

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE MEDICINA



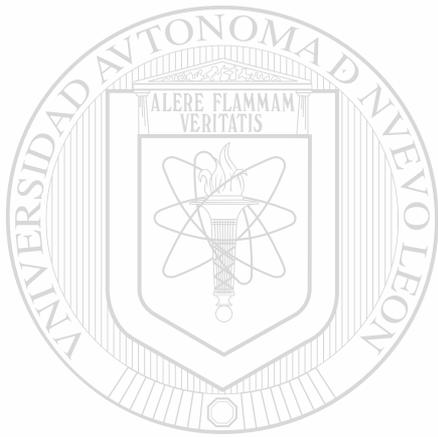
ASOCIACION DE ACIDO FOLICO, HOMOCISTEINA  
Y POLIMORFISMO GENETICO DE LA  
METILENTETRAHIDROFOLATO-REDUCTASA CON  
DEFECTOS DE TUBO NEURAL Y LABIO HENDIDO  
CON Y SIN PALADAR HENDIDO EN CHIHUAHUA

POR

MCP DORA VIRGINIA CHAVEZ CORRAL

Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Especialidad en Morfología

Monterrey, N. L.  
Mayo, 2004



U ANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

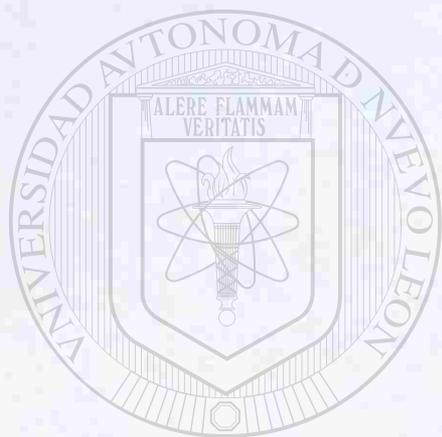
DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

MCP DORA VIRGINIA CHAVEZ CORRAL

TD  
RG629  
.N48  
C5  
2004  
c.1



1080124242



# UANL

---

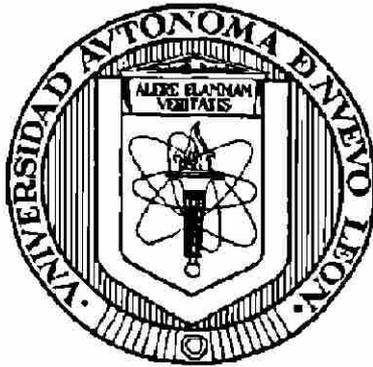
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE MEDICINA**



**ASOCIACIÓN DE ACIDO FOLICO, HOMOCISTEINA Y POLIMORFISMO  
GENETICO DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO-REDUCTASA CON  
DEFECTOS DE TUBO NEURAL Y LABIO HENDIDO CON Y SIN PALADAR  
HENDIDO EN CHIHUAHUA**

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

Por

**MCP DORA VIRGINIA CHAVEZ CORRAL**

**Como requisito parcial para obtener el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con Orientación en Morfología**

**Monterrey, N.L.**

**Mayo, 2004**

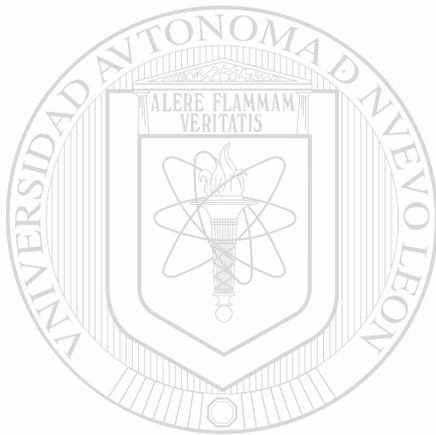
TD

6629

• N48

C5

2004



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

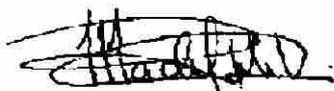
®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



**ASOCIACIÓN DE ACIDO FOLICO HOMOCISTEINA Y  
POLIMORFISMO GENETICO DE LA  
METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA CON DEFECTOS  
DE TUBO NEURAL Y LABIO HENDIDO CON Y SIN PALADAR  
HENDIDO EN CHIHUAHUA**

**Aprobación de la Tesis:**



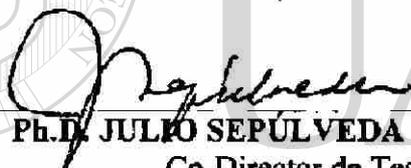
---

**DRA. MA. DEL ROBLE VELAZCO CAMPOS**  
Director de Tesis



---

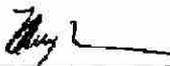
**DRA. LAURA ELIA MARTINEZ GARZA**  
Co-Director de Tesis



---

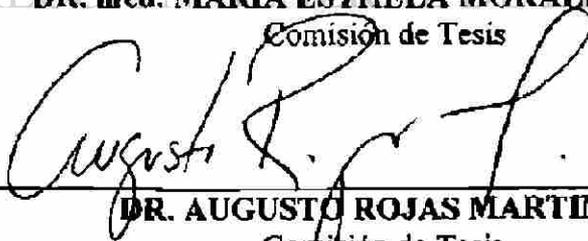
**PH.D. JULIO SEPÚLVEDA SAAVEDRA**  
Co-Director de Tesis

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



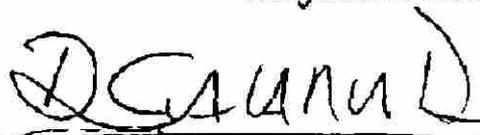
---

**DR. med. MARIA ESTHELA MORALES PEREZ**  
Comisión de Tesis



---

**DR. AUGUSTO ROJAS MARTINEZ**  
Comisión de Tesis



---

**DR. DIONICIO A. GALARZA DELGADO**  
Subdirector  
de Investigación y Estudios de Posgrado

**"ASOCIACIÓN DE ACIDO FOLICO, HOMOCISTEINA Y POLIMORFISMO GENETICO DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA CON DEFECTOS DE TUBO NEURAL Y LABIO HENDIDO CON Y SIN PALADAR HENDIDO EN CHIHUAHUA"**

Presentado por:

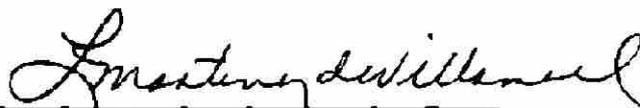
MCP DORA VIRGINIA CHAVEZ CORRAL

Este trabajo se realizó en el departamento de Genética de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en la Universidad Autónoma de Chihuahua, Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital Infantil del Estado, Hospital General, Hospital Central Universitario de la ciudad de Chihuahua, participó como directora de tesis la Dr. C. Ma. Del Roble Velazco Campos, participaron como co-directores la MC Laura E. Martínez de Villarreal y el M.C.P. y Ph D. Julio Sepúlveda Saavedra y como directora externa la Dra. Luz Helena Sanin.

FIRMAS



Dr. C. Ma. Del Roble Velazco Campos



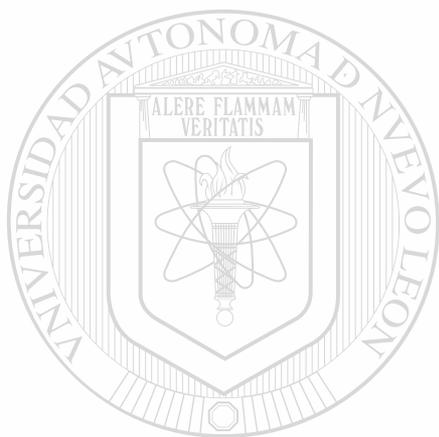
MC Laura E. Martínez de Villarreal



M.C.P. y Ph D. Julio Sepúlveda Saavedra

## DEDICATORIA

**Para mi familia con todo mi amor y mi eterno agradecimiento por su colaboración y paciencia**



**mi esposo Luis  
mi hijo Efraín Luis  
mi hija Adriana  
mi hija Doris**

UANL

---

**Por ser el apoyo firme que me sostuvo en todo momento, en las altas y en las bajas, a pesar del tiempo y la distancia, han sido mi fuente de inspiración para llegar a la meta**

**con todo mi amor**

**Dora Virginia Chávez Corral**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **Dios** por haberme elegido para ser la luz de los que me rodean, por dirigir mis pasos y por todos los dones que me ha dado.

Agradezco a mis padres **Efraín y Francisca**, que me dieron la vida y con el ejemplo me enseñaron a trazarme metas y a cumplirlas.

Agradezco a mis **hermanas y sus familias** por haberme apoyado.

Agradezco a **los miembros de PROMEP** por haberme otorgado la beca que me permitió realizar este postgrado.

Agradezco a **los miembros de postgrado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León** por aceptarme como estudiante en su programa doctoral.

Agradezco a **los miembros del departamento de Genética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León** por su colaboración, disposición personal y el permitirme utilizar el equipo que fue necesario para la realización de este trabajo.

Agradezco a **los miembros de postgrado de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Chihuahua** por su colaboración y disposición personal y el permitirme utilizar el equipo para la realización de este trabajo.

Agradezco al **personal de cada uno de los hospitales** que participaron en este proyecto, esto solo se pudo realizar trabajando en equipo.

Agradezco a los estudiantes: **Vero, Judith, Julio, Jaime y Ramón** de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Chihuahua, por su valiosa participación como encuestadores, su disposición en todo momento para acompañarme a los hospitales, a las casa de los padres o bien a los pueblos en busca de la muestra que nos faltaba, posteriormente se integro **José Luis**, su colaboración fue muy valiosa en la extracción de DNA.

Agradezco a las Químicas **Ale y Sam** por su amistad, por su confianza, por su inagotable paciencia al enseñarme la forma en que se deben realizar las pruebas genéticas y su profesionalismo al repetir y repetir las pruebas hasta obtener el resultado deseado.

Agradezco a todos los **padres y sus hijos** que aceptaron participar en este trabajo, especialmente a los padres de los niños con defectos, por su colaboración a pesar de la angustia y confusión en que se encontraban.

Agradezco a la **Dra. Ma. del Roble Velazco Campos** por su paciencia y profesionalismo, sobre todo en aquellas largas horas de desvelo y en los momentos más críticos de mi postgrado, es usted un ejemplo a seguir.

Agradezco a la **Dra. Laura E. Martínez de Villarreal** por sus enseñanzas y su valiosa colaboración para que llevara a feliz término este postgrado.

Agradezco al **Dr. Julio Sepúlveda Saavedra** sus enseñanzas, su apoyo y su confianza en esto, que fue un largo camino y siempre estuvo al pendiente con un consejo oportuno para que siguiera adelante.

Agradezco a la **Dra. Luz Helena Sanin** por su profesionalismo y sus grandes enseñanzas en el mundo de la estadística y la metodología.

Agradezco a la **Dra. Esthela Morales Pérez** por su profesionalismo y paciencia en la revisión de mi manuscrito. Su visión fue muy importante.

Agradezco a la **Dr. Augusto Rojas Martínez** por su valiosa colaboración y hacer de la revisión del manuscrito en una forma tan sencilla y tan clara.

Agradezco a la **Dra. Margarita Levario Carrillo** el apoyo y amistad que me brindaste en todo momento, sin esperar nada a cambio, eres un ejemplo a seguir.

Agradezco al **Dr. Norberto López Serna** por brindarme su amistad, por apoyarme a pesar de todo y en todo momento, por compartir conmigo no solo su amplia experiencia en Morfología, sino también sus valiosos esquemas.

Agradezco de manera muy especial a **Doña Coco** por la cordialidad con la que me recibió en su casa y sobre todo por incluirme en su lista.

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

Mil gracias

**Dora Virginia Chávez Corral**

## TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO	Página
<b>1 INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Generalidades .....	1
1.2 Embriología .....	1
1.2.1 Embriología del tubo neural .....	1
1.2.2 Defectos del tubo neural. ....	3
1.2.3 Embriología de cara y paladar.....	5
1.2.4 Defectos de labio y paladar.....	7
1.3 Etiología .....	8
1.4 Epidemiología.....	9
1.5 Factores de riesgo de DTN y LH c/s PH .....	10
1.5.1 Ácido fólico .....	10
1.5.1.1 Generalidades .....	10
1.5.1.2 Absorción y distribución.....	12
1.5.1.3 Funciones.....	13
1.5.1.4 Requerimientos de folatos por la madre .....	13
1.5.1.5 Requerimientos de folatos por el feto.....	14
1.5.1.6 Deficiencia.....	14
1.5.1.7 Estudios de ácido fólico.....	15
1.5.2 Metilentetrahidrofolato reductasa .....	17
1.5.2.1 Generalidades .....	17
1.5.2.2 Estudios de Metilentetrahidrofolato reductasa .....	18
1.5.3 Homocisteína .....	20
1.5.3.1 Generalidades .....	20
1.5.3.2 Estudios de Homocisteína.....	20
1.6 Otros factores que producen DTN y LH c/s PH.....	21
1.6.1 Fumonicinas .....	21
1.6.2 Hipertermia.....	21
1.6.3 Alcohol.....	22

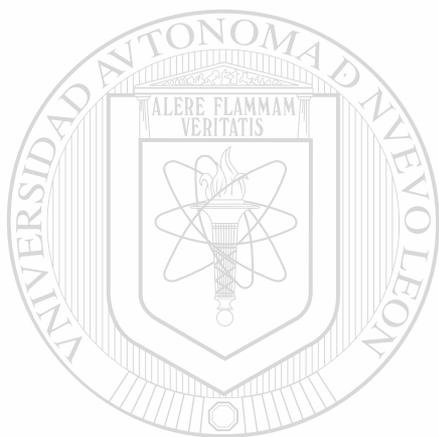
1.6.4	Antagonistas del ácido fólico .....	22
1.6.5	Plaguicidas .....	23
1.7	JUSTIFICACIÓN .....	25
1.8	PROBLEMA .....	27
1.9	HIPOTESIS DE TRABAJO.....	27
1.10	OBJETIVO GENERAL .....	27
1.11	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	27
<b>2</b>	<b>MATERIAL Y METODOS.....</b>	<b>29</b>
2.1	Diseño.....	29
2.2	Universo de trabajo .....	29
2.3	Grupos de estudio.....	29
2.4	Determinación del tamaño de la muestra.....	29
2.5	Criterios de Selección .....	29
2.5.1	Criterios de Inclusión.....	29
2.5.2	Criterios de Exclusión.....	30
2.6	Variables .....	30
2.6.1	Variables Independientes.....	30
2.6.2	Variables Dependientes .....	31
2.6.3	Covariables .....	32
2.7	Procedimientos.....	35
2.8	Métodos para las determinaciones .....	37
2.8.1	Determinación de folatos y vitamina B12 .....	37
2.8.2	Determinación de homocisteína.....	37
2.8.3	Determinación del polimorfismo C677T de la MTRFR.....	38
2.8.3.1	Extracción de DNA .....	38
2.8.3.2	Reacción en cadena de la Polimerasa.....	38
2.8.3.3	Digestión con la enzima de restricción Hinf I.....	38
2.9	Análisis estadístico .....	38
2.10	Aspectos éticos .....	39

<b>3</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>40</b>
	3.1 Características generales de los grupos de estudio.....	40
	3.2 Factores de riesgo .....	44
	3.3 Características generales de los niños estudiados .....	45
	3.4 Revisión morfológica en los niños .....	46
	3.4.1 Defectos de tubo neural .....	46
	3.4.2 Labio hendido con y sin paladar hendido.....	51
	3.5 Determinaciones sanguíneas en la madre.....	56
	3.6 Genotipos.....	58
	3.7 Frecuencia alélica .....	60
<b>4</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>62</b>
	4.1 Factores de riesgo.....	62
	4.2 Características generales d los niños estudiados .....	65
	4.3 Revisión morfológica en los niños de defectos de tubo neural.....	65
	4.4 Revisión morfológica de defectos de labio hendido c/s paladar hendido .....	67
	4.5 Determinaciones sanguíneas maternas de ácido fólico intraeritrocitario, plasmático, Vit B12 y Hci .....	69
	4.6 Determinación del polimorfismo C677T de la metilentetrahidrofolato reductasa .....	71
	4.7 Genotipos y frecuencia alélica .....	72
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y APORTACIONES</b> .....	<b>74</b>
	5.1 CONCLUSIONES.....	74
	5.2 PERSPECTIVAS .....	74
	5.3 APORTACIONES.....	75

<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>76</b>
--------------------------	-----------

## **APÉNDICES**

<b>A</b>	<b>Encuesta de factores de riesgo y nutricional .....</b>	<b>86</b>
<b>B</b>	<b>Encuesta morfológica .....</b>	<b>92</b>
<b>C</b>	<b>Método para determinar ácido fólico y vitamina B12.....</b>	<b>96</b>
<b>D</b>	<b>Método para determinar homocisteína.....</b>	<b>99</b>
<b>E</b>	<b>Técnica de extracción, amplificación y digestión del DNA .....</b>	<b>100</b>



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

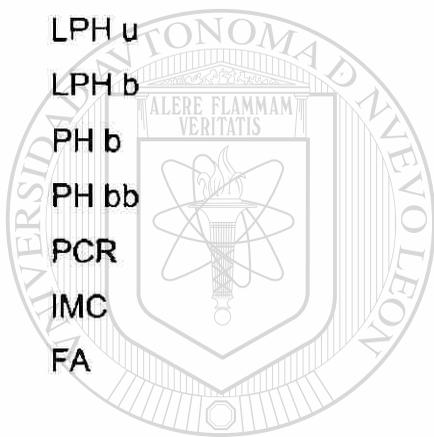


DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

DTN	Defectos de Tubo Neural
EB	Espina bífida
AF	Ácido fólico
MC	Meningocele
MMC	Mielomeningocele
LH c/s PH	Labio Hendido con y sin Paladar Hendido
PH	Paladar hendido
AFI	Ácido fólico intraeritrocitario
AFP	Ácido fólico plasmático
Vit B12	Vitamina B12
RN	Recién nacido
RNV	Recién nacido vivo
RNM	Recién nacido muerto
DHF	Dihidrofolato
THF	Tetrahidrofolato
µg	Microgramos
mg	Miligramos
RF	Receptores de folatos
OR	Razón de Momios
IC	Intervalo de confianza
Hci	Homocisteina
°C	Grados centígrados
ACHE	Acetilcolinesterasa
MTHFR	Metilentetrahidrofolato reductasa
CIE 10ª ed	Clasificación Internacional de Enfermedades 10ª edición
ng	Nanogramos
ml	Mililitros
µL	Microlitros

μmol	Micromoles
pg	Picogramos
%	Porcentaje
EB l c/h	Espina bífida lumbar con hidrocefalia
EB s s/h	Espina bífida sacra sin hidrocefalia
EB t s/h	Espina bífida torácica sin hidrocefalia
EB t-d	Espina bífida torácica y dorsal
Eo	Encefalocele parietal
E	Encefalocele occipital
LH u	Labio hendido unilateral
LPH u	Labio y paladar hendido unilateral
LPH b	Labio y paladar hendido bilateral
PH b	Paladar hendido bilateral
PH bb	Paladar hendido blando bilateral
PCR	Reacción en cadena de la Polimerasa
IMC	Índice de masa corporal
FA	Frecuencia alélica



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

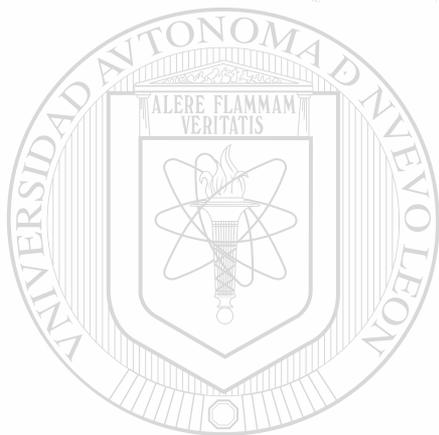
## LISTA DE TABLAS

<b>TABLA</b>		<b>Página</b>
I	Distribución de casos por hospital, en la ciudad de Chihuahua	40
II	Casos que aceptaron participar en el estudio	40
III	Grupo étnico	41
IV	Zona de residencia y etnia de los padres	41
V	Características generales de los padres	42
VI	Características generales de los padres separados por etnia	43
VII	Factores de riesgo de los padres	45
VIII	Características nutricionales de los niños mestizos por diagnóstico	45
IX	Características nutricionales de los niños tarahumaras por diagnóstico	46
X	Determinaciones sanguíneas maternas	56
XI	Cálculo para el Equilibrio Hardy-Weinberg, por etnia	58
XII	Genotipos de la población de estudio (mestizos y tarahumaras)	59
XIII	Genotipos de la población mestiza estudiada	59
XIV	Genotipos de la población tarahumara estudiada	60
XV	Frecuencia alélica (FA) de la mutación 677T en la población de mestizos	60
XVI	Frecuencia alélica (FA.) de la mutación 677T en la población de tarahumaras	61

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA</b>	<b>Página</b>
1 Cierre de tubo neural	2
2 Teoría de cierres múltiples	3
3 DTN en diferentes niveles	5
4 Desarrollo de la cara	6
5 Esquema del techo de la boca	7
6 Estructura molecular del ácido fólico	11
7 Esquema simplificado de homocisteína	13
8 Estrategia general del estudio	35
9 Distribución de espina bífida	47
10 Fotografías de niños con DTN	48
11 Clasificación de lesiones cerradas y abiertas	49
12 Recién nacida Tarahumara con espina bífida lumbar	50
13 Recién nacida con EB lumbar asociado a pie varo derecho	50
14 Distribución de hendiduras orofaciales	51
15 Fotografías de niños que muestran ejemplos de LH c/s PH según la CIE	52
16 Fotografías de niños que muestran ejemplos de LH c/s PH según la CIE	53
17 Clasificación de hendiduras orofaciales en aisladas y múltiples	54
18 Dibujos esquemáticos donde se muestra la fisura del labio	54
19 Dibujo esquemático donde se muestra la fisura de paladar óseo	55

20	Dibujo esquemático donde se muestra la fisura de paladar blando	55
21	Dibujo esquemático donde se muestra la afectación entre el proceso maxilar y segmento intermaxilar	55
22	Fotografía y esquema de una lactante con labio y paladar hendido	55
23	Porcentajes de las variables AFI, AFP, Vit B12 y Hci	57
24	Media y desviación estándar en las determinaciones sanguíneas separadas por etnia	57



# UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

# RESUMEN

**Dora Virginia Chávez Corral**

**Fecha de graduación: Mayo 2004**

**Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Medicina**

**Título del Estudio:**

**ASOCIACIÓN DE ACIDO FÓLICO, HOMOCISTEÍNA Y POLIMORFISMO GENÉTICO DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA CON DEFECTOS DE TUBO NEURAL Y LABIO HENDIDO CON Y SIN PALADAR HENDIDO EN CHIHUAHUA"**

**Número de páginas: 101**

**Candidato para el grado de Doctor en Ciencias con especialidad en Morfología**

**Area de Estudio: Morfología**

**Propósito y Método del estudio:** La cresta neural tiene células derivadas del neuroectodermo que participan activamente en diversos procesos del desarrollo dentro de los cuales se encuentran la morfogénesis del sistema nervioso central (SNC) y estructuras faciales. Los DTN y LH c/s PH son anomalías de etiología multifactorial que se han asociado con deficiencia de AF y con la presencia del polimorfismo C677T de la MTHFR. El propósito de este trabajo fue realizar una evaluación morfológica de los niños que participaron en el estudio y establecer la correlación de los DTN con deficiencia materna de AF, concentraciones plasmáticas elevadas de Hci y polimorfismo 677T de la MTHFR.

**Conclusiones y contribuciones:** Los DTN son más frecuentes en el género femenino, principalmente de localización superior. Se encontraron como factores de riesgo, el uso de insecticidas y la consanguinidad paterna. No mostraron diferencias significativas los niveles sanguíneos de folatos y homocisteína entre casos y controles. No se asoció la presencia de la mutación C677T y la ocurrencia de DTN y LH c/s PH en esta población. La frecuencia del alelo T se comportó en forma similar en la población de mestizos y tarahumaras de la población estudiada.

**FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS**



**Dr. C. Ma. Del Roble Velazco Campos**

# CAPITULO UNO

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 Generalidades

Los defectos al nacimiento, son anomalías del desarrollo que pueden ser, anatómicos o estructurales, del crecimiento, maduración ó metabólicos; de menor o mayor gravedad, que pueden dar lugar a enfermedades debilitantes, discapacidad física ó mental y/o la muerte <sup>(1)</sup>.

Desde el punto de vista clínico se clasifican como: 1) **Malformación.-** es el defecto morfológico de un órgano, parte de éste, o una región mayor del cuerpo, que resulta de un proceso de desarrollo intrínsecamente anormal desde el inicio. 2) **Desorganización o Disrupción.-** es un defecto morfológico, que resulta de una alteración extrínseca o interferencia de un proceso del desarrollo normal. 3) **Deformación.-** es una forma o posición anormal provocada por fuerzas mecánicas. Puede ser intrínseca o extrínseca y 4) **Displasia.-** es una organización anormal de células dentro de los tejidos.

Los defectos congénitos pueden ser visibles al nacimiento (macroscópicos); o no visibles (microscópicos), que se detectan meses o años después y en ocasiones hasta que se realiza una autopsia <sup>(2)</sup>.

### 1.2 Embriología

#### 1.2.1 Embriología del tubo neural

La formación del tubo neural se inicia a partir de la placa neural, pliegues neurales y cresta neural, esta última es una estructura embriológica transitoria y da lugar a diferentes tipos de células en los vertebrados. Estudios *in vitro* de estas células sugieren que antes de su migración, muchas de ellas permanecen como multipotenciales y su diferenciación ocurre durante la migración y se asocia a influencias del medio ambiente <sup>(3)</sup>. La placa neural se forma alrededor del día 18 de

la gestación sus bordes elevados, los pliegues neurales, inician su unión a nivel del 4º y 6º pares de somitas y prosiguen en forma bidireccional, quedando abiertos los neuroporos rostral y caudal respectivamente. La parte cefálica formará el encéfalo y la parte caudal la médula espinal. El neuroporo rostral se cierra alrededor del día 24 a 25. El neuroporo caudal se cierra dos a tres días después, completándose así la formación del tubo neural <sup>(2, 4)</sup>. Las paredes del tubo neural constan inicialmente de un epitelio cilíndrico pseudoestratificado grueso y a partir de él, ocurre la histogénesis característica de cada región (Fig. 1) <sup>(2)</sup>.

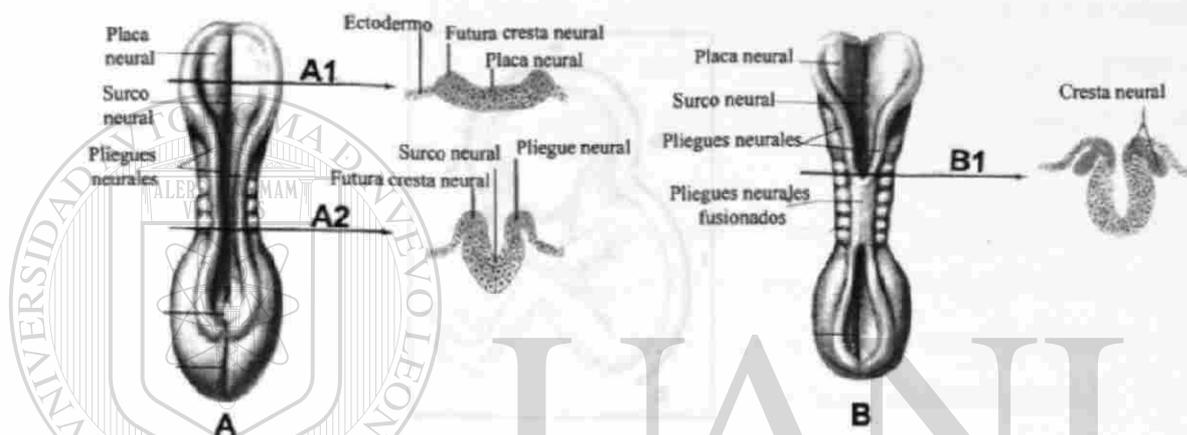


Figura 1. Cierre de tubo neural. A, esquema dorsal de un embrión, de alrededor de 18 días, se expuso al quitar el amnios, mostrando la placa neural y su plegamiento hacia tubo neural. Este esquema muestra dos cortes transversales en el A1 se muestra el engrosamiento de la placa neural, en el A2 se observan los pliegues neurales y surco neural B, esquema de vista dorsal de un embrión alrededor de 22 días donde se muestra la fusión de los pliegues neurales. Este esquema muestra un corte transversal B1 donde se muestra el plegamiento de los pliegues neurales y la ubicación de las crestas neurales (Tomado de Netter FH, 1988. Sistema Nervioso.)

Los datos obtenidos por Golden y Chernoff <sup>(5)</sup> en el ratón y en el humano, sugieren que el cierre del neuroporo anterior es un proceso discontinuo, existiendo cuatro sitios de cierre. Van Allen y col. <sup>(6)</sup> proponen cinco cierres separados, o "zippers" en la fusión normal del tubo neural: El cierre 1 empieza en la región cervical a nivel del mielencéfalo y medula espinal entre el 2º y 4º somita y sigue en forma bidireccional; caudalmente forma el tubo neural torácico y la parte posterior del neuroporo, rostralmente sigue hasta la parte inferior del rombencéfalo. El cierre 2 se inicia en la unión prosencéfalo-mesencéfalo y también continúa en forma bidireccional; cefálicamente cierra estas dos vesículas y caudalmente termina a nivel de rombencéfalo. El cierre 3 es unidireccional y empieza adyacente al estomodeo y

continúa caudalmente hasta encontrarse con el cierre 2. El cierre 4 tiene lugar sobre el rombencéfalo donde los pliegues neurales se mantienen separados y el cierre se realiza por el crecimiento de una membrana que cubre esa región y se encuentra con el cierre 2 para completar el cierre del neuroporo rostral o anterior. Lo anterior corresponde a la neurulación primaria. Finalmente, el cierre 5 corresponde a la neurulación secundaria y sigue a partir del somita 31 (segunda vértebra sacra). Este cierre termina el día 28 de la gestación (Fig. 2), ocurre una diferenciación de las células de la eminencia caudal, se cavitan y se unen al tubo neural <sup>(6)</sup>.



