

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 ⁽¹⁾.

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 ⁽²⁾.

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 ⁽³⁾. 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 (2, 4). 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) (2).

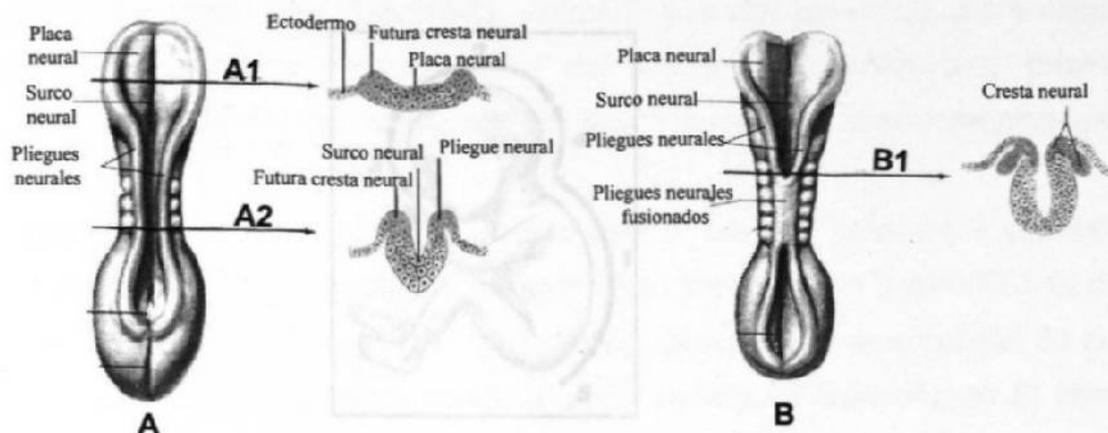


Figura 1. Cierre de tubo neural. A, esquema dorsal de un embrión, de alrededor de 18 días, se expuso al quitar el amnios, mostrando la placa neural y su plegamiento hacia tubo neural. Este esquema muestra dos cortes transversales en el A1 se muestra el engrosamiento de la placa neural, en el A2 se observan 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 (5) 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. (6) 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 ⁽⁶⁾.



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 ⁽⁷⁾. 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 ⁽⁸⁾.

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 ^(9, 10). Las bases embriológicas de la

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

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 ⁽¹¹⁾.

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 ^(12, 13).

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) ^(14, 15).

Cuando falla el cierre de todo el tubo neural se presenta una craneoraquisquisis. 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)⁽⁹⁾.

