

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

## La vía de señalización Notch en el origen de algunas malformaciones congénitas

### The Notch Signaling Pathway at the Origin of Some Congenital Malformations

Noel Taboada Lugo

Centro Provincial de Genética Médica de Villa Clara. Cuba.

---

#### RESUMEN

La vía de señalización Notch desempeña un papel clave para regular el destino celular, crecimiento, proliferación y la muerte celular programada durante el desarrollo de organismos eucariotas. Esta vía está relacionada con una enorme diversidad de procesos del desarrollo y su disfunción está implicada en el origen de muchas malformaciones congénitas. Se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de actualizar la información sobre la vía de señalización Notch y su relación con el origen de diferentes malformaciones congénitas sensibles a la deficiencia materna de ácido fólico y otros micronutrientes. La literatura médica publicada en idiomas español e inglés se recopiló a través de buscadores como PubMed, Medline, Scielo, Lilacs y la biblioteca Cochrane en enero de 2018 usando palabras clave apropiadas. El conocimiento de esta vía de señalización podría ayudar a comprender mejor algunos aspectos de la morfogénesis, ya que, al actuar como un controlador maestro del destino celular, la proliferación, diferenciación y muerte celular programada, ofrece puntos específicos y susceptibles de intervención que posibilitan la prevención de determinadas malformaciones congénitas en el hombre.

**Palabras clave:** vía de señalización Notch; malformaciones congénitas; cardiopatías congénitas; labio leporino; defectos del tubo neural.

---

#### ABSTRACT

Notch signaling pathway plays a key role to regulate cell grow, fates, proliferation and programmed cell death in development of eukaryotic organisms. This pathway is related with an enormous diversity of developmental processes and its dysfunction is implicated in the origin of many congenital malformations. A review was performed to provide updated information on Notch signaling pathway involved in the origin of some congenital malformations related with maternal deficiency of folic acid and other micronutrients. Published medical literature in Spanish and English languages

was retrieved from PubMed, Medline, Scielo, Lilacs and the Cochrane Library in January 2018, using appropriate key words. Knowledge about this signaling pathway could help to better understand some topics of morphogenesis, since by acting as a master controller of cell fate, proliferation, differentiation and programmed cell death, it offers susceptible and specific points which make possible to prevent some human congenital malformations.

**Keywords:** signaling pathways, Notch signaling pathway, epigenetics mechanisms, congenital malformations, congenital heart diseases, harelips, neural tube defects.

## INTRODUCCIÓN

Los receptores Notch interactúan con ligandos específicos y desencadenan una cascada de señales intracelulares que regulan actividades celulares, como son: el crecimiento (comienza con las primeras divisiones celulares aún no diferenciadas y se logra a través de las divisiones celulares mitóticas, junto con la producción de matrices extracelulares), la diferenciación celular (donde están involucrados diferentes mecanismos bioquímicos, moleculares y celulares), la motilidad o migración celular (proceso por el cual muchas estructuras corporales se distribuyen y ordenan, basado en los mecanismos de reconocimiento y la adhesividad celular).<sup>1</sup>

Durante la embriogénesis, las células migran en colonias celulares, las que tienen estas características, se desplazan siguiendo itinerarios predeterminados genéticamente para cada tipo celular específico. Las células que migran cambian su estructura citoplasmática en su lado frontal, donde aparecen invaginaciones anchas y aplanadas como láminas, que reciben el nombre de lamelipodios, donde intervienen proteínas del citoesqueleto. De cada una de estas estructuras, aparecen otras en forma de púas como finos pseudópodos, denominados micropúas, que poseen en su interior filamentos de actina agrupados en conjuntos, estas micropúas se adhieren a las zonas marcadas por la fibronectina, se contraen y avanzan de este modo a sitios específicos, por reconocimiento de las moléculas de proteínas, hasta su destino.

Mientras que la adhesividad es determinada por glicoproteínas denominadas moléculas de adhesión celular. Estas proteínas desaparecen en cuanto las células comienzan a migrar y reaparecen al llegar a su punto de destino, donde se ensamblan con otras células para formar el tejido determinado.<sup>2</sup>

Las conexiones entre las células nerviosas y entre estas con las células musculares tienen una particularidad. Las neuronas hacen crecer sus axones, más que migrar, y permanecen en su sitio en los cuerpos celulares, para esto, en el extremo distal de los axones que hacen contacto entre ellos o con la fibra muscular, se desarrolla una estructura a la que se denomina: cono de crecimiento, que remeda a los lamelipodios de la célula migratoria, pero en lugar de micropúas son prolongaciones más largas denominadas filipodios.<sup>1, 2</sup>

Otros eventos celulares que tienen una gran importancia en el desarrollo embrionario, donde también está involucrada la vía de señalización Notch, son la apoptosis o muerte celular programada y la inducción embrionaria.<sup>3</sup>

La apoptosis es un fenómeno programado en el desarrollo embrionario que permite la aparición de orificios, formación de tubos y la eliminación de células y estructuras vasculares transitorias. Las células en apoptosis sufren cambios hasta convertirse en fragmentos de derivados nucleares y organoides citoplasmáticos que quedan incluidos en vesículas, las cuales son fagocitadas por macrófagos y células vecinas que provocan su degradación final.<sup>2, 3</sup>

Por su parte, la inducción es un término que indica la influencia de un tejido embrionario sobre otro, de manera que los dos, el inductor y el inducido, se diferencian para formar tejidos maduros muy distintos. A través de este mecanismo se desarrollan los órganos, que ocurre por medio de interacciones entre las células y los tejidos, donde un grupo de células o tejidos induce a otro conjunto de células o tejidos a cambiar su destino. Para que ocurra la inducción es esencial la señalización entre células, y que se origine una respuesta en la que se establezca un diálogo entre la célula inductora y la inducida.<sup>4</sup>

La especificidad de la inducción no es la molécula inductiva, sino los receptores sobre la membrana de la célula inducida. Esta distinción es importante porque otras moléculas ajenas, pero con similitud a las naturales, en ocasiones son reconocidas por el receptor como iguales y de esta manera desempeñan el papel de teratógeno, si el embrión se expone a un agente de esta categoría.