Figura 2. Esquema que muestran los cinco puntos de cierre del tubo neural, según la teoría de cierres múltiples (Tomado de folleto de la Secretaría de Salud del Gobierno del estado de Nuevo León. 2002)

Recientemente se ha propuesto que los embriones humanos tienen dos sitios de fusión de los pliegues neurales, el sitio alfa y el beta <sup>(7)</sup>. El sitio alfa se encuentra localizado al nivel del 2º y 3º somita en el rombencéfalo, es bidireccional, su fusión puede iniciar en rombencéfalo o región cervical, abarca: rombencéfalo, mesencéfalo y prosencéfalo, con excepción del labio terminal del neuroporo rostral y en médula espinal abarca el nivel cervical y torácico. La fusión beta, es rostrocaudal, se localiza a nivel del receso preótico <sup>(8)</sup>.

### 1.2.2 Defectos del Tubo Neural (DTN)

Estos pueden ser causados por fallas de los pliegues neurales, en la invaginación, fusión, diferenciación y separación de la superficie ectodérmica; también se ha sugerido que se reabre en algunos casos <sup>(9, 10)</sup>. Las bases embriológicas de la

variación clínica en los DTN con diversos grados de severidad y pronóstico son pobremente conocidas <sup>(9)</sup>.

Cuando falla el cierre del tubo neural en cualquier punto, provoca escape de líquido cefalorraquídeo, debido a esto, no se distiende la vesícula rombencefálica y por lo tanto no induce al mesodermo circundante, provocando un defecto en la formación de las cubiertas mesodérmicas, quedando expuesto un sector del tubo neural y en contacto con el líquido amniótico y este termina deteriorándose. También se forma un espacio aracnoideo más engrosado, alterando sus vías de circulación y haciéndolo menos permeable a la circulación del líquido cefalorraquídeo, provocando hidrocefalia, anomalía que acompaña con mayor frecuencia al mielomeningocele <sup>(11)</sup>.

La teoría de múltiples cierres menciona que el cierre 1 puede ser sensible a la deficiencia de ácido fólico (AF); manifestándose como espina bifida (EB). El cierre 2 a hipertermia y a deficiencia de ácido fólico; provocando anencefalia. El cierre 3 raramente falla y si no cierra puede producir hendidura craneofacial. El cierre 4 a hipertermia; puede provocar encefalocele. El cierre 5 a la ingesta de ácido valproico; puede provocar meningocele sacro <sup>(12, 13)</sup>.

Los DTN se han clasificado como: lesiones abiertas, dependiendo del tejido neural expuesto (anencefalia y MMC) o cerradas, cuando se encuentran cubiertas por piel (encefalocele y MC) <sup>(14, 15)</sup>.

Cuando falla el cierre de todo el tubo neural se presenta una cráneoraquisquisis. Si el defecto involucra solo la parte craneal del tubo, esta condición es llamada exencefalia, anencefalia o craneosquisis. El defecto análogo del desarrollo de la médula espinal es la raquisquisis o mielosquisis. La falla en el cierre del tubo neural en la región occipital y parte alta de la médula espinal se llama iniencefalia. Defectos en la formación del cráneo, si el defecto es pequeño solo se hernian las meninges y se le llama meningocele craneal, si también se hernia el cerebro, meninges o ambos se le llama meningoencefalocele si contiene una parte del sistema ventricular es un meningohidroencefalocele. El defecto en el arco vertebral puede dar una EB oculta o una EB quística; en esta última el saco herniado puede tener meninges y líquido

cefalorraquídeo y se llama EB con meningocele (MC), si la médula espinal también se hernia es una EB con mielomeningocele (MMC) (Fig. 3)<sup>(9)</sup>.

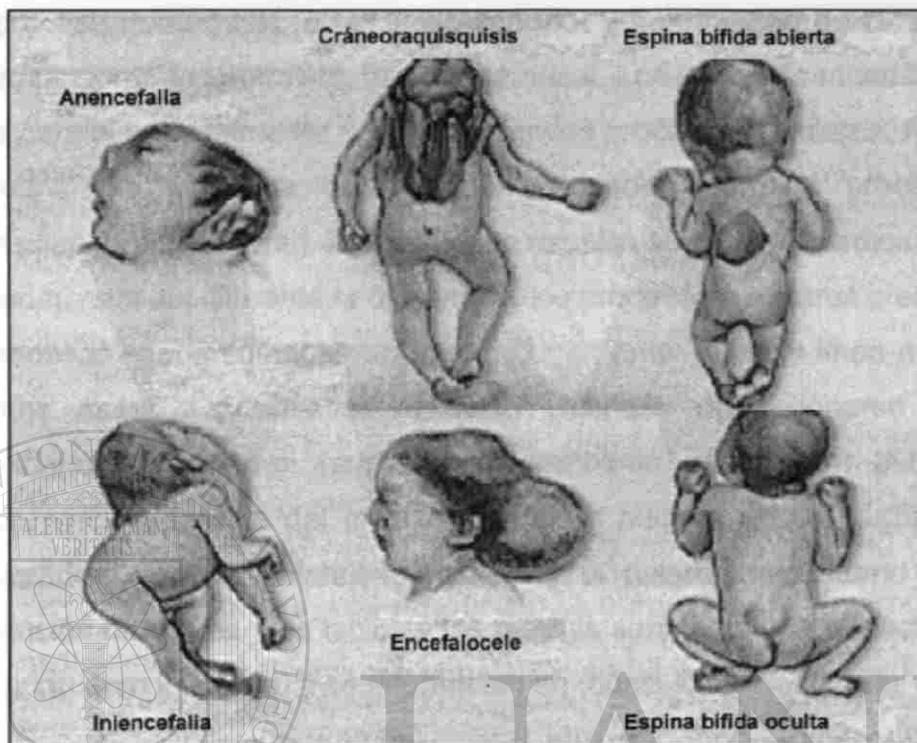


Figura 3. Esquemas que muestran DTN en diferentes niveles (Tomado de Botto LD. 1999. New England J Med.)

Los DTN más frecuentes son: EB abierta o quística y anencefalia, estos últimos pueden sobrevivir en la vida fetal tardía o llegar a término, pero mueren pocas horas después de nacer. Los niños nacidos con EB abierta pueden llegar a la vida adulta con parálisis de los miembros inferiores y diversos grados de incontinencia intestinal y vesical<sup>(16-17)</sup>.

### 1.2.3 Embriología de cara y paladar

El desarrollo facial ocurre entre la 4ª y la 8ª semana. Alrededor del estomodeo se encuentran las prominencias faciales, a las cuales migran células de la cresta neural y junto con el mesénquima circundante se produce una proliferación celular. La migración de estas células y sus interacciones regulan la inducción, crecimiento y muerte celular programada, esto es mediado por dos grupos de moléculas reguladoras, llamadas factores de crecimiento (FGF y TGF alfa)<sup>(18)</sup>.

Las células de la cresta neural forman componentes del tejido conjuntivo, (cartilago, hueso y ligamentos) en la región facial y bucal. El estomodeo se encuentra rodeado por el proceso frontonasal, en el límite superior y a cada lado de éste se encuentra un engrosamiento ectodérmico, la placoda nasal. Los procesos mandibulares forman el límite caudal y lateralmente se encuentran los procesos maxilares. Alrededor de la 5ª semana las placodas nasales son rodeadas por los procesos nasales, (nasomediano y nasolateral). Las placodas nasales son los primordios de las narinas y cavidades nasales. Durante la 6ª semana los procesos maxilares crecen y empujan a los procesos nasomedianos para que se unan entre sí en la línea media y formen el tabique nasal y puente de la nariz. Después de fusionarse los procesos nasomedianos descienden formando el segmento intermaxilar (*filtrum* del labio superior, porción incisiva del maxilar y paladar primario). Las partes laterales del labio superior, el resto del hueso maxilar y el paladar secundario deriva de las prominencias maxilares. Los labios y las mejillas son invadidos por ectomesénquima del segundo arco branquial y se diferencian en músculos faciales (Fig. 4) <sup>(2)</sup>.

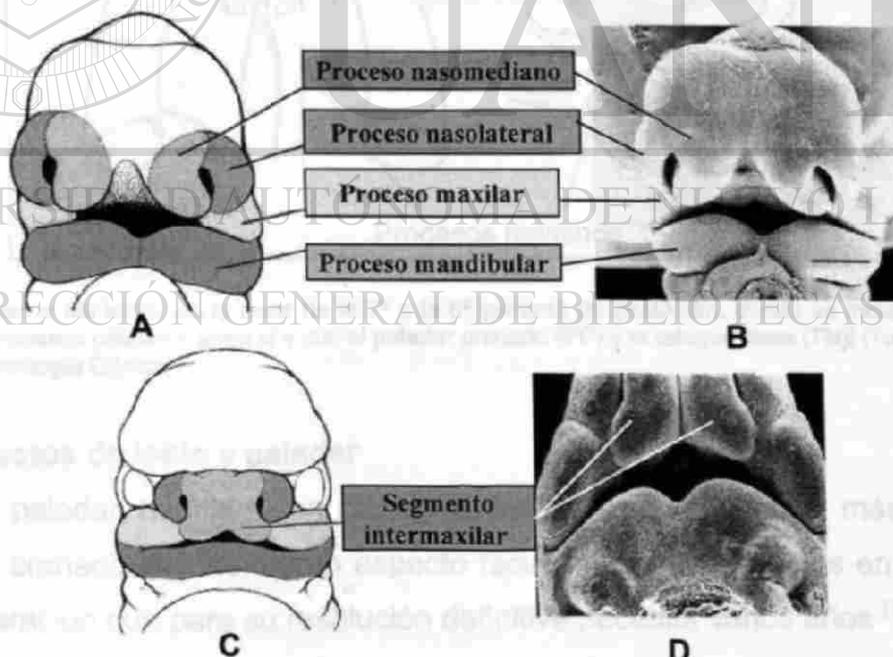


Figura 4. Desarrollo de la cara visto de frente A, esquema que ilustra las prominencias que forman la cara durante la sexta semana. B, micrografía electrónica de barrido de un embrión humano que muestra las mismas prominencias en forma comparativa. C, esquema que ilustra la fusión y descenso de los procesos nasomediales para formar el segmento intermaxilar durante la séptima semana. D, micrografía electrónica de barrido donde se muestra el segmento intermaxilar. (Tomado de Larsen WJ. 1997 Human Embryology)

El paladar inicia su formación al final de la 5ª semana y termina a la duodécima semana, a partir del paladar primario. Dentro de la cavidad bucofaringea proliferan tres nuevas formaciones: el tabique nasal, que crece vertical y medialmente y dos láminas horizontales, llamados procesos palatinos laterales. Hacia la 6ª semana los procesos palatinos se dirigen hacia abajo en dirección vertical a ambos lados de la lengua. Cuando la lengua toma su posición definitiva, estos procesos avanzan hasta fusionarse entre sí en la línea media y también con el tabique nasal. De esta manera el paladar secundario se une con el paladar primario, quedando como punto de referencia el agujero o fosa incisiva. El paladar blando se desarrolla por agregados mesenquimatosos en el borde posterior de los procesos palatinos y al final se forma la úvula (Fig. 5) <sup>(2)</sup>.

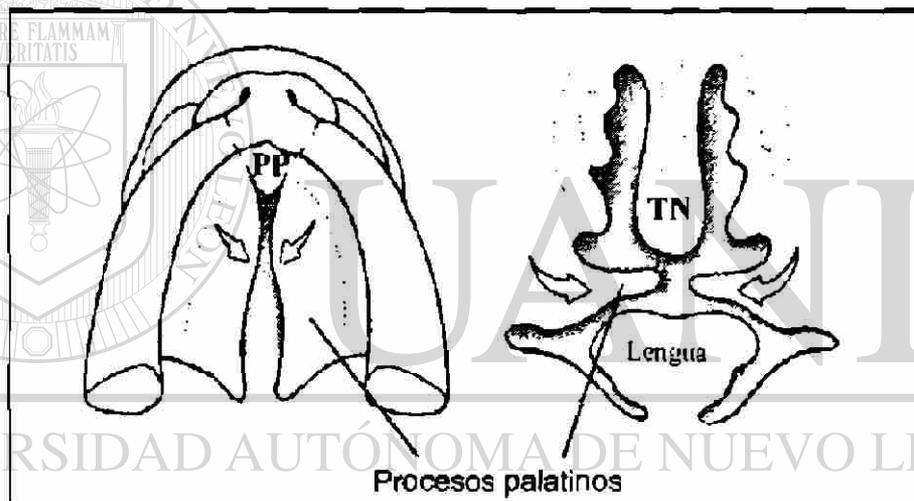


Figura 5. Esquema del techo de la boca de la 7ª a la 8ª semana de gestación, donde se indican los sitios de fusión de los procesos palatinos entre sí y con el paladar primario (PP) y el tabique nasa (TN) (Tomado de Moore K.L. 1997 Embriología Clínica)

#### 1.2.4 Defectos de labio y paladar

El labio y paladar hendido son de los defectos congénitos que más afectan la morfología craneofacial, dando un aspecto facial anormal y defectos en el lenguaje. Es una alteración que para su resolución definitiva necesita varios años <sup>(18)</sup>.

Los defectos suelen clasificarse con relación a la fosa incisiva, como hendiduras anteriores o posteriores: las hendiduras anteriores afectan labio superior y puede o no afectarse la parte alveolar de la maxilar, si la afecta, la hendidura es completa.

Resultan por deficiencia del mesénquima en las prominencias maxilares y segmento intermaxilar. En las hendiduras posteriores, se afectan al paladar duro y se pueden extender al paladar blando y úvula. Estas anomalías son causadas por alteraciones en el crecimiento de los procesos palatinos laterales que impiden su migración y fusión medial. Puede presentarse un paladar hendido (PH) completo provocado por falta de acercamiento y fusión de las masas mesenquimatosas de los procesos palatinos laterales entre sí, con el tabique nasal, con el paladar primario o con ambos. Las hendiduras que afectan el labio superior varían desde escotaduras pequeñas hasta hendiduras graves, que se pueden extender hasta el piso de la nariz a través de la parte alveolar del maxilar y puede ser unilateral o bilateral, por la falta de fusión de las prominencias maxilares con las nasomediales <sup>(2)</sup>.

Este tipo de defectos también se han clasificado como aislados, son los que solo se acompañan de anomalías menores, como implantación baja de pabellón auricular y como múltiples, las que presentan labio hendido con/sin paladar hendido (LH c/s PH) y además se acompañan de una anomalía mayor o bien integran un síndrome <sup>(13)</sup>.

### 1.3 Etiología

Se asume que la etiología del 50-60% de los defectos congénitos en general es de origen desconocido. El 20-25% son por herencia multifactorial, 6-7% por anomalías cromosómicas, el 7-8% por mutaciones génicas y el 7-10% es por agentes ambientales <sup>(2)</sup>. La causa de la mayoría de estos defectos es multifactorial lo cual implica la interacción de factores genéticos y ambientales <sup>(16, 20, 21)</sup>.

Los DTN son las malformaciones muy comunes en los seres humanos. Se han descrito como factores de riesgo: hipertermia <sup>(22)</sup>, ingesta de alcohol, diabetes mellitus, medicamentos anticonvulsivos <sup>(23)</sup> y anticonceptivos orales <sup>(15)</sup> y mutaciones del gen de la enzima Metilentetrahidrofolato-reductasa (MTHFR). <sup>(13)</sup>

Los factores de riesgo asociados a LH c/s PH son: los inhibidores de la enzima dihidrofolato-reductasa como el trimetoprim, anticonvulsivos <sup>(19, 23)</sup>, mutaciones de la MTHFR y tabaquismo <sup>(19)</sup>, este último, produce disminución en los niveles

sanguíneos de ácido fólico intraeritrocitario (AFI), ácido fólico plasmático (AFP) y vitamina B12 (Vit B12) <sup>(23, 24)</sup>.

#### 1.4 Epidemiología

En la mayoría de los países, la prevalencia al nacimiento de las malformaciones congénitas es del 2%. En diferentes estudios la frecuencia de malformaciones congénitas registra variaciones significativas y se deben a factores como: raza, situación geográfica, aspectos metodológicos de definición y detección de los defectos congénitos <sup>(16)</sup>. Se reporta que el primer lugar de DTN lo presentaba la zona norte de China con una tasa de 58/10,000 y en segundo lugar se encontró México con una tasa de 31/10,000 <sup>(9)</sup>.

En México el programa nacional de "Registro y Vigilancia de Malformaciones Congénitas Externas" (RYVEMCE) reportó que aproximadamente uno de cada 50 recién nacidos vivos (RNV) y uno de cada nueve nacidos muertos (RNM) presenta una o más malformaciones congénitas externas mayores y/o menores, entre 1978 y 1987 <sup>(5)</sup>. En México en el año 2000, las tasas de DTN de 23,606 RNV y RNM por 10,000 fueron: anencefalia: 8.05, EB: 8.90, encefalocele: 2.12, PH 2.12 y LH c/s PH: 13.05; de un <sup>(25)</sup>.

En un estudio de casos y controles realizado en la frontera de Texas-México de 1993 a 1995, de un total de 135 221 recién nacidos, encontraron 197 casos con DTN en todas las edades gestacionales; 87 fueron de anencefalia, 96 de EB y 14 de encefalocele con una tasa de 6.4, 7.1 y 1.1 respectivamente por 10,000 RNV. Establecen como factores de riesgo para DTN la etnia, hispanos de descendencia mexicana y el estatus socioeconómico <sup>(26)</sup>.

En México, en un estudio de casos y controles realizado de 1978 a 1984, los DTN observados fueron: anencefalia (55%), EB (38%) y encefalocele (6.7%) de un total de 230,635 RNV y 4,020 RNM, y asociaron como posibles factores de riesgo durante el primer trimestre del embarazo, a enfermedades de tipo viral del tracto respiratorio

con anencefalia y EB; analgésicos, antieméticos, hipotermia materna y ocupación paterna con anencefalia <sup>(27)</sup>. En una serie de casos, Canún-Serrano y col., en el Distrito Federal, de 1979-1986, encontraron una incidencia de DTN de 3.8% en abortos espontáneos, 6.7% en óbitos y 0.17% en RNV. Las malformaciones faciales y DTN en abortos fueron las más frecuentes <sup>(28)</sup>. Hernández-Arriaga y col. en León Guanajuato de 1989-1990, en un estudio transversal comparativo, de un total de 16,987 RNV, obtuvieron una tasa para: MMC (1.06%), anencefalia (0.65%), encefalocele (0.06%) y LH c/s PH (0.53%). Definieron como factores de riesgo asociados a DTN a: la deficiencia de folatos, antecedente previo de DTN y óbitos previos <sup>(18)</sup>. Pérez-Molina y Alfaro-Alfaro en un estudio transversal y de casos y controles en el primer trimestre del embarazo, de 1993-1995, de un total de 43,095 nacimientos >20 semanas, reportaron una prevalencia de anencefalia (40.8%), MC (33.8%) y encefalocele (5.6%) por 1,000 RNV o muertos. Encontraron asociación con enfermedades crónicas e ingesta de acetaminofén <sup>(29)</sup>. Rodríguez-Morán y col., en un estudio multicéntrico de casos y controles, de 1995-1996, incluyeron 56 casos con DTN, RNV y RNM, con prevalencias de: anencefalia (69.6%), MMC (21.4%) y con ambos defectos (8.9%) <sup>(30)</sup>. Mientras Hernández-Herrera y Ortiz-Jalomo en Monterrey N.L, de 1995 a 1996, en un estudio transversal de un total de 53,290 nacimientos, reportaron 111 casos con DTN: anencefalia (61%), MMC (54%), encefalocele (22%) y LH c/s PH (71%) <sup>(31)</sup>.

## **1.5 Factores de riesgo para defectos de tubo neural y labio con y sin paladar hendido**

### **1.5.1 Ácido fólico**

#### **1.5.1.1 Generalidades**

El AF es llamado factor de Willis o vitamina B11, B10, Bc, U y R. <sup>(12)</sup> Esta molécula está formada por 3 unidades: una pteridina, una molécula de ácido para-amino benzoico y uno o seis residuos de ácido glutámico unidos por enlaces peptídicos. El anillo de pteridina puede encontrarse en forma no reducida, parcialmente reducida (dihidrofolato) (DHF) o totalmente reducida (tetrahidrofolato) (THF), esta última es la

forma biológicamente activa para ejercer su función en el interior de la célula (Fig. 6). Los folatos son sintetizados solo por bacterias y plantas, las células animales no pueden sintetizar el ácido para-amino benzoico ni fijar el primer residuo de glutámico al AF, por lo que el hombre requiere de la dieta para cubrir sus necesidades <sup>(32)</sup>. Los folatos se presentan en la naturaleza en forma de poliglutamatos, la forma sintética de AF contienen únicamente monoglutamatos <sup>(12)</sup>.

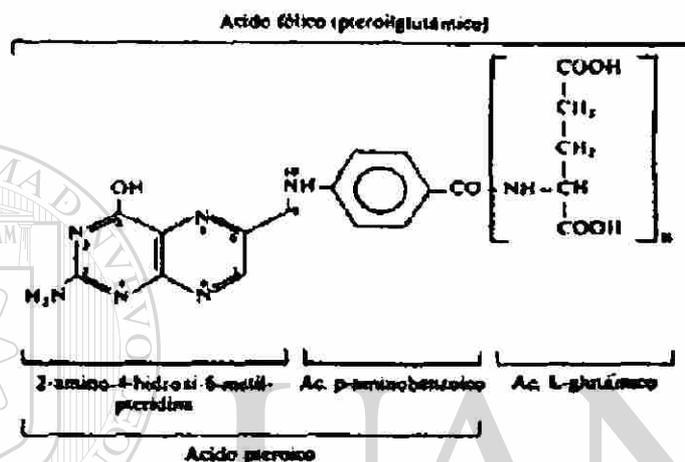


Figura 6. Estructura molecular del ácido fólico (Tomado de Forrellat MB. 1997 Rev Cub Inmunol Hemoter)

### 5.1.2 Absorción y distribución

El AF se absorbe por el duodeno y parte alta del yeyuno donde se convierte en un poliglutamato, éste por una conjugasa se convierte en monoglutamato. Después de la absorción activa y pasiva, los monoglutamatos en las células intestinales son totalmente convertidos a THF y DHF, los primeros poseen sustituciones diferentes en el anillo 5 y 10 de la pteridina y son transportados directamente o después de su conversión a 5-metil-THF, el 70% de éste se une débilmente a la albúmina quien tiene sitios de poca afinidad a los folatos, el 33% se une a proteínas de alta afinidad. Posteriormente son transportados a la circulación portal en forma de monoglutamatos.

La conversión de folatos a poliglutamatos dentro de la célula garantiza la permanencia en su interior, encontrándose así en la mayor parte de los tejidos, sólo en el hígado es movilizado. En el eritrocito el poliglutamato es incapaz de atravesar

la membrana, por lo que su concentración refleja las reservas de esta vitamina, ya que estas células tienen una vida media de 120 días, esto sirve para determinar el nivel promedio de folatos de un individuo, durante los 3 meses previos. Una pequeña dosis de AF incrementa los niveles plasmáticos dentro de la siguiente hora y el tiempo entre la absorción y su utilización o almacenamiento es de 4 horas, cuando regresa a sus niveles basales. Cualquier exceso de folatos es rápidamente excretado por la orina <sup>(12, 32)</sup>.

La absorción de AF se dificulta con la presencia de ciertos inhibidores de las conjugasas como los anticonceptivos orales, las legumbres y barbitúricos, lo que puede traducirse en deficiencia de folatos <sup>(12)</sup>. Los suplementos de AF interfieren con la absorción intestinal de zinc en los humanos y este es necesario para que el poliglutamato pase a monoglutamato por lo que se debe asegurar una ingesta adecuada de zinc cuando se tomen estos suplementos. La vitamina C puede evitar la oxidación de los THF y esto ayuda a mantener repleta la reserva metabólica de folatos <sup>(12)</sup>. La utilización de folatos también se reduce en condiciones de acidez, o enfermedades de la mucosa intestinal cuando existe mala absorción de los folatos <sup>(32)</sup>.

### 1.5.1.3 Funciones

Las funciones del AF son las siguientes: 1) conversión de homocisteína (Hci) en metionina, los folatos participan en el aporte de grupos metilo al ciclo de la metilación para convertir la Hci en metionina, esto ocurre en varios compartimientos celulares (citosol, mitocondrias y núcleo) <sup>(9, 12, 32)</sup>, utiliza la Vit B12 como cofactor, (nutriente esencial en la dieta del humano), 2) la conversión de serina en glicina requiere el THF como aceptor de un metilo de la serina, esto da como resultado una coenzima esencial para la síntesis de timidilato, 3) síntesis de timidilato, el 5,10-THF dona un grupo metilo para la síntesis de timidilato, 4) en el metabolismo de la histidina el THF actúa como aceptor de formimino en la conversión de ácido formiminoglutámico en ácido glutámico. 5) síntesis de purinas. Los folatos actúan como cofactores para las enzimas que participan en la biosíntesis del ADN y ARN, proporcionan unidades de

un carbón en la síntesis de *nov*o de las bases del ADN, debido a que los THF aceptan carbonos sencillos de una gran variedad de donantes, esto permite la replicación celular (Fig. 7) <sup>(32, 33,34)</sup>.

#### 1.5.1.4 Requerimientos de folatos por la madre

La Norma Oficial Mexicana para la Prevención y Control de los Defectos al Nacimiento NOM 034-SSA2-2000, establece que a toda mujer en edad reproductiva se le recomienda una ingesta diaria de 400 microgramos/día ((g/día) o 0.4 miligramos/día (mg/día), tres meses previos al embarazo y hasta la semana 12 de gestación.

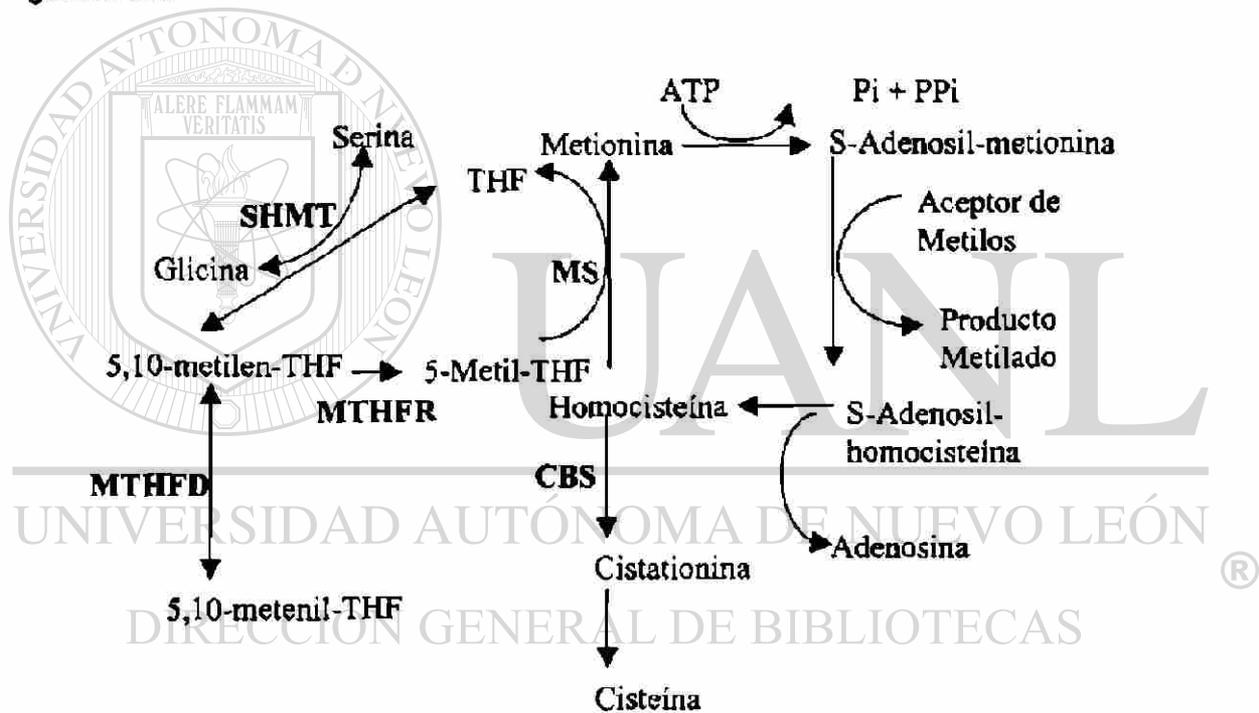


Figura 7. Esquema simplificado de la homocisteína dependiente de folatos. Las enzimas clave están en negritas. MS, metionin sintasa; MTHFR, metilentetrahidrofolato reductasa; MTHFD, metilentetrahidrofolato deshidrogenasa; SHMT, serina hidroximetil transferasa y CBS, cistationin  $\beta$ -sintasa.

En mujeres que tengan un hijo previo con DTN o que por su condición social o geográfica se supone que puedan tener deficiencia de folatos, la dosis recomendada es de 4.0 mg/día, durante el mismo periodo. En Estados Unidos, la agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA) recomienda durante el embarazo y la lactancia 0.8 mg/día y para las mujeres adultas 0.4 mg/día <sup>(12)</sup>.

### 1.5.1.5 Requerimientos de folatos por el feto

Las células embrionarias y fetales son totalmente dependientes del aporte de folatos maternos para su multiplicación. El desarrollo normal del tubo neural y la cresta neural requieren de: 1) ingesta materna adecuada de folatos, 2) transporte adecuado de folatos durante el cierre del tubo neural, 3) expresión y función normal de los receptores de folatos (RF) en placenta y en células de la cresta neural y 4) regulación coordinada de RF para mantener los requerimientos de folatos y la capacidad proliferativa de las células de la cresta neural y del tubo neural durante la embriogénesis. Si hay sobreexpresión de RF o deficiencia de folatos, esto provoca una reducción en la proliferación de células del saco vitelino, tubo neural, citotrofoblasto placentario y células de la cresta neural produciendo serias consecuencias en el feto <sup>(35)</sup>.

