
Concentraciones de homocisteína plasmática en embarazadas y su relación con el desarrollo de preeclampsia. Efecto de la administración prenatal de ácido fólico.

Marisol Fernández¹, Gerardo Fernández¹, María Diez-Ewald², Enrique Torres², Gilberto Vizcaíno², Nelson Fernández², Janeth Narváez¹ y Melvis Arteaga-Vizcaíno².

¹Cátedra de Ginecología y Obstetricia, Escuela de Medicina e

²Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. Correo electrónico: mdiezewald@yahoo.com.

Palabras clave: Homocisteína, preeclampsia, ácido fólico.

Resumen. El aumento de la homocisteína en el plasma de las embarazadas que desarrollan preeclampsia/eclampsia, la razón de este aumento y su posible papel etiopatogénico en la toxemia del embarazo son objeto de controversia. Con la finalidad de conocer las concentraciones de homocisteína plasmática, en el primer y segundo trimestres del embarazo y el efecto que la administración de ácido fólico pudiera ejercer sobre ellas y en la prevención de preeclampsia, se estudiaron 96 mujeres embarazadas de bajos recursos económicos, que acudieron por primera vez a la consulta prenatal en el primer o segundo trimestres de gestación. Después de la extracción de sangre venosa en ayunas, a cada paciente se le entregaron comprimidos de 1 mg de ácido fólico con la instrucción de tomar uno diario y someterse a la extracción de sangre cada tres meses. En cada muestra se determinaron las concentraciones de homocisteína en plasma citratado, mediante el sistema IMX (Abbott Laboratories) y las de ácido fólico del suero, mediante radioinmunoanálisis (Diagnostic Products). La concentración de homocisteína basal fue de $4,0 \pm 2,1 \mu\text{mol/L}$ en las embarazadas en el primer trimestre y $4,8 \pm 2,1 \mu\text{mol/L}$ en las del segundo ($p = \text{N.S.}$), sin que estos valores se modificaran significativamente después de recibir ácido fólico. Un alto número de pacientes no cumplió con el estudio trimestral, sin embargo se conoció la evolución de 65 de ellas, 10 (15,4%) de las cuales desarrollaron preeclampsia. No se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de homocisteína ni entre la frecuencia de hiperhomocisteinemia entre las mujeres con embarazo normal y las que desarrollaron preeclampsia. Se concluye que las concen-

traciones de homocisteína plasmática, no variaron con la edad del embarazo ni con la administración de ácido fólico y que este último no influenció la aparición de preeclampsia en la población estudiada.

Plasma homocysteine concentration and its relationship with the development of preeclampsia. Effect of prenatal administration of folic acid.

Invest Clin 2005; 46(2): 187 - 195

Key words: Homocysteine, preeclampsia, folic acid.

Abstract. The increase of plasmatic homocysteine (Hc) in pregnant women, who later develop preeclampsia/eclampsia, the cause of this increment and its pathogenic role in toxemia of pregnancy, are still controversial. The objectives of the present research were to determine the plasmatic Hc concentrations during the first and second trimesters of pregnancy and the effect of folic acid administration on these values, and in the prevention of preeclampsia. Ninety six pregnant women of low economic background were studied on the first prenatal consultation: 27 women in the first trimester of pregnancy and 59 in the second. After 8 hours of fasting, venous blood was extracted and each patient was provided with 1 mg folic acid tablets and instructed to ingest one tablet daily, and to come back to the laboratory after three months. Plasma homocysteine and serum folic acid were determined for each patient before and after the folic acid treatment, by using the IMX system (Abbott Lab) and radioimmunoassay, respectively. Basal homocysteine concentrations were $4.0 \pm 2.1 \mu\text{mol/L}$ and $4.8 \pm 2.1 \mu\text{mol/L}$ in the first and second trimesters respectively, with no significant modifications after three months of folic acid. Although the degree of desertion from the study was high, it was possible to determine the evolution of 65 pregnancies. Ten of them developed preeclampsia (15.4%). No significant differences were found in Hc concentrations, or the frequency of hyperhomocysteinemia in the different stages of pregnancy, between women with normal gestation and those who developed preeclampsia. The small sample size of these groups, preclude any valid conclusion, however the results do not suggest that Hc concentration or folic acid administration influence the development of toxemia of pregnancy.