La inducción tiene lugar durante un periodo de tiempo muy preciso y limitado. Al lapso de tiempo de respuesta de la célula inducida se le denomina: su competencia, y la misma célula no es capaz de responder ni antes ni después de este período. La membrana receptora, que representa la especificidad de la inducción, también está genéticamente programada, así, por ejemplo, la vía de señalización Notch tiene una importancia especial en regular la competencia de una célula a reaccionar a las señales inductoras que provienen de dentro del tubo neural y de los otros tejidos embrionarios circundantes.<sup>4-7</sup>

## DESARROLLO

### Eventos celulares en el desarrollo embrionario

Los receptores Notch interactúan con ligandos específicos y desencadenan una cascada de señales intracelulares que regulan actividades celulares, como son: el crecimiento (comienza con las primeras divisiones celulares aún no diferenciadas y se logra a través de las divisiones celulares mitóticas, junto con la producción de matrices extracelulares), la diferenciación celular (donde están involucrados diferentes mecanismos bioquímicos, moleculares y celulares), la motilidad o migración celular (proceso por el cual muchas estructuras corporales se distribuyen y ordenan, basado en los mecanismos de reconocimiento y la adhesividad celular).<sup>1</sup>

Durante la embriogénesis, las células migran en colonias celulares, las que tienen estas características, se desplazan siguiendo itinerarios predeterminados genéticamente para cada tipo celular específico. Las células que migran cambian su estructura citoplasmática en su lado frontal, donde aparecen invaginaciones anchas y aplanadas como láminas, que reciben el nombre de lamelipodios, donde intervienen proteínas del citoesqueleto. De cada una de estas estructuras, aparecen otras en forma de púas como finos seudópodos, denominados micropúas, que poseen en su interior filamentos de actina agrupados en conjuntos, estas micropúas se adhieren a

las zonas marcadas por la fibronectina, se contraen y avanzan de este modo a sitios específicos, por reconocimiento de las moléculas de proteínas, hasta su destino.

Mientras que la adhesividad es determinada por glicoproteínas denominadas moléculas de adhesión celular. Estas proteínas desaparecen en cuanto las células comienzan a migrar y reaparecen al llegar a su punto de destino, donde se ensamblan con otras células para formar el tejido determinado.<sup>2</sup>

Las conexiones entre las células nerviosas y entre estas con las células musculares tienen una particularidad. Las neuronas hacen crecer sus axones, más que migrar, y permanecen en su sitio en los cuerpos celulares, para esto, en el extremo distal de los axones que hacen contacto entre ellos o con la fibra muscular, se desarrolla una estructura a la que se denomina: cono de crecimiento, que remeda a los lamelipodios de la célula migratoria, pero en lugar de micripúas son prolongaciones más largas denominadas filipodios.<sup>1,2</sup>

Otros eventos celulares que tienen una gran importancia en el desarrollo embrionario, donde también está involucrada la vía de señalización Notch, son la apoptosis o muerte celular programada y la inducción embrionaria.<sup>3</sup>

La apoptosis es un fenómeno programado en el desarrollo embrionario que permite la aparición de orificios, formación de tubos y la eliminación de células y estructuras vasculares transitorias. Las células en apoptosis sufren cambios hasta convertirse en fragmentos de derivados nucleares y organoides citoplasmáticos que quedan incluidos en vesículas, las cuales son fagocitadas por macrófagos y células vecinas que provocan su degradación final.<sup>2,3</sup>

Por su parte, la inducción es un término que indica la influencia de un tejido embrionario sobre otro, de manera que los dos, el inductor y el inducido, se diferencian para formar tejidos maduros muy distintos. A través de este mecanismo se desarrollan los órganos, que ocurre por medio de interacciones entre las células y los tejidos, donde un grupo de células o tejidos induce a otro conjunto de células o tejidos a cambiar su destino. Para que ocurra la inducción es esencial la señalización entre células, y que se origine una respuesta en la que se establezca un diálogo entre la célula inductora y la inducida.<sup>4</sup>

La especificidad de la inducción no es la molécula inductiva, sino los receptores sobre la membrana de la célula inducida. Esta distinción es importante porque otras moléculas ajenas, pero con similitud a las naturales, en ocasiones son reconocidas por el receptor como iguales y de esta manera desempeñan el papel de teratógeno, si el embrión se expone a un agente de esta categoría.

La inducción tiene lugar durante un periodo de tiempo muy preciso y limitado. Al lapso de tiempo de respuesta de la célula inducida se le denomina: su competencia, y la misma célula no es capaz de responder ni antes ni después de este período. La membrana receptora, que representa la especificidad de la inducción, también está genéticamente programada, así, por ejemplo, la vía de señalización Notch tiene una importancia especial en regular la competencia de una célula a reaccionar a las señales inductoras que provienen de dentro del tubo neural y de los otros tejidos embrionarios circundantes.<sup>4-7</sup>

### Vías de transducción de señales

El desarrollo de un organismo pluricelular después de la fusión de los gametos y de la aparición de las tres capas germinales del embrión (gastrulación), está controlado por la vía de transducción de señales que regulan las actividades de las diversas

células que constituyen un organismo multicelular. La transducción de señales es un proceso complicado en el cual participan una variedad de proteínas que forman uno o más complejos multiproteicos o transduccisomas.<sup>8</sup>

Una vía de traducción de señal está formada por una molécula señalizadora (el ligando) y un receptor. Estas vías se activan ya sea cuando el ligando se une a receptores localizados en la membrana plasmática de la célula o cuando el ligando penetra al citoplasma y se une a receptores intracelulares. Los complejos ligando-receptor formados transfieren el estímulo inicial por medio de una serie de eventos finamente controlados y acoplados que generan una respuesta, tanto en el metabolismo como en la expresión de genes en la célula estimulada, que regulan en gran medida los diferentes aspectos del comportamiento celular, incluyendo la motilidad, la proliferación, su supervivencia y la diferenciación celular.

La transducción de señales entre las células es esencial para que pueda establecerse un diálogo entre la célula inductora y la inducida. Estas líneas de comunicación se establecen mediante interacciones que pueden ser de tipo paracrina o yuxtacrina. En la interacción paracrina, participan factores difusibles, y la proteína responsable de la señalización recibe el nombre de factores paracrinos o factores de crecimiento y diferenciación (GDF del inglés: growth and differentiation factors). En la interacción yuxtacrina, intervienen diversos factores no difusibles, entre los que se pueden encontrar productos de la matriz extracelular, ligando unidos a la superficie de las células y comunicaciones directas entre células.