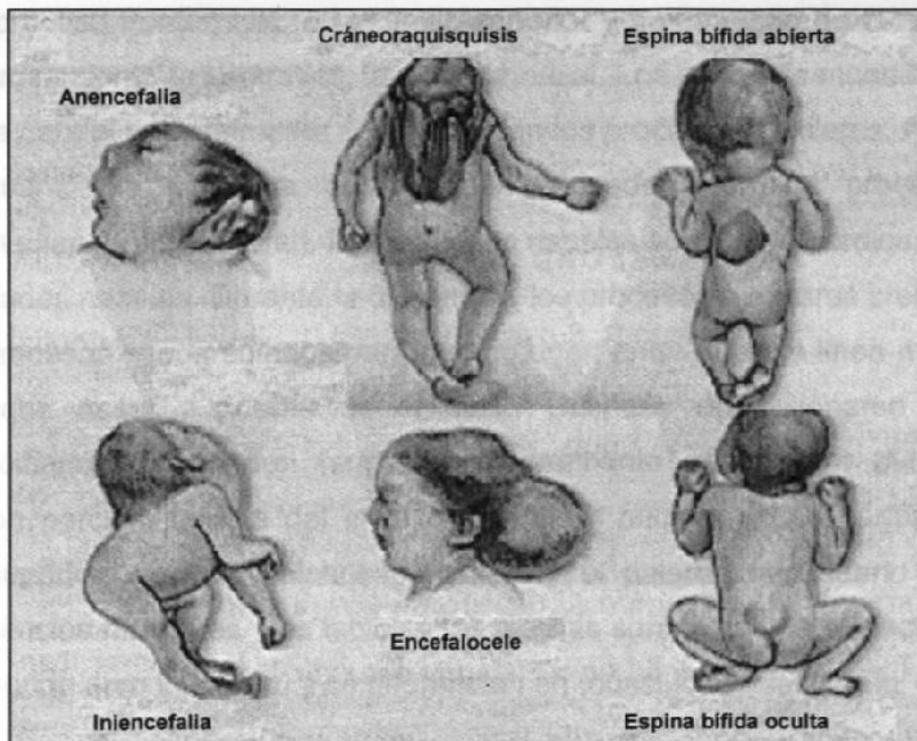


Figura 3. Esquemas que muestran DTN en diferentes niveles (Tomado de Botto LD. 1999. New England J Med.)

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⁽¹⁶⁻¹⁷⁾.

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)⁽¹⁸⁾.

Las células de la cresta neural forman componentes del tejido conjuntivo, (cartílago, 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) ⁽²⁾.

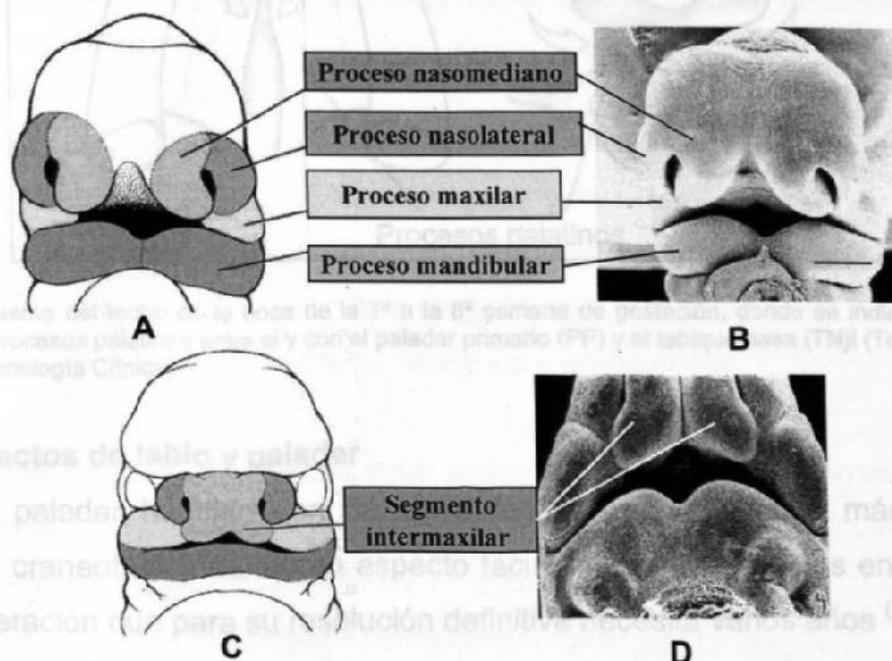


Figura 4. Desarrollo de la cara visto de frente A, esquema que ilustra las prominencias que forman la cara durante la sexta semana. B, micrografía electrónica de barrido de un embrión humano que muestra las mismas prominencias en forma comparativa. C, esquema que ilustra la fusión y descenso de los procesos 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) ⁽²⁾.

