilenotetrahidrofolato reductasa (nadph2); galactosemias.

### ABSTRACT

The impact of genomics in clinical medicine has been significant in recent years. Up to 2012, more than 3,000 genetic conditions have been implicated in clinical medicine. Today, with the new methodology of genome sequencing (next-generation sequencing (NGS) and comparative genomic sequencing (CGH), Mendelian conditions have been identified, as well as their role in genetic variations and polygenetic multifactorial disorders that affect the clinical prognosis and response to treatment.

The integration of these diagnostic approaches in clinical practice requires an understanding of the basic principles of heredity, genome organization and molecular genetics. Generally, these conditions are single-gene disorders (also known as monogenic disorders), meaning that a single gene mutation is responsible for the disease.

The genetic screening test analyzes hundreds of mutations for recessive genetic diseases. This test informs whether or not such mutations are present, which may lead to large-scale genotyping in children using multiple molecular probes.

We report two cases of young adult women with symptoms and multiple medical consultations with disease recurrence and uncertain diagnosis, who underwent genetic testing and were determined to be carriers of heterozygous and homozygous mutant ethylmalonic aciduria and methylenetetrahydrofolate reductase deficiency, which could be responsible, in part, for their confusing symptoms.

**Key words:** amino acid metabolism, inborn errors; methylenetetrahydrofolate reductase (nadph2); galactosemias.

Fecha de recibido:

12 de julio de 2013

Fecha de aprobación:

9 de septiembre de 2013

1. MsC, PhD Coordinadora Laboratorio de Biología Molecular, Hospital Pablo Tobon Uribe, Medellín, Colombia.
2. Bacterióloga, MsC, Molecular. Laboratorio de Biología Molecular, Hospital Pablo Tobon Uribe, Medellín, Colombia.

Dirección de

correspondencia: Beatriz Helena Aristizábal. Correo electrónico: baristizabal@hptu.org.co

## RESUMO

A combinação da Aciduria etilmalónica e a homocistinúria são desordens do metabolismo herdadas com um amplo espectro de manifestações clínicas que se podem apresentar desde a infância até os adultos maiores. No entanto, com a detecção precoce destas doenças, no período neonatal, se teria a oportunidade de melhorar a qualidade de vida dos pacientes afetados.

**Palavras chave:** erros inatos do metabolismo dos aminoácidos; metilenotetra-hidrofolato reductase (nadph2); galactosemias.

## INTRODUCCIÓN

Los errores innatos del metabolismo (EIM) resultan de la ausencia o anomalía de una proteína, enzima o su cofactor y causa acumulación o deficiencia de un metabolito específico.

Se debe considerar esta posibilidad clínica en infantes, niños y adultos que presenten características clínicas o de laboratorio donde se evidencie la acumulación de algún metabolito o deficiencia de una enzima<sup>1</sup>.

Es de suma trascendencia el diagnóstico preciso de los EIM en edades tempranas de la vida para el éxito de los tratamientos (en los casos que sean susceptibles) y para realizar un buen cuidado médico, nutricional y un tratamiento psicosocial adecuado para pacientes y su familia. Además, es un requisito previo para un óptimo asesoramiento genético<sup>2</sup>.

Es importante tener en cuenta que las enfermedades metabólicas pueden tener un comportamiento crónico o agudo; éste puede ser intermitente o progresivo y este último, a su vez, recordará un cuadro clínico de “intoxicación” o de déficit energético. Las llamadas formas “agudas intermitentes” (como es el trastorno de beta-oxidación de ácidos grasos de cadena media) son de mucho interés, puesto que de la pericia diagnóstica puede depender el porvenir vital del enfermo. El paciente puede estar asintomático en las fases intercríticas y, sin embargo, fallecer en el episodio agudo sin un tratamiento correcto<sup>3</sup>.