En la señalización paracrina, los GDF actúan a través de vías de transducción de señales ya sea mediante la activación directa de una vía o bloqueando la actividad de un inhibidor de una vía. El receptor generalmente se extiende por la membrana celular y se activa al unirse al ligando específico y lo induce a un cambio de conformación que activa su dominio citoplasmático.

El objetivo de esta activación consiste en conferir actividad enzimática al receptor. Esta actividad es la de una proteína cinasa que es capaz de fosforilar otras proteínas mediante adenosín trifosfato como sustrato. A su vez, la fosforilación induce a la proteína a fosforilar más proteínas y, de esta manera, se establece una cascada de interacciones proteicas que acaba activando un factor de transcripción, el que activa o inhibe la expresión génica.<sup>6-10</sup>

En la señalización yuxtacrina, una proteína de la superficie de la célula interactúa con el receptor de una célula adyacente mediante un proceso análogo a la señalización paracrina. La más frecuente es la vía Notch, donde la proteína receptora de Notch se extiende a través de la membrana celular y se une a células que poseen proteínas específicas en sus membranas celulares.<sup>11</sup>

Las señales también se pueden transmitir directamente de una célula a otra a través de las uniones intercelulares comunicantes. Las uniones mismas están formadas por proteínas de conexión que forman un canal, y estos canales están "conectados" con los de las células vecina. Este tipo de comunicación es importante en las células que se disponen muy juntas, como las del epitelio intestinal y las del tubo neural, ya que les permiten actuar coordinadas.

En el proceso de transducción de señales existe una gran cantidad de elementos redundantes, de manera que otros genes de la familia pueden compensar la falta de uno de sus homólogos. Por consiguiente, la pérdida de una función de una proteína señalizadora a causa de una mutación génica no produce necesariamente una alteración en el desarrollo o la muerte celular. Además, existe un diálogo entre las

vías, por lo que están estrechamente interconectadas lo que proporciona numerosas ubicaciones adicionales para regular la señalización.<sup>9,11</sup>

### Vía de señalización Notch

La vía de señalización celular Notch establece un mecanismo de comunicación intercelular que ejerce un papel regulador en el desarrollo de los metazoarios. Esta vía está conservada evolutivamente en la escala filogenética y debe su nombre (notch, traducido del inglés: escotadura) al fenotipo que causan mutaciones en el gen que codifica su receptor. Este fenotipo se caracteriza por escotaduras en los márgenes alares de la mosca de fruta (*Drosophila melanogaster*) y fue descrito originalmente por John S. Dexter en el año 1914. Posteriores estudios realizados en esta especie, permitieron que, en 1917 Thomas Hunt Morgan describiera al sistema Notch como responsable de la neurogénesis y la especificación del ectodermo en la mosca de la fruta, ya que los embriones mutantes expresaban anomalías en el linaje celular neural.<sup>9,10,12</sup>

Las proteínas que componen la vía Notch se pueden separar en dos grupos. En el primero, se ubican las proteínas que funcionan como ligandos, receptores, represores, correpresores y factores de la transcripción, las cuales constituyen el núcleo de la vía y son las que transducen la señal. En el segundo grupo, se incluye a las proteínas reguladoras que modulan la respuesta celular e influyen en la duración de la señal recibida. Esto modifica de manera directa a las proteínas integrantes del primer grupo por medio de las actividades de las enzimas glucosiltransferasa, proteasa, metaloproteasa y ubiquitin-ligasa.<sup>9,11</sup>

Los genes Notch codifican receptores transmembranales de aproximadamente 300 kd, cuya estructura está altamente conservada. Los productos de cada gen se expresan como un solo polipéptido precursor (pre-Notch) que es procesado proteolíticamente en el complejo de Golgi a través de una hidrólisis generada por la enzima convertasa similar a Furina, dando lugar a un precursor heterodimérico activo. Este último se ancla posteriormente en la membrana y consiste en una subunidad extracelular (EC) y una subunidad transmembranal (TM) que está unida a la región intracitoplásmica. Este primer sitio de acción de la Furina en el aparato de Golgi, es conocido como el sitio de clivaje S1.<sup>9-11</sup>

La región EC contiene varias repeticiones en su secuencia de aminoácidos, similares a la del factor de crecimiento epidérmico (EGF-like, del inglés: epidermic growth factor), lo que constituye las repeticiones 11 y 12 el principal sitio de unión a su ligando proveniente de otra célula vecina. Cuando el receptor Notch lleva a cabo la unión con su ligando, la subunidad TM es procesada proteolíticamente por la proteína Presenilina-1 (parte del complejo enzimático gamma-secretasa), lo que genera un fragmento intracelular que en el núcleo se une (a través de su dominio RAM23) a los ligandos del receptor Notch, que en invertebrados son conocidos como Delta y Serrate para *D. melanogaster*, en tanto en el nemátodo *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) se conoce LAG-2; por lo que a estos ligandos se les ha llamado colectivamente como grupo DSL (Delta, Serrate, Lag-2). En ciertos casos, puede ocurrir una regulación negativa por ubiquitinación y degradación de la Presenilina-1, lo que evita que el fragmento intracelular sea liberado.<sup>10-13</sup>

En mamíferos se ha identificado dos clases de ligandos homólogos de Delta y Serrate, denominados "Delta-like" y Jagged (JAG), respectivamente. En total, se conocen cinco ligandos en mamíferos denominados JAG1 y JAG2, así como Delta like 1, 3, y 4 (DL1, DL3, y DL4). Las diferencias estructurales en esta familia de ligandos son el número y el espaciamiento de las repeticiones a nivel del dominio EC y la presencia o ausencia de un dominio rico en cisteína (CR, del inglés: cysteine riched) localizado

corriente abajo de las repeticiones EGF-like, específicamente en los ligandos JAG1 y JAG2.<sup>9,14,15</sup>

Las proteínas DSL se caracterizan por tener un solo cruce transmembranal y su dominio N-terminal resulta esencial para su interacción con los receptores Notch, se localizan en células de decisión primaria y funcionan como ligandos, es decir son las encargadas de transmitir el estímulo a las células receptoras, las cuales responden siguiendo un destino celular alterno.