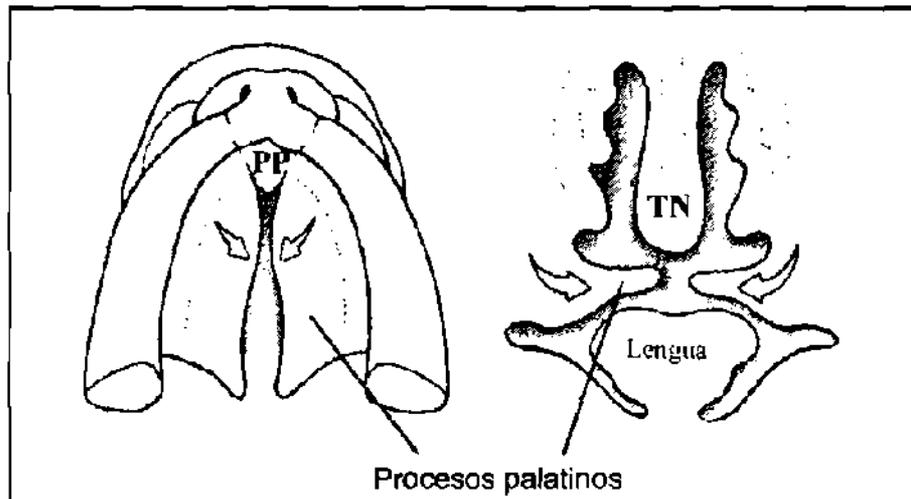


Figura 5. Esquema del techo de la boca de la 7ª a la 8ª semana de gestación, donde se indican los sitios de fusión de los procesos palatinos entre sí y con el paladar primario (PP) y el tabique nasa (TN) (Tomado de Moore K.L. 1997 Embriología Clínica)

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 ⁽¹⁸⁾.

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 ⁽²⁾.

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 ⁽¹³⁾.

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 ⁽²⁾. La causa de la mayoría de estos defectos es multifactorial lo cual implica la interacción de factores genéticos y ambientales ^(18, 20, 21).

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

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

sanguíneos de ácido fólico intraeritrocitario (AFI), ácido fólico plasmático (AFP) y vitamina B12 (Vit B12) ^(23, 24).

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 ⁽¹⁶⁾. 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 ⁽⁹⁾.

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 ⁽⁵⁾. 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 ⁽²⁵⁾.

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 ⁽²⁶⁾.

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, hipertermia materna y ocupación paterna con anencefalia ⁽²⁷⁾. 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 ⁽²⁸⁾. 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 ⁽¹⁸⁾. 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 ⁽²⁹⁾. 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%) ⁽³⁰⁾. 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%) ⁽³¹⁾.

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. ⁽¹²⁾. 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 ⁽³²⁾. Los folatos se presentan en la naturaleza en forma de poliglutamatos, la forma sintética de AF contienen únicamente monoglutamatos ⁽¹²⁾.

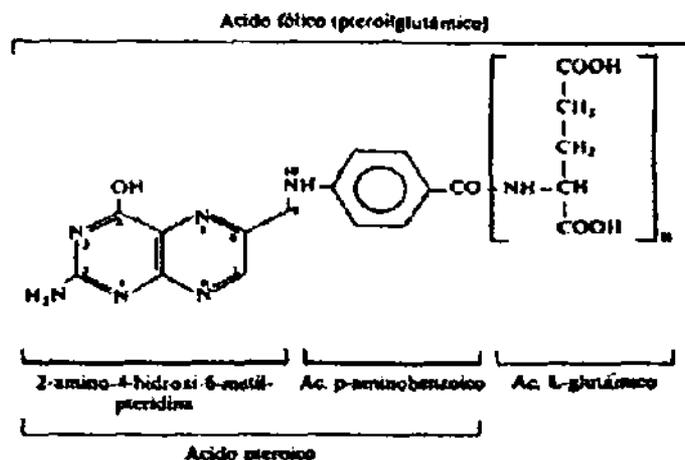


Figura 6. Estructura molecular del ácido fólico (Tomado de Forrellat MB. 1997 Rev Cub Inmunol Hemoter)

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 ^(12, 32).

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 ⁽¹²⁾. 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 ⁽¹²⁾. La utilización de folatos también se reduce en condiciones de acidez, o enfermedades de la mucosa intestinal cuando existe mala absorción de los folatos ⁽³²⁾.

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) ^(9, 12, 32), 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 *ново* 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) ^(32, 33,34).

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 recomiende 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.