Debido a que en algunas de estas enfermedades su presentación no siempre se hace de forma aguda ni en el periodo neonatal, sino que se presentan con inicio tardío y sintomatología no específica. Es

el caso de algunos pacientes con homocistinúria II donde el diagnóstico se hace después de un gran recorrido de pruebas en busca de esclarecer la enfermedad o de un evento de tipo accidente vascular encefálico o tumor cerebral<sup>4</sup>. La detección de un error innato del metabolismo se convierte, en ocasiones, en un gran reto,

Lo ideal sería que a todo recién nacido se le hiciera la pesquisa neonatal para enfermedades metabólicas y hacer una pronta intervención para evitar daños graves e, incluso, la muerte<sup>4</sup>. La utilización de otras pruebas como la de tamizaje genético analiza cientos de mutaciones para enfermedades genéticas de tipo recesivo. Esta prueba es de gran utilidad porque informa si es o no portador de tales mutaciones, las cuales podría transmitirles a los hijos.

Estas enfermedades, aunque tienen una baja incidencia en el mundo (1/10000), son muy importantes desde el punto de vista de salud pública. Por su gravedad, son causa de muertes prematuras, severos trastornos neurológicos y, en general, pobre calidad de vida porque produce elevados gastos al sistema de salud y gran compromiso familiar.

Los datos epidemiológicos regionales de los EIM para Colombia son desconocidos. En Chile la tasa de natalidad es de 14,28 (nacimientos/1000 habitantes), lo que genera aproximadamente 270.000 recién nacidos cada año. Los EIM tienen una frecuencia de 1:4.000 a 1:10.000 recién nacidos vivos por lo que, en Chile, se esperan 67 casos por año. En Colombia, la tasa de natalidad corresponde a 17,23 y la frecuencia de EIM puede ser similar a la de Chile.

Se presentan a continuación dos casos de mujeres adultas jóvenes con sintomatologías y consultas médicas a repetición

y diagnosticadas con enfermedades sin diagnóstico preciso, a quienes se les realizó estudio genético y se demostró ser heterocigóticas mutantes para Acetil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (aciduria etilmalónica) y homocigóticas mutantes para la deficiencia de metilentetrahidrofolato reductasa (homocistinuria II) condiciones genéticas que son responsables, en parte, de su sintomatología sin esclarecer.

## CASOS CLÍNICOS

### Caso 1

Paciente femenina de 17 años, quien consulta al servicio de hepatología por astenia y adinamia de varios meses de evolución que se relaciona con síndrome anémico y para el que se han realizado múltiples tratamientos sin ningún éxito. Se encuentra una paciente sin ictericia, sin disnea y, en ocasiones, orina colúrica. Ciclos menstruales normales. No existe historia familiar de síndromes anémicos ni esplenectomías. Llama la atención el compromiso de pruebas hepáticas, por lo que se solicitan otras pruebas para definir etiología de dichos hallazgos. Durante la evolución se documentó elevación de las transaminasas con hígado graso por ecografía y coledocitis y persiste la hemólisis crónica por causa desconocida.

Se remite a hematología para hacer estudios que aclaran el origen de su síndrome anémico.

La paciente relata que desde los 14 años presenta ictericia autolimitada, se demostró anemia con hiperbilirrubinemia indirecta recurrente y reticulocitos altos, prueba de Coombs negativo. Después de la consulta con hematología se obtienen los siguientes resultados: citometría de flujo para hemoglobinuria paroxística nocturna negativo, electroforesis de hemoglobina normal, glucosa 6 fosfato deshidrogenada normal, test de ciclaje negativo, test de fragilidad osmótica normal, crioglobulinas negativo, Coombs fraccionado negativo. Se diagnosticó anemia hemolítica no inmune, sin necesidad de soporte transfusional y se inició manejo.

Se decidió realizar la prueba de tamizaje genético en la que se confirmó aciduria etilmalónica y deficiencia de metileno tetrahidrofolato reductasa.

El estudio de ADN resultó positivo para las siguientes mutaciones:

Heterocigoto mutante para 625G>A en Acads y homocigoto mutante para A1298C (E429A) en Mthfr.