La entrada de folatos a la célula y el transporte materno-fetal transplacentario es mediada por los RF. Estos son críticos para el desarrollo del tubo neural y la cresta neural. El receptor alfa, se encuentra ubicado en toda la placenta, fisiológicamente es el más relevante, la reducción de estos receptores en placenta disminuye la distribución de folatos fetales. Los folatos probablemente atraviesan la placenta por difusión pasiva <sup>(35)</sup>.

Los requerimientos de folatos en el embarazo aumentan porque: 1) disminuye su absorción, 2) existe un rompimiento acelerado de folatos a p-aminobenzoilglutamato, 3) hay una mayor pérdida por vía urinaria y 4) hay mayor transferencia fetal <sup>(12, 34, 36)</sup>. El contenido de folatos placentarios y fetales al término del embarazo es de 0.8 mg/100 g; por lo tanto la sangre fetal tiene un nivel mayor de folatos que la sangre materna, con una relación de 3:1 <sup>(12)</sup>, indicando que hay una transferencia placentaria activa <sup>(35)</sup>.

### 1.5.1.6 Deficiencia

La ausencia de AF y Vit B12 o ambas origina una incorporación errónea del desoxiuridín-trifosfato (dUTP) a la cadena de ADN, originando muchas escisiones,

resíntesis y reparaciones sobre la región en que debería haber desoxitimidín-trifosfato (dTTP). Esto trae consigo una síntesis más lenta o un ADN alterado, manifestándose en médula ósea como células megaloblásticas caracterizadas por un núcleo inmaduro con relación al citoplasma. La disminución del folato sérico se detecta a las 3 semanas. Su disminución provoca hipersegmentación de los neutrófilos, macroovalocitosis de los eritrocitos, cambios megaloblásticos en médula ósea y después de 4 meses y medio aparece la anemia <sup>(32)</sup>.

### **1.5.1.7 Estudios relacionados con el consumo de ácido fólico**

#### *a) Con relación a DTN.*

Hay evidencias de que el riesgo de DTN se disminuye con suplementos de AF en el periodo periconcepcional <sup>(36)</sup>. Altas dosis de folatos en este periodo (6 mg diarios) pueden prevenir defectos orofaciales y reducen el riesgo de defectos del tracto urinario, así como malformaciones troncoconales de corazón <sup>(35-38)</sup>.

Evidencias bioquímicas y epidemiológicas han sugerido que el problema se origina en la captación y/o metabolismo de las células maternas y fetales, y no en cantidades suficientes de folatos en los alimentos <sup>(29)</sup>.

En un estudio de casos y controles realizado en la frontera de Texas y México calcularon la ingesta de folatos a través de un cuestionario, sus resultados sugieren que los suplementos de AF no protegen a esta población de los DTN, posiblemente se debe a que ingieren el AF en forma de poliglutamato (razón de Momios (OR) ajustado = 1.12; 95% Intervalo de confianza (IC): 0.22-5.78) <sup>(39)</sup>.

En la región norte y sur de China, donde presentaban índices elevados de embarazos con DTN (4.8/1000, 1/1000 respectivamente), realizaron un estudio de cohorte, para determinar la eficacia del AF. La proporción disminuyó a 1/1000 en el norte y 0.6/1000 en el sur. El uso de 400 (g diarios de AF en el periodo periconcepcional disminuyó el riesgo de recurrencia en un 72% <sup>(40)</sup>.

Mulinare y col., realizaron un estudio de casos y controles en el cual encontraron un efecto protector contra la ocurrencia de DTN en la raza blanca (OR para todos los DTN: 0.40 (IC 95% 0.25-0.63), para anencefalia: 0.48 (95% CI 0.25-0.91) y para EB 0.34 (95% IC 0.18-0.64) con el uso de multivitamínicos en el periodo periconcepcional y en el primer trimestre del embarazo <sup>(41)</sup>.

Daly y col., realizaron una prueba clínica para ver la dosis mínima efectiva de AF con la complementación de alimentos en la prevención de DTN, admitieron 121 mujeres con concentraciones de AFI entre 150 y 400 (g /L, las distribuyeron en forma aleatoria en grupo placebo, 100, 200 y 400 (g diarios de AF. Con los incrementos de folatos observados en sangre calcularon una reducción para DTN en los grupos: Por lo tanto consideran que los DTN pueden prevenirse un 50 a 70% <sup>(42)</sup>.

Se realizó un estudio de comparación concurrente en zonas urbanas y rurales del estado de Nuevo León, México, de 74 mujeres, 39 de ellas presentaron antecedente de un hijo con DTN y recibieron 5 mg de AF por semana durante tres meses, se incrementaron los valores de AFI y AFP en el 90% del grupo. Antes de la administración semanal de AF, el 37.5% de las mujeres tenían valores superiores a 160 µg/ml y después el 81.2% <sup>(43)</sup>.

En un estudio multicéntrico de casos y controles realizado en el área rural de Chihuahua, Durango y Zacatecas, se concluyó que la deficiencia de folatos constituye uno de los principales factores de riesgo asociados a DTN (RM 11.1; IC 95% 1.2-106.2 p=0.04) <sup>(30)</sup>.

*b) Con relación a LH c/s PH.*

Werler y col., realizaron un estudio multicéntrico de casos y controles, donde observaron un OR estadísticamente significativo con el uso de multivitamínicos antes del periodo periconcepcional para prevenir paladar hendido y defectos en el tracto urinario, pero no tienen claro cual nutriente o combinación puede disminuir el riesgo <sup>(44)</sup>.

Shaw y col., realizaron un estudio de casos y controles en fetos y recién nacidos con anomalías orofaciales, donde encontraron un OR de 0.50-0.73 dependiendo del fenotipo de la hendidura, en madres que usaron multivitamínicos que contenían AF un mes antes y dos después de la concepción disminuyendo el riesgo de tener un hijo con hendiduras orofaciales en un 25-50%, aunque no se asoció al AF específicamente, atribuyéndose este efecto a otro componente del multivitamínico (17).

Hayes y col., realizaron un estudio de casos y controles, donde intentaron probar que el suplemento de AF durante el periodo periconcepcional reducía el riesgo de hendiduras orofaciales. Sus hallazgos (hendiduras orofaciales: OR 1.1 IC 95% 0.8-1.7, paladar hendido: OR 0.9 IC 95% 0.5-1.6 y LH c/s PH: OR 1.3 IC 95% 0.8-2.1) no asociaron el efecto protector del uso de multivitamínicos para prevenir estos defectos (38).

## **1.5.2 Metilentetrahidrofolato reductasa**

### **1.5.2.1 Generalidades**

La enzima MTHFR, cuyo gen se localiza en el cromosoma 1 (1p36.3), cataliza la reducción de 5,10 metilentetrahidrofolato a 5 metilentetrahidrofolato, el cual es un precursor crítico en la cascada de reacciones que permiten la metilación de muchas sustancias biológicamente importantes.

En 1994 fue clonado el gen de la MTHFR y desde entonces, se han descubierto 18 mutaciones, de éstas, 14 son muy raras y se han reportado como variables asociadas a deficiencia muy severa de la actividad de la enzima (0-20%). Las otras 4 mutaciones son relativamente comunes y muestran diferentes grados de deficiencia enzimática. La primera mutación identificada fue la C677T y ha sido extensamente estudiada en diversas poblaciones, particularmente asociada como factor de riesgo para enfermedades de arterias coronarias y DTN. Se identificó una variación polimórfica en la posición C677T del nucleótido, involucrando el cambio de la base

citocina (C) por la base timina (T), resultando una sustitución del aminoácido valina (GTC) por alanina (GCC) <sup>(45)</sup>. La enzima resultante de la traducción de esta mutación, muestra una reducción hasta de un 50% en la capacidad de donar grupos metilo a la enzima metionina-sintetasa, presentando un aumento sérico de Hci.

La segunda mutación identificada es la que se encuentra en la posición A1298C del nucleótido, en el mismo gen de la MTHFR, esta variación polimórfica esta involucrada en el cambio de una base de adenina por citosina, resultando una sustitución de glutamina (GAG) por alanina (GCG), en el exon 7. Con esta mutación se reduce la actividad de la MTHFR siendo más marcado en los homocigotos; no se encuentra asociado con altas concentraciones plasmáticas de homocisteína (Hci) o con bajas concentraciones de folatos como en la mutación C677T <sup>(46, 47)</sup>

La heterocigocidad combinada de C677T y A1298C en la madre o en el producto, se ha relacionado con una disminución de la actividad de la MTHFR y representa un factor de riesgo para DTN, dando altas concentraciones plasmáticas de Hci y bajas de folatos <sup>(46, 47)</sup>. Se ha reportado que suplementos de AF disminuyen los niveles séricos de Hci asociados con la mutación 677T, la frecuencia de este alelo en ciertos grupos étnicos tiene una alta correlación con la incidencia de DTN <sup>(47)</sup>. Es posible que este sea un mecanismo biológico del AF para prevenir DTN relacionados con la mutación de esta enzima, esto es común entre los hispanos, menos común en mujeres blancas no hispanas y raras en mujeres negras. El estado homocigoto para la mutación C677T es un factor de riesgo para EB y anencefalia. El genotipo solo, no es un determinante crítico, es ulterior al efecto interactivo entre el genotipo y los niveles de folatos <sup>(9, 48)</sup>. Se describe en fetos no viables la existencia de la combinación 677CT/1298CC y 677TT / 1298CC <sup>(49)</sup>.

### **1.5.2.2 Estudios de Metilentetrahidrofolato reductasa**

En un estudio de casos y controles realizado por Martinelli y col., en Italia en el cual estudiaron madres con hijos que tenían LH c/s PH, presentaron mayor frecuencia de

los genotipos CT o TT (OR: 2.75, 95% IC 1.30-5.57) comparados con los controles (OR: 2.51, IC 1.00-6.14), resultados que señalan el efecto del genotipo materno <sup>(50)</sup>.

Mills y col., realizaron un estudio en EUA para ver la prevalencia en irlandeses de la mutación C677T en sujetos con hendiduras orofaciales. Este defecto fue tres veces más frecuente en paladar hendido 25.9% (OR de 3.23, 95% IC 1.32-7.86,  $p=0.02$ ) y en LH c/s PH fue de 15.2%, (OR 1.65, 95% IC 0.81-3.35,  $p=0.20$ ) <sup>(51)</sup>.

En México en un estudio multicéntrico, encontraron una prevalencia de 34.8% del genotipo TT, en mujeres de una población sana, en edad reproductiva. Admitieron en el estudio solo a mujeres nacidas en México, descendientes de cuatro generaciones. Observaron una frecuencia de 0.59 del alelo mutado. Este resultado puede ser representado como un marcador genético característico de algunas etnias indias americanas en nuestra población <sup>(45)</sup>.

En Guadalajara, Jalisco en un estudio de casos y controles no pareados, padres mestizos de niños con DTN fueron comparados con diferentes grupos étnicos como: Huicholes, Mestizos, Tarahumaras, Purépechas y Caucásicos. Se encontró una frecuencia alélica de la mutación C677T en los mestizos (44%), en los Huicholes (56%), en Purépechas (57%); señalando que esta mutación no es el principal factor para DTN <sup>(52)</sup>. Diferencias significativas en la frecuencia de madres homocigotas (TT) de hijos con DTN (39.5%) y en los controles (9.1%) se observaron en un estudio de casos y controles en el estado de Nuevo León. La frecuencia alélica fue de 0.55 y de 0.36 para casos y controles respectivamente <sup>(23)</sup>. Otros autores han encontrado también estas diferencias genotípicas <sup>(53)</sup>.

En un estudio de casos y controles realizado por Volcik y col. en EUA, se realizó un estudio para determinar la frecuencia de la mutación C677T y A1298C en casos de EB, en sus padres y en controles, en hispanos con descendencia mexico-americana. Las madres hispanas homocigotas con la mutación C677T tienen un factor de riesgo para EB en niveles altos <sup>(54)</sup>.

Botto y col., informan que en California encontraron que el alelo C677T no se asoció con aumento en el riesgo de LH c/s PH (OR 0.9; 95% IC: 0.6-1.4). Sin embargo en la población Irlandesa este alelo se asoció con un incremento en el riesgo de PH (OR 3.2; 95% IC: 1.3-7.9) y posiblemente para LH c/s PH (OR 1.6; 95% IC: 0.8-3.4)<sup>(47)</sup>.

### **1.5.3 Homocisteína**

#### **1.5.3.1 Generalidades**

La Hci es un aminoácido sulfatado que no es un constituyente de la dieta normal y es la única fuente de metionina; se puede encontrar en forma reducida u oxidada, esta se encuentra en niveles bajos normalmente durante el embarazo. La Hci se convierte a metionina solo en presencia adecuada de folatos<sup>(55)</sup>. Dos enzimas mantienen la homeostasis de la Hci en las células de todos los tejidos: la metionin-sintetasa y la 5, 10 MTHFR. Con la participación de Vit B12 como cofactor y el 5-MTHFR como donador del grupo metilo, la metonin-sintetasa cataliza la remetilacion de Hci a metionina. La Hci puede ser degradada irreversiblemente por la cistationina  $\beta$ -sintetasa, esta requiere vitamina B6 como cofactor<sup>(58)</sup>. La disfunción de las enzimas o una inadecuada cantidad de cofactores puede dar altas concentraciones de Hci<sup>(50)</sup>.

La mutación C677T de la MTHFR se asocia comúnmente a elevaciones moderadas de Hci<sup>(45, 57)</sup>. Niveles elevados de Hci se han asociado a: DTN, preeclampsia, placenta previa, retardo en el crecimiento fetal, abortos tempranos, arteriosclerosis y trombosis venosa<sup>(49, 50, 56, 58, 59)</sup>.

#### **1.5.3.2 Estudios de Homocisteína**

El genotipo TT se encuentra asociado con concentraciones plasmáticas moderadamente elevadas de Hci cuando las concentraciones de folatos están bajos o por debajo del rango normal<sup>(56)</sup>. La hiperhomocisteinemia materna con o sin la mutación C677T se ha asociado con un incremento en el riesgo de DTN en el feto<sup>(53)</sup>

## **1.6 Otros factores que producen defectos de tubo neural y labio hendido con y sin paladar hendido**

### **1.6.1 Fumonicinas**

La dieta basada en maíz en forma de tortillas es un alimento muy utilizado en la frontera de Texas-México y sur de California. Las fumonisinas, micotoxinas del maíz, fueron relacionadas por su efecto tóxico y carcinogénico en varias especies de animales, aunque los efectos en humanos son desconocidos. Recientes experimentos *in vitro* han mostrado que la fumonicina B inhibe al receptor de los folatos, mediante inhibición competitiva en el transporte del 5-metil-tetrahidrofolato. El receptor de los folatos se encuentra en la membrana, enriquecida con colesterol y esfingolípidos, este receptor es un glucosilfosfatidilinositol (GPI)-unido a proteínas.

La fumonicinas son esfingocinas análogas e inhiben la reacción catalizada por la síntesis de ceramida dando como resultado una baja en la síntesis de esfingocinas y una interrupción de la función celular dependiente de éstas <sup>(26, 60)</sup>. También se ha mostrado que detiene el ciclo celular en fase G1 en células renales de monos <sup>(61)</sup>.

En un estudio en México para evaluar el contenido de fumonicinas en la masa de tortillas de maíz, se detectó de 1.0-1.8 ppm de B1 en masa y tortillas, los resultados del estudio sugieren que las fumonicinas están presentes en altos niveles en la masa antes de procesarla o que la capa superficial no ha sido totalmente removida por hidrólisis alcalina, si es parcialmente removida tiene un 31.1% de la toxina de B1 y si es totalmente removida se reduce hasta un 94.9%, por lo tanto la completa remoción de la capa superficial y el lavado podría reducir la posibilidad de exposición a fumonicinas <sup>(61)</sup>.

### **1.6.2 Hipertermia**

Temperaturas corporales muy elevadas durante un tiempo prolongado, pueden ser causa de aborto. Cuando la exposición se presenta en el periodo crítico del desarrollo, elevaciones bajas por el mismo periodo de tiempo pueden causar la muerte de células embrionarias y reabsorción o anomalías. Cuando la temperatura corporal se eleva 2° C de lo normal, se interrumpen las divisiones

mitóticas y con 3° C las células entran en apoptosis. Las fuentes de hipotermia pueden ser: enfermedades, sauna y uso de baños calientes cuando en estos últimos no se respetan los límites de tiempo <sup>(20)</sup>. Estudios epidemiológicos sugieren que la exposición *in útero* a hipotermia produce defectos en el desarrollo en el humano, ratas, ratones y cobayos de guinea. En cobayos de guinea se afecta el desarrollo embrionario en los días 13 y 21. El E13 es el periodo cerca del cierre del surco neural y el neuroporo anterior, provocando alta incidencia de DTN y el E21 es el inicio de la placa cortical <sup>(62)</sup>. En otro estudio se expuso a ratas de guinea con 10 días de gestación *in vivo* e *in útero* a temperaturas de 37 °C a los controles y 42 °C a los casos por 15 minutos, observándose muerte celular por apoptosis en el mesodermo presomítico y alteraciones en la proliferación celular produciendo retraso o desarrollo anormal de SNC, copa óptica, somitas y desarrollo de extremidades, sin embargo al nacimiento solo se encontraron malformaciones en costillas y vértebras y los embriones con grandes defectos fueron abortados en etapas tempranas <sup>(63)</sup>.

### 1.6.3 Alcohol

En las personas alcohólicas se conjugan la baja ingesta de alimentos y la acción directa del alcohol sobre los niveles séricos de folatos por bloqueo en la liberación de folatos hepáticos a la circulación, además de su efecto destructor sobre la vitamina y la interferencia en la absorción unida al incremento de su excreción y la disminución de su utilización <sup>(12)</sup>.

### 1.6.4 Antagonistas del ácido fólico

Los antagonistas del AF están asociados con un incremento en el riesgo de DTN, defectos cardiovasculares, hendiduras faciales, defectos del tracto urinario y defectos en la reducción de extremidades. Hay dos grupos generales de antagonistas: los del primer grupo son inhibidores de la DHF reductasa, los cuales desplazan los folatos de la enzima y bloquean la conversión de folatos, pertenecen a este grupo el aminopterín, metrotexate, sulfasalazina, pirimetamina, triamtereno y trimetoprim <sup>(12, 21)</sup>, en humanos afecta el metabolismo de los folatos y puede producir anemia megaloblástica e incrementar la concentración sérica de Hci. El riesgo relativo (RR)

de tener defectos de hendiduras faciales usando estos inhibidores fue de 2.6 (95% IC 1.1-6.1). El riesgo para estas alteraciones se incrementa en el 2º y 3º trimestres del embarazo <sup>(21)</sup>.

El segundo grupo de inhibidores puede afectar otras enzimas en el metabolismo de los folatos, impidiendo la absorción de los folatos o incrementando su degradación, a este grupo pertenecen drogas antiepilépticas (carbamacepina, fenitoína, primidona y fenobarbital) <sup>(21)</sup>.

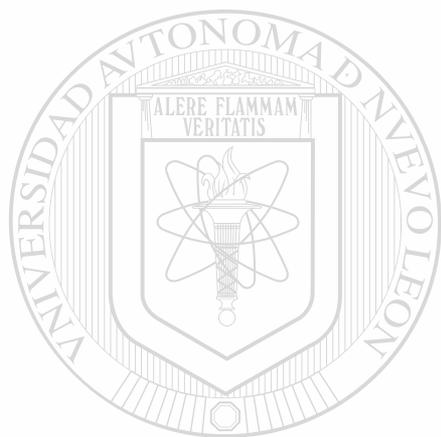
### 1.6.5 Plaguicidas

Son sustancias utilizadas para la prevención o combate de plagas. Muchas de ellas son productos tóxicos no selectivos, que atacan también las especies benéficas, incluso al hombre. El uso excesivo de plaguicidas constituye una seria amenaza, tanto desde el punto de vista ocupacional como ambiental <sup>(64)</sup>. Los plaguicidas por definición incluyen insecticidas, herbicidas y funguicidas. Los insecticidas organofosforados son venenos activos de contacto, ingestión e inhalación <sup>(65)</sup>. Inhiben a la acetilcolinesterasa (ACHE) de manera irreversible, la cual se encarga de la inactivación de la acetilcolina con lo cual se interrumpe la transmisión del impulso nervioso. El acúmulo de acetilcolina, ocasiona múltiples efectos en el organismo. Los inhibidores específicos de la ACHÉ son los plaguicidas carbamatos y compuestos organofosforados <sup>(66)</sup>.

Los organofosforados se absorben por piel, particularmente en el área genital por la presencia del pániculo adiposo, tractos respiratorio, gastrointestinal, ojos y áreas cercanas a los genitales, siendo estas áreas más susceptibles a la absorción <sup>(54)</sup>. Pueden provocar intoxicaciones agudas y crónicas. Sus posibles efectos a largo plazo, aunque no han sido totalmente comprobados son: nefrotoxicidad, mutagenicidad y daños en la salud reproductiva. <sup>(67)</sup>

En varios trabajos se ha reportado un incremento en el riesgo de anencefalia y EB en hijos de trabajadores agrícolas <sup>(64)</sup>. En Canadá asociaron el uso de químicos utilizados en la agricultura con DTN y hendiduras faciales <sup>(66)</sup>. En Colombia se realizó un estudio transversal en mujeres trabajadoras de la horticultura y a las esposas de

hombres que trabajan en esa actividad. Se reportó un incremento en abortos espontáneos, muertes neonatales y un moderado incremento en defectos al nacimiento, en ambos grupos de mujeres <sup>(69)</sup>. Se ha descrito como factor de riesgo para LH c/s PH la exposición a químicos utilizados en la agricultura <sup>(70)</sup>.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## 1.7 JUSTIFICACION

En México las malformaciones congénitas ocupan el duodécimo lugar dentro de las principales causas de mortalidad general y el segundo lugar dentro de las principales causas de mortalidad infantil. Se estima que en nuestro país, cerca de 700,000 recién nacidos por año están en riesgo de presentar algún defecto al nacimiento o padecer alguna de sus secuelas. En Chihuahua, las malformaciones congénitas ocupan el undécimo lugar dentro de las causas de mortalidad general y el noveno lugar dentro de la mortalidad infantil.

La tasa de DTN durante el 2001 en México fue de 3.35/10,000 RNV. En Chihuahua fue de 4.26 y ocupa el noveno lugar en la Republica Mexicana, con respecto a la presentación de DTN.

Del grupo de defectos al nacimiento generadores de mayor discapacidad, son los que afectan al sistema nervioso central, destacando entre ellos los DTN (anencefalia, encefalocele y MMC que en conjunto representan el 93% del total de este grupo. La frecuencia de defectos congénitos del tubo neural al nacimiento es de 19.4/1000 y labio y paladar hendido es de 1.3/1000 <sup>(71)</sup>

Durante las dos últimas décadas se le ha dado gran importancia a la nutrición materna en la ocurrencia de DTN en diversas partes del mundo y también en nuestro país. Se han hecho estudios con relación a la ingesta de multivitamínicos y AF antes del embarazo y en sus etapas tempranas. Recientemente en diferentes estudios de intervención se ha demostrado que los suplementos periconcepcionales en la dieta materna con multivitamínicos y AF o AF solo, reducen un (70-75%) el riesgo de recurrencia de DTN <sup>(45)</sup>.

Los DTN y LH c/s PH tienen particular relevancia por su importante participación en la morbimortalidad fetal durante todas las etapas del desarrollo intrauterino, siendo causa de frecuentes secuelas y muerte entre lactantes y niños.

Todos los infantes con anencefalia mueren al nacimiento o pocas horas después, los de EB abierta sobreviven como resultado de un extenso cuidado médico y quirúrgico, el riesgo de muerte en estos niños depende de la severidad de la alteración y de la disponibilidad, uso y aceptación del tratamiento médico y quirúrgico. Algunos tienen severas incapacidades, problemas psicológicos y defectos neurológicos <sup>(12)</sup>.

Se ha calculado que el tratamiento de un niño con EB cuesta en nuestro medio alrededor de \$80 000.00 pesos durante el primer año y de \$40 000.00 pesos en los siguientes años, sin tomar en cuenta el costo moral y social de estos problemas <sup>(43)</sup>.

Los niños con hendiduras orofaciales, LH c/s PH requieren tratamiento médico multidisciplinario, desde los tres meses hasta los 18 ó 20 años de edad, con cirugías, consultas y rehabilitación frecuentes. Los estigmas obvios de labio y paladar hendido pueden constituir una limitación en el desarrollo psicológico del individuo, afectando importantemente la organización social así como los costos económicos para el cuidado de la salud.

La identificación de factores de riesgo involucrados en la etiología de estas malformaciones, facilitaría el establecimiento de medidas preventivas para disminuir su incidencia.

Este estudio apoyado en otros realizados en otras entidades puede aportar datos que permitan contribuir a un mejor conocimiento, para establecer un método de prevención en nuestra población, no únicamente para reducir los DTN, también otras malformaciones congénitas (de corazón, extremidades y del tracto urinario) <sup>(21)</sup>; asegurando una mejor salud para las madres y sus hijos.

Este trabajo tiene la intención de motivar al personal médico para que se realicen revisiones morfológicas sistematizadas a cada recién nacido y se tengan registros más explícitos y fidedignos.

## **1.8 PROBLEMA**

¿Existe asociación de la deficiencia de AF y concentraciones plasmáticas elevadas de Hci en madres que tienen hijos con DTN, ó LH c/s PH y polimorfismo genético de la mutación C677T de la enzima MTHFR en los padres y sus hijos?

## **1.9 HIPÓTESIS DE TRABAJO**

Las madres con deficiencia de AF y/o concentraciones plasmáticas elevadas de Hci y/o la mutación C677T de la enzima MTHFR tienen mayor riesgo de tener hijos con DTN o LH c/s PH y los niños con estas mutaciones tienen mayor riesgo de tener estos defectos.

## **1.10 OBJETIVO GENERAL**

Establecer la correlación de los DTN y LH c/s PH con deficiencia materna de AF, concentraciones plasmáticas elevadas de Hci, polimorfismo genético de la MTHFR para comparar estos factores de riesgo con madres que hayan tenido hijos sin estos defectos congénitos y hacer una descripción morfológica externa en los productos c/s estos defectos congénitos.

## **1.11 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1.11.1 Agrupar los casos de recién nacidos y lactantes con diagnóstico de DTN y LH c/s PH.

1.11.2 Reunir el grupo control de recién nacidos y lactantes sin defectos congénitos.

1.11.3 Clasificar los DTN según el sitio de cierre Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE 10 ed.).

1.11.4 Clasificar los defectos de LH c/s PH (CIE 10 ed.).

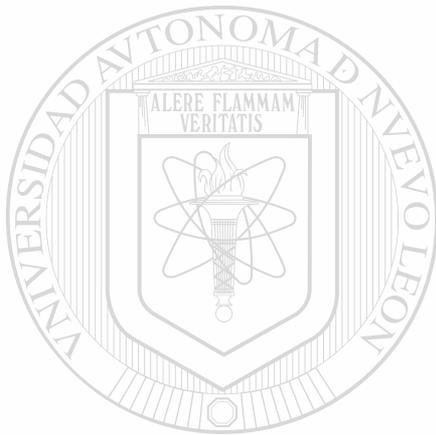
1.11.5 Determinar los niveles de folatos en sangre periférica de la madre y su respectivo control.

1.11.6 Determinar los niveles de Hci en sangre periférica de la madre del caso y su respectivo control.

1.11.7 Determinar los niveles de Vit B12 en sangre periférica de la madre del caso y su respectivo control.

**1.11.8 Determinar el polimorfismo de la enzima MTHFR por la mutación de C677T en la madre, en el padre y en el hijo con la alteración y sus respectivos controles.**

**1.11.9 Determinar la asociación entre estos factores predictores y la presencia de estas malformaciones congénitas.**



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **CAPITULO DOS MATERIAL Y MÉTODOS**

### **2.1 Diseño**

Casos y Controles.

### **2.2 Universo de trabajo**

Recién nacido y lactantes con DTN y LH c/s PH y sus padres, con sus respectivos controles, que se atendieron en el IMSS, Hospital Infantil del Estado, Hospital General y Hospital Central Universitario de la ciudad de Chihuahua de agosto del 2001 a agosto del 2002.

### **2.3. Grupos de estudio**

**2.3.1 CASOS:** Recién nacidos y lactantes que presentaron las anomalías de estudio y sus padres.

**2.3.2 CONTROLES:** Recién nacidos y lactantes sin anomalías congénitas y sus padres. Se tomaron 4 controles por cada caso.

---

### **2.4 Determinación de tamaño de la muestra**

Todos los casos y sus respectivos controles que se obtengan de la forma antes mencionada en el periodo de agosto del 2001 a agosto del 2002.

### **2.5 Criterios de Selección**

#### **2.5.1 Criterios de Inclusión**

- **CASOS:** Padres e hijos: recién nacidos (hasta un mes de edad) y lactantes (2 a 12 meses de edad) con DTN (CIE Q00-Q07 10 ed) y LH c/s PH (CIE Q35-Q37 10 ed) sin otras alteraciones congénitas externas.
- **CONTROLES:** Padres e hijos: recién nacidos y lactantes sin anomalías congénitas externas que pertenezcan al mismo hospital que los casos y

pareadas por edad del recién nacido y lactante, grupo étnico y nivel socioeconómico en el mismo periodo de estudio.

### 2.5.2 Criterios de Exclusión

- Madres con antecedentes de diabetes mellitus, epilépticas (con tratamiento anticonvulsivo), neoplasias.
- Madres que durante el embarazo hayan estado expuestas a agentes teratógenos conocidos.
- Madres del grupo control que hayan tenido hijos con cualquier defecto congénito, antecedentes de Diabetes Mellitus, epilepsia y neoplasias.
- Defectos de tubo neural y de labio hendido c/s paladar hendido sindrómicos.
- Madres que no acepten participar en el estudio.