Recibido: 27-05-2004 Aceptado: 16-09-2004.

INTRODUCCIÓN

Una de las complicaciones más graves del embarazo es el desarrollo de preeclampsia/eclampsia, patología que está entre las primeras causas de morbilidad fetal-

materna. La etiología de este síndrome no está completamente definida y al respecto se postula que la disminución de la perfusión sanguínea en la placenta y factores maternos, interaccionan causando daño endotelial, lo cual da lugar a activación de las

plaquetas y del mecanismo de coagulación que conducen a la formación de microtrombos venosos y arteriales en la madre, el feto y la placenta (1, 2). Entre los factores maternos que estarían comprometidos en esta patología, se ha considerado el aumento de la homocisteína (Hc) plasmática materna (3-6). El porqué de este aumento en preeclampsia, se encuentra en discusión, pero entre las causas conocidas de hiperhomocisteinemia, se encuentran las genéticas representadas por polimorfismos de la 5,10 metiltetrahidrofolato reductasa (MTHFR) y de la cistationina sintetasa (7, 8), las deficiencias de ácido fólico, piridoxina y vitamina B₁₂ (9) y la insuficiencia renal (10). Al respecto, hay numerosas publicaciones que relacionan las concentraciones de Hc plasmática maternas en las diversas etapas del embarazo, con el posterior desarrollo de preeclampsia/ eclampsia (3-6), aunque también existen trabajos, que niegan esta relación (11-13) y consideran que el aumento de Hc como el de otros aminoácidos, pudiera explicarse por fluctuaciones del volumen plasmático, y su determinación en los diferentes trimestres del embarazo, no tiene valor de predicción del desarrollo o no de preeclampsia/eclampsia (11-13).

Dado que entre las causas adquiridas de hiperhomocisteinemia, está el déficit de ácido fólico y ello es un hallazgo común en el embarazo (14, 15), el presente trabajo tuvo como objetivo conocer las modificaciones de la Hc plasmática en el transcurso de la gestación, su relación con las concentraciones de ácido fólico y con el desarrollo de preeclampsia y el efecto que la administración suplementaria de ácido fólico en la etapa gestacional, pudiera tener en la prevención de esta grave complicación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 100 mujeres embarazadas que no estaban recibiendo ningún tipo

de tratamiento y que acudieron por primera vez a la consulta prenatal de un centro público de salud (Hospital Nuestra Señora de Chiquinquirá de Maracaibo, Venezuela). Las pacientes se escogieron por orden de llegada y se excluyeron aquellas con patologías diferentes a anemia nutricional o con antecedentes de drogadicción, alcoholismo o tabaquismo. Las edades de las gestantes estaban comprendidas entre 15 y 38 años, con un promedio de $24,4 \pm 5,9$ años. Veintiocho mujeres se encontraban en el primer trimestre de gestación ($12,4 \pm 1,3$ semanas) y 72 en el segundo ($19,8 \pm 3,5$ semanas).

Las pacientes fueron informadas sobre la finalidad del estudio y una vez obtenido su consentimiento para participar en el mismo y la aprobación del Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Clínicas, se les extrajo una muestra de sangre venosa en condición de ayuno de 8 o más horas, para la determinación de Hc plasmática y ácido fólico sérico. La sangre se repartió en dos tubos, uno de polipropileno que contenía citrato de sodio para una proporción de 1:9 y otro de vidrio, libre de ácido fólico. La sangre citratada se mantuvo refrigerada y en un lapso no mayor de 3 horas, se centrifugó a 2.400 g durante 20 minutos a 5°C y se extrajo el plasma que se colocó en tubos de polipropileno y se almacenó a -70°C hasta su utilización. Una vez retraído el coágulo en el tubo de vidrio, se centrifugó a 3000 r.p.m. durante 5 minutos, se extrajo el suero y se guardó en las mismas condiciones que el plasma. Cada gestante recibió comprimidos de 1mg de ácido fólico con la instrucción de ingerir uno diario y de permanecer en el programa de consulta prenatal durante todo el embarazo, además de acudir al laboratorio cada tres meses, en ayunas, para repetir el estudio. El obstetra a cargo de la consulta prenatal se comprometió a no administrar otro suplemento que contuviese ácido fólico.