### Caso 2

Paciente femenina de 18 años, consultó por cuadro clínico desde los 12 años de edad consistente en mareo,

pérdida de la conciencia y posterior a esto episodios de dolor abdominal y cefalea intensa, disminución de la fuerza en miembros inferiores. Los síntomas se asociaban con el ciclo menstrual.

Inicialmente fue interpretado como epilepsia parcial sintomática. La resonancia magnética nuclear de cerebro fue normal, electroencefalograma normal, neuroconducción y electro miografía de las cuatro extremidades normal. Ecografía abdominal normal con muy leve elevación de porfobilinógeno y ALA en orina de 24 horas, que no fueron concluyentes, siendo elevados en época de crisis. La paciente fue manejada como una porfiria intermitente aguda (PIA) y recibió manejo con dextrosa y hemina con mejoría parcial.

La paciente continuó presentando episodios de dolor abdominal y cefalea pero sin elevación de marcadores bioquímicos para porfiria. Se decidió hacerle el estudio genético para evaluación de porfiria intermitente aguda GEN HMBS, fue negativo y se descartó esta entidad.

El ADN resultó positivo para las siguientes mutaciones: homocigótica mutante para C677T (A222V) en Mthfr, heterocigótica mutante para 625G>A en Acads, y heterocigótica mutante para N314D en GALT.

En test de tamizaje genético se detectó Acidemia etilmalónica, galactosemia y deficiencia de metileno tetrahidrofolato reductasa.

## REVISIÓN DE TEMA

Entre estas dos pacientes se distinguieron 3 errores innatos del metabolismo que se comentan a continuación: homocistinuria por deficiencia de la Metil tetrahidrofolato reductasa (Mthfr), la Aciduria Etilmalónica (EMA) y la Galactosemia que sólo estaba en el caso número 2.

### Homocistinuria por deficiencia de la Metil tetrahidrofolato reductasa, Mthfr.

La deficiencia de la Mthfr es causada por defectos en el gen que codifica la enzima metileno-tetrahidrofolato reductasa (Mthfr, por sus siglas en inglés), que participa en el metabolismo del folato. La enzima Mthfr cataliza la remetilación de la homocisteína, un aminoácido que puede ser tóxico en altos niveles, en metionina, la cual no es tóxica y es esencial para un número de funciones dentro de la célula<sup>5</sup>.

Sin la actividad apropiada de la enzima reductasa, la homocisteína se acumula en la sangre y causa la enfermedad. La gravedad de este trastorno depende del nivel de actividad residual de esta enzima en el individuo afectado. Una actividad residual menor al 60% de la actividad normal de la enzima se considera una deficiencia leve<sup>5</sup>.

Menos del 20% de la actividad enzimática se considera una deficiencia grave y es muy rara, lo que conduce a retraso en el desarrollo, retraso mental, convulsiones y disfunción motora, que se manifiestan a temprana edad<sup>6</sup>. La deficiencia grave es poco común y se han identificado menos de 100 casos en el mundo<sup>6,7</sup>.

Las mutaciones asociadas con una deficiencia leve de la reductasa Mthfr son muy comunes en la población general. La deficiencia leve que produce aumento de los niveles de homocisteína en la sangre, como por ejemplo la ocasionada por la presencia de la variante C677T en homocigosis, se vincula con un riesgo mayor de sufrir enfermedades cardiovasculares, y con otras anomalías congénitas como, por ejemplo, defectos en el cierre del tubo neural<sup>6</sup>. Sin embargo, la gravedad de la enfermedad por deficiencia leve de reductasa está vinculada con la dieta, especialmente con el consumo de ácido fólico. La ingestión suficiente de ácido fólico por pacientes homocigotos para la variante C677T, reduce los niveles de homocisteína en la sangre a niveles normales<sup>8</sup>.