Los cuatro receptores Notch en mamíferos (Notch 1-4) tienen estructuras muy similares entre sí, con diferencias esenciales en las porciones EC e IC. Los receptores Notch-1 y 2 contienen 36 repeticiones EGF-like en sus dominios EC, mientras que Notch-3 contiene 34 y Notch-4 solamente 29. Mientras que a nivel del dominio IC se diferencian en que Notch-1 contiene un dominio de transactivación (TAD, por sus siglas en inglés) fuerte, mientras que en Notch-2 su TAD es débil y en Notch-3 y 4 este dominio no está presente en las posiciones 11 y 12.<sup>4,9,10</sup>

Los elementos repetidos EGF-like se encargan de modificar la actividad de Notch, lo que potencia e inhibe la interacción con los ligandos, así como estabiliza la estructura del receptor. Adyacentes a estos elementos repetidos hay tres zonas CR conocidas como secuencias repetidas LNG (por estar conservadas en las proteínas LIN12, Notch y GLP-1), esenciales para la estabilidad y la correcta conformación del dominio extracelular. Entre las secuencias repetidas LNG y el dominio transmembranal, existen dos residuos de cisteína importantes para el ensamble de la forma de estas proteínas.

El dominio intracelular de todas las proteínas de la familia LIN-12/Notch está evolutivamente conservado y consiste en un dominio RAM (del inglés: RBP-jk association module), seis elementos de anquirina y un dominio C terminal que es rico en prolina (P), glutamato (E), serina (S) y treonina (T), por lo que se nombra con el acrónimo PEST. La interacción ligando-receptor y la subsecuente endocitosis del ligando-dominio EC en la vecindad celular provoca la exposición del sitio de clivaje S2, que estaba previamente oculto en la membrana, y de esta forma se expone a la acción de las enzimas proteasas ADAM (del inglés: a desintegrin and metalloprotease), entre las cuales la proteasa ADAM10 desempeña el papel fundamental en este proceso proteolítico. Subsecuentemente, ocurren otros clivajes intracelulares (S3/S4) por la acción del complejo gamma-secretasa, resultando en la liberación del dominio intracelular (IC).

Los seis elementos repetidos de anquirina se encuentran flanqueados por la región de interacción con factores transcripcionales (RAM), mediante la cual el dominio IC interactúa con los factores activadores de la transcripción CBF1, Supresor de Hairless [Su(H)] y Lag-1 (grupo CSL), que le sirve de puente a NIC para interactuar con el ADN.<sup>9-11,16</sup>

Además, RAM y los elementos repetidos de anquirina de NIC regulan la expresión de proteínas que presentan una estructura común de hélice-lazo-hélice (proteínas bHLH, del inglés: basic helix-loop-helix), formada por dos pequeñas cadenas de aminoácidos en forma de hélice unidas por un lazo, esto produce la inmovilización de una de las hélices que se une al promotor del gen y la otra que mantiene a la hélice lectora en la posición correcta, las cuales actúan como factores transcripcionales para la expresión de los genes cuyos productos dirigirán a la célula a un destino celular diferente al de la célula que emitió el estímulo.

Hacia la región C-terminal de los elementos repetidos de anquirina, se encuentra el dominio activador de la transcripción (TAD, del inglés: transcription activator

domain), cuya función es reclutar acetilasas de histonas para generar una conformación abierta de la cromatina en la doble cadena del ADN. Cerca de TAD se encuentra la región PEST (rica en prolina, glutamato, serina y treonina), que es esencial para la degradación, previa ubiquitinación, de NIC. Finalmente, existen dos señales de localización nuclear (nls, del inglés: nuclear localization signal), una dentro del dominio RAM y la otra entre los elementos repetidos de anquirina y el dominio TAD, que le permiten a NIC entrar al núcleo de la célula.<sup>9-11</sup>

Las proteínas moduladoras de la unión receptor-ligando a nivel EC son las proteínas "Fringe" en *Drosophila* y sus homólogos en mamíferos, "Lunatic Fringe, Radical Fringe, y Maniac Fringe". Además, se han identificado proteínas que modulan la degradación/procesamiento de Notch a nivel intracelular; en *C. elegans* se conocen las proteínas Sel-1 y Sel-10 y en *Drosophila*, la proteína Numb que actúa regulando negativamente la señalización al unirse con la región intracelular de Notch.<sup>9,10,17</sup>

En aves y mamíferos se ha observado que NIC se une al grupo de factores transcripcionales CSL para potenciar la expresión de la proteína reguladora Lunatic Fringe (Lfng), que al glucosilar directamente a Notch, regula de manera negativa la separación de NIC de la membrana plasmática de la célula receptora. Se ha observado que la disminución de la concentración de Lfng resulta en un incremento de la actividad de NIC.<sup>17,18</sup>

Esta activación/inhibición cíclica de Notch coincide con la del ligando Delta, lo cual ayuda a sincronizar adecuadamente todos los eventos de especialización celular que ocurren, por ejemplo, en la formación de cada somita. Se ha reportado también que la actividad de Lfng promueve el mecanismo de señalización inductiva, lo cual resulta lógico porque este proceso es necesario para que aparezcan límites precisos entre grupos de células que ya han definido su linaje.<sup>14,15</sup>

Entre las proteínas reguladoras se encuentra la proteína Hairless, que actúa como un potente antagonista de la vía Notch y se requiere para la especificación de varios destinos celulares. A diferencia de los demás integrantes de esta vía, el gen Hairless está poco conservado entre las diferentes especies. Por último, los genes blanco o diana de Notch incluyen factores de transcripción represores pertenecientes a las familias de proteínas HES (del inglés: hairy and enhancer of Split) y HRT/HERP/Hey (familia bHLH), IL-4, p21, etc. Otros genes diana de Notch incluyen proteínas y factores involucrados en el control del ciclo celular y procesos de supervivencia como: p21WAF1/Cip1, inhibidor quinasa dependiente de ciclina, que actúa como un sensor y un efector de señales antiproliferativas; Deltex, regulador positivo de la actividad de Notch; factor nuclear kappa B (NF-κB), factor de transcripción; ciclina D1, sensor mitogénico y activador alostérico de la quinasa dependiente de ciclina CDK4/6; CD25, gen diana en células T; c-myc, oncogen y regulador del ciclo celular; entre otros genes como ADAM19, los mismos Notch1 y 3; y hoxA5, 9 y 10.<sup>5,7,9-11</sup>

Los genes HES fueron descritos inicialmente como genes neurogénicos en *D. melanogaster*, debido a que los embriones carentes de su función mostraban un incremento en el número de neuroblastos a expensas de precursores epidermales. Se ha demostrado que los genes HES promueven el mantenimiento de células madre y progenitoras y, regulan las decisiones de destino celular binario en diferentes órganos. Además, gracias a la actividad represora de estos genes, la vía de señalización Notch restringe la diferenciación neuronal y regula eventos del desarrollo, como la segmentación somítica. Otra característica importante de esta familia es la capacidad de autoregularse, produciendo patrones de expresión oscilatorios en algunos tejidos como somitas, extremidades y progenitores neuronales.<sup>12,13,19</sup>