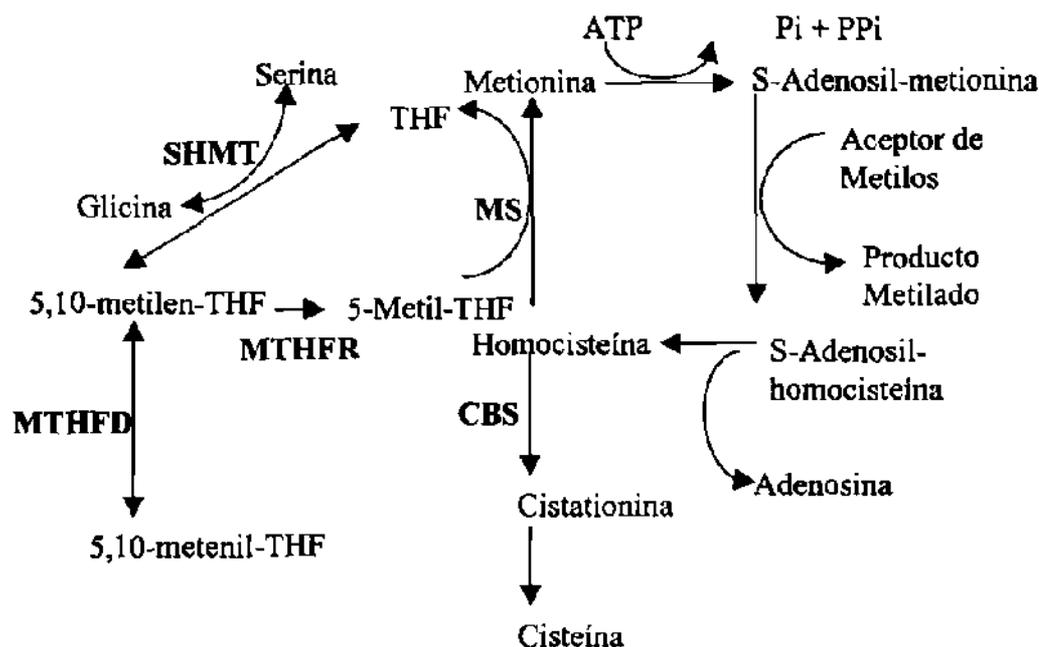


Figura 7. Esquema simplificado de la homocisteína dependiente de folatos. Las enzimas clave están en negritas. MS, metionin sintasa; MTHFR, metilentetrahidrofolato reductasa; MTHFD, metilentetrahidrofolato deshidrogenasa; SHMT, serina hidroximetil transferasa y CBS, cistationin β-sintasa.

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 período. 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 ⁽¹²⁾.

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 ⁽³⁵⁾.

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 ⁽³⁵⁾.

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 ^(12, 34, 36). 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 ⁽¹²⁾, indicando que hay una transferencia placentaria activa ⁽³⁵⁾.

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 ⁽³²⁾.

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 ⁽³⁶⁾. 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 ⁽³⁵⁻³⁸⁾.

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 ⁽²⁹⁾.

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) ⁽³⁹⁾.

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% ⁽⁴⁰⁾.

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 ⁽⁴¹⁾.

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% ⁽⁴²⁾.

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% ⁽⁴³⁾.

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) ⁽³⁰⁾.

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 ⁽⁴⁴⁾.

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

citosa (C) por la base timina (T), resultando una sustitución del aminoácido valina (GTC) por alanina (GCC) ⁽⁴⁵⁾. 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 ^(46, 47)

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 ^(46, 47). 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 ⁽⁴⁷⁾. 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 ^(9, 48). Se describe en fetos no viables la existencia de la combinación 677CT/1298CC y 677TT / 1298CC ⁽⁴⁹⁾.

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 ⁽⁵⁰⁾.

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, $p=0.20$) ⁽⁵¹⁾.

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 ⁽⁴⁵⁾.

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 ⁽⁵²⁾. 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 ⁽²³⁾. Otros autores han encontrado también estas diferencias genotípicas ⁽⁵³⁾.

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 ⁽⁵⁴⁾.

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)⁽⁴⁷⁾.

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⁽⁵⁵⁾. 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 β-sintetasa, esta requiere vitamina B6 como cofactor⁽⁵⁶⁾. La disfunción de las enzimas o una inadecuada cantidad de cofactores puede dar altas concentraciones de Hci⁽⁵⁰⁾.

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

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⁽⁵⁶⁾. La hiperhomocisteinemia materna con o sin la mutación C677T se ha asociado con un incremento en el riesgo de DTN en el feto⁽⁵³⁾

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-metiltetrahidrofolato. 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 ^(26, 60). También se ha mostrado que detiene el ciclo celular en fase G1 en células renales de monos ⁽⁶¹⁾.

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 ⁽⁶¹⁾.