## 2.6 Variables

### 2.6.1 Variables Independientes

- **Deficiencia de AF:** definición conceptual y operacional: se tomó por deficiencia cuando los niveles séricos de AFP fueron menores de 3.5 ng/ml, y de AFI menores de 160 ng/ml.  
Indicador: ng/ml  
Escala de medición: continua
- **Concentraciones séricas altas de Hci:** definición conceptual y operacional: se toma como concentraciones altas cuando los niveles de Hci plasmática fueron mayores de 10  $\mu\text{mol/L}$ .  
Indicador:  $\mu\text{mol/L}$   
Escala de medición: continua
- **Polimorfismo genético de la enzima MTHFR:** definición conceptual y operacional: se tomó como homocigoto negativo CC, homocigoto positivo TT y heterocigoto CT.  
Indicador: presente o ausente  
Escala de medición: nominal

## 2.6.2 Variables Dependientes

- **Defectos del tubo neural:** definición conceptual y definición operacional: Es una malformación morfológica que resulta de un desarrollo intrínseco o extrínseco anormal que interfiere con el desarrollo del tubo neural y puede ser compatible o incompatible con la vida.

Indicador: presente o ausente

Escala de medición: nominal

- **Defectos macroscópicos de tubo neural:** definición conceptual: que se percibe a simple vista. Definición operacional: Es una interferencia en el desarrollo normal del tubo neural da como resultado un defecto, anomalía o malformación que se puede observar a simple vista.

Indicador: presente o ausente

I. Mielomeningocele

II. Meningocele

III. Espina bífida

IV. Encefalocele

**I. Mielomeningocele:** definición conceptual y definición operacional: cuando las meninges y la médula espinal se herniaron a través de un defecto vertebral por la fusión incompleta o nula de los arcos vertebrales, cubiertas por piel o una membrana delgada y se acompañan de déficit neurológico inferior:

Indicadores: presente o ausente

Escala de medición: nominal

**II. Meningocele:** definición conceptual y definición operacional: cuando presenta una protrusión de las meninges, debido a un defecto en la osificación de las vértebras y no se acompaña de déficit neurológico inferior.

Indicadores: presente o ausente

Escala de medición: nominal

**III. Espina bífida:** definición conceptual y definición operacional: cuando hay un defecto vertebral que resulta de la fusión incompleta o nula de los arcos vertebrales, este defecto incluye espina bífida quística, MC y MMC.

Indicadores: presente o ausente

Escala de medición: nominal

**IV. Encefalocele:** definición conceptual y definición operacional: es una herniación del cerebro a través de un cráneo bífido que puede contener meninges y parte del sistema ventricular por lo que puede cambiar su nombre según lo que contenga.

Indicadores: presente o ausente

Escala de medición: nominal

- **Defectos macroscópicos de labio hendido y paladar hendido:** definición conceptual: que se percibe a simple vista. Definición operacional: es una interferencia en el desarrollo normal de la cara dando como resultado un defecto, anomalía o malformación que se puede observar a simple vista.

Indicador: I. Labio hendido

II. Paladar hendido

**I. Labio hendido:** definición conceptual y definición operacional: cuando se observa falta de fusión del proceso nasomediano con el proceso maxilar del mismo lado, encontrándose afectado el labio superior con o sin afectación de la parte alveolar del maxilar superior. Dicha hendidura puede presentarse aislada o combinada con paladar hendido y puede ser unilateral o bilateral.

Indicador: presente o ausente

Escala de medición: nominal

**II. Paladar hendido:** definición conceptual y definición operacional: .cuando se afecta el paladar secundario o posterior y la fisura se extiende a través del paladar blando, duro o ambos. Dicha hendidura puede presentarse en forma aislada o combinada con labio hendido y puede ser unilateral o bilateral.

Indicador: presente o ausente

Escala de medición: nominal

### 2.6.3 Covariables

- **Edad materna:** definición conceptual: tiempo que lleva viviendo una persona. Definición operacional: la edad que refinó la madre al momento de la entrevista.

Indicador: años cumplidos

Escala de medición: razón

- **Peso de la madre:** definición conceptual y operacional: es el que se obtuvo a partir del expediente o bien se determinó en el momento de la evaluación.

Indicador: en kilogramos

Escala de medición: continua

- **Número de gestación:** definición conceptual y operacional: es el número de embarazos al parto actual.

Indicador: número de gestación

Escala de medición: razón

- **Patologías que cursó la madre en el embarazo:** definición conceptual y operacional: se refiere al tipo y trimestre en el que cursó la madre con patologías.

Indicador: diagnóstico nosológico

Escala: nominal y ordinal

- **Ingesta de AF y multivitamínicos durante el embarazo:** definición conceptual y operacional: la madre refirió la ingesta de AF y multivitamínicos, dosis del mismo, cuánto tiempo antes y después del embarazo los tomó, bajo prescripción médica o sin ella.

Indicador: clases y dosis

Escala de medición: nominal y razón

- **Abortos previos:** definición conceptual y operacional: se refiere al número de embarazos que terminaron en las primeras 20 semanas de gestación.

Indicador: número de abortos

Escala de medición: razón

- **Edad gestacional:** definición conceptual y operacional: semanas transcurridas desde el momento de la concepción hasta la fecha de parto, según la fecha de la última menstruación.

Indicador: semanas de gestación

Escala de medición: intervalos

- **Peso al nacer:** definición conceptual y operacional: es el que tomó el personal del hospital, ya que no se permite la manipulación del producto en esta fase.

Indicador: en gramos

Escala de medición: continua

- **Ingesta de medicamentos:** definición conceptual y operacional: se refiere al hecho que la madre tomó medicamentos, antes y después de la fecundación hasta el momento del parto, dosis del mismo, con prescripción médica o sin ella, referidas por pregunta directa.

Indicador: clases y dosis

Escala de medición: nominal y razón

- **Radiaciones durante el embarazo:** definición conceptual y operacional: se refiere al hecho de que la madre se expuso a rayos x en cualquier parte de su cuerpo desde la concepción hasta el momento del parto referidas por pregunta directa.

Indicador: tipos de Rayos X

Escala de medición: nominal

- **Estado nutricional de la madre:** definición conceptual y operacional: estado nutricional de la madre previa a la gestación y en el posparto inmediato, se tomó del expediente el peso antes del embarazo y la talla para calcular el Índice de masa corporal, cuando el expediente no tuvo el dato, se obtuvo interrogando a la madre.

Indicador: índice de masa corporal/ kilogramos/ metros cuadrados

Escala de medición: continua

- **Hipertermia materna:** definición operacional: se refiere al hecho que la madre relató exposición al calor: en baño sauna, de aguas termales y fiebre, desde la concepción hasta el momento del parto.

Indicador: tipos de exposición

Escala de medición: nominal

## 2.7 PROCEDIMIENTOS

Se registró el nacimiento del recién nacido o lactante hasta un año de edad con DTN y LH c/s PH, a los padres se les invitó a participar en el estudio. Después de su aceptación procedieron a firmar la carta de consentimiento informado. Posteriormente se les aplicó la encuesta de factores de riesgo y nutricionales (Apéndice A), a la mujer en el posparto y en el caso de los lactantes en el momento de ingresar al hospital. Se les tomó la muestra según se indica en la (Fig. 8). Durante el tiempo de traslado las muestras se conservaron a una temperatura entre 8-10°C.

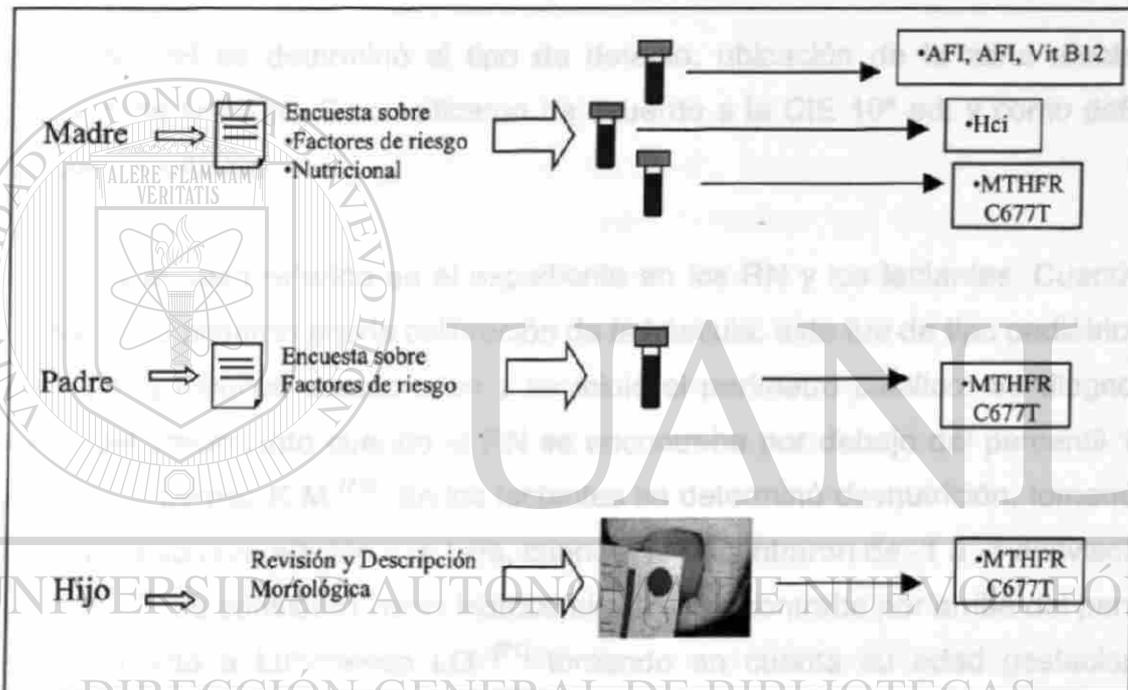


Figura 8. Estrategia general del estudio para las determinaciones sanguíneas de folatos, Hci y la mutación 677T de la MTHFR.

Para validar la información obtenida, se corroboraron los datos primarios de la entrevista en el expediente médico.

Se determinó el estado nutricional de la madre tomando el peso y la talla. La edad morfológica se determinó en base a la fecha de última menstruación, referida por la madre o por el expediente.

Se registró la morfología externa del RN o lactante revisándose la piel, cabeza, cara, cuello, tórax, abdomen, genitales, extremidades y sistema nervioso (Apéndice B).

En los DTN se determinó el tipo de defecto, aspecto y nivel de extensión de la lesión. Se clasificaron en diferentes formas: según la CIE 10<sup>a</sup> ed., como lesiones abiertas o cerradas; según el nivel de presentación como: altos o bajos; según el nivel anatómico afectado y como defectos de la neurulación primaria y secundaria tomando como límite la 2<sup>o</sup> vértebra sacra.

En LH c/s PH se determinó el tipo de defecto, ubicación de la zona afectada y extensión de la fisura. Se clasificaron de acuerdo a la CIE 10<sup>a</sup> ed. y como defectos aislados o múltiples.

Se obtuvo el peso referido en el expediente en los RN y los lactantes. Cuando fue necesario, se pesaron previa calibración de la báscula, esta fue de tipo pediátrico. Se determinó la longitud cráneo-talón y se midió el perímetro cefálico. Se diagnosticó retardo del crecimiento cuando el RN se encontraba por debajo del percentil 10 de acuerdo a Operpec K M <sup>(72)</sup>. En los lactantes se determinó desnutrición, tomando en cuenta el peso con relación a la talla, cuando se encontraron de -1 a -3 desviaciones estándar <sup>(73)</sup>. Se consideró como hidrocefalia si se encontraba por arriba del percentil 90 de acuerdo a Lubchenco LO <sup>(74)</sup> tomando en cuenta su edad gestacional y perímetro cefálico. Se obtuvieron fotografías a los recién nacido y lactantes de los casos y controles previa aceptación de los padres.

## **2.8 MÉTODOS PARA LAS DETERMINACIONES SANGUÍNEAS**

Se obtuvo muestra de sangre venosa en ayuno, en las madres de los recién nacidos y en las madres que fueron a consulta con 4 horas de ayuno o bien dentro de la primera hora después de ingerir alimentos, ya que el AF incrementa sus niveles plasmáticos una hora después de ingerir alimentos que contienen vitaminas y regresa a sus niveles basales a las 4 horas <sup>(12)</sup>. Se tomaron 10 ml de sangre venosa periférica en 3 tubos vacutainer con ácido etilendiaminotetra acético (EDTA) como anticoagulante.

### **2.8.1 Determinación de folatos y vit B12**

Se tomó una alícuota de 0.1ml y se diluyó en 2ml de ácido ascórbico al 1% preparado antes de la dilución, esto fue para hemolizar las células sanguíneas y cuantificar el AFI; durante todo el proceso de dilución y solución las muestras se mantuvieron protegidas de la luz. Los 3.9 ml de sangre restantes se centrifugaron a 1,500 rpm por 10 minutos con el fin de obtener plasma sanguíneo para la medición de AFP y Vit B12. Las muestras se colocaron en tubos de plástico y posteriormente se almacenaron a -30 °C. Las determinaciones se hicieron por radioinmunoensayo, utilizando el estuche comercial Dualcount AF/Vit B12 (Diagnostic Product Co. Los Ángeles, CA, USA). Los valores de AFP y Vit B12 fueron tomados directamente de la curva estándar. Los resultados de AFI se obtuvieron multiplicando el factor de dilución por el valor de la curva estándar, este valor se multiplicó por 100 y se dividió entre el hematocrito de cada muestra. Se tomaron de referencia los siguientes valores, para AFI de 160 -700 (nanogramos) ng/(mililitro) ml, para AFP de 3.5 - 17 ng/ml, y de Vit B12 de 200 – 950 (picogramos) pg/mL, (Apéndice C).

### **2.8.2 Determinación homocisteína**

La sangre se centrifugó a 4,300 rpm durante 10 minutos a 4° C; se separó el plasma y se colocó en un tubo de plástico; se almacenó a -30° C hasta su procesamiento. Se utilizaron 150 microlitros (L) de plasma y se determinó por Inmunoensayo de Fluorescencia Polarizada (FPIA, Abbott Park, IL). El ensayo midió el total de L-Hci.

Los valores de referencia de Hci sérica fueron de 5 a 15 micromoles ( $\mu\text{mol}$ )/L, (Apéndice D)

### **2.8.3 Determinación del polimorfismo C 677T de la MTHFR**

La sangre obtenida para esta medición se mantuvo a 4°C, para ser procesada posteriormente.

#### **2.8.3.1 Extracción de DNA**

Se realizó mediante la técnica de TSNT. Las muestras fueron cuantificadas en geles de agarosa al 0.4% utilizando el fotodocumentador UVP. Se utilizó un estuche de extracción de ADN para papel filtro (Gentra, Co.).

#### **2.8.3.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**

Se utilizaron los iniciadores MTHFR-1 (5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3') y MTHFR-2 (5'-AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG-3'). La amplificación por PCR utilizando estos iniciadores genera un fragmento de 198 pb.

#### **2.8.3.3 Digestión**

Los productos amplificados se digirieron con la enzima *Hinf I*, a 37°C durante 12 horas. Si la mutación de la MTHFR estaba presente, la banda de 198 pares de bases (pb) se divide en dos fragmentos uno de 175 pb y otro de 23 pb<sup>(75)</sup> (Apéndice E).

### **2.9 Análisis estadístico**

Se realizó un análisis exploratorio de cada variable para determinar la calidad en la captura y así contar con una base de datos confiable. Luego se realizó un análisis univariado para definir la distribución y rangos de cada variable. A esta información se le realizó un análisis bivariado: a las variables cuantitativas, cuando mostraron una distribución normal, se les aplicó la prueba "t" de student y ANOVA. A las variables cualitativas se les evaluó con la prueba exacta de Fisher o Chi-cuadrado. Cuando la distribución no fue normal, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis. Se determinó la razón de Momios (OR) para identificar el riesgo en los casos de

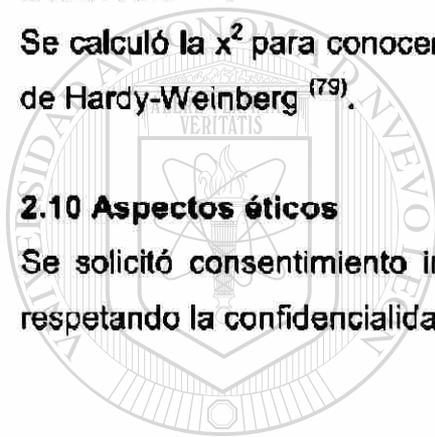
variables cuantitativas: AFI  $\leq 160$  ng/ml, AFP  $\leq 3.5$  ng/ml, Hci  $\geq 10$   $\mu\text{mol/L}$ , <sup>(76)</sup> Vit B12  $\leq 200$  pg/ml), edad paterna, materna, escolaridad de los padres, IMC antes y después del embarazo. En las cuantitativas: número de consultas prenatales, paridad, antecedentes familiares de defectos congénitos, ocupación de los padres, genotipos con el polimorfismo 677 de padre-madre-hijo.

Con respecto a los casos con DTN o LH c/s PH se realizó un análisis descriptivo y se clasificaron según lo reportado en la literatura. Los datos se capturaron en *dbase*, usando el programa *dbase IV* <sup>(77)</sup>. Para el análisis, se utilizó el paquete estadístico STATA 5.0 <sup>(78)</sup>.

Se calculó la  $\chi^2$  para conocer si la población estaba en equilibrio de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg <sup>(79)</sup>.

#### **2.10 Aspectos éticos**

Se solicitó consentimiento informado a través de una carta ex profeso (anexo 1) respetando la confidencialidad de los datos y la identidad de las pacientes.



UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## CAPITULO TRES

### RESULTADOS

#### 3.1 Características generales de los grupos de estudio

Durante el periodo de agosto del 2001 a agosto del 2002 se registraron 28 casos de DTN y 31 casos de LH c/s PH, en la Tabla I se observa la distribución de los casos de los hospitales participantes en el estudio.

**Tabla I**  
**Distribución de casos por hospital, en la ciudad de Chihuahua**

Variable	DTN n (%)	LH c/s PH n (%)
Hospital de Ginec Obstetricia IMSS	7 (25)	7 (23)
Hospital General	10 (36)	3 (9)
Hospital Infantil	4 (14)	7 (23)
Hospital Morelos IMSS	7 (25)	13 (42)
Hospital Central	0	1 (3)

Del total de casos de DTN registrados, siete eran lactantes y 21 recién nacidos (dos productos hijos de madres en tratamiento con drogas antiepilépticas fueron excluidos), de los cuales únicamente 20 aceptaron participar en el estudio (tres lactantes y 17 recién nacidos). Los casos con LH c/s PH, fueron 18 lactantes y 12 recién nacidos; (uno con trisomía 21 y un óbito asociado a extrofia cardíaca, fueron excluidos); de éstos, solo 16 (ocho lactantes y ocho recién nacidos) aceptaron participar, Tabla II.

**Tabla II**  
**Casos que aceptaron participar en el estudio**

Variable	DTN	LH c/s PH
Recién nacidos	17	8
Lactantes	3	8
Total	20	16

Se obtuvieron 180 pares (madre/hijo), de los cuales 36 corresponden al grupo de casos y 144 al grupo control. Solamente se obtuvieron 148 muestras de los padres, de los cuales fueron 30 casos y 118 controles.

Se excluyeron tres tríos (padre/madre/hijo), dos correspondieron a lactantes y un recién nacido, del grupo control, por presentar anomalías congénitas (persistencia del conducto arterioso, hernia inguinal e hidrocele bilateral y dimorfismo craneofacial respectivamente). En total se incluyeron 177 pares (madre/hijo) y 148 padres.

La distribución por grupo étnico, se muestra en la Tabla III.

**Tabla III**  
**Grupos étnicos**

Grupo étnico	Madre		Padre		Hijo	
	Caso n (%)	Control n (%)	Caso n (%)	Control n (%)	Caso n (%)	Control n (%)
Mestizos	28 (78)	109 (77)	29 (81)	113 (80)	28 (78)	109 (77)
Tarahumaras	6 (17)	32 (23)	5 (14)	28 (20)	6 (17)	32 (23)
Tepehuanes	2 (5)	-	2 (5)	-	2 (5)	-
<b>TOTAL</b>	<b>36</b>	<b>141</b>	<b>36</b>	<b>141</b>	<b>36</b>	<b>141</b>

Se registró un total de 141 niños; del grupo control, 99 (70%) recién nacidos y 42 (30%) lactantes. En el grupo de casos fueron en total 36 niños; 25 (69%) recién nacidos y 11 (31%) lactantes.

La Tabla IV muestra la distribución de casos y controles por lugar de procedencia y grupo étnico, en donde se observa, una proporción semejante entre mestizos y tarahumaras en ambos grupos.

**Tabla IV**  
**Zona de residencia y etnia de los padres**

Variable	Casos n (%)	Controles n (%)
Zona de residencia		
Urbana	22 (61)	120 (85)
No urbana	14 (39)	21 (15)
Etnia padre		
Mestizo	29 (81)	113 (80)
Tarahumara	7 (19)	28 (20)
Etnia madre		
Mestizo	28 (78)	109 (77)
Tarahumara	8 (22)	32 (23)

La edad promedio de las madres participantes fue de  $26 \pm 7$  años (con un rango: 16-42) para los casos y  $23 \pm 5$  años para los controles ( $p > 0.05$ ) con un rango de 14 a 38.

La edad promedio de los padres participantes fue de  $28 \pm 7$  años (con un rango: 18-

50) para los casos y  $26 \pm 6$  años para los controles ( $p > 0.05$ ), con un rango de 16 a 67. La edad de los padres se dividió en grupos de  $\leq 19$  y  $> 35$  años. No se encontraron diferencias significativas, aunque hubo un mayor porcentaje de padres y madres  $> 35$  años en los casos comparado con los controles (14 vs 7% y 11 vs 4%) respectivamente; no hubo diferencias significativas. Sin embargo cuando se comparó esta misma variable en los padres de hijos con DTN, este fué significativamente mayor, (OR 3.44 IC 95% 1.22-9.67,  $p = 0.01$ )

Con relación a la escolaridad, número de consultas prenatales, paridad, antecedentes familiares de defectos congénitos e índice de masa corporal, no presentaron diferencias significativas, los datos se muestran en la Tabla V.

**Tabla V**  
**Características generales de los padres**

Variable	Casos n (%)	Controles n (%)	p	OR (IC 95%)
Escolaridad de la madre (años):				
Analfabetas	4 (11)	19 (13)	0.7	0.89
1-9	23 (64)	77 (55)		(0.50-1.58)
$\geq 10$	9 (25)	45 (32)		
Escolaridad del padre (años):				
Analfabetos	4 (12)	10 (8)	0.42	0.96
1-9	24 (70)	75 (59)		(0.88-1.05)
$\geq 10$	6 (18)	41 (33)		
Nº de consultas prenatales:				
$\leq 7$	15 (50)	47 (39)	0.28	1.55 (0.69-3.47)
$\geq 7$	15 (50)	73 (61)		
Paridad:				
Primigestas	14 (39)	39 (27)	0.18	0.60 (0.27-1.29)
Multigestas	22 (61)	102 (72)		
Antecedentes de defectos congénitos:				
Maternos				
Si	4 (11)	14 (10)	0.83	1.13
No	32 (89)	127 (90)		(0.34-3.67)
Paternos				
Si	7 (19)	14 (10)	0.1	2.18
No	29 (81)	127 (90)		(0.81-5.91)
Índice de masa corporal (peso antes del embarazo (n = 129)				
$\leq 19.99$	6 (25)	15 (14)	0.37	1.68 (0.51-0.57)
$\geq 25.1$	9 (38)	52 (50)		0.43 (0.13-1.41)
20-25	9 (37)	38 (36)		1.00

Al separar la escolaridad por grupos étnicos se puede observar que las personas analfabetas se encuentran en el grupo de tarahumaras y principalmente en las mujeres, también se analizó el número de consultas prenatales, paridad e IMC, no encontrando diferencias significativas en ninguna de ellas, Tabla VI.

**Tabla VI**  
**Características generales de los padres separadas por etnia**

Variable	Mestizos		p	OR (IC 95%)	Tarahumaras		p	OR (IC 95%)
	Caso n (%)	Control n (%)			Caso n (%)	Control n (%)		
Escolaridad de la madre (años):								
Analfabetas	(-)	(-)	0.4	0.69 (0.29-1.68)	4 (50)	19 (59)	0.7	0.90 (0.48-1.69)
1-9	19 (68)	65 (60)			4 (50)	12 (38)		
≥10	9 (32)	44 (40)			(-)	1 (3)		
Escolaridad del padre (años):								
Analfabetos	1 (4)	1 (1)	0.1	0.45 (0.18-1.15)	3 (38)	9 (39)	0.9	0.91 (0.20-4.0)
1-9	19 (73)	62 (60)			5 (62)	13 (57)		
≥10	6 (23)	40 (39)			(-)	1 (4)		
Nº de consultas prenatales:								
≤7	13 (50)	52 (49)	0.9	1.00 (0.44-2.44)	3 (75)	11 (79)	0.6	0.81 (0.60-10.9)
≥7	13 (50)	54 (51)			1 (25)	3 (21)		
Paridad:								
Primigestas	13 (46)	33 (30)	0.10	0.50 (0.21-1.16)	1 (13)	6 (19)	0.5	1.61 (0.16-15.7)
Multigestas	15 (54)	76 (70)			7 (87)	26 (81)		
Índice de masa corporal (peso antes del embarazo)	n (23)	n (100)			n (1)	n (5)		
≤19.99	6 (26)	15 (15)	0.5	0.77 (0.44-1.36)	(-)	(-)	0.5	1.97 (0.12-32.5)
20-24	9 (39)	49 (49)			(-)	3 (60)		
25-28	7 (30)	27 (27)			1 (100)	1 (20)		
>29	1 (4)	9 (9)			(-)	1 (20)		

En cuanto a la ocupación de la madre no se encontró diferencia significativa entre los grupos, siendo las labores domésticas las más frecuentes. La ocupación del padre se dividió en agrícolas y forestales, obreros y otros. Se encontró en el grupo de casos comparado con los controles, un mayor porcentaje de personas que se dedicaron a las labores agrícolas y forestales (23 vs 11%) ( $p > 0.05$ ).

### 3.2 Factores de riesgo

Con relación al consumo de multivitamínicos y AF por parte de la madre, tres meses antes del embarazo, fue del 6% en el grupo de casos y 5% en el grupo control. Durante los primeros tres meses de embarazo, los tomaron regularmente (3 veces a la semana o más) el 44% ( $n=16$ ) y en forma irregular el 56% ( $n=20$ ) del grupo de casos. El número de mujeres que lo consumió regular e irregularmente fue similar en el grupo control. El 74% de las madres que participaron en este estudio, no sabían que el AF previene defectos congénitos. El 83% no sabía que debía ingerirlo antes del embarazo.

La exposición a aguas termales o de vapor, fiebre, cohabitación con mascotas, colonia donde vive, tabaquismo y rayos Röntgen (Rx) durante el embarazo, no mostraron diferencias significativas entre los grupos.

Se estudiaron otras variables como trabajo con insecticidas y consanguinidad entre los padres, en donde se encontraron diferencias significativas al comparar la exposición a insecticidas en padres y madres, encontrándose un OR 4.28 95% IC 1.01-18.03, ( $p = 0.04$ ); esta diferencia, no se observa al separar los casos por grupo de defecto. La consanguinidad fue significativamente mayor en el grupo de casos (OR 2.66 95% IC 1.09-6.47,  $p = 0.03$ ), Tabla VII.

**Tabla VII**  
**Factores de riesgo de los padres**

Variable	Casos n (%)	Controles n (%)	p	OR (IC 95%)
Trabajo con insecticidas:				
No	32 (89)	137 (97)	0.04	4.28 (1.01-18.03)
Si	4 (11)	4 (3)		
Trabajo con insecticidas DTN:				
No	18 (90)	137 (97)	0.13	3.8 (0.65-22)
Si	2 (10)	4 (3)		
Trabajo con insecticidas LH c/s PH:				
No	14 (88)	137 (97)	0.08	4.89 (0.82-29)
Si	2 (12)	4 (3)		
Consanguinidad con el esposo por su abuelo o abuela:				
No	39 (89)	138 (89)	0.03	2.66 (1.09-6.47)
Si	4 (11)	3 (2)		

### 3.3 Características generales de los niños estudiados

Según la etnia, en el grupo control se registraron 109 mestizos y 32 tarahumaras; en el grupo de casos: 13 mestizos y 7 tarahumaras presentaron DTN; en 15 mestizos y 1 tarahumara se diagnosticó LH c/s PH.

En cuanto a las características nutricionales se separaron los niños por etnia y por diagnóstico. En la Tabla VIII se muestran los recién nacidos mestizos, con DTN y LH c/s PH que tuvieron un mayor porcentaje de retraso del crecimiento intrauterino (RCIU), mientras que en los lactantes se observaron mas niños desnutridos en los DTN ( $p > 0.05$ ).

**Tabla VIII**  
**Características nutricionales de los niños mestizos por diagnóstico**

Variable	LH c/s PH n (%)	DTN n (%)	Controles n (%)	p	OR (IC 95%)
RCIU					
Si	2 (25)	3 (30)	7 (10)	0.06	3.46 (0.94-12)
No	6 (75)	7 (70)	63 (90)		
Peso en lactantes (peso /edad y talla/edad):					
Con desnutrición	2 (29)	3 (100)	11(29)	0.06	0.35 (0.12-1.07)
Sin desnutrición	5 (71)	(-)	27 (71)		

En la Tabla IX se presentan los datos del grupo de niños tarahumaras donde se aprecia un mayor retraso del crecimiento intrauterino en los controles.

**Tabla IX**  
**Características nutricionales de los niños tarahumaras por diagnóstico**

Variable	LH c/s PH n (%)	DTN n (%)	Controles n (%)	p	OR (IC 95%)
RCIU					
Si	(-)	1 (20)	3(25)	0.6	0.86
No	(-)	4 (80)	9(75)		(0.24-3.1)
Peso en lactantes (peso/edad y talla/edad):					
Con desnutrición	1 (100)	(-)	2 (50)	0.6	(-)
Sin desnutrición	(-)	(-)	2 (50)		

### 3.4 Revisión morfológica en los niños

#### 3.4.1 Defectos de tubo neural

En cuanto al género, los DTN se presentaron como sigue: femenino (65%) y masculino (35%), la razón masculino:femenino fue de 0.53:1.

#### Clasificación de DTN

Estos defectos se clasificaron según la CIE 10° ed. como se observa en la (Fig. 9) y fotografías de la (Fig. 10).