La homocisteína elevada se asocia con un patrón homocigoto mutante de Mthfr. La forma genética más común de hiperhomocistinemia resulta de la producción de una variante termolábil de metiltetrahidrofolato reductasa con actividad enzimática reducida (mutación T). El gen que codifica para esta variante contiene una citosina que sustituye la timina en el nucleótido 677 (C677T). Los pacientes con este genotipo tienen mayor riesgo de enfermedad coronaria; por otro lado, el fenotipo homocigótico Mthfr TT se asocia con incremento en el riesgo de infarto cerebral silencioso.

También se ha demostrado que el uso de suplementos de ácido fólico en mujeres en edad de concebir, reduce el riesgo de defectos en el cierre del tubo neural en un 50-70%, lo que sugiere que el uso de suplementos con ácido fólico puede disminuir el riesgo de defectos del tubo neural en portadores de mutaciones leves en el gen Mthfr.

La prueba de tamizaje genético detecta la presencia de aproximadamente 40 mutaciones en el gen Mthfr, incluidas las dos variantes más comunes (C677T y A1298C) que causan la deficiencia de la Mthfr. Estas dos variantes están asociadas con la deficiencia leve<sup>8,9</sup>.

### Prevalencia étnica y frecuencia

La prevalencia de portadores de mutaciones en el gen Mthfr varía enormemente en poblaciones diferentes. La variante más común, conocida como C677T, es más frecuente en poblaciones mediterráneas e hispanas, seguidas por poblaciones de chinos, caucásicos, otras poblaciones asiáticas y africano/afroamericanos. En poblaciones norteamericanas, la variante C677T está presente en el 30% de la población y es por lo menos un

10% de la población homocigota (con dos copias de la variante). La segunda mutación más común, conocida como A1298C, también está asociada con la deficiencia leve y se encuentra en un 11-30% de la población, entre <1 a 13% de la población homocigoto<sup>10,11</sup>.

### Aciduria etilenmalónica

La aciduria etilenmalónica puede ser causada por dos variantes comunes, 625G>A y 511C>T en el gen Acads.

El gen Acads codifica una enzima mitocondrial del metabolismo de los ácidos grasos llamada Acetil-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD, por sus siglas en inglés). La enzima SCAD ayuda a proporcionar la energía, especialmente a músculos y a órganos como el corazón y el hígado, degrada un grupo de ácidos grasos de cadena corta. Cuando la enzima SCAD no funciona adecuadamente, un subproducto sin metabolizar, llamado ácido etilmalónico, se acumula en el organismo y se excreta por la orina. Las dos variantes se heredan de manera autosómica recesiva. Los individuos con dos copias de una variante, una de la madre y una del padre, frecuentemente presentan mayor excreción del ácido etilmalónico por la orina. Las copias pueden ser de la misma variante o de variantes diferentes.

### Descripción de la enfermedad

La prueba de tamizaje genético analiza la presencia de las variantes comunes 625G>A y 511C> en el gen Acads, que están asociadas con la enfermedad. La mayoría de las personas que son portadoras de dos copias de estas variantes permanece sana y no presenta síntomas visibles. Sin embargo, en estudios sobre la deficiencia de acilo-CoA deshidrogenasa de cadena corta (SCAD), un trastorno hereditario poco común de la oxidación de ácidos grasos, se determinó que 60 de cada 67 pacientes son portadores de dos copias de estas mismas variantes, o una copia de la variante común junto con una copia de una mutación inactiva poco común en el gen Acads<sup>12,13</sup>. La deficiencia de SCAD es poco común, con una incidencia de uno de cada 50.000 nacidos vivos.

Las variantes 625G>A y 511C>, comúnmente, causan que un individuo sea más susceptible a un trastorno hereditario de la oxidación de los ácidos grasos de cadena corta llamado deficiencia de Acetil-CoA deshidrogenasa (SCAD), pero sólo en la presencia de otros factores ambientales o exógenos. Hasta un 14% de la población normal puede ser portador de las dos copias de estas variantes. Las mutaciones en el gen Acads causa deficiencia en SCAD.<sup>14</sup>

La encefalopatía etilenmalónica, EE es un desorden monogénico causado por la mutación en ETHE1; el

SCAD 625A SNP actúa como un factor de susceptibilidad idiopático en pacientes que no presentan encefalopatía etilenmalónica. En varios estudios bioquímicos se ha sugerido un posible papel del SCAD en aciduria etilenmalónica persistente (EMA)<sup>15</sup>.