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 hipertermia pueden ser: enfermedades, sauna y uso de baños calientes cuando en estos últimos no se respetan los límites de tiempo ⁽²⁰⁾. Estudios epidemiológicos sugieren que la exposición *in útero* a hipertermia 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 ⁽⁶²⁾. 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 presomitico 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 ⁽⁶³⁾.

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 ⁽¹²⁾.

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 ^(12, 21), 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 ⁽²¹⁾.

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) ⁽²¹⁾.

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 ⁽⁶⁴⁾. Los plaguicidas por definición incluyen insecticidas, herbicidas y funguicidas. Los insecticidas organofosforados son venenos activos de contacto, ingestión e inhalación ⁽⁶⁵⁾. 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 ⁽⁶⁶⁾.

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 ⁽⁵⁴⁾. 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. ⁽⁶⁷⁾

En varios trabajos se ha reportado un incremento en el riesgo de anencefalia y EB en hijos de trabajadores agrícolas ⁽⁶⁴⁾. En Canadá asociaron el uso de químicos utilizados en la agricultura con DTN y hendiduras faciales ⁽⁶⁸⁾. 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 ⁽⁶⁹⁾. Se ha descrito como factor de riesgo para LH c/s PH la exposición a químicos utilizados en la agricultura ⁽⁷⁰⁾.

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 ⁽⁷¹⁾

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 ⁽⁴⁵⁾.

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 ⁽¹²⁾.

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 ⁽⁴³⁾.

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) ⁽²¹⁾; 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 diagnostico 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.

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 teratogénicos 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 sericos 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: I. Mielomeningocele

II. Meningocele

III. Espina bífida

IV. Encefalocele

I. Mielomeningocele: definición conceptual y definición operacional: cuando las meninges y la médula espinal se hemiaron 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 refirió 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.

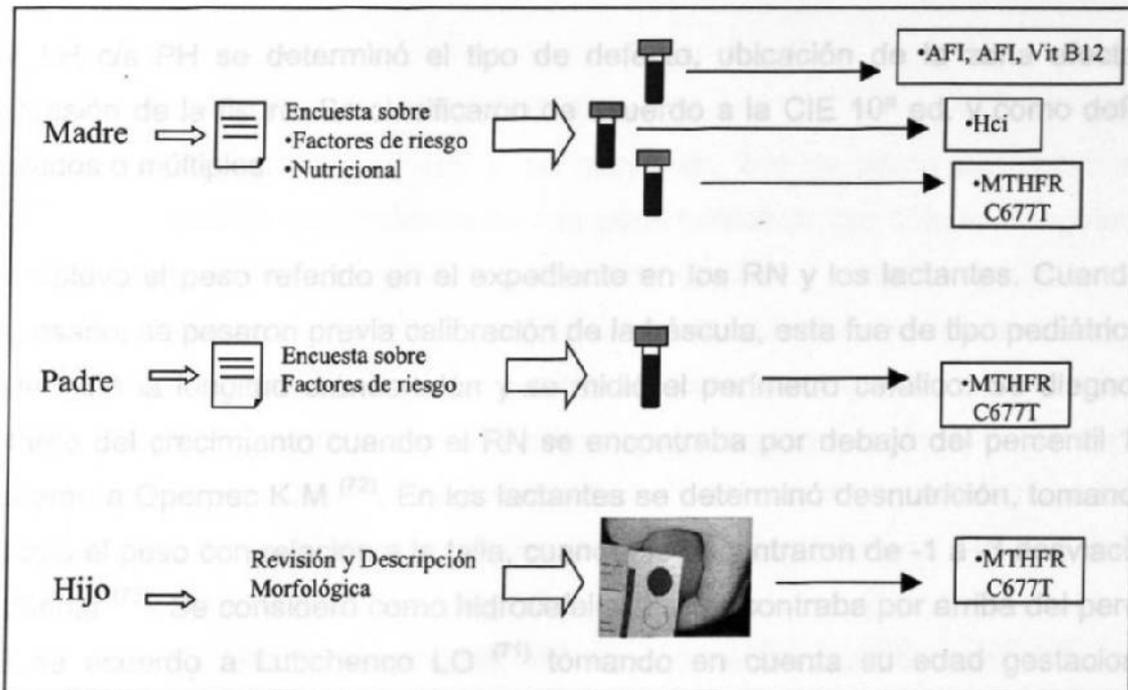


Figura 8. Estrategia general del estudio para las determinaciones sanguíneas de folatos, Hci y la mutación 677T de la MTHFR.