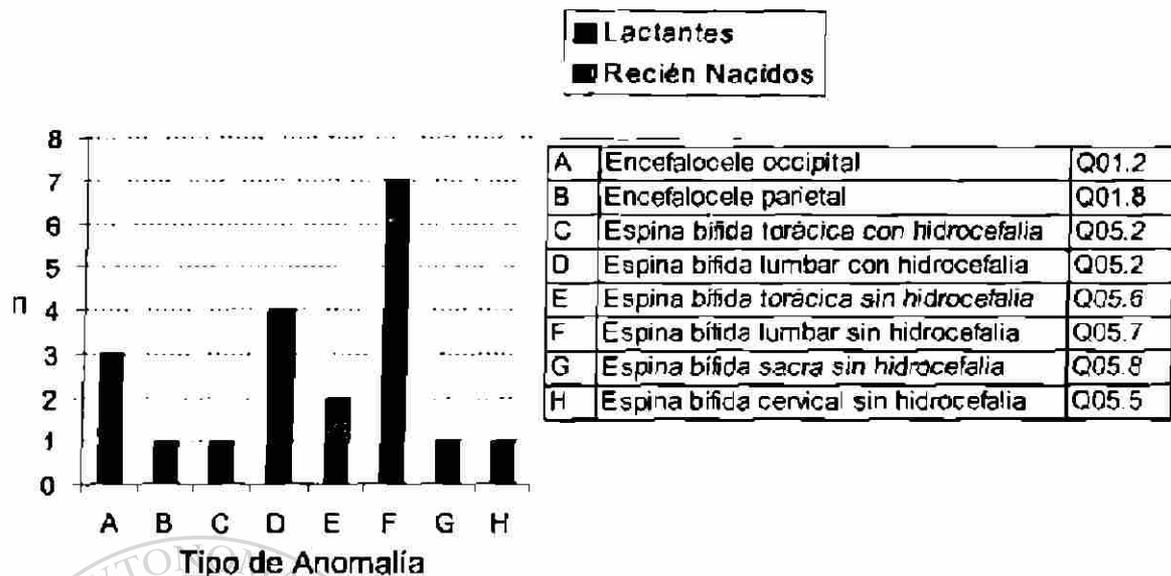


Figura 9. Distribución de espina bífida (EB) con o sin hidrocefalia y encefalocele. Según la CIE 10ª. Ed. La grafica muestra en el eje vertical el número de casos y en el eje horizontal son recién nacidos o lactantes. El cuadro de la izquierda muestra los defectos que se presentaron en cada barra de la gráfica, con el código de clasificación de la CIE.

Al analizar el fenotipo y características de los DTN diagnosticados, doce MMC (60%), fueron clasificados como lesiones abiertas, presentando discontinuidad de la piel y epitelizadas parcialmente; el rango del tamaño fue 15 a 160 mm de diámetro, su localización fue variable encontrándose desde T12 hasta nivel sacro. Las lesiones cerradas fueron 4 MC quísticos (20%), estos se localizaron entre T2 y región sacra y 4 EC (20%), tres fueron occipitales y uno parietal, (Fig. 11).

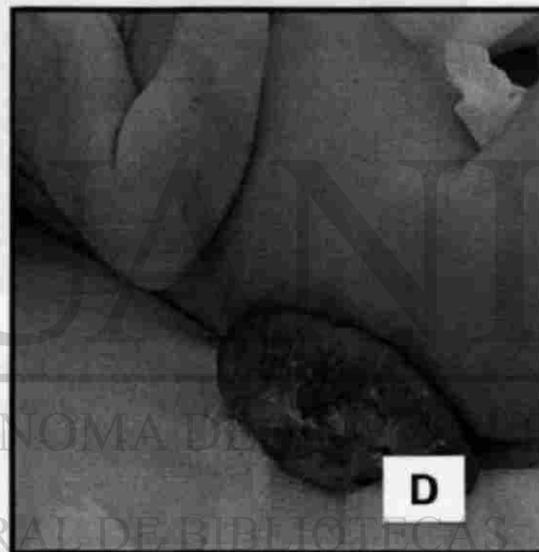
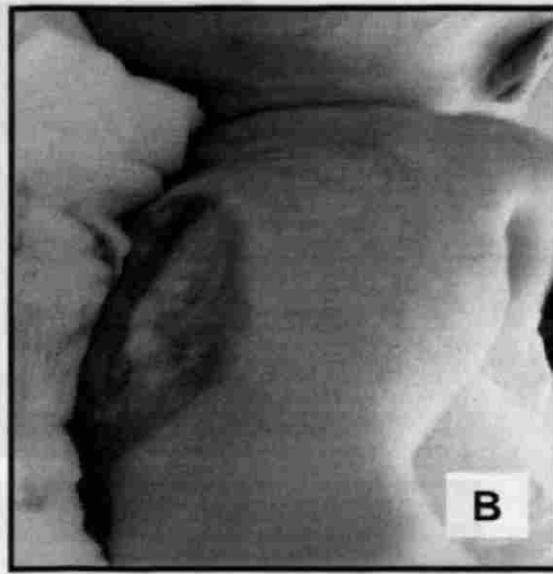


Figura 10. Fotografías de niños con DTN. A, recién nacido mestizo con un gran encefalocele en el área parietal. B, recién nacido mestizo con EB toracodorsal con hidrocefalia. C, lactante femenina mestiza con EB cervical sin hidrocefalia. D, recién nacido tarahumara con EB lumbar sin hidrocefalia.

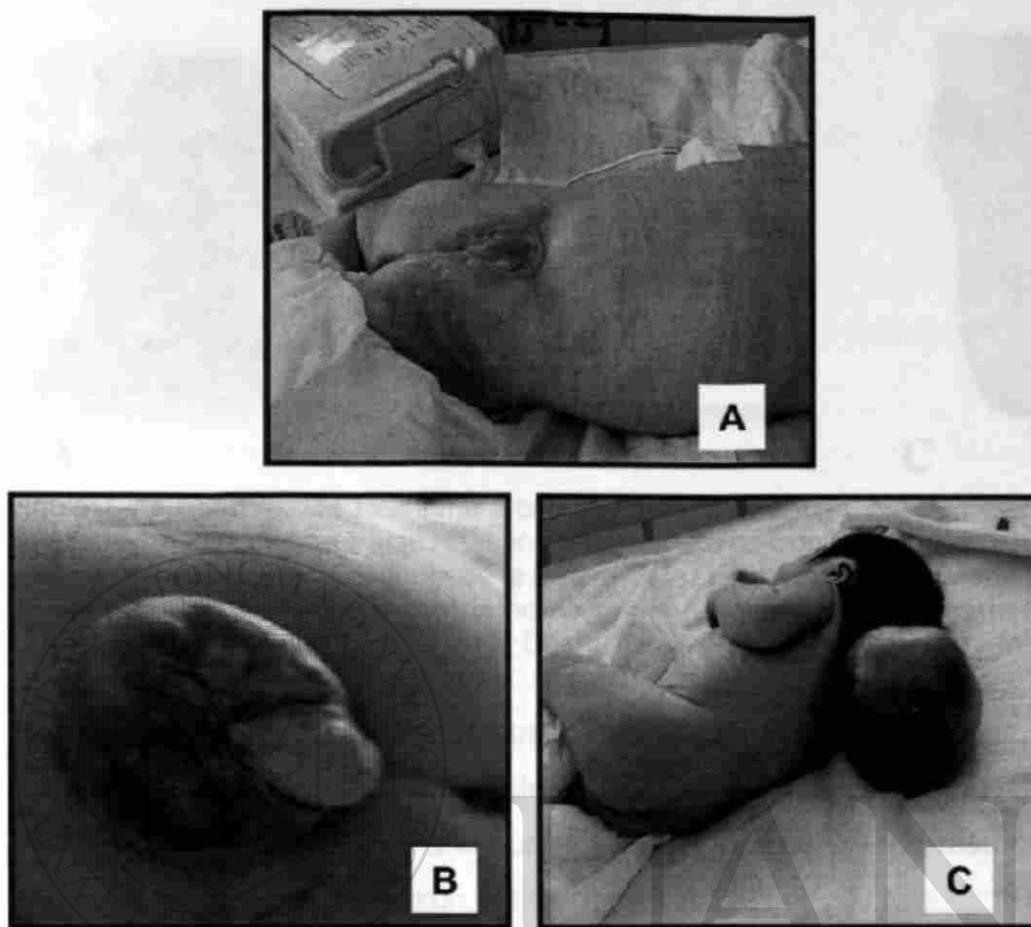


Figura 11. Clasificación de lesiones cerradas y abiertas. A, recién nacida tarahumara con espina bífida lumbar abierta. B, recién nacida mestiza con espina bífida lumbar, lesión cerrada. C, recién nacido tarahumara con encefalocele occipital clasificada como lesión cerrada.

## DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

La distribución de la EB según su localización anatómica fue: cefálico ( $n = 4$ ; 20%), dorsal ( $n = 3$ ; 15%), lumbar ( $n = 9$ ; 45%), sacro ( $n = 1$ ; 5%) y lumbosacro ( $n = 3$ ; 15%). Según el nivel de presentación se clasificaron como lesiones altas (85%), siendo el género femenino más afectado (77%); lesiones bajas (5%) y dos casos (10%) en los cuales las lesiones se localizaron entre L1 y S3.

Se clasificaron también, de acuerdo a la localización de la neurulación primaria y secundaria, presentándose dieciocho casos (90%) de MMC con defectos en la neurulación primaria, el resto fueron defectos de la neurulación secundaria (Fig. 12).

1.4.7 Labia hendida cava y sin pliegue hendido

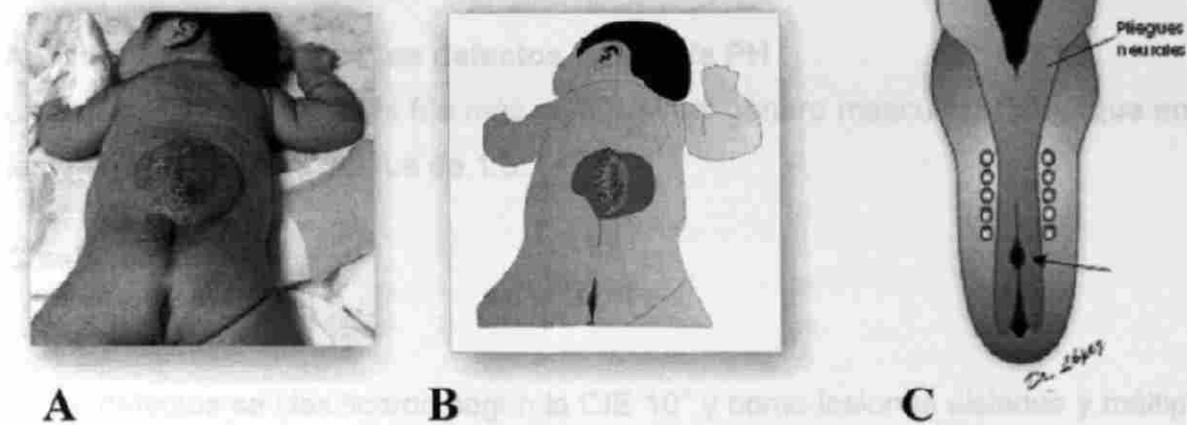


Figura 12. Recién nacida tarahumara con espina bífida lumbar. A, fotografía de la paciente que muestra una espina bífida lumbar alta, abierta que corresponde a la alteración de la neurulación primaria. B, esquema de la lesión. C, en el esquema de la etapa embrionaria, se señala con una flecha el sitio donde no ocurrió la fusión de los pliegues neurales. (Dibujos cortesía del Dr. Norberto López Serna, Depto. de Embriología, Facultad de Medicina, UANL)

Aunque se descartaron aquellos que se asociaron a otras anomalías, la asociación con hidrocefalia y pie varo se considera como consecuencia de DTN. Se presentaron cinco pacientes con MMC y uno con encefalocele asociados a hidrocefalia (30%) y seis casos (60%) asociados con pie varo, (Fig. 13).



Figura 13. Fotografía de recién nacida tarahumara con espina bífida lumbar asociado a pie varo derecho.

### 3.4.2 Labio hendido con y sin paladar hendido

#### Análisis morfológico de los defectos de LH c/s PH

La presencia de LH c/s PH fue más común en el género masculino (56%) que en el femenino (44%), la razón fue de 1.3:1.

#### Clasificación

Estos defectos se clasificaron según la CIE 10ª y como lesiones aisladas y múltiples como se observa en: la Fig. 14 y fotografías de la Fig. 15 y 16.

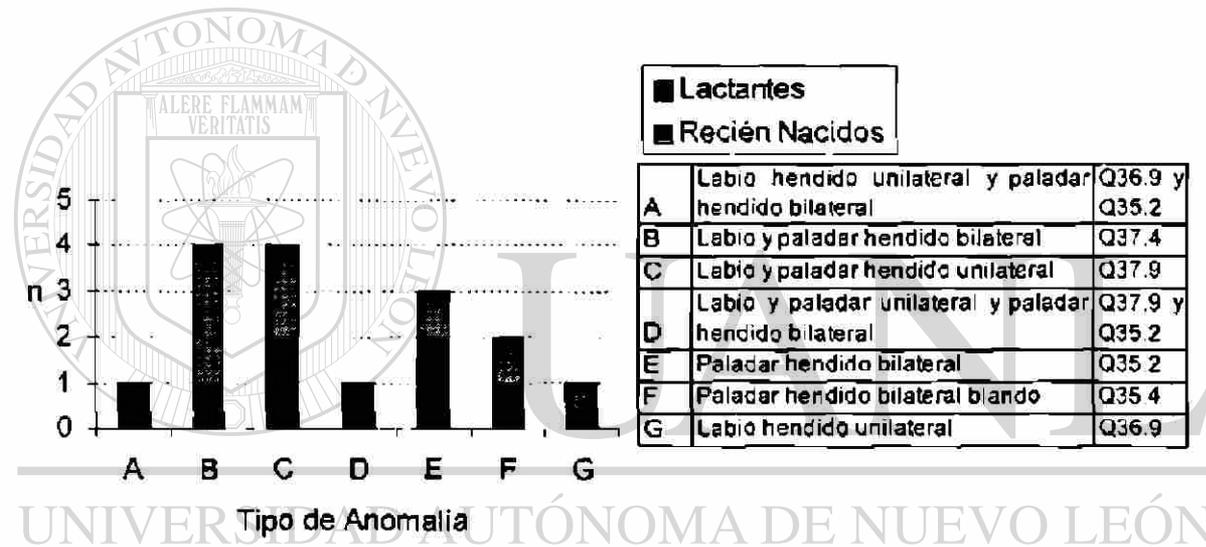


Figura 14. Distribución de hendiduras orofaciales según la CIE 10ª. Ed. La grafica muestra en el eje vertical el número de casos y en el eje horizontal que son recién nacidos o lactantes. El cuadro de la izquierda muestra los defectos que se presentaron en cada barra de la grafica, con el código de clasificación de la CIE.



Figura 15. Fotografías de niños que muestran algunos ejemplos de labio con y sin paladar hendido según la CIE. **A**, lactante mestiza con labio hendido unilateral. **B**, recién nacida mestiza con labio hendido unilateral que afecta parte del maxilar. **C**, recién nacido mestizo con labio y paladar hendido unilateral.

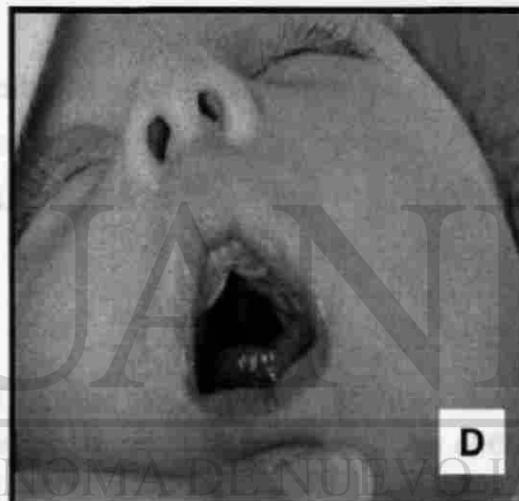
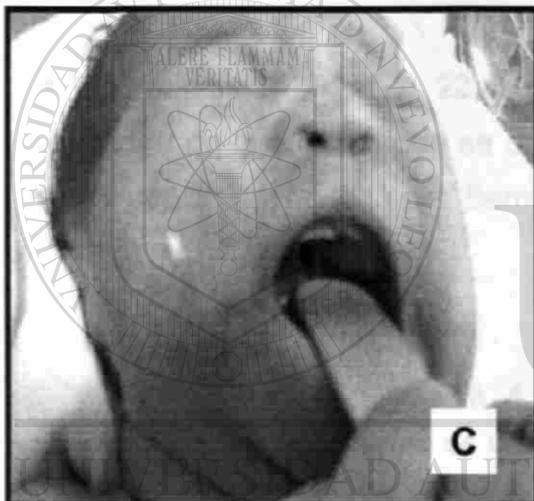


Figura 16. Fotografías de niños que muestran algunos ejemplos de labio hendido con y sin paladar hendido según la CIE. **A**, lactante mestiza con labio y paladar hendido unilateral derecho y labio hendido unilateral izquierdo. **B**, lactante mestizo con labio y paladar hendido bilateral. **C**, recién nacido mestizo con paladar hendido blando bilateral. **D**, lactante mestiza con paladar hendido bilateral.

Los casos de LH c/s PH que se consideraron como lesiones aisladas fueron 14 (87%). Dos se asociaron a anomalías menores (implantación baja de pabellones auriculares). Dos casos (13%) fueron considerados como lesiones múltiples (uno con micrognatia y otro con alteraciones en la forma y posición de las orejas, cuello corto y Tetralogía de Fallot, (Fig. 17).

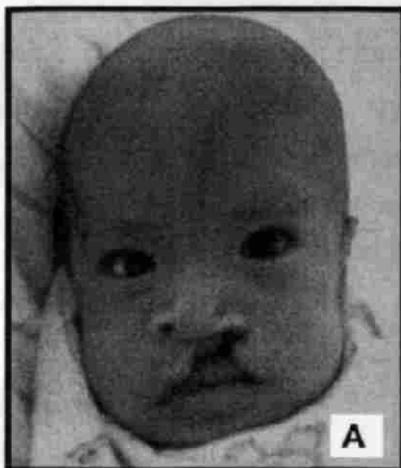


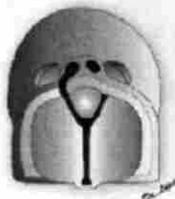
Figura 17. Clasificación de hendiduras orofaciales en aisladas y múltiples A, lactante mestizo, tarahumara con labio y paladar hendido unilateral clasificado como lesión aislada. B, recién nacida mestiza con lesiones múltiples por presentar paladar hendido bilateral y micrognatia.

Las Figuras, de la 18 a la 22, son dibujos esquemáticos donde se muestra la profundidad de las fisuras que se presentaron en los casos de LH c/s PH. (Dibujos cortesía del Dr. Norberto López Serna, Depto. de Embriología, Facultad de Medicina, UANL).



**A**

Labio hendido unilateral

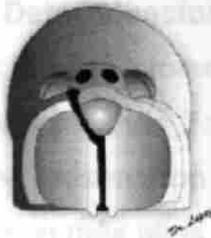


**B**

Labio hendido unilateral  
Y paladar hendido bilateral

Figura 18. A y B. Dibujos esquemáticos donde se muestra la fisura de labio: la fisura penetró en la narina en el 63% de los casos. En el 6% de estos casos, la fisura llegó al borde mucocutáneo, en esta misma proporción paso el borde mucocutáneo de la encía. La fisura fue completa en el 50% de los casos, provocando ruptura o separación de la arcada maxilar. En un 13% la fisura abarcó menos de la mitad del reborde alveolar y también en un 13% abarcó mas de la mitad de dicho reborde.

3.6 Determinaciones quirúrgicas en la madre



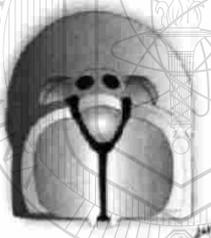
**Labio y paladar hendido unilateral**

Figura 19. Dibujo esquemático donde se muestra la fisura de paladar óseo: esta, afecto un tercio del paladar en un 13% casos, en el 25% se afectaron dos tercios y en un 50% se afectaron los tres tercios.



**Paladar blando hendido**

Figura 20. Dibujo esquemático donde se muestra la fisura de paladar blando: en el 63% se afectaron tres tercios del paladar y en el 13% solo se afectó un tercio.



**Labio y paladar hendido bilateral**

Figura 21. Dibujo esquemático donde se muestra la afectación entre el proceso maxilar y segmento intermaxilar. Este se presentó en el 31% de los casos, en diferentes grados de profundidad, provocando defecto del labio y la encía

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

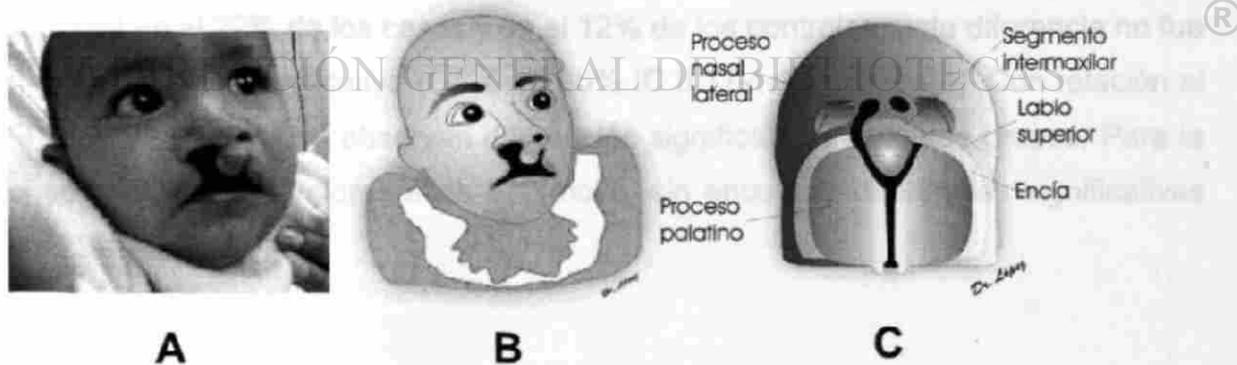


Figura 22. A, fotografía de una lactante con labio y paladar hendido unilateral completo y labio hendido parcialmente contralateral. B, esquema que muestra el defecto. C, dibujo esquemático del defecto mencionado. (Dibujos cortesía del Dr. Norberto López Serna, Depto. de Embriología, Facultad de Medicina, UANL).

### 3.5 Determinaciones sanguíneas en la madre

Los valores promedio y desviación estándar ( $X \pm DS$ ) de AFI, AFP, Vit B12 y Hci se observan en la Tabla X. Al separarlo por diagnóstico, las madres de los casos de DTN, presentaron valores de AFI, AFP y Vit B12 más bajos que los controles y los de Hci son más altos aunque no hay diferencias significativas.

**Tabla X**  
**Determinaciones sanguíneas maternas**

Variable	Control $X \pm DS$	LPH $X \pm DS$	p	OR (IC 95%)	DTN $X \pm DS$	p	OR (IC 95%)
AFI (160-700 ng/ml)	384 $\pm$ 277	441 $\pm$ 272	0.43	1.00 (0.99-1.00)	367 $\pm$ 233	0.79	0.99 (0.99-1.00)
AFP (3.5-17 ng/ml)	6.33 $\pm$ 4.2	7.2 $\pm$ 3.8	0.45	1.04 (0.93-1.15)	6.2 $\pm$ 3.9	0.9	0.99 (0.88-1.10)
Hci (5-15 m/l)	7.2 $\pm$ 2.4	7.3 $\pm$ 1.9	0.84	1.02 (0.82-1.27)	7.76 $\pm$ 2.6	0.36	1.09 (0.90-1.32)
Vit B12 (200-950 pg/ml)	260 $\pm$ 278	277 $\pm$ 169		1.04 (0.93-1.15)	223 $\pm$ 128	0.81	1.00 (0.99-1.00)

Las variables AFI, AFP, Vit B12 y Hci se analizaron como variables dicotómicas tomando como punto de corte los valores de referencia (deficiencia < al valor de referencia y normal  $\geq$  al de referencia). Se encontraron valores de AFI menores de 160 ng/ml en el 22% de los casos y en el 12% de los controles, esta diferencia no fue estadísticamente significativa (OR 0.45 95% IC 0.17-1.16,  $p = 0.09$ ). Con relación al AFP y la Vit B12, no se observan diferencias significativas entre los grupos. Para la Hci se consideraron valores altos  $\geq 10$ (mol/L, sin encontrar diferencias significativas (Fig. 23).

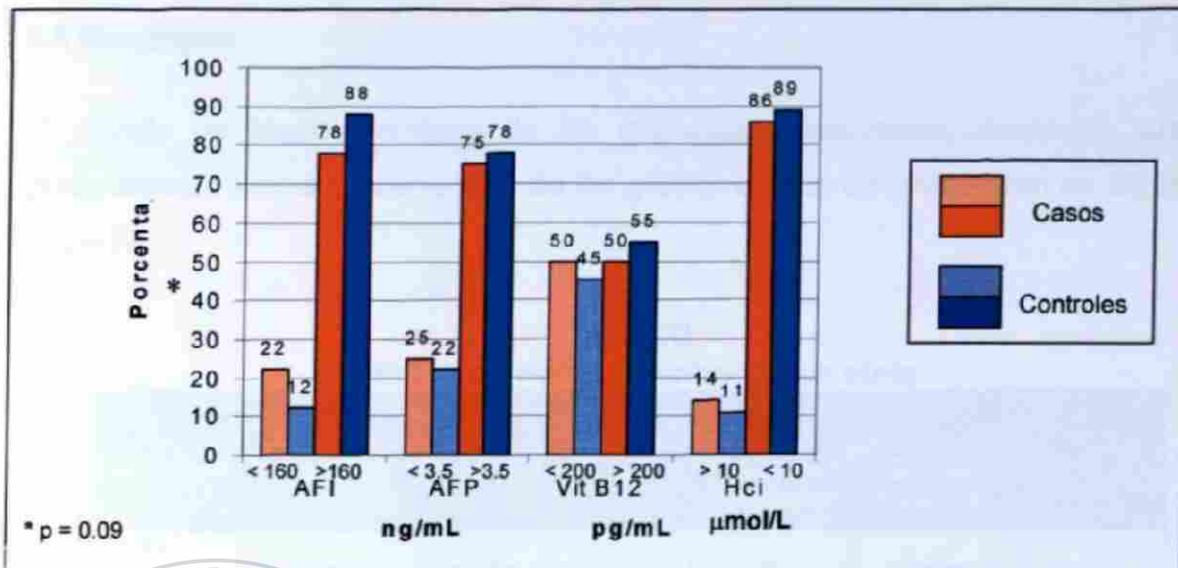


Figura 23. Porcentajes de las variables AFI, AFP, Vit B12 y Hci.

El AFP fue significativamente menor en los tarahumaras ( $4.9 \pm 2.3$  en las tarahumaras y  $6.8 \pm 4$  en las mestizas). Los valores de AFI y Vit B12 fueron más bajos en el grupo de tarahumaras comparado con el grupo de mestizas pero no estadísticamente significativos, como se observa en la (Fig. 24).

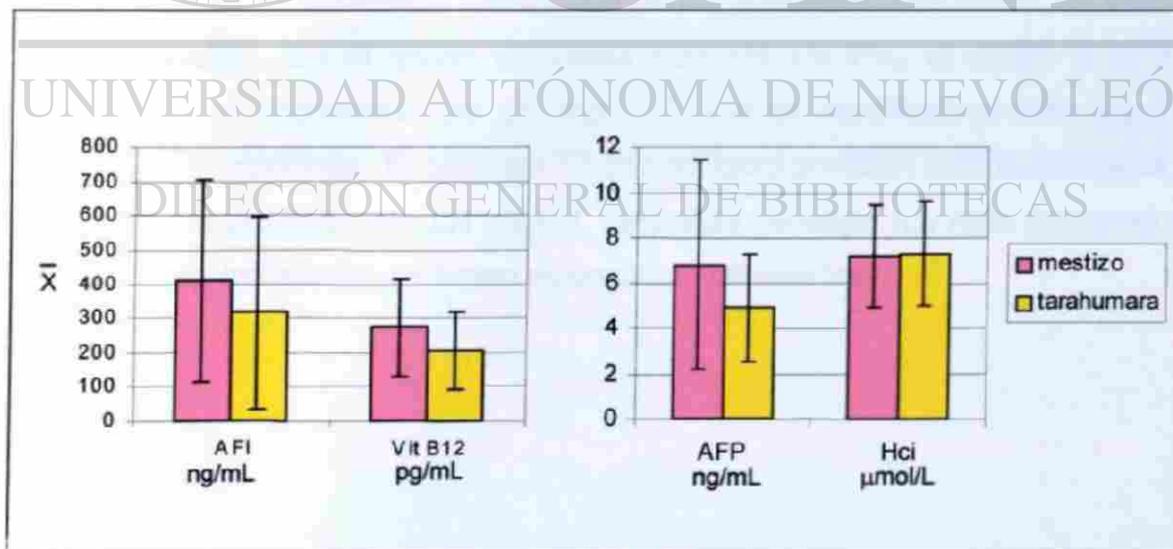


Figura 24. Se observan la media y desviación estándar en las determinaciones sanguíneas separadas por etnia ( $p > 0.05$ ).

### 3.6 Genotipos

El cálculo de Hardy-Weinberg de los genotipos observados, demostró que las poblaciones mestiza y tarahumara de los grupos control se encuentran en equilibrio, Tabla XI.

**Tabla XI**  
**Cálculo de Hardy-Weinberg, por etnia**

Genotipo	Mestizos			Tarahumara		
	Genotipo observado	Genotipo esperada	p	Genotipo observado	Genotipo esperado	p
Madre						
CC	28	34.04	5.85	9	12.25	4.96
CT	63	50.91		24	17.5	
TT	13	19.04		3	6.25	
Padre						
CC	26	29.71	2.52	12	11.11	0.58
CT	52	44.57		10	11.76	
TT	13	16.71		4	3.11	
Hijo						
CC	49	50.7	0.58	15	12.5	3.56
CT	50	46.6		10	15.0	
TT	9	10.7		7	4.5	

En la Tabla XII se observa la distribución de los genotipos. Los casos, se separaron por diagnóstico. En el grupo de casos con LH c/s PH, el padre y la madre presentaron un incremento del genotipo CC que es significativamente superior al observado en controles. El genotipo TT (homocigoto positivo) solo se presentó en la madre de un producto con LH c/s PH, pero este genotipo fue mas frecuente en la población control sin que se hayan evidenciado diferencias.