Las concentraciones de Hc plasmática se midieron mediante inmunoanálisis con fluorescencia polarizada, utilizando el sistema IMX de los laboratorios Abbott (Abbott Park, Illinois, Estados Unidos de América). El ácido fólico en suero se determinó utilizando la técnica de radioinmunoanálisis (Diagnostic Products Corp., Los Angeles, California, Estados Unidos de América).

Los criterios para el diagnóstico de preeclampsia fueron los siguientes:

- Cifras tensionales persistentes iguales o mayores a 130/85 mm de Hg, después de 20 semanas de gestación. Se consideró preeclampsia severa cuando las cifras tensionales eran superiores a 160/100 mm de Hg.
- Proteinuria mayor de 300 mg en 24 horas o 2 o más + en examen rutinario de orina, en ausencia de infección urinaria.
- Edema significativo.

Se consideró hiperhomocisteinemia, a cifras del aminoácido superiores al promedio ± 2 desviaciones estándar encontradas en cada trimestre del embarazo, en aquellas mujeres que no desarrollaron toxemia. A su vez, las cifras de ácido fólico inferiores a 5ng/mL, se consideraron deficitarias en los tres trimestres del embarazo.

El análisis estadístico comprendió el promedio \pm desviación estándar y el cálculo de frecuencia y de probabilidad, mediante las pruebas de X^2 ; de t de Student para muestras pareadas y no pareadas y Anova. Se consideró diferencia significativa a valores de p menores de 0,05.

RESULTADOS

En la Tabla I, se muestran las concentraciones basales de Hc plasmática y folato sérico en embarazadas, el primer día del estudio y tres meses después de ingerir 1mg diario de ácido fólico. Una gestante del primer trimestre y tres del segundo, fueron excluidas del estudio por no tener la información completa, por lo que el estudio basal comprendió veintisiete gestantes en el primer trimestre y 69 en el segundo que acudieron por primera vez a la consulta prenatal. El promedio basal de Hc de las gestantes en el primer trimestre fue $4,0 \pm 2,1 \mu\text{mol/L}$ y el de las del segundo $4,8 \pm 2,1 \mu\text{mol/L}$. Doce de las mujeres que se estudiaron en el primer trimestre y 28 de las que comenzaron el estudio en el segundo, regresaron a los tres meses después de haber ingerido 1 mg diario de ácido fólico. En esa oportunidad su Hc plasmática fue $5,2 \pm 2,3 \mu\text{mol/L}$ y $5,4 \pm 2,5 \mu\text{mol/L}$ respectivamente. Nueve

TABLA I
CONCENTRACIONES DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA Y FOLATO SÉRICO EN EMBARAZADAS, ANTES Y DESPUÉS DE INGERIR 1 mg DIARIO DE ÁCIDO FÓLICO

Edad Gestacional al Inicio del Tratamiento	Homocisteína Plasmática ($\mu\text{mol/L}$) ($\bar{X} \pm \text{D.E.}$)			
	Cifras Basales		Ácido fólico 1 mg día durante 3 meses	
	Homocisteína ($\mu\text{mol/L}$)	Ácido fólico (ng/mL)	Homocisteína ($\mu\text{mol/L}$)	Ácido fólico (ng/mL)
1er. trimestre	$4,0 \pm 2,1$ (27)	$7,8 \pm 3,9$ (27)	$5,2 \pm 2,3$ (12)	$10,4 \pm 4,1$ (12)
2do. trimestre	$4,8 \pm 2,1$ (69)	$7,3 \pm 3,8$ (69)	$5,4 \pm 2,5$ (28)	$6,5 \pm 3,8$ (28)