## Regulación epigenética

Los mecanismos específicos que están involucrados en la transcripción Notch-dependiente no son aún bien conocidos, sin embargo, estudios realizados en células de mamíferos han revelado un importante número de cofactores reclutados, estos incluyen la histona acetil transferasa GCN5, así como la enzima Brahma relacionada con el remodelado de la cromatina (conocida como BRM), la cual interactúa directamente con las proteínas CSL.<sup>20</sup>

Investigaciones recientes indican que la vía de señalización Notch requiere el reclutamiento de complejos de histona acetilasas e intercambio de variantes de histonas para activar la transcripción. En adición, el gen BRE1, un homólogo del gen que codifica en levaduras para la histona 2B ubiquitin ligasa, es crucial para la función de la vía Notch in vivo y estimula la transcripción dependiente de Notch. También la sumoilación, que consiste en la adición de una "pequeña proteína reguladora relacionada con la ubiquitina" (SUMO, del inglés: small ubiquitin-related modifier protein) de aproximadamente 100 aminoácidos, puede regular la actividad de componentes nucleares claves.<sup>5,12,18,20</sup>

Estos elementos muestran que la vía de señalización Notch es altamente sensible a las modificaciones de la cromatina y a las modificaciones de las histonas, procesos epigenéticos que contribuyen a la especificidad de genes diana. De igual forma, la sobreexpresión de dos grupos *Polycomb* que provocan el silencio transcripcional, incrementan la proliferación celular inducida por Notch y causa la hipermetilación de algunos genes, emergiendo como un mecanismo adicional que puede actuar de conjunto con la vía de señalización Notch en los diferentes programas de expresión génica.<sup>21</sup>

## Expresión y función de la vía de señalización Notch

La función de la señalización Notch involucra una gran variedad de procesos celulares incluyendo el mantenimiento de células troncales, especificación del destino celular, diferenciación, proliferación y apoptosis, por lo que posee efectos pleiotrópicos en diferentes órganos. Los tres efectos principales son: el mantenimiento de las células troncales o precursoras en un estado no diferenciado; la influencia en las decisiones del destino celular y la habilidad de influenciar la diferenciación y la progresión del ciclo celular. Ejemplo de ello es el sistema nervioso, en el cual Notch promueve la diferenciación de varios tipos celulares de la glia incluyendo astrocitos, células de Schwann, células de Müller y células radiales.<sup>5,9,10,19</sup>

Estudios en mamíferos muestran que los niveles de expresión de sus homólogos correspondientes comienzan tardíamente durante su desarrollo embrionario. Las proteínas se expresan como patrones dinámicos en tejidos que llevan a cabo la determinación del destino celular o la aceleración de la proliferación.<sup>11</sup>

Entre las diversas funciones de la vía de señalización Notch las mejores caracterizadas son la inhibición e inducción lateral, procesos de gran importancia en la asignación de destino celular, en diferenciación celular binaria, entre otros. En la inhibición lateral, la actividad de Notch individualiza una célula de células adyacentes. Mientras que durante la inducción lateral o en interacciones más complejas, un territorio completo se hace diferente a la región adyacente, promoviendo un nuevo destino celular en dicho territorio, durante la inhibición lateral existe un grupo de células precursoras que expresan tanto receptores como ligandos.<sup>9,10</sup>

Posteriormente, en algunas células disminuye la expresión del receptor y aumenta la del ligando, generando una mezcla de células con alto o bajo nivel de ligandos. La

sobreexpresión del ligando estimula la activación de la vía en células vecinas, las cuales disminuyen la expresión de sus ligandos. El resultado son dos poblaciones distintas que adoptan diferentes destinos celulares, generando lo que se conoce como "patrón de sal y pimienta". La inhibición lateral usualmente depende de los ligandos Dll1 o Jag2/Ser2, como ocurre en los parches sensoriales para la determinación del destino celular entre célula ciliada o de soporte en el oído.<sup>10,22</sup>

Otro mecanismo mediante el cual la vía Notch controla el destino de las células que se encuentran en proceso de diferenciación es el denominado: división asimétrica o decisión de linaje. Este mecanismo se caracteriza porque después de cada división celular, cada una de las dos células hijas es inducida a adquirir una especialización diferente. Esto ocurre porque NIC es funcional sólo en una de ellas. En la otra célula, NIC es capturado en vesículas, evitando que llegue al núcleo y active la transcripción de proteínas bHLH.

Las proteínas Notch se expresan, en la fase inicial de la embriogénesis en mamíferos, en los tejidos que constituyen al mesodermo pre-somita y el neuroepitelio del embrión en desarrollo. La expresión de Notch-1 se visualiza a lo largo de todo el mesodermo pre-somita, en particular, en áreas densas a nivel del borde anterior del mesodermo. Se encontró que dicha expresión disminuye una vez que las somitas se han formado por completo e indica la posible función de Notch-1 en la diferenciación de las células precursoras de las somitas.<sup>9,10</sup>

En el año 2004, *Baldi* y otros caracterizaron la expresión específica de Notch-1 a través de un arreglo de 59 tipos de tejidos normales humanos. Se demostró que Notch-1 se expresa a altas concentraciones en una amplia variedad de tejidos en el epitelio estratificado de la epidermis y en capas suprabasales intermedias de las mucosas de la cavidad oral, esófago, ectocérvix y vagina. Se observaron niveles intermedios a bajos en linfocitos de algunos tejidos linfoides periféricos, particularmente en centros germinales de nódulos linfáticos.<sup>23</sup>

Algunos ejemplos de la participación de la vía Notch son la inhibición del desarrollo neuronal, ya que parece ser que los genes diana *Hes1* y *Hes 5* median muchos o quizás todos los efectos producidos por Notch, el desarrollo del páncreas, donde el blanco de Notch es el gen *HES-1*; en el desarrollo cardiaco el gen *Hey2*; y en el desarrollo vascular los genes *Hey1* y *Hey2*.<sup>24-26</sup>

Los patrones de expresión de Notch en el desarrollo del embrión de *Drosophila* son bastante complejos y dinámicos. La proteína Notch se expresa, de manera amplia, en la fase temprana del desarrollo del embrión y subsecuentemente su expresión se restringe a grupos de células proliferativas. Los tejidos con mayores niveles de expresión incluyen el cerebro, los ojos y el tubo neural<sup>12,13</sup>

### **Malformaciones congénitas sensibles a la deficiencia materna de ácido fólico y otros micronutrientes**

Las malformaciones congénitas (MC) son un importante problema de salud pública que repercute en la familia y en la sociedad. En la actualidad, se han identificado múltiples factores causales, tanto genéticos como ambientales, así como complejas interacciones entre los genes y el ambiente, lo que se conoce como herencia multifactorial.