**Tabla XII**  
**Genotipos de la población de estudio (mestizos y tarahumaras)**

Genotipo	Controles n (%)	LH c/s PH n (%)	p	DTN n (%)	p
Madre					
CC	39 (28)	9 (56)	0.01	8 (40)	0.2
CT	85 (61)	6 (38)		11 (55)	
TT	16 (11)	1 (6)	0.5	1 (5)	0.4
Padre					
CC	39 (33)	8 (62)	0.04	6 (35)	0.09
CT	61 (52)	5 (38)		11 (64)	
TT	17 (15)	- (-)		- (-)	
Hijo					
CC	63 (45)	6 (37)		11 (55)	0.8
CT	61 (44)	10 (63)		7 (35)	
TT	16 (11)	- (-)		2 (10)	

Al separar la población por etnia no se encontraron diferencias entre el grupo control y los defectos Tabla XIII y XIV. En la Tabla XIV no se pudieron realizar estadísticas en el grupo de LH c/s PH debido a que solo se presentó un individuo por grupo (madre, padre, hijo) y con un solo genotipo (CT).

**Tabla XIII**  
**Genotipos de la población mestiza estudiada**

Genotipo	Controles n (%)	LH c/s PH n (%)	p	DTN n (%)	p
Madre					
CC	29 (27)	9 (60)	0.08	6 (46)	0.08
CT	68 (63)	5 (33)	0.2	6 (46)	
TT	11 (10)	1 (7)	0.3	1 (8)	
Padre					
CC	25 (28)	7 (58)	0.15	5 (45)	0.1
CT	52 (58)	5 (42)	0.5	6 (55)	
TT	12 (13)	- (-)		- (-)	
Hijo					
CC	49 (45)	7 (47)	0.9	7 (54)	0.8
CT	50 (46)	8 (53)	0.7	5 (38)	
TT	9 (8)	- (-)		1 (8)	

**Tabla XIV**

**Genotipos de la población Tarahumara estudiada**

Genotipo	Controles n (%)	LH c/s PH n (%)	P	DTN n (%)	p
Madre					
CC	9 (28)	(-)	N.A	2 (29)	0.9
CT	18 (56)	1 (100)		5 (71)	0.5
TT	5 (16)	(-)		(-)	
Padre					
CC	13 (46)	1 (100)	N.A	1 (17)	0.4
CT	10 (36)	(-)		5 (83)	0.1
TT	5 (18)	(-)		(-)	
Hijo					
CC	15 (47)	(-)	N.A	4 (57)	0.7
CT	10 (31)	1 (100)		2 (29)	0.9
TT	7 (22)	(-)		1 (14)	0.8

N.A. No analizado estadísticamente

**3.7 Frecuencia alélica**

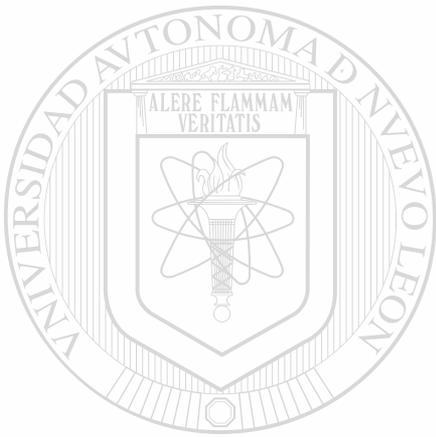
La frecuencia del alelo T por etnia y diagnóstico se muestran en las Tablas XV y XVI. Los productos considerados en la columna de casos, se compararon con los controles. En general no se observan diferencias en la frecuencia del alelo T en el grupo de casos contra el grupo control.

**Tabla XV**  
**Frecuencia alélica (FA) de la mutación 677T en la población de mestizos**

Genotipo	Controles n (FA)	LH c/s PH n (FA)	p	DTN n (FA)	p
Madre	108 (0.41)	15 (0.23)	0.18	13 (0.30)	0.44
Padre	89 (0.42)	12 (0.20)	0.14	11 (0.27)	0.34
Hijo	108 (0.31)	15 (0.26)	0.69	13 (0.26)	0.70

**Tabla XVI**  
**Frecuencia alélica (FA) de la mutación 677T en la población de tarahumaras**

<b>Genotipo</b>	<b>Controles n (FA)</b>	<b>LH c/s PH n (FA)</b>	<b>p</b>	<b>DTN n (FA)</b>	<b>P</b>
Madre	30 (0.43)	3 (0.50)	0.81	6 (0.50)	0.75
Padre	25 (0.36)	3 (0.16)	0.49	6 (0.41)	0.82
Hijo	32 (0.37)	1 (0.50)	0.55	7 (0.28)	0.65



**UANL**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

®

## CAPITULO CUATRO

### DISCUSIÓN

A pesar de los avances de la ciencia, en la actualidad aun se desconoce la etiología en la mayoría de los defectos congénitos. Los factores etiológicos de los defectos congénitos se han considerado: por herencia multifactorial 20 a 25%, por alteraciones cromosómicas 6 a 7%, por genes mutados 7 a 8%, por agentes ambientales 7 a 10% y de origen desconocido 50 a 60%, <sup>(2)</sup>. Recientemente se le ha dado importancia a la etiología multifactorial siendo ésta producto de una interacción de factores genéticos y ambientales. Los DTN y LH c/s PH son malformaciones congénitas de etiología multifactorial.

#### 4.1 Factores de riesgo

Los factores de riesgo de tipo ambiental que han sido descritos con relación a DTN, son: hipertermia <sup>(20)</sup>, ingesta de alcohol, diabetes mellitus, medicamentos anticonvulsivos <sup>(21)</sup> y anticonceptivos orales <sup>(22)</sup>. En relación a los factores genéticos, se han establecido diferencias en el género y en las tasas de prevalencia al nacimiento. Diferencias étnicas que persisten después de una migración geográfica e incremento de la prevalencia de consanguinidad parental <sup>(80)</sup>.

En el presente trabajo no se observaron diferencias significativas con relación al grupo étnico, en el grupo de casos, sin embargo en los controles se observó una mayor proporción de mestizos, esto es debido a que los controles eran de tipo hospitalario.

Se considera la edad materna, como un factor de riesgo menor para DTN, sin especificar el rango <sup>(13)</sup>, el riesgo tiende a ser elevado en madres muy jóvenes o mayores de 35 años <sup>(81)</sup>. Aunque en el presente trabajo los promedios de edad de las madres participantes no mostraron diferencias significativas, éstos coinciden con la media de edad de la población de mujeres con hijos de DTN descrita por Hendricks <sup>(26)</sup>. También se observó una mayor proporción de padres y madres >35 años de edad en el grupo de DTN. Aunque existen pocos reportes que especifican la edad de

riesgo del padre, Sandberg y cols. <sup>(16)</sup>, reportaron que  $\geq 30.6$  años de ambos padres incrementa el riesgo de tener un hijo con LH c/s PH.

En relación a la escolaridad y consultas prenatales no hubo diferencias estadísticamente significativas y los resultados fueron similares a los encontrados en la literatura <sup>(26)</sup>.

La paridad materna se considera un factor de riesgo de mayor relevancia que la edad de la madre, incrementándose el riesgo en las madres primigestas <sup>(81, 82, 83)</sup>. Con respecto a este estudio, la paridad materna se observó con una mayor proporción de primigestas en el grupo de casos, sin ser significativa en comparación con los controles.

Factores nutricionales maternos han sido implicados en la compleja etiología de los DTN. La obesidad materna y elevados índices de masa corporal ( $IMC=Kg/m^2$ ) se han asociado consistentemente con un incremento en el riesgo de DTN. El  $IMC > 29$  aumenta el riesgo al doble <sup>(81, 84)</sup>. En el presente trabajo el IMC no se encontró como un factor de riesgo.

De particular importancia resultan las exposiciones ocupacionales de hombres y mujeres, en una cantidad cada vez mayor, a sustancias químicas que se utilizan en la industria y la agricultura, lo cual posiblemente ocasione mayor cantidad de eventos reproductivos en riesgo. La ocupación paterna de mayor riesgo corresponde al trabajo agrícola <sup>(64)</sup>. En este estudio los factores de riesgo en los cuales encontramos asociación fueron la exposición laboral a plaguicidas. El efecto adverso sobre la salud reproductiva depende de cuándo ocurre el daño y quien se encuentre involucrado; padre, madre y/o feto. También depende del período de gestación y susceptibilidad del órgano en formación, así como de la intensidad y duración de la exposición al agente teratógeno. <sup>(67)</sup>.

Al comparar la exposición a insecticidas en padres y madres encontramos una exposición significativamente mayor en el grupo de casos, esta diferencia no se

observa al separar los casos por grupo de defecto, lo que pudiera deberse al tamaño de la muestra.

También se encontró asociación con respecto a la consanguinidad por línea paterna, como ha sido reportado por otros autores <sup>(27)</sup>. Esto puede ser explicado ya que las exposiciones ambientales paternas, pueden producir mutaciones directamente sobre las células germinales, lo cual se expresaría en malformaciones en generaciones subsecuentes <sup>(66)</sup>.

Los DTN y LH c/s PH son transmitidos en forma multifactorial, los padres transmiten a sus hijos una predisposición para desarrollar dichos defectos, resultado del efecto acumulativos de varios pares de genes. El defecto se presenta si a la propensión se agrega un ambiente propicio. En este trabajo el parentesco se presentó en segundo grado, en este caso la proporción de genes que tienen en común los parientes es de un 25% según lo menciona Guízar-Vázquez <sup>(85)</sup>.

La exposición a rayos X, fiebre, cohabitación con mascotas y tabaquismo no presentó diferencias significativas. A pesar de que Graham JM y col., <sup>(20)</sup> reportan una asociación con hipertermia y encefalocele (3-4 semanas) y hendiduras faciales (4-7 semanas) en humanos, en el periodo crítico. También sugieren que las infecciones virales, causa común de fiebre, se asocian a malformaciones, particularmente DTN <sup>(20)</sup>. Czeizel AE <sup>(12)</sup>, asociaron con el uso de medicamentos tales como, anticonvulsivantes <sup>(21)</sup>, trimetoprim, abuso de alcohol y tabaquismo, ya que interfieren con el metabolismo de los folatos y los anticonceptivos orales los cuales disminuyen la absorción de folatos <sup>(22)</sup>; la presencia de estos factores es un riesgo para la ocurrencia de defectos congénitos tanto para DTN y LH c/s PH. Hernández-Valencia y col. reportan complicaciones encontradas en hijos de madres con hiperglicemia mencionando mielomeningocele, labio y paladar hendido, entre otras <sup>(86)</sup>.

Ou CY y cols. <sup>(46)</sup>, sugieren que el polimorfismo C677T de la enzima (MTHFR) es un factor de riesgo para EB, según este autor el ser homocigoto para esta mutación explica el 19% de todos los DTN.

En la presente investigación ninguno de los factores mencionados previamente, fue determinante en la ocurrencia de DTN y LH c/s PH aunque es importante decir que el tamaño de la muestra fue muy pequeño.

#### **4.2 Características generales de los niños estudiados**

Cuando un embarazo cursa con defectos congénitos, una de las consecuencias en el desarrollo intrauterino es el retraso del crecimiento. La magnitud del retraso varía según el tipo de defecto. La relación entre retardo del crecimiento y la anomalía congénita puede ser explicada como un problema primario por la predisposición del feto, o como resultado de una reacción a la presencia de una anomalía. El retardo en el crecimiento constituye un estado de susceptibilidad para el defecto congénito <sup>(87)</sup>. Se ha reportado que cuando los defectos son severos, pueden cursar con bajo peso y talla al nacimiento entre otras complicaciones <sup>(87, 88)</sup>, siendo específico de cada embarazo afectado ya que también intervienen factores biológicos, del medio ambiente o socioeconómicos <sup>(81)</sup>. En el presente trabajo se presentó una alta proporción de RCIU en los casos de recién nacidos. En los lactantes todos los casos de LH c/s PH presentaron desnutrición. Esto es explicable por la dificultad que tienen estos niños para ser alimentados y además, con mucha frecuencia tienen infecciones en oído. <sup>(17)</sup>

#### **4.3 Revisión morfológica en los niños de defectos del tubo neural**

El periodo crítico de los casos de DTN en el presente estudio, para EB: se ubicó entre el día 27 al 29 de gestación aproximadamente; periodo en el cual ocurre el cierre de la región caudal del tubo neural; para los encefalocelos se ubicó del 20 al

24 aproximadamente, tiempo en el que ocurre el cierre del neuroporo anterior o que el cierre llega al mismo.

El género femenino fue más comúnmente afectado en los casos de DTN (masculino:femenino 0.53:1), lo cual coincide con lo reportado en la literatura <sup>(10, 11, 26, 40, 82, 89)</sup>. Desde décadas atrás se demostró que en embriones machos de ratón el desarrollo desde la etapa de blastocisto hasta la neurulación, era más avanzado, porque las células del embrión macho se mueven más rápido y al momento de la neurulación hay suficientes células en los pliegues neurales para llevar a cabo un cierre normal del tubo neural, esto podría explicar la predisposición del género femenino <sup>(90)</sup>. Otros autores mencionan un predominio del género femenino en los defectos altos.

Las observaciones de este estudio coinciden con ambos, argumentando que la neurulación es más tardía en este género, por lo que el embrión es más susceptible durante la neurulación temprana <sup>(81)</sup>.

El MMC puede localizarse en cualquier punto a lo largo del neuroeje, pero la localización que se presenta con mayor frecuencia (75%), es en la región lumbosacra <sup>(83, 91)</sup>, lo que concuerda con los hallazgos de este estudio (75%), aunque algunos autores señalan a la región lumbar como el sitio más frecuente <sup>(26, 84, 92)</sup>.

Los DTN producen disfunción de muchos órganos y estructuras además del sistema nervioso central y periférico como el esqueleto, la piel y tracto genitourinario. La hidrocefalia es una anomalía que acompaña con mayor frecuencia a los MMC <sup>(26, 91, 92)</sup>, en este trabajo encontramos el 40% de hidrocefalia al momento de la captación del caso y 40% la desarrollaron después, esto puede ser explicado porque la hidrocefalia en la mayoría de los casos no es aparente al nacimiento sino unos días después <sup>(92)</sup> o puede presentarse entre la segunda y cuarta semana después del nacimiento <sup>(22)</sup>. Otros estudios reportan hidrocefalia en un 80 a 85% de sus casos, lo cual está de acuerdo con nuestros resultados tomándolos en una forma global, ya que otros autores no especifican el tiempo en que se presentó la hidrocefalia <sup>(82, 83)</sup>.

Cuando el MMC se localiza en la región lumbar se manifiesta con una parálisis flácida y arrefléxica, incontinencia esfinteriana y alteraciones posturales de las extremidades inferiores y es frecuente encontrar pie varo <sup>(82, 83, 91)</sup>. En nuestro estudio, los casos que presentaron pie varo también fueron MMC localizados en la región lumbar.

La presencia de polidactilia en uno de los casos de encefalocelé occipital nos permite sospechar del Síndrome de Meckel-Gruber sin embargo no fue posible corroborarlo por carecer de evidencias sobre la existencia de riñón poliquistico para completar la tríada característica de este síndrome <sup>(93)</sup>.

Numerosos estudios han reportado a la anencefalia como el DTN más frecuente <sup>(26, 27, 30, 31)</sup>. En este estudio no se incluyeron estos defectos (dos casos) debido a que estudiamos solo niños vivos, recién nacidos y lactantes, y la mayoría de anencefalias (meroanencefalia) con frecuencia se abortan antes del nacimiento <sup>(81)</sup>, y se ha reportado que la prevalencia al nacimiento de anencefalia y EB han disminuido ya que durante el diagnóstico prenatal, la pareja decide terminar con el curso embarazo <sup>(81)</sup>, esto no es posible en nuestro país ya que no está permitido el aborto.

Dentro de la clasificación de múltiples cierres (zipper) encontramos que el zipper 1 es el más afectado ( $n = 16$ ; 80%), dato que está de acuerdo a Sanchos y col., dentro de la clasificación de sus resultados encontraron afectado el cierre uno en un 27.21% fue el más alto en su presentación no combinada con otro cierre <sup>(10)</sup>

#### **4.4 Revisión morfológica de defectos de labio hendido c/s paladar hendido**

En el presente estudio se encontró un 87% de lesiones aisladas de labio hendido con y sin paladar hendido y el 13% fueron lesiones múltiples. En un estudio realizado por Shaw <sup>(17)</sup> usó esta clasificación y consideró que las lesiones aisladas estaban

acompañadas de otra alteración menor y las múltiples estaban acompañadas de alteraciones mayores; reportando una proporción mayor en la presentación de lesiones aisladas, datos que son semejantes a los de este estudio; aunque pocos autores utilizan dicha clasificación, ésta es importante para nuestro trabajo ya que nos permite estudiar a todos los pacientes que presentaron labio con y sin paladar hendido.

En las anomalías de LH c/s PH, los factores ambientales juegan un papel central en su etiología, como deficiencias nutricionales y exposición a ciertas drogas. En el desarrollo de la cara intervienen diferentes vías que utilizan factores de crecimiento y transcripción para regular la morfogénesis <sup>(88)</sup>.

El periodo crítico de nuestros casos de LH c/s PH fue desde la 6ª a la 12ª semana de gestación (42-84 días), es probable que se afectara el desarrollo de la cara y paladar desde la 6ª semana, cuando ocurre la unión del proceso maxilar con el nasolateral, provocando que el ala de la nariz se desplazara hacia abajo y se aplanara, con diferentes grados de severidad.

Se observaron alteraciones en el desarrollo de la región facial en el que se involucró la unión entre el proceso maxilar y parte del segmento intermaxilar en diferentes grados de profundidad, provocando defecto del labio y la encía, también se encontraron alteraciones en la unión entre paladar primario y secundario, afectándose hasta el paladar blando.

Con respecto a la extensión de la fisura en labio se observó que se extendió hasta la narina y en ocasiones llegó hasta el borde mucocutáneo de la encía. Los defectos de separación del paladar también fueron observados en este estudio y se manifestaron desde una fisura incompleta hasta la separación total de la arcada maxilar o ausencia del paladar secundario.

Aunque en la revisión de la literatura no se encontró explicación del por qué son más frecuentes estas alteraciones en el género masculino los hallazgos que observamos con una relación de 1.3:1 concuerda con lo reportado <sup>(19)</sup>.

Cziesel y cols. <sup>(37)</sup> mencionan mayor frecuencia en la presentación de LH c/s PH dentro de su población de estudio, lo cual concuerda con los resultados de este trabajo.

Los DTN y LH c/s PH son alteraciones crónicas y costosas que requieren tratamientos multidisciplinarios, tienen particular relevancia por su participación en la morbilidad de todas las etapas del desarrollo intrauterino y que en el niño y su familia producirá un importante impacto psicosocial.

#### **4.5 Determinaciones sanguíneas maternas de ácido fólico intraeritrocitario, plasmático, Vit B12 y Hci**

En términos generales, la deficiencia de AF se ha considerado como un factor de riesgo en mujeres que han tenido hijos con DTN, sin embargo, no todas presentan cifras bajas de folatos sérico o en los eritrocitos durante el embarazo <sup>(12)</sup>.

Evidencias bioquímicas y epidemiológicas han sugerido, que el problema no es la cantidad de folatos suficientes en los alimentos sino cambios en la captación y/o metabolismo de los folatos tanto por las células maternas como fetales <sup>(12)</sup>.

La asociación entre deficiencia de AF y DTN es discutible, por un lado se ha descrito una relación directa con el uso de suplementos multivitamínicos para disminuir la ocurrencia y recurrencia de DTN <sup>(36, 40, 41)</sup> o bien se ha relacionado la ocurrencia de DTN con la deficiencia de folatos en sangre <sup>(94)</sup> y por otro lado, algunos autores argumentan que existen problemas de interpretación derivados del sesgo de

memoria, señalan que es difícil establecer si tal asociación depende de los suplementos vitamínicos por sí mismos <sup>(95)</sup>.

La deficiencia de Vit B12 se ha considerado como un factor de riesgo independiente en RN con algún tipo de DTN. Esto puede ocurrir debido a la absorción inadecuada y no a la ingesta de esta vitamina, sin embargo en nuestro estudio no se asoció como factor de riesgo para estas alteraciones <sup>(12)</sup>.

La población Tarahumara (casos y controles) presentan valores sanguíneos de folatos mas bajos que la mestiza principalmente el AFP ( $p < 0.05$ ).

Debido al tamaño de la muestra no fue posible separar en grupos de casos y controles y analizar estadísticamente. Probablemente para este grupo étnico la deficiencia de AF sí sea un factor de etiológico de éstas malformaciones, o bien están en un mayor riesgo.

Además una moderada hiperhomocisteinemia, también se ha descrito como un factor de riesgo para DTN <sup>(56, 58, 59)</sup>, pero en nuestro estudio la asociación no fue significativa.

El uso de suplementos de AF maternos durante las etapas tempranas del embarazo se ha sugerido que juega un papel en la prevención de las hendiduras orofaciales no sindrómicas (LH y LH c/s PH) <sup>(50)</sup>, sin embargo es importante mencionar que algunos genes (Hes-1 y Twist) han sido relacionados con deficiencia de AF en el periodo crítico de la neurulación y canalización, así como durante la formación de la cara y paladar primario y secundario <sup>(11)</sup>.

Existen reportes que demuestran la asociación entre deficiencia de ácido fólico y LH c/s PH y otros estudios que no apoyan tal hipótesis. Por un lado se ha descrito una asociación directa con el uso de suplementos multivitamínicos y la prevención de la ocurrencia de este tipo de defectos <sup>(17)</sup>. Otros autores han descrito que el uso de suplementos de ácido fólico en altas dosis (6 mg diarios) durante el periodo crítico

del desarrollo previene LH c/s PH <sup>(37)</sup>, otro trabajo solo encontraron asociación con PH <sup>(44)</sup>; algunos autores no han encontrado diferencias en la ocurrencia de estos defectos con el uso periconcepcional de multivitamínicos <sup>(37)</sup> o bien con el uso de AF solo <sup>(38)</sup>. Por otro lado algunos autores no han encontrado asociación con los niveles de folatos sanguíneos <sup>(96)</sup>, lo cual es similar a los resultados de nuestro trabajo.

#### **4.6 Determinación del polimorfismo C677T**

##### **de la metilentetrahidrofolato reductasa**

Existe controversia con respecto al papel que juega el polimorfismo C677T de la MTHFR en la etiología de los DTN. Por un lado, diversos autores encuentran un aumento del riesgo para DTN en portadores de la mutación en estado homocigoto, tanto en las madres como en los productos afectados <sup>(13, 80, 97)</sup>

En el presente trabajo no se encontró asociación de la mutación C677T con DTN, en los padres, madres y productos afectados, independientemente del grupo étnico.

El papel de este polimorfismo en la etiología de LH c/s PH a sido estudiado por diversos investigadores <sup>(50, 51)</sup>

El genotipo TT por si mismo puede no ser el mayor determinante de defectos congénitos, sino el efecto de la interacción entre el genotipo y el estado de los folatos u otros factores ambientales <sup>(46)</sup>, esto pudiera explicar porque nuestra población sana con folatos normales y con la presencia del genotipo TT no tuvieron hijos con anomalías.

Al igual que para DTN no se encontró una mayor frecuencia de la mutación en la población de estudio. Es importante mencionar, que por el contrario el estado silvestre o normal de dicho alelo fue significativamente mas frecuente en los casos de LH c/s PH.

Los resultados de este trabajo no explican la ocurrencia de DTN ni LH c/s PH quizá esto este influido por el tamaño de la muestra. Existen reportes de trabajos como los realizados por De Francis y col., en su primer trabajo, incluyeron solo 28 casos con DTN y no encontraron asociación, pero al realizar un segundo trabajo, en el que

incluyeron 203 pacientes con DTN, mostraron una diferencia significativa entre el genotipo de la MTHFR y el incremento en el riesgo de DTN <sup>(80)</sup>.

Solo el 13% de los DTN puede ser atribuido al polimorfismo 677T <sup>(98)</sup>, mientras que el 50 a 70% de todos los DTN pueden ser prevenidos con el uso periconcepcional de suplementos de AF. Esto sugiere que otras mutaciones del gen de la MTHFR u otros genes involucrados en el metabolismo de los folatos, podrían ser responsable de los defectos de nuestra población de estudio.

La patogénesis de los DTN se ha estudiado en modelos de ratones mutados. Estudios embriológicos en ratones sugieren que la falla en el cierre del tubo neural es heterogénea y puede ser causada por una combinación de múltiples genes y factores ambientales, en los humanos podría ser semejante <sup>(99)</sup>.

#### **4.7 Genotipos y frecuencia alélica**

El cálculo de Hardy-Weinberg de los genotipos observados, demostró que las poblaciones mestiza y tarahumara de los grupos control se encontraban en equilibrio, estos resultados son similares a los publicados por Dávalos y col. <sup>(52)</sup>.

En nuestro país se han reportado diversas frecuencias del alelo según el área geográfica o la etnia del estudio. Mutchinick y col., <sup>(45)</sup> en un estudio que abarca población de siete estados de la Republica Mexicana reporta una frecuencia alélica de 0.58 y para la población del norte de México en 0.49. En la población mestiza de Chihuahua estudiada, encontramos una frecuencia alélica de 0.41, 0.42, 0.31 para madres, padres e hijos respectivamente. Esta es mayor que la reportada por Martínez y col., <sup>(23)</sup> de 0.35 para la población de Nuevo León y menor que la reportada por González y col., <sup>(100)</sup> en Yucatán de 0.59. Con respecto a la población tarahumara Dávalos y col., <sup>(52)</sup> reportaron una frecuencia alélica de 0.44 sin especificar género ni edad.

En los tarahumaras de este estudio la frecuencia alélica fue de 0.43, 0.35 y 0.37 para madres, padres e hijos respectivamente.

La frecuencia alélica del alelo mutado en la población tarahumara de este estudio fue ligeramente mayor que lo reportado por Davalos y col., <sup>(52)</sup> en una población menor.

La frecuencia alélica de la mutación 677T en el grupo de estudio fue mas baja (padres, madres e hijos) en el grupo de DTN y LH c/s PH en mestizos comparados con sus controles y en los DTN (padres y madres) de tarahumaras.

La frecuencia alélica en los tarahumaras del grupo de DTN (padres y madres) fueron mayores que sus controles excepto en los hijos afectados.

Las diferencias en la frecuencia alélica encontradas en nuestro grupo de estudio podría indicar un papel diferente de la mutación en la etiología de estos efectos (DTN) asociados a un medio desfavorable (multifactorial).

La distribución del alelo 677T tiene una gran variabilidad en el mundo. La mutación es altamente prevalente en algunos grupos de Asia, Italia y Brasil con una frecuencia alélica de 0.40 a 0.45 y menos frecuente en la población holandesa e irlandesa y otras poblaciones caucásicos con un rango de 0.21 a 0.28 <sup>(45)</sup>. El polimorfismo es considerablemente menos frecuente en la población negra de África menos del 10%

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

## **CAPITULO CINCO**

### **CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y APORTACIONES**

#### **5.1 Conclusiones:**

1. Se rechaza la hipótesis de trabajo.
2. La consanguinidad es un factor de riesgo en Chihuahua.
3. La exposición a insecticidas fue un factor de riesgo para los DTN en población de estudio.
4. Las deficiencias de folatos y el polimorfismo C677T de la MTHFR pudieron ser un factor que aumente el riesgo de DTN en la población tarahumara.
5. La deficiencia de folatos y el polimorfismo C677T de la MTHFR, no se asocio a un mayor riesgo de LH c/s PH.
6. La hiperhomocisteinemia no fue un factor de riesgo, en la población estudiada.
7. Los niños con LH c/s PH presentaron un mayor grado de desnutrición.

#### **5.2 Perspectivas**

1. Estudiar la morfología del desarrollo del sistema nervioso en animales de experimentación para analizar las diferencias con relación al género del producto.
2. Estudiar heterocigocidad combinada entre la mutación C677T y la A1298C para establecer una asociación con DTN e hiperhomocisteinemia.
3. Llevar a cabo el SFORCH en plasma de la población de estudio para establecer una asociación con otros factores de riesgo.
4. Hacer un estudio de secuenciación genética para buscar otros posibles genes asociados a estos defectos.
5. Promover estudios de ultrasonido, para hacer un diagnóstico prenatal de estos defectos.
6. Hacer estudios experimentales de exposición a plaguicidas para observar la incidencia de defectos congénitos.

7. Analizar los datos de la encuesta nutricional para determinar la ingesta de maíz e inferir la asociación de las fumonicinas con este tipo de defectos.
8. Analizar los datos de la encuesta nutricional para determinar la cantidad de AF ingerido por las mujeres del presente estudio.

### 5.3 Aportaciones

Diversos factores de riesgo se han asociado a los DTN y LH c/s PH. Estos factores dependen principalmente de: la población de estudio y la susceptibilidad genética-medio ambiente, la predilección de estos defectos por un género determinado y los factores genéticos que regulan el desarrollo del embrión.

En este estudio se infiere que en la población de Chihuahua:

- Los DTN son mas frecuentes en el género femenino, principalmente los de localización superior, probablemente debido a una diferenciación del tubo neural mas tardía en estos productos.
- La exposición a plaguicidas de padres y madres aumenta el riesgo de tener un producto con DTN.
- La consanguinidad es un factor que aumenta el riesgo de defectos congénitos.
- Alteraciones en el metabolismo del AF tales como disminución de folatos sanguíneos y polimorfismos (mutación C677T de la MTHFR) pudieran estar relacionados con un mayor riesgo de DTN y LH c/s PH en la población tarahumara.

Conociendo el estadio del desarrollo embrionario en que se derivaron los defectos, día 27-29 para MMC y 42-84 para LH c/s PH, se sugiere que las estrategias de prevención deben de aplicarse antes de la gestación y hasta los 3 meses del embarazo.