Los estudios bioquímicos de la parte terminal de la vía de  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y los análisis de las secuencias del gen 625RA SNP, muestran la asociación en la patogénesis de la enfermedad con EMA.

El manejo inicial de estos pacientes con acidemia etilenmalónica consiste en hidratación intravenosa y corrección de la acidosis metabólica, hiperamonemia e hiperglicemia y de las anormalidades electrolíticas, así como el control de procesos infecciosos, además de una suspensión de las proteínas por 24 a 48 horas durante la fase aguda y la reintroducción de una dieta baja en proteínas. La hidratación consiste en solución intravenosa de 2 a 3 mg/kg por minuto en mayores de 12 años y la concentración máxima de glucosa no debe exceder 130 mg/dl. La acidosis se corrige con bicarbonato de sodio y los pacientes con acidosis severa (por hipernatremia o sobrecarga del límite del volumen de bicarbonato dado o hiperamonemia) pueden requerir hemodiálisis o hemofiltración, la diálisis peritoneal está obsoleta y se deben evitar los periodos largos de ayuno.

Los niveles de carnitina están usualmente bajos en estos pacientes por lo que debe suplementarse con L-carnitina (200 a 300 mg/kg/día IV o 200-300 mg/kg/día dividido en tres dosis) para realzar la formación y excreción de conjugados de acilcarnitinas que son tóxicos para el cerebro, hígado y riñones. Los suplementos de multivitaminas y calcio también se deben dar para evitar las deficiencias resultantes de la dieta baja en proteínas.

Estos pacientes deben tener un seguimiento al menos dos veces al año por genetistas y manejo de las acidemias orgánicas por un nutricionista clínico.

## Galactosemia

La galactosemia es un trastorno que sigue un patrón de herencia autosómico recesivo, que se caracteriza por niveles elevados de galactosa en la sangre, primera indicación bioquímica de la enfermedad en el momento del nacimiento<sup>16</sup>. La galactosa es un tipo de molécula de azúcar simple y, por lo general, se une con otra molécula de azúcar simple llamada glucosa, para formar una molécula mayor llamada lactosa. La lactosa está presente en varios productos alimenticios, sobre todo en la leche. Normalmente, la galactosa ingerida es procesada para producir energía o utilizada por el cuerpo como componente de biomoléculas complejas. Las personas afectadas por galactosemia no pueden procesar la galactosa de manera eficiente, y se acumula en la sangre y en

las células hasta niveles tóxicos. Debido a que la leche materna y los productos lácteos son la fuente principal de alimentación para recién nacidos, la galactosemia puede causar daños irreversibles en los bebés afectados inmediatamente después de nacer<sup>16</sup>.

Entre los síntomas comunes de pacientes no tratados se incluyen: dificultades para la alimentación, diarrea, vómito, pérdida de peso, insuficiencia renal, hemorragias, infecciones bacterianas graves, cataratas y retraso mental. Otros síntomas y complicaciones graves pueden evitarse mediante el diagnóstico a tiempo y la restricción de lactosa o galactosa en la alimentación. Gracias a los programas de detección de galactosemia en recién nacidos, se puede diagnosticar la mayor parte de casos de la enfermedad con la intervención médica a tiempo. Sin embargo, aun con el diagnóstico temprano y el tratamiento adecuado, muchos individuos afectados pueden presentar complicaciones, incluido el retraso del desarrollo y del lenguaje, dificultades de aprendizaje, daño en funciones motoras e insuficiencia ovárica (en mujeres)<sup>17</sup>. Dependiendo de la mutación, la galactosemia puede clasificarse en galactosemia clásica y una forma más leve llamada galactosemia variante de Duarte, que no causa complicaciones tan graves como las que se observan en la forma clásica de la enfermedad<sup>16</sup>.