La exposición materna a factores ambientales de tipo nutricionales durante la gestación puede influir en el desarrollo embriológico y modular su fenotipo, aún sin afectar su secuencia normal de nucleótidos, mediante diferentes mecanismos epigenéticos. La disponibilidad de diferentes micronutrientes 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.<sup>21</sup>

Diferentes vitaminas y minerales, denominados colectivamente como micronutrientes, tienen una influencia decisiva en la salud de la embarazada y del producto de la concepción. Está claramente demostrado que los folatos desempeñan un rol crucial en la regulación epigenética del programa de desarrollo embrionario y su deficiencia implica además de consecuencias hematológicas, diferentes MC. La demostrada teratogenicidad de la deficiencia materna de Zinc en ratas, ha llevado a un creciente interés en el papel de este y otros elementos trazas como el selenio, magnesio, cobre, entre otros, en el desarrollo embrionario.<sup>27</sup>

En un estudio prospectivo de cohorte realizado en Arabia Saudita con el objetivo de identificar la relación entre la deficiencia de micronutrientes y las MC, se observó que los niveles séricos de los micronutrientes analizados (selenio, zinc, magnesio y vitaminas A, E, B12, y ácido fólico) fueron significativamente menores en las madres con hijos con MC que en aquellas con descendencia sin defectos congénitos.<sup>28</sup>

Las hendiduras del labio y del paladar son las MC craneofaciales más frecuentes, afectan alrededor de 1 de cada 1000 recién nacidos, y tienen gran relevancia no solo por las grandes implicaciones cosméticas sino, sobre todo, funcionales que provocan.<sup>25</sup> En diferentes estudios poblacionales de cohorte realizados los investigadores concluyeron que el consumo preconcepcional de ácido fólico se asoció a un riesgo reducido para estas MC en recién nacidos de zonas de alta prevalencia de estos defectos congénitos en China.<sup>29-30</sup>

Las MC más frecuentes a nivel mundial son las cardiopatías congénitas (CC) y los defectos del tubo neural (DTN). Está bien documentada la asociación entre la suplementación materna preconcepcional con ácido fólico y la reducción del riesgo de estas MC.<sup>19,24,26,27,31</sup>

El zinc y el cobre son micronutrientes minerales esenciales que regulan numerosos procesos metabólicos y cuya deficiencia produce anomalías fisiológicas y estructurales. El zinc actúa como cofactor de numerosas enzimas e interviene en la síntesis de ADN y ARN, su déficit se ha asociado a MC; especialmente esqueléticas y defectos del tubo neural. Mientras que la deficiencia de cobre se asocia a trastornos bioquímicos y estructurales en el feto, además de anemia refractaria y trastornos inmunológicos.<sup>27,31</sup>

Se ha demostrado que la suplementación con ácido fólico puede prevenir muchos casos con DTN, mientras que la deficiencia materna de folatos constituye un factor de riesgo, lo que evidencia que el metabolismo del folato desempeña un papel determinante en la susceptibilidad para los DTN. A pesar del sinnúmero de estudios que se han realizado a nivel internacional relacionados con el análisis genético de diferentes enzimas que intervienen en el metabolismo de los folatos, así como la cuantificación de metabolitos en sangre materna, en la mayoría de los casos aún no está bien dilucidado el mecanismo de protección, ni la relación entre el estatus de folato materno y la susceptibilidad para estos defectos congénitos.<sup>27,28,31</sup>

### **Relación entre la vía de señalización Notch y la presencia de MC**

La vía de señalización Notch desempeña un papel importante en el desarrollo del período embrionario, donde se producen numerosas diferenciaciones tisulares (histogénesis), aparecen los esbozos de la mayor parte de los órganos (organogénesis) y se gesta la forma definitiva del embrión (morfogénesis). Resulta fundamental para que las capas germinales den origen a los tejidos que constituyen

un organismo multicelular y controla críticamente las decisiones del destino celular en numerosos tejidos y en diversos tiempos de la diferenciación celular.

Por ello, es razonable pensar entonces que cualquier desregulación de la función de Notch, como consecuencia de mutaciones en cualquiera de los múltiples genes involucrados en esta vía, puede resultar en diferentes tipos de MC.<sup>1,7</sup>

La ocurrencia de un tipo específico de MC depende del mecanismo del desarrollo que esté involucrado; así, las alteraciones de la motilidad celular afectan la posición o la orientación final de los órganos. La ausencia de apoptosis hace que persistan estructuras que normalmente desaparecen. Las inducciones defectuosas provocan la agenesia o duplicación de estructuras o de órganos, y las diferenciaciones fallidas llevan a la síntesis de proteínas anormales, lo cual altera la morfología y la función de los tejidos.<sup>1,10</sup>

La vía de señalización Notch ha sido objeto de investigación en múltiples áreas, como en procesos de desarrollo de oídos, ojos, dientes, corazón, hígado, sistema nervioso, esquelético y muscular. Además, en procesos como hematopoyesis, desarrollo linfocítico, vasculogénesis y en enfermedades comunes del adulto como cáncer y diabetes mellitus, además de otras enfermedades, como las autoinmunes, entre otras.<sup>22,24-26,32</sup>

Estudios durante el desarrollo embrionario del ratón han revelado la conexión entre mutaciones de diferentes genes de la vía de señalización Notch y la presencia de diferentes MC craneofaciales. Esto evidencia que esta vía de señalización podría tener un papel en la formación de los arcos branquiales, protagonistas en la morfogénesis de la cara y el cuello. Con la modulación de la vía Notch en puntos específicos, empleando modelos tanto *in vitro*, originando líneas celulares específicas, como *in vivo*, que produce animales "knock out", se ha logrado una mejor comprensión de los aspectos moleculares de la biología del desarrollo y de ciertas MC. Así, recientes estudios han evidenciado alteraciones durante la morfogénesis dental de ratones mutantes JAG2-/- acompañada de defectos en la citodiferenciación de ameloblastos y deficiente deposición de matriz de esmalte. Estos estudios muestran como la vía de señalización Notch está implicada en el desarrollo de una variedad de estructuras craneofacial como paladar, dientes, maxilares y cráneo.<sup>9,10,25</sup>