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 10ª 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 2ª 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 10ª 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 ⁽⁷²⁾. 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 ⁽⁷³⁾. Se consideró como hidrocefalia si se encontraba por arriba del percentil 90 de acuerdo a Lubchenco LO ⁽⁷¹⁾ 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 ⁽¹²⁾. 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 (μmol)/L, (Apéndice D)

2.8.3 Determinación del polimorfismo C 677T de la MTRFR

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⁽⁷⁵⁾ (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 ≤ 160 ng/ml, AFP ≤ 3.5 ng/ml, Hci ≥ 10 $\mu\text{mol/L}$, ⁽⁷⁶⁾ Vit B12 ≤ 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* ⁽⁷⁷⁾. Para el análisis, se utilizó el paquete estadístico STATA 5.0 ⁽⁷⁸⁾.

Se calculó la χ^2 para conocer si la población estaba en equilibrio de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg ⁽⁷⁹⁾.

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.

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)	-
TOTAL	36	141	36	141	36	141

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 ± 7 años (con un rango: 16-42) para los casos y 23 ± 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 ± 7 años (con un rango: 18-

50) para los casos y 26 ± 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 ≤ 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 (0.50-1.58)
1-9	23 (64)	77 (55)		
≥ 10	9 (25)	45 (32)		
Escolaridad del padre (años):				
Analfabetos	4 (12)	10 (8)	0.42	0.96 (0.88-1.05)
1-9	24 (70)	75 (59)		
≥ 10	6 (18)	41 (33)		
Nº de consultas prenatales:				
≤ 7	15 (50)	47 (39)	0.28	1.55 (0.69-3.47)
≥ 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 (0.34-3.67)
No	32 (89)	127 (90)		
Paternos				
Si	7 (19)	14 (10)	0.1	2.18 (0.81-5.91)
No	29 (81)	127 (90)		
Índice de masa corporal (peso antes del embarazo (n = 129)				
≤ 19.99	6 (25)	15 (14)	0.37	1.68 (0.51-0.57) 0.43 (0.13-1.41) 1.00
≥ 25.1	9 (38)	52 (50)		
20-25	9 (37)	38 (36)		

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)								
≤19.99	n (23)	n (100)	0.5	0.77 (0.44-1.36)	n (1)	n (5)	0.5	1.97 (0.12-32.5)
20-24	6 (26)	15 (15)			(-)	(-)		
25-28	9 (39)	49 (49)			(-)	3 (60)		
>29	7 (30)	27 (27)			1 (100)	1 (20)		
	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 (0.24-3.1)
No	(-)	4 (80)	9(75)		
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^o ed. como se observa en la (Fig. 9) y fotografías de la (Fig. 10).