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de pacientes. No se hallaron diferencias significativas entre los grupos.

embarazadas que se estudiaron en el primer trimestre, acudieron de nuevo al final de la gestación, con cifras de Hc de $4,1 \pm 2,2 \mu\text{mol/L}$ de plasma. No se encontraron diferencias estadísticas significativas al comparar los distintos grupos entre sí. En cuanto a los valores de ácido fólico en el suero, puede observarse, que las cifras basales se encontraban dentro de límites normales, $7,8 \pm 3,9 \text{ ng/mL}$ y $7,3 \pm 3,8 \text{ ng/mL}$ respectivamente. Estas cifras se mantuvieron sin cambios estadísticamente significativos en los trimestres sucesivos.

A pesar del alto índice de deserción de las pacientes, se pudo conocer la evolución de 65 embarazos, hallándose que 10 de ellas (15,4%), se complicaron con preeclampsia en el tercer trimestre. Tres pacientes desarrollaron toxemia severa y las 7 restantes presentaron la forma leve. La edad promedio de estas pacientes fue de $23,1 \pm 5,8$ años. Cinco eran primíparas y cuatro habían entrado al estudio en el primer trimestre de gestación y el resto en el segundo.

En la Tabla II, se comparan las concentraciones plasmáticas de Hc en las mujeres que asistieron a control y tuvieron evolución normal del embarazo y en aquellas que

desarrollaron preeclampsia. Puede apreciarse que los resultados basales en ambos grupos fueron similares y que las pacientes del primer trimestre redujeron significativamente los valores 3 meses después de recibir ácido fólico, no así las del segundo. Cuando se comparó la frecuencia de hiperhomocisteinemia, en los diferentes estadios de gestación, tampoco se hallaron diferencias significativas entre las gestantes normales y las que desarrollaron preeclampsia (Tabla III).

En lo referente al ácido fólico sérico, se observó que las concentraciones en el primer trimestre, fueron significativamente más altas en las pacientes que posteriormente desarrollaron preeclampsia que en las normales ($p < 0,02$); esta diferencia se hizo mayor ($p < 0,001$) a los tres meses de tomar 1 mg diario de ácido fólico, sin embargo las cifras no aumentaron significativamente dentro de cada grupo. Las embarazadas que se incorporaron al estudio en el segundo trimestre, tuvieron cifras basales y después de tres meses de recibir ácido fólico diariamente sin diferencias significativas. Las pacientes que desarrollaron preeclampsia, tenían valores significativamente más bajos que las normales ($p < 0,02$) des-

TABLA II
CONCENTRACIONES DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA EN EMBARAZO NORMAL Y EN PACIENTES QUE DESARROLLARON PREECLAMPSIA. RELACIÓN CON LA INGESTA DE 1 mg DIARIO DE ÁCIDO FÓLICO

Evolución del Embarazo	Homocisteína Plasmática ($\mu\text{mol/L}$) ($\bar{X} \pm \text{D.E.}$)					
	1er. Trimestre		p	2do. Trimestre		p
	Cifras Basales	Ácido fólico 1 mg/día \times 3 m		Cifras Basales	Ácido fólico 1 mg/día \times 3 m	
Normal	$5,2 \pm 2,0$ (10)	$2,7 \pm 2,7$ (10)	$< 0,05$	$6,0 \pm 1,9$ (45)	$5,0 \pm 2,1$ (23)	NS
Preeclampsia	$4,2 \pm 2,1$ (4)	$3,0 \pm 0,6$ (4)	$< 0,01$	$5,8 \pm 2,0$ (6)	$4,0 \pm 1,8$ (6)	NS
p	NS	NS		NS	NS	

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de pacientes en cada grupo.

TABLA III
FRECUENCIA DE HIPERHOMOCISTEINEMIA EN RELACIÓN CON LA EVOLUCIÓN DEL EMBARAZO

Evolución del Embarazo	Edad de Embarazo		
	1er. Trimestre > 9,2 $\mu\text{mol/L}$ (%)	2do. Trimestre > 8,1 $\mu\text{mol/L}$ (%)	3er. Trimestre > 8,8 $\mu\text{mol/L}$ (%)
Normal (55)	16,7 (10)	15,6 (45)	17,4 (23)
Preeclampsia (10)	0,0 (4)	10,0 (10)	16,6 (6)
p		NS	NS

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de pacientes en cada grupo.