De igual modo, se ha constatado que ratones con mutaciones homocigotas en el gen JAG2 presentan paladar hendido, como resultado de fusiones ectópicas entre la lengua y los procesos palatinos. Por otro lado, mutaciones inducidas en el gen HES1 generan defectos en el desarrollo de estructuras craneofacial, derivadas de las células de la cresta neural craneal que incluyen: paladar hendido, agenesia del hueso frontal, entre otras.<sup>25</sup>

Durante el desarrollo embrionario de los vertebrados, el primer órgano en formarse es el corazón. El desarrollo embrionario del corazón consiste en una serie de interacciones morfogenéticas complejas y específicas, que requieren del correcto funcionamiento de cada uno de los factores implicados en la cardiogénesis. La señalización de la vía Notch regula la diferenciación celular del proepicardio y del mesodermo pericárdico adyacente. La inhibición de la expresión de Notch en el linaje epicárdico inhibe la formación de las arterias coronarias, además reduce la proliferación de los cardiomiocitos y el grosor de la pared miocárdica.

Las cardiopatías congénitas (CC) aisladas son enfermedades multifactoriales, en las que los factores genéticos y ambientales son de gran relevancia. Los defectos de la septación son el tipo más común de CC, lo que representa 50 % de estas. Tanto en los modelos animales como en el estudio de familias afectadas, varios aspectos

moleculares en los defectos de septación aportan información que coincide en señalar genes específicos.

Es notable el conocimiento actual de la importancia que tienen en este grupo de CC diferentes factores de transcripción (FT), como NKX2,5, TBX5 y GATA4, estos FT, que comienzan a expresarse desde temprano en las células de linaje cardíaco, también regulan la expresión de los genes de proteínas contráctiles en cardiocitos. En etapas tardías del desarrollo cardíaco, las mutaciones en los genes que codifican para estos FT impiden que se desarrolle normalmente el proceso de septación atrial y ventricular. Otros ejemplos de mutaciones de genes pertenecientes a la vía de señalización Notch relacionados con CC conotrunciales, incluyen la tetralogía de Fallot, que involucra una mutación puntual (G274D) y expresa al ligando JAG1 en sentido erróneo.<sup>10,24,25</sup>

Las claves para interpretar las CC secundarias a mutaciones en el gen JAG1 comienzan a ser comprendidas e involucran al segundo campo del corazón (SHF, del inglés: *second heart field*). Se comprobó, a través de experimentos en modelos murinos, que mutaciones en JAG1 o la inhibición de la señalización Notch en el SHF provoca distintas CC, principalmente de la aorta y del tracto de salida. Los embriones de ratón en los que se interrumpió la vía mostraron defectos en el desarrollo de tejidos vecinos al SHF, por ejemplo, defectos en la migración de las células de la cresta neural y defectos en la transición endotelio-mesénquima en los cojines endocárdicos del tracto de salida. De este modo, se propone un modelo que relaciona la función de JAG1 dentro del SHF y su repercusión en la migración de células de la cresta neural y desarrollo de los cojines endocárdicos.<sup>33</sup>

Se ha demostrado la importancia de las células de la cresta neural en la formación de las válvulas semilunares y el músculo liso de la aorta ascendente, con las repercusiones que su alteración conlleva: defectos valvulares, estenosis aórtica, aneurismas y disecciones. De este modo, la interacción de distintos tejidos embrionarios y rutas moleculares, especialmente JAG1, convergen para integrar adecuadamente el tracto de salida. Esta es materia reciente y muy activa de investigación.<sup>24,26,33</sup>

A partir del proceso de gastrulación, el embrión tiene un desarrollo casi exponencial. El sistema nervioso es el primer tejido que se define. En el caso del sistema nervioso, la creación y desarrollo subsiguiente del tubo neural (TN) primitivo pueden definirse en términos de gradientes de influencias inductivas, donde los genes de la vía Notch tiene una importancia especial en regular la competencia de una célula a reaccionar a las señales inductoras que provienen de dentro del TN y de los otros tejidos embrionarios circundantes.

La formación temprana de la placa neural no se realiza exclusivamente por la proliferación mitótica de células neuroepiteliales, sino también por una conversión de células próximas a un destino neural, y por la acción de factores de crecimiento que también influyen en el establecimiento del plan del TN. Por ejemplo, el factor básico de crecimiento de fibroblastos (bFGF, del inglés: basic fibroblast growth factor) sirve de inductor auxiliar del eje longitudinal con gradiente anteroposterior durante la formación del TN.<sup>1,2</sup>

Otro gen del desarrollo con gran importancia en el proceso de formación del TN es el gen Krox-20, que codifica para una proteína con una estructura digitiforme de zinc. Esta debe su nombre a que forman estructuras espaciales alrededor del ión de zinc de modo que se producen prolongaciones que semejan dedos, a causa de complejos de zinc con los aminoácidos histidina y cisteína en su FT. Este gen se expresa en rombómeros alternantes, pero especialmente en los rombómeros r3 y r5, donde tiene

una importancia en la formación de la cresta neural, al regular, además, la expresión de otros genes involucrados en la vía de señalización Notch.

La primera función de la vía de señalización Notch que fue bien caracterizada fue precisamente la afectación de la neurogénesis en la *Drosophila* y en vertebrados, al regular, en primer lugar, el número de células que adquieren potencial neural y subsecuentemente determina la progenie que adoptará el destino neural o glial. Por otra parte, la vía Notch inhibe la diferenciación neural en muchos linajes celulares.<sup>6,9,10,12</sup>

## CONSIDERACIONES FINALES

La capacidad que tiene la vía de señalización Notch de influir sobre un número importante de aspectos específicos del desarrollo, predice que la adecuada comprensión de cada uno de los elementos que la componen resultaría en la mejor comprensión de las bases moleculares y celulares de muchas MC. Por lo que el mayor conocimiento de esta vía de señalización ayudaría a comprender mejor algunos aspectos de la morfogénesis, ya que, al actuar como un controlador maestro del destino celular, la proliferación, diferenciación y apoptosis, ofrece puntos específicos y susceptibles de intervención que posibilitarían la prevención de determinadas MC.

