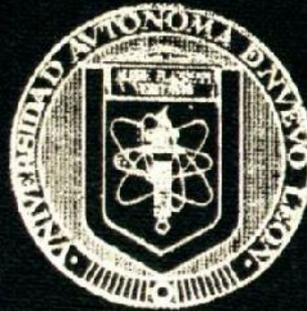


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA



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

MCP DORA VIRGINIA CHAVEZ CORRAL

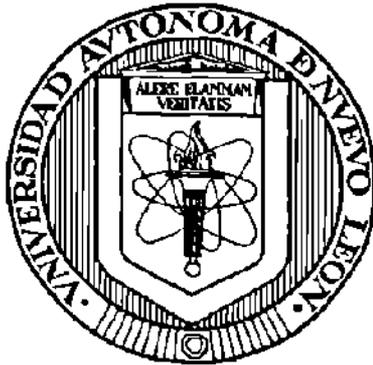
TD
RG629
.N48
C5
2004
c.1



1080124242

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**

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

CS

2004



**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**

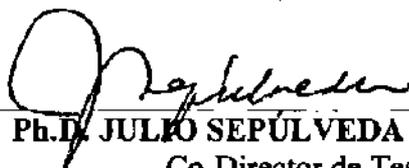
Aprobación de la Tesis:



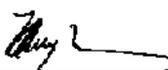
DRA. MA. DEL ROBLE VELAZCO CAMPOS
Director de Tesis



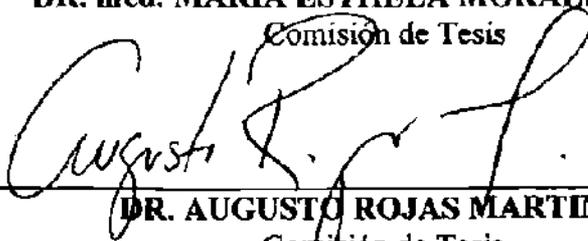
DRA. LAURA ELIA MARTINEZ GARZA
Co-Director de Tesis



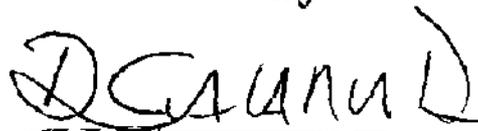
Ph.D. JULIO SEPÚLVEDA SAAVEDRA
Co-Director de Tesis



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:

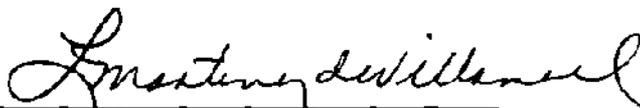
MCP DORA VIRGINIA CHAVEZ CORRAL

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**

**Por ser el apoyo firme que me sostuve 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.

Mil gracias

Dora Virginia Chávez Corral

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO	Página
1 INTRODUCCIÓN.....	1
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
2	MATERIAL Y METODOS.....	29
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

3	RESULTADOS	40
	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
4	DISCUSIÓN	62
	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
5	CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y APORTACIONES	74
	5.1 CONCLUSIONES.....	74
	5.2 PERSPECTIVAS	74
	5.3 APORTACIONES.....	75

BIBLIOGRAFÍA.....	76
--------------------------	-----------

APÉNDICES

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

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 10 ^a ed	Clasificación Internacional de Enfermedades 10 ^a 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

LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
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

FIGURA		Página
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

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**

Área 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