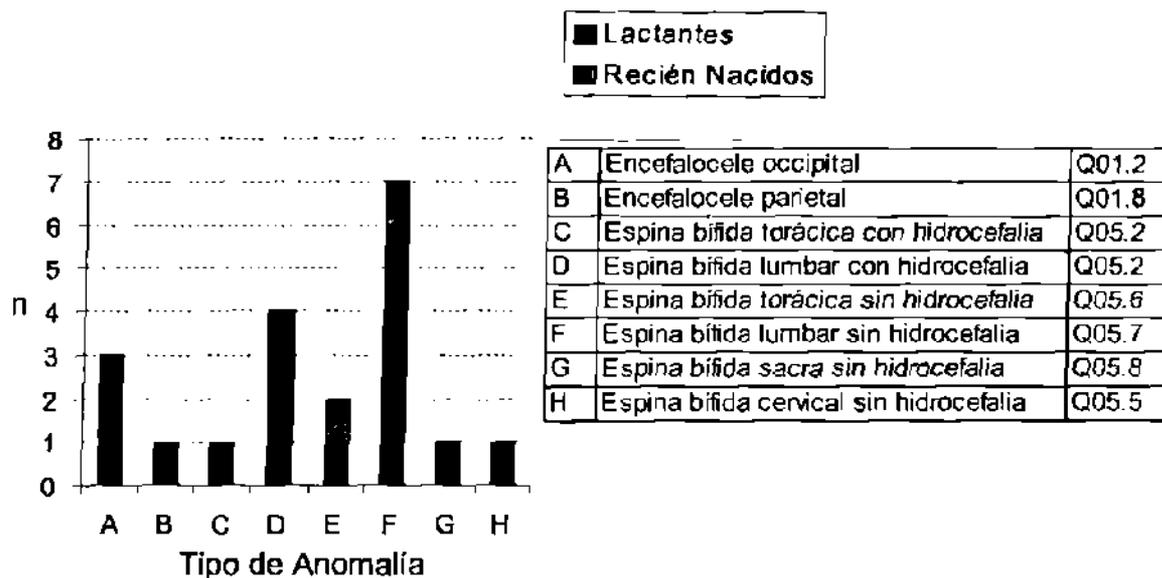


Figura 9. Distribución de espina bífida (EB) con o sin hidrocefalia y encefalocele. Según la CIE 10^a. Ed. La grafica muestra en el eje vertical el número de casos y en el eje horizontal son recién nacidos o lactantes. El cuadro de la izquierda muestra los defectos que se presentaron en cada barra de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

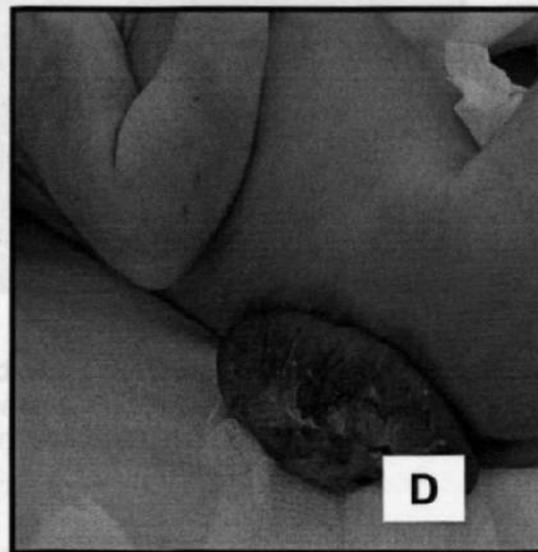
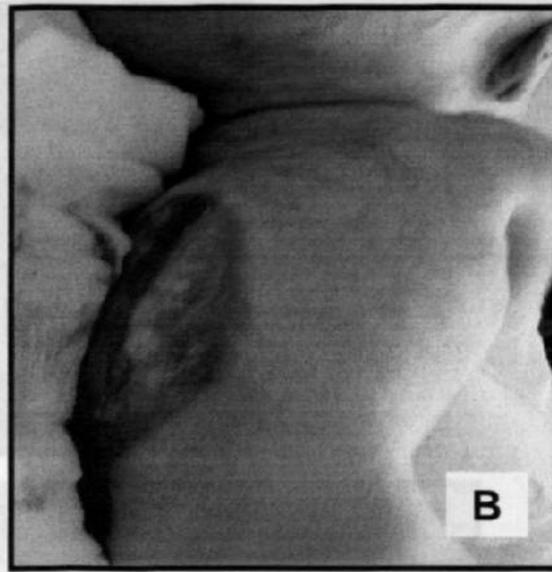


Figura 10. Fotografías de niños con DTN. **A**, recién nacido mestizo con un gran encefalocele en el área parietal. **B**, recién nacido mestizo con EB toracodorsal con hidrocefalia. **C**, lactante femenina mestiza con EB cervical sin hidrocefalia. **D**, recién nacido tarahumara con EB lumbar sin hidrocefalia.