Con los resultados del presente trabajo se propone que deben realizarse campañas de prevención de consumo de AF en la población, sobre todo la tarahumara, en forma permanente por los embarazos no planeados y durante todo el embarazo, evitar la consanguinidad y la exposición a plaguicidas para contribuir a la disminución de la mortalidad y discapacidad infantil mediante la reducción del nacimiento de niños con defectos congénitos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. March of Dimes of Birth Defects Foundation. (1999). Birth defects. [www.modimes.org/HealthLibrary2/FactSheets/Birth Defects.htm](http://www.modimes.org/HealthLibrary2/FactSheets/Birth%20Defects.htm).
2. Moore K.L. (1997) Defectos al nacimiento en humanos. En: Moore K.L. Embriología Clínica. 6ª Ed. Mc Graw Hill, México, DF.
3. Murphy M., Bartlett PF., Hall W., Hall E. (1993) Molecular regulation of neural crest development. *Mol Neurobiol.* 7(2):111-35.
4. O'Rahilly R., Muller F. (1994) Neurulation in the normal human embryo Ciba Found Symposium. 18170-82; discussion 82-9.
5. Golden JA., Chernoff GF. (1993) Intermittent pattern of neural tube closure in two strains of mice. *Teratology.* 47:73-80.
6. Van Allen M., Kalousek DK., Chernoff GF. Juriloff D., Harris M., McGillivray B., Yong SL., Lenglois S., MacLeod P., Chitayat D., Friedman JM., McFadden D., Ritchie S., Hall JG. (1993) Evidence for multi-site closure of the neural tube in humans. *Am J Med Genet.* 47:723-743.
7. Finnell RH, Grould A, Spiegelstein O. (2003) Pathobiology and genetics of neural tube defects. *Epilepsia.* 44:14-23.
8. O'Rahilly R, Müller F. (2002) The two sites of fusion of the neural folds and the two neuropores in the human embryo. *Teratology.* 65:162-170.
9. Botto LD., Moore CA., Khoury MJ., Erickson JD. (1999) Neural-Tube defects. *N Engl J Med.* 341(20): 1509-1519.
10. Sanchis A., Martínez-Frías ML. (2002) Comparación de las características epidemiológicas de los defectos del tubo neural clasificados según el fallo de los distintos puntos de cierre. *An Esp. Pediatr.* 57(5):457-65.
11. Portillo S, Barbosa L, Boukair A. (2002) Bases moleculares de los defectos del tubo neural. [www.cirpedal.com.ar/neural.htm](http://www.cirpedal.com.ar/neural.htm).
12. Czeizel AE. (1995) Ácido fólico en la prevención de defectos del tubo neural. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 20:4-16.

13. Fleming A, Mutchinick OM, Romero G. (2001) The role of folate in the prevention of neural tube defects: Human and animal studies. *Nutr Rev.* 59(8):13-23.
14. Garabedian BH., Fraser FC. (1993). Upper and lower neural tube defects: an alternate hypothesis. *J Med Genet.* 30:849-51.
15. Johnston MC. Bronsky PT. (1995) Prenatal craneofacial development: new insights on normal and abnormal mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med.* 6(4):368-422.
16. Sandberg DJ., Magee WP., Denk MJ. (2002) Neonatal cleft lip and cleft palate repair. *J AORN.* 75(3):490-508.
17. Shaw GM, Lammer EJ, Wasserman CR, O'Malley CD, Tolarova MM. (1995) Risks of orofacial clefts in children born to women using multivitamins containing folic acid periconceptionally. *Lancet.* 346:393-46.
18. Hernández-Arriaga JL., Cortés-Gallo G., Aldana-Valenzuela C., Ramírez-Huerta AC. (1991) Incidencia de malformaciones congénitas externas en el hospital de Ginecopediatría N° 48 de León, Guanajuato. *Bol. Med Hosp Infant Mex.* 48(10):717-721.
19. Mutchinick O. (1996) Epidemiología de las malformaciones congénitas. *Gac Med.* 131:152-160.

---

20. Graham JM., Edwards MJ., Edwards MJ. (1998) Teratogen update: gestational effects of maternal hyperthermia due to febrile illnesses and resultant patterns of defects in humans. *Teratology.* 58:209-21.
21. Hernández-Díaz S., Werler MM., Walker AM., Mitchell AA. (2000) Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med.* 343:1608-1614.
22. Lemire RJ. (1988) Neural tube defects. *JAMA.* 259:558-62.
23. Martínez-Villareal LE, Delgado-Enciso I., Valdés-Leal R., Ortiz-López R., y col. (2001) Folate levels and N5, N10- methylenetetrahydrofolate reductase genotype (MTHFR) in mothers of offspring with neural tube defects: a case-control study. *Arch. Med Res.* 32:277-82.

24. Piyathilake CHJ., Macaluso M., Hine RJ., Richards EW. (1994) Local and systemic effects of cigarette smoking on folate and vitamin B-12. *Am J Clin Nutr.* 60:559-66.
25. Annual Report 2002 with data for 2000. Publish for International center for birth defects, Italia.
26. Hendricks KA., Simpson JS., Larsen RD. (1999) Neural tube defects along the Texas-Mexico border, 1993-1995. *Am J Epidemiol.* 149(12):1119-1127.
27. Mutchinick O., Orozco E, Lidker R., Babinsky V., Núñez C. (1990) Factores de riesgo asociados a los defectos de cierre del tubo neural: Exposición durante el primer trimestre del embarazo. *Gac Med Mex.* 126(3):227-233.
28. Canun SS., Saavedra DO., Chavira SE., Andrade FT. (1990) Malformaciones congénitas en diferentes etapas del desarrollo intrauterino. *Ginecol Obstet Mex.* 58:1-4.
29. Pérez-Molina J., Alfaro-Alfaro N. (1998) Defectos del cierre del tubo neural: prevalencia y búsqueda de asociación con algunos factores de riesgo durante el primer trimestre del embarazo. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 55(8):435-442.
30. Rodríguez M., Guerrero FR., Parra MQ., Segura MJP., Levario MC., Sotelo EIH. (1998) Deficiencia de folatos y su asociación con defectos de cierre del tubo neural en el norte de México. *Salud Pública Méx.* 40(6): 474-479.
31. Hernández-Herrera RJ., Ortiz Jalomo R. (1998) "Prevalencia de Malformaciones congénitas externas en Monterrey, NL". *Rev Invest Med SS Mex.* 3:19-21.
32. Forrellat MB., Gautier HDG. (1997) Papel del ácido fólico en la etiología de las anemias megaloblasticas. *Rev Cub Inmunol Hemoter.* 13(2): 77-89.
33. Maekawa A., Nakajima H. (1999) Folic acid. *Japanese J Clin Med.* 57(10):2254-60.
34. Bailey LB., Gregory JF. (2000) Folate metabolism and requirements. *J Nutr.* 130:779-82.
35. Asok AC., Hansen DK. (2000) Hypothesis: Folate-responsive neural tube defects and neurocristopathies. *Teratology.* 62:42-50.

36. Czeizel AE., Dudas I. (1992) Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *New Engl J Med.* 327:1832-35.
37. Czeizel AE, Timár L, Sárközi A. (1999) Dose-dependent effect of folic acid on the prevention of orofacial clefts. *Pediatrics.* 104(6):1-7.
38. Hayes C., Werler MM., Willett WC., Mitchell AA. (1996) Case-control study of periconceptional folic acid supplementation and oral clefts. *Am J Epidemiol.* 143(12):1229-34.
39. Suarez L, Hendricks KA, Cooper SP, Sweeney AM, Hardy RJ, Larsen RD. (2000) Neural tube defects among Mexican Americans living on the US-Mexico border: effects of folic acid and dietary folate. *Am J Epidemiol.* 152(11):1017-23.
40. Berry RJ., Li Z., Erickson JD., Li S., Song DL., Moore CA., Mulinare WH. (1999) Prevention of neural-tube defects with folic acid in China. *N Engl J. Med.* 341(20):1485-90.
41. Mulinare J., Cordero JF., Erickson JD. (1988) Periconceptional use of multivitamins and the occurrence of neural tube defects. *JAMA.* 260(21): 3141-3145.
42. Daly S., Mills JL., Molloy AM., Coley ML., Lee YJ., Karike YJ., Weir PN. (1997) Minimum effective dose of folic acid for food fortification to prevent neural-tube defects. *Lancet.* 350(9092): 1666-69.
43. Martínez-de Villarreal LE., Limón-Benavides C., Valdez-Leal R., Sánchez-Peña MA., Villarreal -Pérez JZ. (2001) Efecto de la administración semanal de ácido fólico sobre los valores sanguíneos. *Salud Pú b Mex.* 43(2):103-107.
44. Werler M M., Hayes C., Louik C., Shapiro S., Mitchell AA. (1999) Multivitamin supplementation and risk of birth defects. *Am J Epidemiol.* 150(7):675-82.
45. Mutchinick OM., López MA., Luna L., Waxman J., Babinsky VE., Waxman J., Babinsky VE. (1999) High prevalence of the thermolabile Methyltetrahydrofolate reductase variant in Mexico: A country with a very high prevalence of neural tube defects. *Mol Gen Met* 68:461-67.

46. Van der Put N M., Gabreëls F., Stevens MB., Smeitink AM., Frans JM., Eskes TK., Van der Heuvel LP., Blom HJ. (1998) A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural tube defects? *Am J Hum Genet.* 62:1044-51.
47. Botto LD, Yang Q. (2000) 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 15(9):862-77.
48. Ou CY., Stevenson RE., Brown VK., Schwartz CE., Allen WP., Khoury MJ., Rozen R., Oakley GP., Adams MJ. (1996) 5, 10 methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphism as a risk factor for neural tube defects. *Am J Med Genet.* 63:610-14.
49. Isotalo PA., Wells GA., Donnelly JG. (2000) Neonatal and fetal methylenetetrahydrofolate reductase genetic polymorphisms: an examination of C677T and A1298C mutations. *Am J Hum Genet.* 67(4):986-90.
50. Martinelli M., Scapoli L., Pezzeti F., Carinci F., Carinci P., Stabellini G., Bisceglia L., Gombos F., Tognon M. (2001) *Am J Med Genet.* 98(4):357-60
51. Mills JL., Kirke PN., Molloy AM., Karike PN., Burke H., Conley MR., Lee YJ., Mayne PD., Weir DG., Scott JM. (1999) Methylenetetrahydrofolate reductase thermolabile variant and oral clefts. *Am J Med Genet.* 86(1):71-4.
52. Dávalos IP., Olivares N., Castillo M., Cantú J., Ibarra B., Sandoval L. y col. (2000) The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Mexican mestizo neural-tube defects parents, control mestizo and native populations. *Ann Genet.* 43:89-92.
53. Gipson M. Bottuglieri T. (2000) Genetic predisposition to neural defects? *Pediatr Res.* 48(2):135.
54. Volcik KA., Blanton SH., Tyerman GH., Jong ST., Rott EJ., Page TZ. (2000) Methylenetetrahydrofolate reductase and spina bifida: evaluation of level of defect and maternal genotypic risk in hispanics. *Am J Hum Genet.* 6; 95(1):21-7.

55. Bonete RE., Caudill MA., Boddie AM., Hutson AD., Kauwell GPA., Bailey LB. (1998) Plasma homocyst(e)ine concentrations in pregnant and nonpregnant women with controlled folate intake. *Obstet & Gynaecol.* 92(2):167-70.
56. Molloy Am., Mills JL., McPartlin J., Kirke PN., Scott JM., Daly S. (2002) Maternal and fetal plasma homocysteine concentrations at birth: the influence of folate, vitamin B12, and the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase 677-T variant. *Am J Obstet Gyneacol.* 186(3):499-503.
57. Dekou V., Whincup P., Papacosta O., Ebrahim S., Lennon L., Ueland PM., Refsum H., Humphries SE., Gudnason V. (2001) The effects of the C677T and A1298C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate reductase gene on homocysteine levels in elderly men and women from the British regional heart study. *Atherosclerosis.* 154:659-66.
58. Guerra-Shinohara EM., Paiva AA., Rondó PH., Yamasaki K., Terzi CA., Dálmedida V. (2002) Relationship between total homocysteine and folate levels in pregnant women and their newborn babies according to maternal serum levels of vitamin B12. *Int J Obstet Gynaecol.* 109(7):784-91.
59. Unfried G., Griesmacher A., Weismüller W., Nagele F., Huber JC., Tempfer CB. (2002) The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and idiopathic recurrent miscarriage. *Obstetrics & Gynecology.* 99(4):614-19.
60. Hendricks K. (1999) Fumonisin and neural tube defects in south Texas. *Epidemiology.* 10(2):198-200.
61. Dombink-Kurtzman MA., Dvorak J. (1999) Fumonisin content in masa and tortillas from Mexico. *J Agric Food Chem.* 47:622-27.
62. Smith MS., Upfold JB. (1992) The induction of neural tube defects by maternal hyperthermia: a comparison of guinea-pig and human. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 18; 1:71-80.
63. Breen J.G., Claggett T.W. (1999) Heat shock during rat embryo development in vitro results in decreased mitosis and abundant cell death. *Reprod Toxicol.* 13; 1:31-9.

64. Borja-Aburto VH., Bermúdez-Castro O., Lacasaña-Navarro M., Kuri P., Bustamante-Montes P., Torres-Meza V. (1999) Dificultades en los métodos de estudio de exposiciones ambientales y defectos del tubo neural. *Sal Pub Mex.* 41:124-131.
65. Foetotoxic evaluations of enviromental agents. [http://www.headlice.org/lindane/health/toxicology/foetotoxic\\_evaluations\\_of\\_enviro.htm](http://www.headlice.org/lindane/health/toxicology/foetotoxic_evaluations_of_enviro.htm)
66. Zones P. Manual de Toxicología Avanzada. Ed Repetto capítulo 5 y 14: 117-143 y 557-601.
67. Levario-Carrillo. (1998) Tesis de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Relación entre la exposición crónica a plaguicidas inhibidores de las colinesterasas y los efectos en la placenta. 1.2.2:23-38.
68. Franklin M.M. (1988) Chemicals, birth defects and stillbirths in New Brunswick: associations with agricultural activity. *J Can Med Assoc.* 138:117-124.
69. Restrepo M. (1990) Prevalence of adverse reproductive outcomes in a population occupationally exposed to pesticides in Colombia. *Scand J Work Environ Health.* 16:232-238.
70. Gordon JE., Shy CM. (1981) Agricultural chemical use and congenital cleft and/or palate. *Arch Environmental Health.* 36(5):213-220.
71. Pérez-Palacios G., Catalán OA., Vela AM. (2000) La prevención y control de los defectos congénitos. *Secretaria de Salud.* 13-17.
72. Overpeck MD., Hediger ML., Zhang J., Trumble AC., Klebanoff MA. (1999) Birth weight for gestational age of Mexican American infants born in the United States. *Obstet Gynaecol.* 93(6):943-47.
73. Proyecto de Norma Oficial Mexicana (1999) PROY-NOM-031-SSA2. *Diario Oficial* 2000.
74. Lubchenco LO., Hansman Ch., Boyd E. (1966) Intrauterine growth in length and head circumference as estimated from live births at gestational ages from 26 to 42 weeks. *Pediatrics.* 37(3):403-408.
75. Wenstrom KD., Johanning GL., Johnston KE., DuBard M. (2001) Association of the C677T methylenetetrahydrofolate reductase mutation and elevated

homocysteine levels with congenital cardiac malformations. *Am J Obstet Gynecol.* 184(5):806-17.

76. Hauser RA., Zesiewics T.A. (1997). *Focus on homocysteine and vitamins.* Ed. Merit Publishing International. U.S.A.

77. *BM/MSDOS. Dbase IV Plus.* Ashton-Tate, 1993.

78. *STATA (1997) Corp Stata Statistical software. Release 5.0,* Colege Station, Tx: Stata Corporation.

79. [www.kursus.kvl.dk/shares/vetgen/\\_Popgen/genetik/applets/kitest.htm](http://www.kursus.kvl.dk/shares/vetgen/_Popgen/genetik/applets/kitest.htm)

80. Van der Put N., Van Straaten H., Trijbels F., Blom HJ. (2001) Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview. *Exp Biol Med.* 226(49):243-270.

81. Frey, Lauren, Hauser, Allen W. (2003) *Epidemiology of neural tube defects.* *Epilepsia.* 44:4-13.

82. Ramos MA., Enguidanos M. (2001) Mielomeningocele lumbosacro. *Pediatría de atención primaria.* 11:51-56.

83. Iglesias J., Ingilde M., Naddeo S., Sanchez M., Spinelli S., Van der Velde J. (2000) Detección y tratamiento del Mielomeningocele por un equipo interdisciplinario. *Rev Hosp Mat Inf Ramón Sarda.* 19(1)11-17.

84. Shaw GM., Todoroff K., Finnell RH., Lammer EJ. (2000) Spine bifida phenotypes in infants or fetuses of obese mothers. *Teratology.* 61(5):376-81.

85. Guízar-Vázquez J. (1988) Herencia multifactorial. En: Zavala C. *Genética clínica, Diagnostico y manejo de las enfermedades hereditarias.* 1ª Ed. Manual moderno, México, DF.

86. Hernández-Valencia M., Carrillo-Pacheco A. (2002) Glucose screening during active labor for the detection of undiagnosed hyperglycaemia and newborn malformations in a population without prenatal car. *Diabetes, Obesity and Metabolism.* 4:132-37.

87. Melve KK., Rolv S. (2002) Families with defects: is birth weight of nonmalformed siblings affected? *Am J Epidemiol.* 155(10):932-40.

88. Finnell R H., Gelineau-Van J W., Eudy J D., Rosenquist T H. (2002) Molecular basis of environmentally induced birth defects. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 42:181-191.
89. O'Rahilly R., Muller F. (2003) Somites, spinal ganglia and centra: enumeration and interrelationships in staged human embryos and implications for neural tube defects. *Cell Tissue Res.* 173(2):75-92.
90. Seller M J. (1987) Neural tube defects and sex ratios. *Am J Med Genet.* 26:699-707.
91. Bustamante M C., Rodríguez C V., Rodríguez P C. Mielomeningocele: una visión general del problema. [http://www.rms.cl/internos/anteriores\\_internos/mielomeningocele.htm](http://www.rms.cl/internos/anteriores_internos/mielomeningocele.htm)
92. Rintoul N E., Sutton L N., Hubbard A M., Cohen B. (2002) A new look at myelomeningoceles: functional level, vertebral level, shunting, and the implications for fetal intervention. *Pediatrics.* 109(3):409-13.
93. Morgan N V., Gissen P., Sharif S M., Baumber L., Sutherland J., Kelly D A., Aminu K., Bennett C P., Woods C G., Mueller R F., Trembath R C., Maher E R., Jonson C A. (2002) A novel locus for Meckel-Geuber syndrome, MKS3, maps to chromosome 8p24. *Hum Genet.* 111(4-5):456-61.
94. Molloy A M., Mills J L., Kirke P N., Ramsbottom D., McPartlin J., Burke H., Conley M., Whitehead A S., Weir D G., Scott J M. (1998). Low blood folate in NTD pregnancies are only partly explained by thermolabile 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase: low folate status alone may be the critical factor. *Am J Med Genet.* 78:155-59.
95. Mills J L., Rhoads G G., Simpson J L., Cunningham G C., Conley M R., Lassman M R., Walden M E., Depp O R. (1989) The absence of a relation between the periconceptional use of vitamins and neural tube defects. *New Eng J Med.* 321(7):430-435.
96. Ubbink J B., Christianson A., Bester M J., Van Allen M., Venter A., Delpor R., Blom H J., Van der Merwe A., Potgieter H, Vermaak W J. (1999) Folate status, homocysteine, and methylene tetrahydrofolate reductase genotype in rural

south African blacks with a history of pregnancy complicated by neural tube defects. *Metabolism*. 48(2):269-274.

97. Bjorke-Monsen AI., Ueland PM., Schneede J., Vollset SE., Refsum H. (1997). Elevated plasma total homocysteine and C677T mutation methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with spina bifida. *J Med*. 90(9):593-96.
98. Boduroglu K., Alikasifoglu M., Anar B., Tuncbilek E. (1999) Association of the 677-C mutation on the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkish patients with neural tube defects. *J Child Neurol*. 14(3); 159-161.
99. Koch MC., Stegmann K., Ziegler A., Schröter B., Ermert A. (1998) Evaluation of the MTHFR C677T allele and the MTHFR gene locus in German spine bifida population. *Eur J Pediatr*. 157:487-492.
100. González-Herrera L., García-Escalante G., Castillo-Zapata I., Canto-Herrera J., Cevallos-Quintal J., Pinto-Escalante D., Díaz-Rubio F., Del Angel RM., Orozco-Orozco L. (2002) Frequency of the thermolabile variant C677T in the MTHFR gene and lack of association with neural tube defects in the state of Yucatán, México. *Clinic Genet*. 62(5):394-98.

---

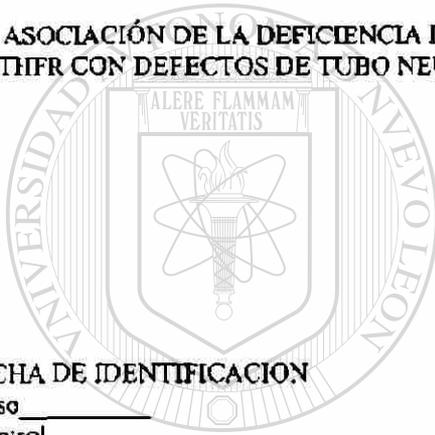
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

**APÉNDICE A**  
**Encuesta de factores de riesgo y nutricional**

HOSPITAL CENTRAL, HOSPITAL GENERAL, HOSPITAL INFANTIL, INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL, FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA Y LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN.

ASOCIACIÓN DE LA DEFICIENCIA DE ÁCIDO FÓLICO Y POLIMORFISMO GENÉTICO DE LA MTHFR CON DEFECTOS DE TUBO NEURAL Y LABIO HENDIDO CON Y SIN PALADAR HENDIDO EN CHIHUAHUA



UANL

**FICHA DE IDENTIFICACION**

Caso \_\_\_\_\_  
Control \_\_\_\_\_  
Folio \_\_\_\_\_  
Procedencia \_\_\_\_\_  
Nombre \_\_\_\_\_  
Número de afiliación \_\_\_\_\_  
Dirección \_\_\_\_\_  
Calle \_\_\_\_\_ N° \_\_\_\_\_ Colonia \_\_\_\_\_  
Ciudad \_\_\_\_\_ Teléfono \_\_\_\_\_  
Hospital \_\_\_\_\_ Teléfono celular \_\_\_\_\_  
Encuestador \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

Lugar y fecha. \_\_\_\_\_

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado Asociación de la deficiencia de ácido fólico y polimorfismo genético de la MTHFR con defectos de tubo neural y labio hendido con y sin paladar hendido en Chihuahua, registrado ante el comité de cada hospital, en el Seguro Social tiene el número 01-146-0001.

El objetivo del estudio es describir la morfología externa del producto recién nacido. Se me ha explicado que mi participación consiste en: contestar una entrevista acerca de mi embarazo y antecedentes de salud, permitir que me sea tomada una muestra de sangre periférica para determinar el ácido fólico, homocisteína y la Metiltetrahidrofolato-reductasa (MTHFR), así como la revisión de mi hijo y una toma de sangre de talón para la determinación de la MTHFR. La toma de la muestra no pone en riesgo mi vida ni mis condiciones generales de salud.

El investigador principal la Dra. Dora V. Chávez Corral se ha comprometido a darme información oportuna de los resultados así como a responder cualquier duda que le planteé.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente sin que ello afecte la atención médica que recibo en el hospital.

Estoy en mi derecho de solicitar cualquier aclaración y obtener información sobre los resultados del estudio, así como no participar en el mismo si así lo decido, la información obtenida será de carácter confidencial y en ningún momento se violará mi privacidad. ®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS

\_\_\_\_\_  
Nombre y Firma del Participante

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador principal

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Testigo

1. Unidad de atención médica

--

2. Ciudad

1	Chihuahua	
2	Delicias	
3	Camargo	
4	Mcoqui	
5	Parral	
6	Cual	

3. Edad de la madre en años cumplidos

--	--

4. Edad del padre en años cumplidos

--	--

5. Raza

		Padre	Madre
1	Mestizo		
2	Tarahumara		
3	Menón		
4	Otra		

6. Fecha de última menstruación

Día	Mes	Año

7. Acudió a control prenatal

0	Si	
1	No	

Si su respuesta es NO pase a la pregunta 9

8. Número de consultas prenatales

--

9. Semanas de gestación

--	--

10. Número de embarazos

(Contando este embarazo)

Embarazo	1	2	3	4	5	6	7
Número							
Producto*							
Sexo (MFI)							

(\* NV nacido vivo NM nacido muerto AE aborto espontaneo

11. ¿Sabe usted leer y escribir?

0	Si	
1	No	

12. Escolaridad de la madre

¿Cual fue el último año que usted aprobó en la escuela?

1	No fue a la escuela	0					
2	Primaria	1	2	3	4	5	6
3	Secundaria completa	1	2	3			
4	Técnico post-sec	1	2	3			
5	Bachilleres	1	2	3			
6	Preparatoria	1	2				
7	Téc. Post-vocacional	1	2	3			
8	Profesional	1	2	3	4	5	6
9	Postgrado	1	2	3	4	5	6
10	Otros						

13. Total de años aprobados \_\_\_\_\_

14. Escolaridad del esposo

1	No fue a la escuela	0					
2	Primaria	1	2	3	4	5	6
3	Secundaria completa	1	2	3			
4	Técnico post-sec	1	2	3			
5	Bachilleres	1	2	3			
6	Preparatoria	1	2				
7	Téc. Post-vocacional	1	2	3			
8	Profesional	1	2	3	4	5	6
9	Postgrado	1	2	3	4	5	6
10	Otros						

No sabe \_\_\_\_\_ (99)

15. Total de años aprobados \_\_\_\_\_

No sabe \_\_\_\_\_ (99)

16. ¿Sabe si el ácido fólico previene alteraciones congénitas?

0	Si	
1	No	

17. ¿Sabe si debe de tomarlo antes de embarazarse?

0	Si	
1	No	

18. ¿Tomó alguna vitamina regularmente, tres veces a la semana, tres meses antes del embarazo?

0	Si	
1	No	

19. ¿Tomó alguna vitamina regularmente, tres veces a la semana, durante los tres primeros meses después del embarazo?

0	Si	
1	No	

Si su respuesta es NO pase a la pregunta 22

20. ¿Con qué frecuencia?

1	Periconcepcional (3 meses antes)	
2	1º mes de embarazo	
3	2º mes de embarazo	
4	3º mes de embarazo	
5	Solo 2º y 3º trimestre	

21. ¿Qué tipo de vitaminas tomó durante los 3 meses antes y después del embarazo?

0	Multivitámicos	
1	Ácido fólico solo	
2	Minerales y vitaminas	
3	No sabe	

22. ¿Utilizó anticonceptivos antes de este embarazo?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 26

23. ¿Qué tipo de anticonceptivos utilizó?

0	Orales	
1	Espermaticidas	
2	Inyectables	
3	DIU	

24. ¿Cuánto tiempo los utilizó?

		Especificar
0	Meses	
1	Años	

25. ¿Continuó con anticonceptivos durante el embarazo?

		1º trimestre	2º trimestre	3º trimestre
0	Si			
1	No			

26. En que forma consume los vegetales

0	Frescos	
1	Congelados	
2	Cocidos	

27. ¿Cuánto tiempo deja los vegetales en cocimiento?

0	Menos de 30´	
1	30´	
2	Mas de 30´	

28. ¿Con cuánta cantidad de agua cuece sus vegetales?

0	Misma	
1	Mas	
2	Menor	

29. Consume con frecuencia los siguientes alimentos

		Si	No
1	Pan de caja integral y blanco		
2	Corn Flakes ( Maizoro)		
3	Bran Flakes (Kelloggs)		
4	Frooty Loops		
5	Choco Krispis		
6	Zucaritas		
7	Harina de Maíz Hipermart		
8	Choco Milk		
9	Suaviecremas Marinela		
10	Arcoriris Gamca		
11	Saladitas		
12	Emperador		
13	Sopa Instantánea Nissin		

30. Número de abortos anteriores a este último embarazo

0	
1	
2	
3	

31. ¿Ha tenido embarazos anteriores con defectos congénitos?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 34

32. ¿Fue en un aborto, mortinato o recién nacido?

		Mortinato	Obito	RN
0	Si			
1	No sabe			

33. ¿En que parte del cuerpo tenía el defecto congénito?

0	Cabeza	
1	Espalda	
2	Cara	
3	Extremidades	
4	Otros	

34. ¿Tuvo algún familiar con defectos congénitos en aborto, mortinato o recién nacido?

		Paterno	Materno
0	Hermano(a)		
1	Abuelo		
2	Abuela		
3	Primos		
4	Otro		
5	Ninguno		

35. ¿Curso con patologías durante el embarazo?

0	Si	
1	No	

36. ¿Le ha ocurrido lo siguiente durante su embarazo, o un mes antes de quedar embarazada?

Enfermedades agudas	Si 0	No 1	
Infecciones respiratorias			1
Infecciones gastrointestinales			2
Infecciones urinarias			3
Shock alérgico			4
Hepatitis			5
Parotiditis			6
Rubéola, sarampión, varicela			7
Otras			8

37. ¿Fue al médico por alguno de estos motivos?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 40

38. ¿Le dio tratamiento médico?

0	Si	
1	No	

39. ¿Cuál?

---

40. ¿Le ha ocurrido lo siguiente durante su embarazo o un mes antes de quedar embarazada?

Enfermedades crónicas	Si 0	No 1	
Asma bronquial			1
Diabetes			2
Insuficiencia cardiaca			3
Insuficiencia renal			4
Cáncer			5
Sífilis			6
Otras			7

41. ¿Fue al médico por alguno de estos motivos?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 44

42. ¿Le dió tratamiento médico?

0	Si	
1	No	

43. ¿Cuál?