Es importante recordar que esta vía de señalización, además de estar involucrada en el desarrollo durante etapas embrionarias y, por ende, en el origen de diferentes MC, también interviene en el funcionamiento de órganos en el adulto, por lo que está involucrada en el origen de enfermedades comunes del adulto como el cáncer y la diabetes mellitus, entre otras.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moore KL, Persaud TVN. Control del desarrollo embrionario. En: Embriología clínica. 8ª ed. Barcelona: Elsevier; 2011. p.75-79
2. Takebe N, Miele L, Jo Harris P, Jeong W, Bando H, Kahn M, et al. Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update. *Nat Rev Clin Onc.* [en línea]. 2015[citado 15 de enero de 2018];12:445-64. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrclinonc.2015.61>
3. Yu KW, Yao CC, Jeng JH, Shieh HY, Chen YJ. Periostin inhibits mechanical stretch-induced apoptosis in osteoblast-like MG-63 cells. *J Formos Med Assoc.* [en línea]. 2018[citado 15 de enero de 2018];17:820-33. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29306496>
4. Bray SJ. Notch signalling: a simple pathway becomes complex. *Nature Review. Molecular Cell Biol.* [en línea]. 2006[citado 8 de enero de 2018];7:678-89. Disponible en: [www.nature.com/reviews/molcellbio](http://www.nature.com/reviews/molcellbio)

5. Serrano HA. Papel de la vía de señalización Notch en la diferenciación de las células inmunes. CES Med. [en línea]. 2017[citado 15 de enero de 2018];31(2):155-62. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0120-87052017000200155](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0120-87052017000200155)
6. Wehner D, Gilbert G. Signaling networks organizing regenerative growth of the zebrafish fin. Review. Special Issue: Organogenesis. [en línea] 2015[citado 15 de enero de 2018];31(6):336-43. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168952515000657>
7. Wang L, Song G, Liu M, Chen B, Chen Y, Shen Y, et al. MicroRNA-375 overexpression influences P19 cell proliferation, apoptosis and differentiation through the Notch signaling pathway. Intern J Mol Med. [en línea]. 2016[citado 15 de enero de 2018];37(1):47-55. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/ijmm/37/1/47>
8. Chuang JH, Tung LC, Yenshou L. Neural differentiation from embryonic stem cells in vitro: An overview of the signaling pathways. World J Stem Cells. [en línea]. 2015[citado 15 de enero de 2018];7(2):437-47. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4369499/>
9. Bravo PA, Baizabal AVM. La vía de señalización notch y el desarrollo embrionario animal. [Internet]. 2005[citado 15 de enero de 2018];24(3,4). Disponible en: [http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2005/03/h\\_87-96\\_NotchBravo.pdf](http://www.facmed.unam.mx/publicaciones/ampb/numeros/2005/03/h_87-96_NotchBravo.pdf)
10. Rodriguez BFY. *Vía de señalización Notch durante el desarrollo de arcos branquiales en el embrión de pollo: estadios HH14 a HH18*. [en línea]. 2012; Tesis para optar por el título de Master en Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. 2012[citado 15 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/9069/>
11. Aster JC. In Brief: Notch signalling in health and disease. J. Pathol. [en línea]. 2014[citado 15 de enero de 2018];232:1-3. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/path.4291/full>
12. Ugur B, Chen K, Bellen HJ. Drosophila tools and assays for the study of human diseases. Dis Mod & Mech. [en línea]. 2016[citado 15 de enero de 2018];9:235-44. Disponible en: <http://dmm.biologists.org/content/9/3/235>
13. Liu F, Sun D, Murakami R, Matsuno H. Modeling and analysis of the Delta-Notch dependent boundary formation in the Drosophila large intestine. BMC Syst Biol. [en línea]. 2017[citado 15 de enero de 2018];11(Suppl 4):80. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28950873>
14. Boareto M, Jolly MK, Lu M, Onuchic JN, Clementi C, Ben-Jacob E. Delta asymmetry in Notch signaling can give rise to a sender/receiver hybrid phenotype. Jagged-Proc Natl Acad Sci USA [en línea]. 2015[citado 15 de enero de 2018];112:402-9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25605936>
15. Grochowski CM, Loomes KM, Spinner NB. Jagged1 (JAG1). Structure, expression, and disease associations. Gene [en línea]. 2016[citado 15 de enero de 2018];576(1):381-4. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111915012986>





2018];149:212-9. Disponible en: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=41594>

27. Taboada LN. El zinc y el cobre: micronutrientes esenciales para la salud humana. *Acta Med Centro*. [en línea] 2017[citado 15 de enero de 2018];11(2):79-89. Disponible en: <http://www.revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/821/1076>

28. Hammouda SA, Abd Al-Halim OA, Mohamadin AM. Serum levels of some micronutrients and congenital malformations: a prospective cohort study in healthy saudi-arabian first-trimester pregnant women. *Int J Vitam Nutr Res*. 2013;83(6):346-54.

29. Li S, Chao A, Li Z, Moore CA, Liu Y, Zhu J, et al. Folic acid use and nonsyndromic orofacial clefts in China: a prospective cohort study. *Epidemiology*. 2012;23:423-32.

30. Li X, Li S, Mu D, Liu Z, Li Y, Lin Y, et al. The association between periconceptual folic acid supplementation and congenital heart defects: a case-control study in China. *Prev Med*. 2013;56:385-9.

31. Taboada LN. Papel del ácido fólico, zinc y cobre en la prevención primaria de los defectos congénitos. *Rev cubana Med Gen Integ*. [en línea] 2016[citado 15 de enero de 2018];35(4). Disponible en: <http://www.revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/167>

32. Pan Y, Mao Y, Jin R, Jiang L. Crosstalk between the Notch signaling pathway and non-coding RNAs in gastrointestinal cancers. *Oncol Lett*. [en línea] 2018[citado 15 de enero de 2018];15(1):31-40. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29285185>

33. Kelly RG, Buckingham ME, Moorman AF. Heart fields and cardiac morphogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. [en línea] 2014[citado 15 de enero de 2018];4:1-10. Disponible en: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/content/4/10/a015750.short>

Recibido 15 de enero de 2018.

Aprobado: 22 de febrero de 2018.

Noel Taboada Lugo. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Cuba.  
Correo electrónico: [noeltl@infomed.sld.cu](mailto:noeltl@infomed.sld.cu)