TABLA IV
ÁCIDO FÓLICO SÉRICO EN EMBARAZO NORMAL Y EN PACIENTES QUE DESARROLLARON PREECLAMPSIA. RELACIÓN CON LA INGESTA DE 1 mg. DIARIO DE ÁCIDO FÓLICO

Evolución del Embarazo	1er. Trimestre		p	2do. Trimestre		p
	Cifras Basales	Ácido fólico 1 mg/día después de 3 meses		Cifras Basales	Ácido fólico 1 mg/día después de 3 meses	
Normal (55)	6,4 \pm 2,8 (13)	9,1 \pm 3,4 (10)	< 0,01	7,4 \pm 3,5 (38)	5,6 \pm 3,0 (20)	NS
Preeclampsia (10)	10,1 \pm 5,5 (4)	16,8 \pm 5,5 (3)	NS	9,4 \pm 5,8 (6)	4,2 \pm 2,2 (6)	NS
p	< 0,02	< 0,001		NS	< 0,02	

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de pacientes en cada grupo.

pués de tres meses de ingerir ácido fólico diariamente (Tabla IV); sin embargo la frecuencia de déficit de ácido fólico fue similar a la de las embarazadas normales (Tabla V).

DISCUSIÓN

El papel de la hiperhomocisteinemia como factor de riesgo para la aparición de preeclampsia/eclampsia sigue en controversia. Mientras la mayoría de los autores encuentra una relación (3-6), otros estiman que el aumento del aminoácido en el plasma de las mujeres con toxemia del embarazo, es

posiblemente secundario a los cambios de volumen plasmático que se producen en esta complicación (11-13). Sin embargo, hoy en día se acepta que la hiperhomocisteinemia es un factor de riesgo cardiovascular que causa daño endotelial a nivel de arterias y venas (16) y por lo tanto de ello no se escapa la vasculatura placentaria (17).

Las concentraciones plasmáticas de Hc, dependen en gran parte de la transferencia de grupos metilo del ácido fólico para la síntesis de metionina, en una reacción catalizada por la MTHFR donde la vitamina B12 actúa como cofactor. Cuando no se produce la metilación de la Hc por défi-

TABLA V
DEFICIENCIA DE ÁCIDO FÓLICO (< 5mg/mL) EN RELACIÓN CON LA EVOLUCIÓN DEL EMBARAZO

Evolución del Embarazo	Edad de Embarazo		
	1er. Trimestre (%)	2do. Trimestre (%)	3er. Trimestre (%)
Normal (55)	16,7 (10)	13,7 (51)	26,1 (23)
Preeclampsia (10)	0,0 (4)	11,1 (9)	33,3 (6)
p		NS	NS

Las cifras entre paréntesis corresponden al número de pacientes en cada grupo.

cit de las vitaminas implicadas o por mutaciones de la metil-tetrahidrofolato reductasa, disminuye la síntesis de metionina y se acumula la homocisteína en el plasma. Ray y Laskin (18), en una revisión sistemática realizada en 1999, observaron un acuerdo general en que la deficiencia de folatos, la hiperhomocisteinemia y el estado homocigoto para la variante termolábil de la MTHFR, constituyen factores de riesgo para preeclampsia.

Estudios poblacionales han demostrado alta frecuencia de déficit de ácido fólico en las mujeres venezolanas en edad fértil y en embarazadas (15, 19). Aunque esta frecuencia ha ido disminuyendo por el mayor interés de los obstetras, en prescribir suplementos de ácido fólico durante el embarazo y por las campañas de divulgación sobre la importancia del ácido fólico en las mujeres en edad reproductiva, el país atraviesa una difícil crisis económica que puede estar influyendo negativamente en la calidad de la alimentación y del cuidado prenatal de las gestantes. Estas consideraciones fueron el motivo de investigar las concentraciones de Hc plasmática en embarazadas de pocos recursos económicos en el primer y segundo trimestre, y el efecto que la administración de ácido fólico pudiese tener sobre las mismas y en la prevención de preeclampsia.