Las pruebas de tamizaje genético detectan la presencia de 10 variaciones en el gen GALT. Siete de estas mutaciones (Q188R, S135L, K285N, L195P, Y209C, F171S, y IVS2-2A>G) se encuentran comúnmente en pacientes de galactosemia clásica. Una mutación del gen GALT, llamada alelo G, causa la galactosemia clásica. En individuos con las dos copias del alelo G (G/G), la actividad de la enzima GALT es menor del 5%. En individuos que son portadores, o que tienen un alelo G y una copia normal del gen GALT, la actividad enzimática de GALT es del 50%, comparado con el valor normal en los individuos que tienen las dos copias normales del gen. La mutación Q188R es la más frecuente en caucásicos y constituye aproximadamente el 70% del alelo G, encontrado en descendientes del norte de Europa. La mutación S135L es frecuente en África y es la segunda mutación más común en Estados Unidos. La mutación IVS2-2A>G es común entre la población hispana<sup>19</sup>.

La mutación N314D desestabiliza la proteína y se encuentra en la variante de Duarte (alelo D2). Los individuos con galactosemia variante de Duarte normalmente tienen un alelo D2 y un alelo G, y aproximadamente el 5-20% de la actividad enzimática de GALT<sup>18</sup>.

La mutación N314D se encuentra en el alelo D1 de la variante de Los Ángeles (LA). Sin embargo, el alelo D1 no causa alteraciones en la actividad enzimática de GALT. La desestabilización producida por N314D de la variante LA es parcialmente compensada por otra



variante en el mismo alelo, L218L (652C>T), que hace la síntesis de la proteína más eficiente, sin cambiar su secuencia. E203K es una mutación del alelo G. Sin embargo, se ha reportado que si ambas variantes, la E203K como la variante de Duarte, se presentan conjuntamente y N314D está presente en la misma molécula de la proteína, la estructura resultante es más estable y más funcional que las moléculas que contienen la variante E203K o la variante N314D solas<sup>18, 19</sup>.

La prevalencia de la galactosemia clásica es aproximadamente de 1 en 30.000 nacidos vivos y la galactosemia variante de Duarte tiene una incidencia de aproximadamente 1 en 16.000 nacidos vivos (Nancy, 2003).

## CONCLUSIONES

En ausencia de un examen sistemático neonatal, el diagnóstico de un error congénito del metabolismo debe sospecharse en todo paciente que presenta manifestaciones clínicas y bioquímicas compatibles con la existencia de la enfermedad, sin importar su edad.

Su número e intensidad dependerá de la enzima implicada, de la mutación génica responsable y de la actividad residual de cada paciente; pero en todos los casos darán lugar a un síndrome metabólico de “intoxicación” del organismo por acumulación de los productos no metabolizados y que resultan tóxicos para el organismo. La diversidad de trastornos englobados en los EIM origina variedad de presentaciones clínicas, que afectarán diferentes órganos y sistemas<sup>20,21</sup>. ■

## DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no tienen conflicto de intereses.

## AGRADECIMIENTOS

Hospital Pablo Tobón Uribe.