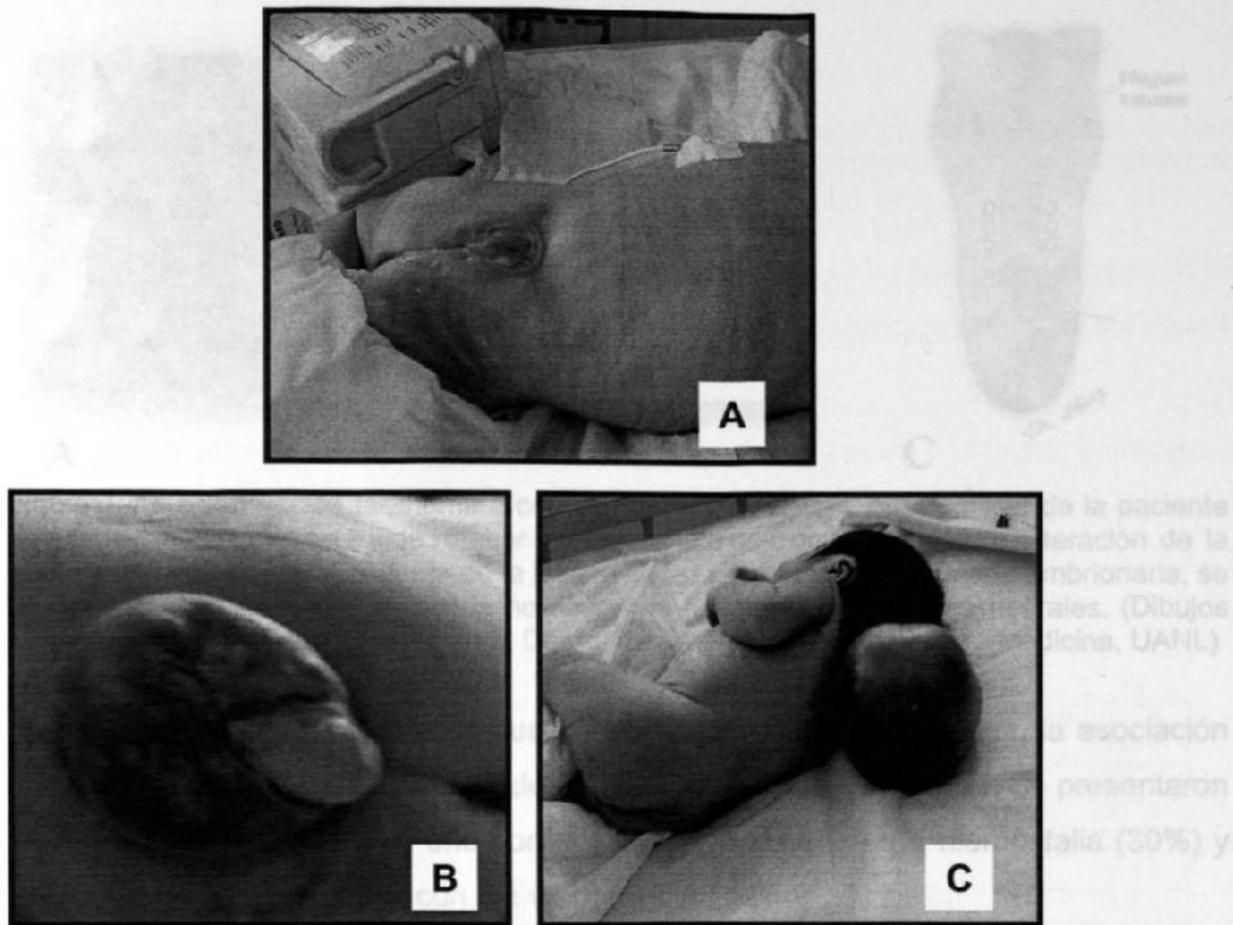
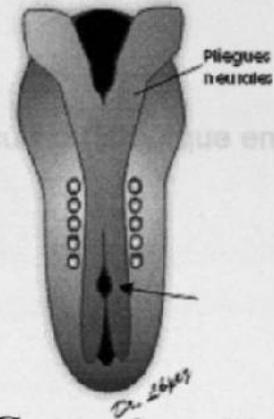


Figura 11. Clasificación de lesiones cerradas y abiertas. A, recién nacida tarahumara con espina bífida lumbar abierta. B, recién nacida mestiza con espina bífida lumbar, lesión cerrada. C, recién nacido tarahumara con encefalocele occipital clasificada como lesión cerrada.

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).

3.4.2 Labio hendido con y sin paladar hendido



A

B

C

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.