Los resultados basales mostraron en primer lugar, que no había diferencia significativa entre los valores de Hc de las mujeres que llegaron en el primer o segundo trimestres, y que éstos tampoco se modificaban significativamente después que la embarazada ingería 1 mg diario de ácido fólico durante tres meses. Estos hallazgos concuerdan con lo encontrado por Murphy y col. (20), quienes en un estudio longitudinal desde la preconcepción hasta el tercer trimestre de gestación, no encontraron diferencias significativas en las cifras de Hc en los diferentes trimestres del embarazo normal, cifras que tampoco se modificaron significativamente con la administración de folatos. El ácido fólico sérico también se mantuvo dentro de límites normales a lo largo de la gestación normal, hecho que se explica por la administración diaria de ácido fólico a dosis suficiente para cubrir las necesidades del feto y de la madre.

Contrario a numerosas publicaciones que sugieren que las cifras elevadas de Hc plasmática en diferentes etapas del embarazo, pudieran tener un valor de predicción de preeclampsia/eclampsia (20-22), en el presente trabajo no se hallaron diferencias en los promedios plasmáticos, ni en la frecuencia de hiperhomocisteinemia en las mujeres que tuvieron un embarazo normal

y en las pacientes que evolucionaron a preeclampsia. Es importante mencionar que el 70% de los casos era de preeclampsia leve y ello pudiera haber influido en los resultados y la mayoría de las publicaciones sobre el tema, no hacen mención del grado de severidad de esta complicación.

Las pacientes que se complicaron con preeclampsia tenían concentraciones más bajas de ácido fólico que las normales, pero la frecuencia de deficiencia de este nutriente fue similar en los dos grupos; el pequeño número de mujeres que retornó en cada trimestre no permite extraer conclusiones de estos resultados.

Es importante llamar la atención sobre la frecuencia de déficit de ácido fólico en el primer trimestre del embarazo, frecuencia que se mantiene hasta el final de la gestación a pesar de que a las pacientes se les había indicado la vitamina en forma suplementaria. Este hallazgo es preocupante y sugiere que, o las pacientes no tomaron el medicamento, o la dosis no fue suficiente para las necesidades de la madre y el feto. Recientemente Rothenberg y col. (23), encontraron anticuerpos antireceptores placentarios de ácido fólico en mujeres con embarazos complicados con defecto del tubo neural y cabe preguntarse sobre la posibilidad de que esos anticuerpos también tengan algún papel en el desarrollo de preeclampsia, sobre todo en madres con deficiencia de ácido fólico. Pudiera ser que 1mg diario de esta vitamina, no fuese suficiente para impedir el bloqueo de los receptores plaquetarios y por lo tanto, como ha sido recomendado por Wald (24) para la etapa periconcepcional, sería aconsejable aumentar también la dosis de ácido fólico durante el embarazo.

Tomando en cuenta el alto índice de deserción entre las mujeres que participaron en el estudio, es difícil hacer conclusiones, sin embargo los hallazgos obtenidos, no sugieren que la administración de ácido

fólico inflencie las concentraciones de homocisteína plasmática durante el embarazo normal, ni que estas últimas guarden relación con el desarrollo de preeclampsia.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido realizado con el financiamiento del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (Condes) a través del proyecto CC-0047-01. Los autores desean expresar su agradecimiento a los Laboratorios RONAVA, por su gentil colaboración al proveer el ácido fólico utilizado en este estudio.