## REFERENCIAS

1. Colombo M, Cornejo V, Raimann E. Errores innatos en el metabolismo del niño. 2. ed. Santiago de Chile: Editorial Universitaria; 2003.
2. Weiner DL. Metabolic emergencies. In: Fleisher G, Ludwig S, Henretig F, editors. Textbook of pediatric emergency medicine. 5. ed. Philadelphia: Lippincott- Williams and Wilkins; 2006. p.1193-1206.
3. Saudubray JM, Chappentier C. Clinical phenotypes: diagnosis/algorithms. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. Metabolic and molecular bases of inherited disease. 8. ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p.1327.
4. Raimann-B E. Diagnóstico de errores innatos del metabolismo. Rev Chil Pediatr. 2008; 79 Supl (1): 92-5.
5. Kirke PN, Mills JL, Molloy AM, Brody LC, O’Leary VB, Daly L, et al. Impact of the MTHFR C677T polymorphism on risk of neural tube defects: case-control study. BMJ. 2004; 328 (7455):1535-6.
6. Fenton WA, Rosenberg LE. Inherited disorders of cobalamin transport and metabolism. In: Scriver R, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The metabolic and molecular basis of inherited disease. 7 ed. New York: McGraw Hill; 1995. p. 3129–3149.
7. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet. 1995 May;10(1):111-3.
8. Kluijtmans LA, Young IS, Boreham CA, Murray L, McMaster D, McNulty H, et al. Genetic and nutritional factors contributing to hyperhomocysteinemia in young adults. Blood. 2003 apr;101(7):2483-8.
9. Lewis SJ, Ebrahim S, Davey Smith G. Meta-analysis of MTHFR 677C->T polymorphism and coronary heart disease: does totality of evidence support causal role for homocysteine and preventive potential of folate? BMJ. 2005 Nov; 331(7524):1053.
10. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG, et al. MTHFR 677C->T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. JAMA. 2002 Oct; 288(16):2023-31.
11. Kohara K, Fujisawa M, Ando F, Tabara Y, Niino N, Miki T, et al. MTHFR gene polymorphism as a risk factor for silent brain infarcts and white matter lesions in the Japanese general population: The NILS-LSA Study. Stroke. 2003 May;34(5):1130-5.
12. Tiranti V, D’Adamo P, Briem E, Ferrari G, Minerì R, Lamantea E, et al. Ethylmalonic encephalopathy is caused by mutations in *ETHE1*, a gene encoding a mitochondrial matrix protein. Am J Hum Genet. 2004 Feb;74(2):239-52.

13. Pedersen CB, Bross P, Winter VS, Corydon TJ, Bolund L, Bartlett K, et al. Misfolding, degradation, and aggregation of variant proteins. The molecular pathogenesis of short chain acyl-CoA dehydrogenase (SCAD) deficiency. *J Biol Chem*. 2003 Nov 28;278(48):47449-58.
14. Gregersen N, Winter VS, Corydon MJ, Corydon TJ, Rinaldo P, Ribes A, et al. Identification of four new mutations in the short-chain acyl-CoA dehydrogenase (SCAD) gene in two patients: one of the variant alleles, 511C-->T, is present at an unexpectedly high frequency in the general population, as was the case for 625G-->A, together conferring susceptibility to ethylmalonic aciduria. *Hum Mol Genet*. 1998 Apr;7(4):619-27.
15. Grosso S, Balestri P, Mostardini R, Federico A, De Stefano N. Brain mitochondrial impairment in ethylmalonic encephalopathy. *J Neurol*. 2004 Jun;251(6):755-6.
16. Leslie ND. Insights into the pathogenesis of galactosemia. *Annu Rev Nutr*. 2003;23:59-80.
17. Brazeal TJ, Farmer JE. Natural Course and Treatment of Neuropsychological Deficits in a Child with Early-treated Galactosemia. *Child Neuropsychol*. 1999; 5(3):197-209.
18. Shield JP, Wadsworth EJ, MacDonald A, Stephenson A, Tyfield L, Holton JB, et al. The relationship of genotype to cognitive outcome in galactosaemia. *Arch Dis Child*. 2000 Sep;83(3):248-50.
19. Coman DJ, Murray DW, Byrne JC, Rudd PM, Bagaglia PM, Doran PD, et al. Galactosemia, a single gene disorder with epigenetic consequences. *Pediatr Res*. 2010 Mar;67(3):286-92.
20. Raghuvver TS, Garg U, Graf WD. Inborn errors of metabolism in infancy and early childhood: an update. *Am Fam Physician*. 2006 Jun 1; 73(11):1981-90.
21. Ruiz M, Sánchez-Valverde, Dalmau J, Gomez L. EIM del metabolismo de la galactosa. En : Ruiz M, Sánchez-Valverde, Dalmau J, Gomez L. Tratamiento nutricional de los errores innatos del metabolismo. 2. ed. Madrid: SHS; 2004. p. 56-70.