---

44. Se vacunó durante su embarazo o un mes antes de quedar embarazada

Inmunizaciones	Si 0	No 1	
Viruela			1
Tétanos			2
Poliomelitis			3
Difteria			4
BCG			5
Antigripal			6
Rubéola			7
Sarampión			8

45. ¿Ha tomado alguno de los siguientes medicamentos durante su embarazo o un mes antes de quedar embarazada?

Medicamentos	Si 0	No 1	
Antidiarréicos			1
Corticoides			2
Trimetopim			3
Acetaminofen			4
Ácido acetil salicílico			5
Antibióticos			6
Antieméticos			7
Tranquilizantes			8
Anticonvulsivantes			9
Hormonas			10
Otros			11
No se acuerda el nombre			12

46. ¿Le tomaron radiografías 3 meses antes del embarazo y 3 meses después?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 48

47. ¿De qué parte de su cuerpo?

0	Cabeza	
1	Cara	
2	Cuello	
3	Tórax	
4	Abdomen	
5	Extremidades	
6	Otras	

48. ¿Le tomaron radiografías a su esposo 3 meses antes de su embarazo?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 50

49. ¿De que parte de su cuerpo?

0	Cabeza	
1	Cara	
2	Cuello	
3	Tórax	
4	Abdomen	
5	Extremidades	
6	Otras	

50. ¿Se bañó en aguas termales o de vapor durante su embarazo?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 53

51. ¿Cuánto tiempo duró en el agua?

0	1 - 15 minutos	
1	16 - 30 minutos	
2	Más tiempo	

52. ¿Cuántos meses tenía de embarazo?

0	1 - 2	
1	3 - 4	
2	5 - 6	
3	7 - 8	

53. ¿Tuvo fiebre durante su embarazo?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 56

54. ¿Cuántos meses tenía de embarazo?

0	1 - 2	
1	3 - 4	
2	5 - 6	
3	7 - 8	

55. ¿Cuál medicamento tomó para la fiebre?

0		
1		
2		

48. ¿Le tomaron radiografías a su esposo 3 meses antes de su embarazo?

56. ¿Esta emparentada con su esposo por el lado de su padre o su madre?

0	Si	
1	No	

57. ¿Está emparentada con su esposo por el lado de su abuela o abuelo?

0	Si	
1	No	

58. ¿Está emparentada con su esposo por el lado de su suegro o su suegra?

0	Si	
1	No	

59. En la colonia donde usted vive tiene cerca una:

0	Maquiladora	
1	Fabrica	
2	Sembradio	
3	Transformador de luz	
4	Otros	
5	Ninguno	

60. ¿Cuál? \_\_\_\_\_

61. La distancia entre su casa y cualquiera de las anteriores es

0	Menos de un kilómetro	
1	Entre 2 y 3 kilómetros	
2	Entre 4 y 5 kilómetros	
3	No sabe	

62. ¿Durante los últimos tres meses aplicaron insecticidas cerca de su casa?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 65

63. ¿Sabe de que manera?

64.

0	Avión	
1	Tierra	
2	Tractor	
3	Otros	

65. La distancia entre su casa y las áreas de cultivo es

0	Menos de un kilómetro	
1	Entre 2 y 3 kilómetros	
2	Entre 4 y 5 kilómetros	
3	No sabe	

66. ¿En su casa alguien trabaja con insecticidas?

0	Padre	
1	Madre	
2	Ambos	
3	Otros	
4	Nadie	

67. ¿Durante los últimos tres meses fumigaron su casa?

0	Si	
1	No	

68. ¿Utiliza con frecuencia algún insecticida en su casa?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 69

69. Con que frecuencia

0	Nunca	
1	Diariamente	
2	Semanalmente	
3	Mensualmente	
4	Anualmente	
5	Ocasionalmente	

69. Empleo de la madre

1	Hogar	
2	Maquiladora	
3	Estilista	
4	Anotar ¿cual?	

70. Nombre de la compañía en que trabaja

71. ¿Qué trabajo realiza en ese lugar?

72. ¿Qué sustancias químicas utiliza?

73. ¿Cuánto tiempo tiene trabajando en ese lugar?

Años	Meses

74. Empleo del padre

1	Maquiladora	
2	Campesino	
3	Oficina	
4	Chofer	
5	Albañil	
6	Anotar ¿cual?	

75. Nombre de la compañía en que trabaja

76. ¿Qué trabajo realiza en ese lugar?

77. ¿Qué sustancias químicas utiliza?

78. ¿Cuánto tiempo tiene trabajando en ese lugar?

Años	Meses	

79. ¿Alguna vez ha fumado?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 85

80. ¿Fuma ahora?

0	Si	
1	No	

81. ¿Cuántos cigarros se fuma al día?

\_\_\_\_\_ número de cigarros

82. ¿Fumó durante su último embarazo?

0	Si	
1	No	

83. ¿Cuántos cigarros se fuma al día?

\_\_\_\_\_ número de cigarros

84. ¿Cuántos años ha fumado usted durante su vida?

\_\_\_\_\_ años enteros

85. ¿Fuma su esposo?

0	Si	
1	No	
3	Ocasionalmente	

Si la respuesta es NO de por terminada la entrevista

86. ¿Cuántos cigarros se fuma al día?

\_\_\_\_\_ número de cigarros

87. ¿Fumó durante su último embarazo?

0	Si	
1	No	

88. ¿Cuál fue su antojo preferido mas frecuente durante su embarazo?

\_\_\_\_\_

89. ¿Convive con mascotas o animales dentro de su casa?

0	Si	
1	No	

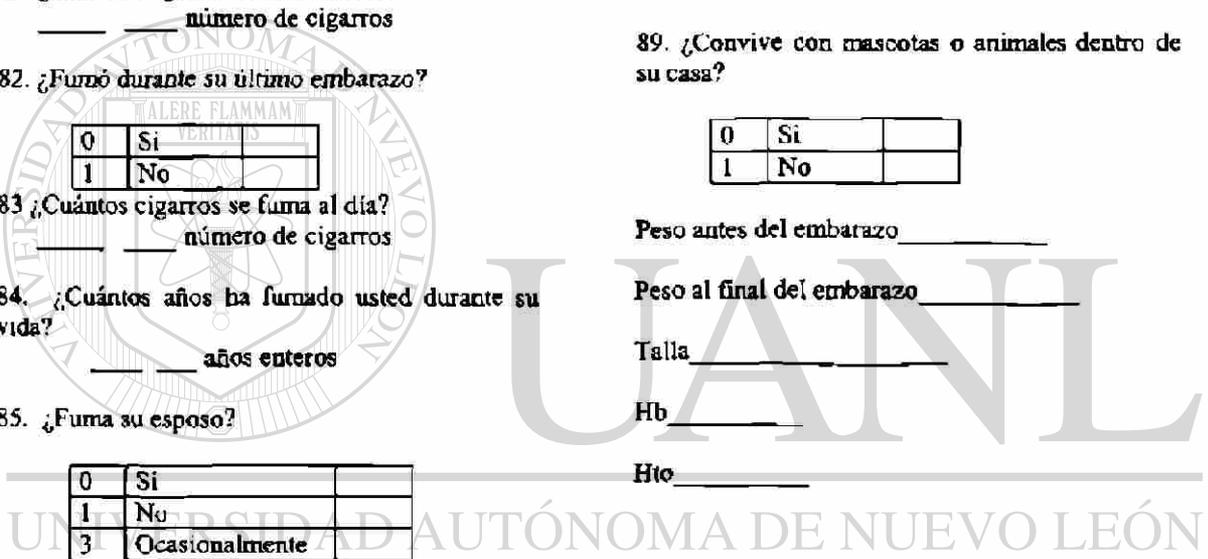
Peso antes del embarazo \_\_\_\_\_

Peso al final del embarazo \_\_\_\_\_

Talla \_\_\_\_\_

Hb \_\_\_\_\_

Hto \_\_\_\_\_



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## APÉNDICE B Encuesta Morfológica

1. Nacimiento: día \_\_\_\_\_ mes \_\_\_\_\_ año \_\_\_\_\_
2. Nombre de la madre \_\_\_\_\_
3. Folio \_\_\_\_\_
4. Caso \_\_\_\_\_ Control \_\_\_\_\_
5. Vivo \_\_\_\_\_ Muerto \_\_\_\_\_
6. Óbito \_\_\_\_\_ Prematuro \_\_\_\_\_ Recién nacido \_\_\_\_\_ Lactante \_\_\_\_\_
7. Edad morfológica: Óbito \_\_\_\_\_ Prematuro \_\_\_\_\_ Recién nacido \_\_\_\_\_ Lactante \_\_\_\_\_
8. Diagnóstico morfológico \_\_\_\_\_
9. Peso en gramos: \_\_\_\_\_
10. Sexo morfológico. 1. ( ) Masculino 2. ( ) Femenino 3. ( ) Indiferenciado 4. ( ) Ambiguo
11. Longitud Cráneo- caudal \_\_\_\_\_
12. Longitud cráneo -talón \_\_\_\_\_ Longitud de pie \_\_\_\_\_
13. Piel: 1. ( ) Normal 2. ( ) Anormal  
 1 ( ) Edema generalizado 2 ( ) Edema localizado 3 ( ) Hemangiomas 4 ( ) Nevus hipopigmentar 5 ( )  
 Nevus hiperpigmentar (número, tamaño, ubicación en el cuerpo, color, textura, forma, poner  
 dibujo) \_\_\_\_\_
14. Cabeza: 1. ( ) Normal 2. ( ) Anormal.  
 a) Microcefalia b) Hidrocefalia  
 Perímetro cefálico en centímetros \_\_\_\_\_ Forma de la cabeza \_\_\_\_\_
15. Cara: 1. ( ) normal 2. ( ) anormal  
 a) Ojos: Ubicación \_\_\_\_\_ Orientación \_\_\_\_\_  
 b) Pabellón auricular: Implantación \_\_\_\_\_ Ausencia \_\_\_\_\_ Hipoplasia \_\_\_\_\_  
 Hiperplasia \_\_\_\_\_  
 Tipo de malformación o deformidad: \_\_\_\_\_  
 Partes afectadas de la oreja \_\_\_\_\_  
 Permeabilidad del conducto auditivo \_\_\_\_\_
- c) Nariz: \_\_\_\_\_
- d) Boca: 1. ( ) normal 2. ( ) anormal

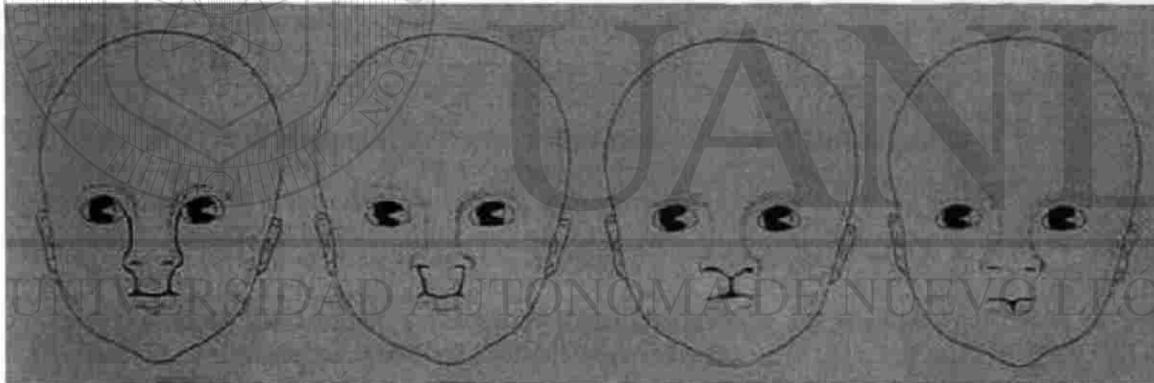
Marcar con una X el lugar afectado

Labio (1)		Encía (2)		Paladar óseo (3)		Paladar blando (4)	
Derecho (1)	Izquierdo (2)	Derecho (1)	Izquierdo (2)	Derecho (1)	Izquierdo (2)	Derecho (1)	Izquierdo (2)

Extensión de la fisura:

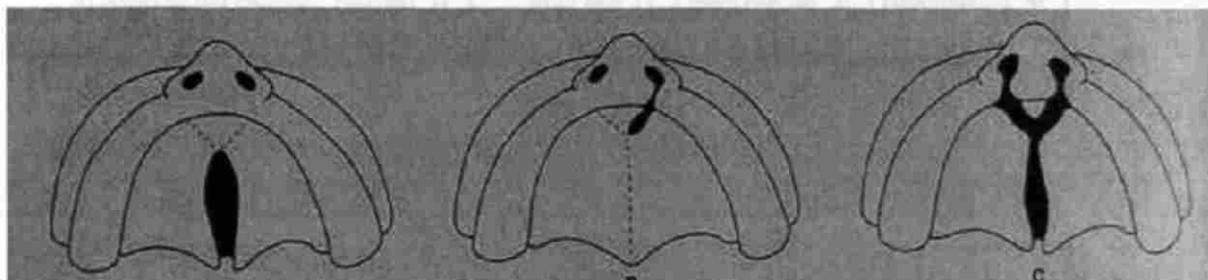
		Labio (1)
0	No hay fisura	
1	La fisura llega al borde mucoso-cutáneo	
2	La fisura pasa del borde mucoso-cutáneo	
3	La fisura penetra en la narina	

		Encía (2)
0	No hay fisura	
1	La fisura incompleta afecta menos de la mitad del reborde alveolar	
2	La fisura incompleta afecta mas de la mitad del reborde alveolar	
3	La fisura completa que quiebra la arcada maxilar (hay dislocación)	



		Paladar óseo (3)	Paladar blando (4)
0	No hay fisura		
1	Afecta un tercio del paladar		
2	Afecta dos tercios del paladar		
3	Afecta tres tercios del paladar		

Marcar en los dibujos la alteración



d) Anomalías de la línea trago-oral (del conducto auditivo a la comisura de la boca).

1. Tipo de elemento aberrante: apéndice 1 ( ), foseta o seno 2 ( ), fistula 3 ( ) y quiste 4 ( )
2. Número de elementos aberrantes \_\_\_\_\_
3. Lado afectado: Derecho 1 ( ) Izquierdo 2 ( ) Bilateral 3 ( )
4. En caso de apéndices: 1) Consistencia: cartilaginosa 1 ( ) 2 Blanda ( )  
2) Tamaño en mm \_\_\_\_\_  
3) Base: Sésil 1 ( ) Pediculada 2 ( )

16. Cuello: 1. ( ) normal 2. ( ) anormal  
Fistulas 1 ( ), aumentos de volumen 2 ( ), corto 3 ( )

Otros \_\_\_\_\_

17. Tórax: 1. ( ) normal 2. ( ) anormal

18. Abdomen: 1. ( ) normal 2. ( ) anormal  
1 ( ) número de vasos en el cordón umbilical, 2 ( ) hernias 3 ( ) onfalocele 4 ( ) extrofia.

Otros \_\_\_\_\_

19. Extremidades: 1. ( ) normal 2. ( ) anormal

- 1) Miembros afectados \_\_\_\_\_
  - 2) Partes ausentes del miembro afectado \_\_\_\_\_
  - 3) Partes presentes, pero hipotróficas o anomalías del miembro afectado \_\_\_\_\_
  - 4) Partes presentes y normales del miembro afectado \_\_\_\_\_
- Hacer un dibujo

20. Genitales: 1. ( ) Masculino 2. ( ) Femenino 3. ( ) Indiferenciados  
1. ( ) normal 2. ( ) anormal

Género masculino:

- a) Fallo: Longitud en mm: \_\_\_\_\_
  - b) Aspecto del escroto: Normal 1 ( ) Muy liso 2 ( ) Muy rugoso 3 ( )  
Hipoplásico 4 ( ) Bífido 5 ( )
  - c) Testículos: Descendidos 1 ( ) Altos 2 ( ) En el canal 3 ( ) No palpables 4 ( )
- Hacer un dibujo especificando la posición del meato urinario:

Género femenino:

- a) Orificio vaginal: Presente 1 ( ) Ausente 2 ( )
- b) Labios mayores: Normales 1 ( ) Anormales 2 ( )
- c) Clítoris: Normal 1 ( ) Anormal 2 ( )
- d) Ano: permeable Si 1 ( ) No 2 ( )

Hipospadias:

- a) Posición del meato: Glándula 1 ( ) Surco balanoprepucial 2 ( ) Cuerpo del pene 3 ( ) Penoescretal  
4 ( ) Escroto 5 ( ) Periné 6 ( )
  - b) Aspecto del escroto: Normal 1 ( ) Muy liso 2 ( ) Muy rugoso 3 ( ) Hipoplásico 4 ( )  
Bífido 5 ( )
  - c) Testículos: Descendidos 1 ( ) Altos 2 ( ) En el canal 3 ( ) No palpables 4 ( )
- Hacer un dibujo

21. Sistema nervioso: 1. ( ) normal 2. ( ) anormal.

a) Espina bífida:

Tipo: Meningocele \_\_\_\_\_

Mielomeningocele \_\_\_\_\_

Mielocele \_\_\_\_\_

Raquisquisis \_\_\_\_\_

Mielosquisis \_\_\_\_\_

Espina bífida oculta \_\_\_\_\_

Aspecto: Saco meníngeo roto \_\_\_\_\_

Gran profusión del meníngeo roto \_\_\_\_\_

Parcialmente epitelizada \_\_\_\_\_

Nivel: Cervical 1( ) Dorsal 2( ) Lumbar 3( ) Sacro 4( )

Extensión: en centímetros \_\_\_\_\_

Hacer dibujo

b) Cráneo bífido:

Tipo: Encefalocele

Meroanencefalia

Iniosquisis

Anencefalia con sus puntos de cierre

Aspecto: saco meníngeo roto \_\_\_\_\_

Gran profusión del meníngeo roto \_\_\_\_\_

Parcialmente epitelizada \_\_\_\_\_

Nivel: cervical ( )

Extensión: en centímetros \_\_\_\_\_

Hacer dibujo

Poner un círculo en el dibujo que corresponda a la lesión.



## APÉNDICE C

### Método para determinar Ac. Fólico/Vitamina B12

#### *Manipulación y tipo de muestra:*

Para estas determinaciones es necesario que el paciente se encuentre en ayunas.

Para las determinaciones de vitamina B12 y ácido fólico, se puede usar suero fresco o congelado fresco, plasma heparinizado o plasma con EDTA. No hay interferencia clínicamente significativa entre estos anticoagulantes. Se toma la muestra de sangre periférica completa con anticoagulante EDTA, aproximadamente 3 a 5 ml.

#### *Preparación de la muestra:*

Una vez recolectada la muestra se mezcla ligeramente y se le determina el hematocrito, parámetro necesario para conocer posteriormente la concentración de ácido fólico intraeritrocitario.

#### Ácido fólico intraeritrocitario (sangre completa):

- Separar la muestra denominada como muestra hemolizada necesaria para esta determinación, de la siguiente manera:
  - La sangre completa con EDTA obtenida se lleva a una dilución (1:21) con una solución fresca al 1% ácido ascórbico (esta solución contiene 0.1gr de ácido ascórbico en polvo aforado 10 ml con agua destilada).
  - De esta solución se toman 2 ml. en un tubo cubierto con papel para protegerlo de la luz y se le agregan los 200µl de la sangre completa, se mezclan ligeramente en un vórtex.
  - Almacenar a  $-20^{\circ}\text{C}$  donde puede permanecer de 6 a 8 semanas hasta el día en que se vaya a realizar su determinación. Aplicándoles alrededor del tubo parafilm para evitar derrames o contaminación de la muestra.

#### Ácido fólico plasmático

- Separar el plasma de (0.5 a 1.0 ml) a partir de la muestra de sangre completa, centrifugándola a 1700 rpm / 10 min. De igual manera se coloca en un tubo previamente cubierto para protegerlo de la luz, se cubre con parafilm y se almacena a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **Procedimiento del Radioinmunoensayo**

- Este ensayo se lleva cabo con el kit "Dualcount Solid Phase No Boil Assay For Vitamin B12/Folic Acid. Marca DPC.
- Muestras y sus componentes deben llevarse a temperatura ambiente (15-28°C) antes de su uso. El kit de trabajo cuenta con 7 calibradores (A, B, C, D, E, F Y G) y 1 (control de anemia) basados en proteínas liofilizadas con concentraciones lote-específicas de Vitamina B12 y ácido fólico las cuales son reconstituidas con agua destilada. Una vez homogéneos están listos para su uso.

#### **Procedimiento del ensayo.**

- **Marcar los tubos por duplicado. Añadir 200µl de calibradores.**

Añadir 200µl de las muestras correspondientes (Hemolizado y Plasmático) para cada uno de los pacientes. Las muestras que se espera tengan concentraciones mayores, que la concentración del calibrador más alto (G), deberán diluirse en el calibrador cero (A) antes del análisis.

#### **Preparación de la solución de trabajo**

- Preparar la solución de Trabajo con los reactivos (Ditiotreitol y Trazador) 30 minutos antes de su uso. Los volúmenes requeridos en mililitros son 50µl de Ditiotreitol y 1000µl del Trazador por cada tubo.
- Añadir 1000µl de la solución de trabajo recién preparada a todos los tubos y mezclar en el vórtex.
- Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente entre (15 y 28 °C). Esta incubación puede extenderse hasta 45 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 50µl de NaOH/KCN a todos los tubos y mezclar en el vórtex. En este paso el contenido de los tubos cambia a color azul.
- Incubar durante 30 minutos a 37 °C con ayuda de un baño térmico. En esta incubación no deben transcurrir más de 45 minutos, porque puede afectarse el resultado de la concentración de Vitamina B12 manejando valores falsos negativos bajos.

- Añadir 1000µl del reactivo (ligante para Vitamina B12/Acido Fólico) a todos los tubos excepto al marcado como Blanco, debido a que en este tubo el reactivo es sustituido por 1000µl de agua destilada. El ligante debe mantenerse bien suspendido mientras se esta agregando a cada uno de los tubos, en este caso se recomienda usar un mezclador mecánico con un agitador magnético. En este paso se observa otro cambio de coloración a rosa o violeta.
- Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente entre (15 a 28 °C).
- Centrifugar por lo menos 15 minutos a 3800 rpm.
- Decantar los sobrenadantes simultáneamente, con ayuda de una rack de esponja y retener los precipitados para la medición. Este paso es de suma importancia, ya que la decantación debe ser completa y uniforme con la remoción de toda la humedad visible mejorando así la precisión del ensayo. Colocar sobre papel absorbente una o dos veces para remover todas las gotas residuales.
- Registrar las cuentas de radiactividad a partir del precipitado, el cual contiene la fracción unida. Esta medición se hace un contador gama para  $I^{125}$  y  $Co^{57}$  durante un minuto para cada isótopo.

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



## APÉNDICE D

### Método para determinar Homocisteína

#### *Manipulación y tipo de muestra:*

- Para estas determinaciones es necesario que el paciente se encuentre en ayuno. Se requiere de suero o plasma con EDTA.
- Utilizar 3 ml aproximadamente de sangre periférica y colocarlos en un tubo con EDTA.
- Centrifugar la muestra por 10 minutos a 4 000 rpm. a una temperatura de 4°C, separar el plasma en un tubo de propileno, 1 ml aproximadamente, cubrir perfectamente con parafilm el tubo y almacenar a -20°C, en estas condiciones la muestra es estable hasta durante 8 meses.

#### *Determinación cuantitativa de Homocisteína con el equipo IMx. (ABBOTT)*

- Colocar a temperatura ambiente las muestras y los reactivos.
- Verificar la calibración del IMx. La calibración se lleva a cabo con los siguientes reactivos: 6 calibradores para homocisteína con 3.5 mL de reactivo para el (Calibrador "A" o bien calibrador cero-blanco, por su concentración de homocisteína de 0.0  $\mu\text{mol/L}$ ), y 2.5 mL de reactivo para los calibradores restantes (calibrador "B" con una concentración 2.5  $\mu\text{mol/L}$ , calibrador "C" con una concentración 5.0  $\mu\text{mol/L}$ , calibrador "D" con una concentración 10.0  $\mu\text{mol/L}$ , calibrador "E" con una concentración 20.0  $\mu\text{mol/L}$  y calibrador "F" con una concentración 50.0  $\mu\text{mol/L}$ ). Se utilizan tres controles de 2.5 mL por cada frasco, el (Control "L" o bajo, con una concentración de 7.0  $\mu\text{mol/L}$ , y un intervalo de 5.25 a 8.75  $\mu\text{mol/L}$ , el Control "M" o medio, con una concentración de 12.5  $\mu\text{mol/L}$  y un intervalo de 10.0 a 15.0  $\mu\text{mol/L}$  y el Control "H" o alto con una concentración de 25.0  $\mu\text{mol/L}$  y un intervalo de 20.0 a 30.0  $\mu\text{mol/L}$ ).
- Utilizar 100  $\mu\text{l}$  de cada uno de los calibradores, de los controles y de las muestras para analizar. Se inicia el proceso y se imprimen los resultados en el

## APÉNDICE E

### Análisis del gen de la enzima MTHFR C677T

#### Extracción de DNA mediante la técnica de TSNT

- A partir de la muestra de sangre obtenida, se utilizan 500  $\mu$ L para la extracción de DNA, las cuales se colocan en tubos cónicos de 2 mL (Eppendorf).
- Agregar 200  $\mu$ L de TSNT y se invierte lentamente, agregar 500  $\mu$ L de fenol saturado (SIGMA), y se agitan en un vórtex por 5 minutos, posteriormente se agregan 100  $\mu$ L de SEVAG y 200  $\mu$ L de TE 1X agitando en un vórtex.

Centrifugar durante 8 minutos a 14 000 rpm, separar la fase acuosa (superior) y pasar en un tubo cónico de 1.5 mL (Eppendorf). Rotular el tubo agregar 1 mL de etanol absoluto, después se invierte suavemente y se observa la formación de la hebra de DNA, centrifugar por 8 minutos a 14 000 rpm., decantar y añadir 500  $\mu$ L de etanol 70%. Se invierte suavemente y se vuelve a centrifugar por 8 minutos a 14 000 rpm, se decanta y se deja secar la pastilla de DNA durante 1-2 horas. Finalmente se resuspende la pastilla con buffer TE1X y se almacena en el refrigerador a 4°C.

#### Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

- Utilizar los iniciadores MTHFR-1 (5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3') y MTHFR-2 (5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3').
- Condiciones de reacción por muestra:

Reactivo	Concentración Final	$\mu$ L por reacción
Amortiguador de PCR 10X	1 X	2.5
MTHFR 1 (5 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ M	2.5
MTHFR 2 (5 $\mu$ M)	0.5 $\mu$ M	2.5
dNTP's 10 $\mu$ M	0.2 $\mu$ M	0.5
MgCl <sub>2</sub> 25 $\mu$ M	1.0 $\mu$ M	1
Taq DNA pol 5 U/ $\mu$ L	0.05 U/ $\mu$ L	0.25
H <sub>2</sub> O mQ	-	13.75
DNA	100 ng/ $\square$ L	2 $\mu$ L

### Programa del termociclador:

Paso	Etapa	Temperatura	Tiempo
1	Desnaturalización inicial	94°C	5 min
2	Desnaturalización	94°C	1 min
3	Alineamiento	59°C	1 min
4	Extensión de oligonucleótidos	72°C	1 min
5	Repetir los pasos 2-4, 35 ciclos		
6	Extensión final	72°C	7 min

- La amplificación por PCR utilizando estos iniciadores genera un fragmento de 198 pb. Para verificar el éxito de la PCR por electroforesis, se colocaron 3µL del producto amplificado en un gel de agarosa al 2% (la banda de 198pb migra inmediatamente debajo del azul de bromofenol).

#### Digestión:

- Los productos amplificados se digieren con la enzima Hinf I a 37°C durante 12 horas bajo las siguientes condiciones de reacción:

Reactivo	µL (por reacción)
Amortiguador N2 10x	1.5
Hinf I (10U/µL)	0.6
Agua mQ	2.9 (aforar a15)
Producto amplificado	10.0

- Colocar siete microlitros del producto de la digestión en un gel de agarosa al 2%, en condiciones no desnaturizantes y observar en un fotodocumentador (miniDarkroom GDS 8000 system, UVP)

## RESUMEN AUTOBIOGRAFICO

**Dora Virginia Chávez Corral**

**Candidato para el grado de**

**Doctor en Ciencias con especialidad en Morfología**

**Título de Tesis:** ASOCIACIÓN DE ACIDO FÓLICO, HOMOCISTEÍNA Y POLIMORFISMO GENÉTICO DE LA METILENTETRAHIDROFOLATO REDUCTASA CON DEFECTOS DE TUBO NEURAL Y LABIO HENDIDO CON Y SIN PALADAR HENDIDO EN CHIHUAHUA

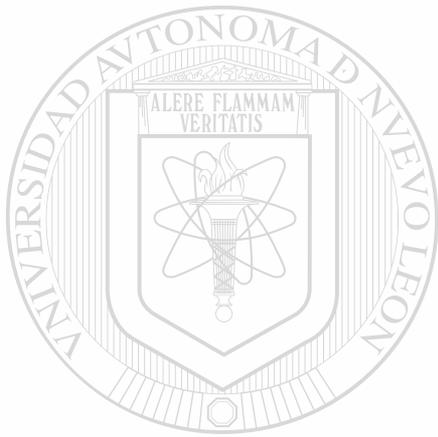
**Área de estudios:** Morfología

**Biografía:**

**Datos personales:** Nacida en Anáhuac, Chihuahua, el 31 de enero de 1956, hija de Efraín Chávez Manríquez y de Francisca Corral Robles. Casada con Luis Navarrete Peña y madre de tres hijos: Efraín, Adriana y Doris.

**Escolaridad:** Egresada de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Chihuahua, con el título profesional de Médico Cirujano y Partero en julio de 1981.

**Experiencia profesional:** Maestra de Embriología en la Facultad de Medicina desde 1987 y en la Escuela de Odontología desde 1991 en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Colaboradora en 6 trabajos de investigación presentados en congresos nacionales e internacionales. Segundo lugar en el XI Premio Nacional de Investigación 1999 por la Fundación Glaxo-Wellcome. Estudiante distinguido en el Doctorado en Ciencias con Especialidad en Morfología, en Octubre del 2002.



# UANL

---

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

®

DIRECCIÓN GENERAL DE BIBLIOTECAS