REFERENCIAS

1. Dekker G, Sibai B. Etiology and pathophysiology of preeclampsia: Current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:1359-1375.
2. VanWijk MJ, Boer K, Berckmans RJ, Meijers JC, Van der Post JA, Van Bavel E, Nieuwlan R. Enhanced coagulation activation in preeclampsia: the role of APC resistance, microparticles and other plasma constituents. *Thromb Haemost* 2002; 88: 415-420.
3. Powers RW, Evans RW, Majors AK. Plasma homocysteine concentration is increased in preeclampsia and is associated with evidence of endothelial activation. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 1605-1611.
4. Sorensen TK, Malinow MR, Williams MA, King IB, Lothy DA. Elevated second trimester serum homocysteine levels and subsequent risk of preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 48: 98-103.
5. Volset SE, Refsum H, Irgems LM, Emblem BM, Tverdal A, Gjessing HK, Monsen AL, Uetand PM. Plasma total homocysteine, pregnancy complications, and adverse pregnancy outcomes: the Hordaland homocysteine study. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 962-968.
6. Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the develop-

- ment of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 391-396.
7. **Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF.** Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for non severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 391-396.
 8. **Engbersen AM, Franken DG, Boers GJ, Stevens EM, Trijbels FJ, Blom HJ.** Termolabile 5,10 methylene-tetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 142-150.
 9. **Mudd SH, Scovby F, Levy HL.** The natural history of homocystinuria due to cystathione B-sintetase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 1-31.
 10. **Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH.** Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270: 2693-2698.
 11. **Wilchen DE, Gupta VJ.** Sulphur containing aminoacids in Chronic renal failure with particular reference to homocysteine and cysteine-homocysteine mixed disulphide. *Eur J Clin Invest* 1979; 9: 301-307.
 12. **Hogg B B, Tamura T, Johnston K E, Dubard M B, Goldenber RL.** Second trimester plasma homocysteine levels and pregnancy induced hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 805-808.
 13. **Raijmakers MT, Zusterzeel PL, Steegers EA, Peters WH.** Hyperhomocysteinemia: a risk factor for preeclampsia? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001; 95: 226-228.
 14. **López-Quesada E, Vilaseca M A, Artuch R, Gómez E, Lailla J M.** Homocysteine and other plasma aminoacids in preeclampsia and in pregnancies without complications. *Clin Biochem* 2003; 36: 185-192.
 15. **Diez-Ewald M, Fernández G, Bonilla E, Portillo B, Vizcaíno G, Machado H.** Concentraciones de ácido fólico y cisteína en suero materno y del cordón umbilical. Influencia en el desarrollo del embarazo y el parto y condiciones del recién nacido. *Invest Clín* 1988; 29: 205-217.
 16. **Roberts JM.** Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol* 1998; 16: 5-15.
 17. **Chambers JC, Obeid OA, Kooner JS.** Physiological increments in plasma homocysteine induces vascular endothelial dysfunction in normal human subjects. *Arteriocler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2922-2927.
 18. **Ray J C, Laskin C A.** Folic acid and homocysteine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: A systematic review. *Placenta* 1999; 20: 519-529.
 19. **Diez-Ewald M, Vizcaíno G, Zambrano-Rodríguez N.** Niveles de ácido fólico y vitamina B₁₂ en habitantes de la ciudad de Maracaibo. *Invest Clín* 1987; 28:75-85.
 20. **Murphy M M; Scott J M, McPartlin J M, Fernández-Ballart J D.** The pregnancy related decrease in fasting plasma homocysteine is not explained by folic acid supplementation, hemodilution, or a decrease in albumin in a longitudinal study. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 614-619.
 21. **Zeeman GG, Alexander JM, McIntire DD, Devaraj S, Leveno KJ.** Homocysteine plasma concentration levels for the prediction of preeclampsia in women with chronic hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189: 574-576.
 22. **D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Ientile R, Granese D, Stella NC.** Plasma homocysteine in early and late pregnancies complicated with preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83: 155-158.
 23. **Rothenberg S P, da Costa M P, Sequeira J M, Cracco J, Roberts JL, Weedon J, Quadros EV.** Autoantibodies against Folate Receptors in Women with a Pregnancy Complicated by a Neural-Tube Defect. *N Engl J Med* 2004; 350: 134-142.
 24. **Wald NJ.** Folic Acid and the Prevention of Neural-Tube Defects. *N Engl J Med* 2004; 350:101-103.