

### 3.4.2 Labio hendido con y sin paladar hendido

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

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

#### Clasificación

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

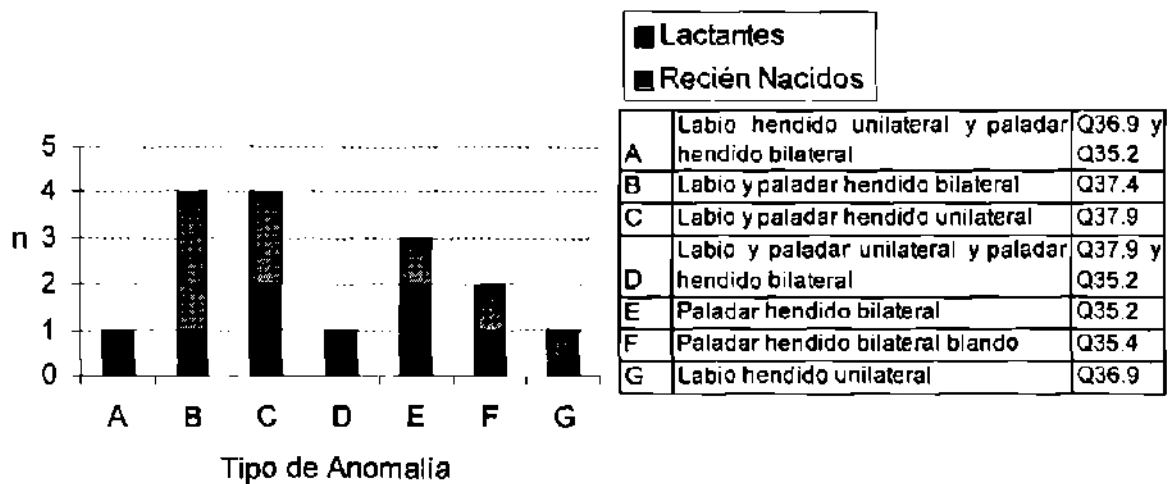


Figura 14. Distribución de hendiduras orofaciales según la CIE 10ª. Ed. La grafica muestra en el eje vertical el número de casos y en el eje horizontal que son recién nacidos o lactantes. El cuadro de la izquierda muestra los defectos que se presentaron en cada barra de la grafica, con el código de clasificación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

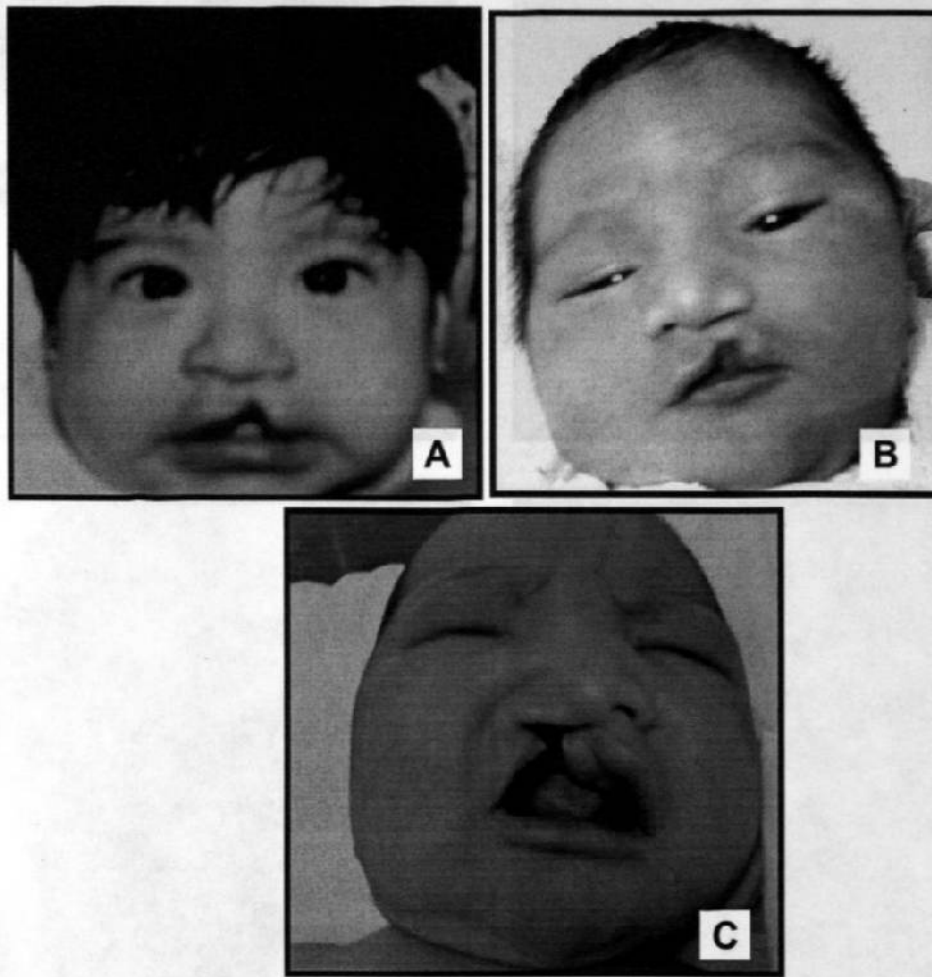


Figura 15. Fotografías de niños que muestran algunos ejemplos de labio con y sin paladar hendido según la CIE. **A**, lactante mestiza con labio hendido unilateral. **B**, recién nacida mestiza con labio hendido unilateral que afecta parte del maxilar. **C**, recién nacido mestizo con labio y paladar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

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

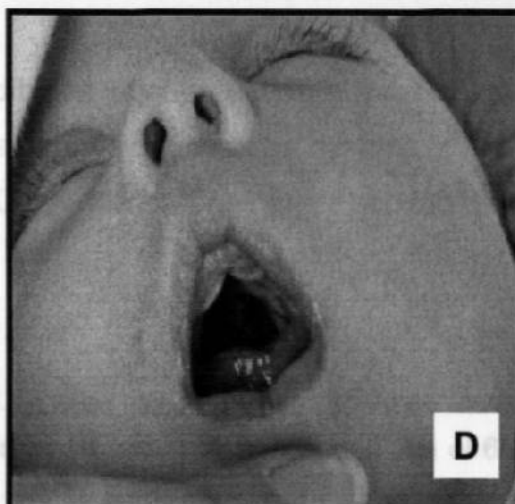


Figura 16. Fotografías de niños que muestran algunos ejemplos de labio hendido con y sin paladar hendido según la CIE. A, lactante mestiza con labio y paladar hendido unilateral derecho y labio hendido unilateral izquierdo. B, lactante mestizo con labio y paladar hendido bilateral. C, recién nacido mestizo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

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

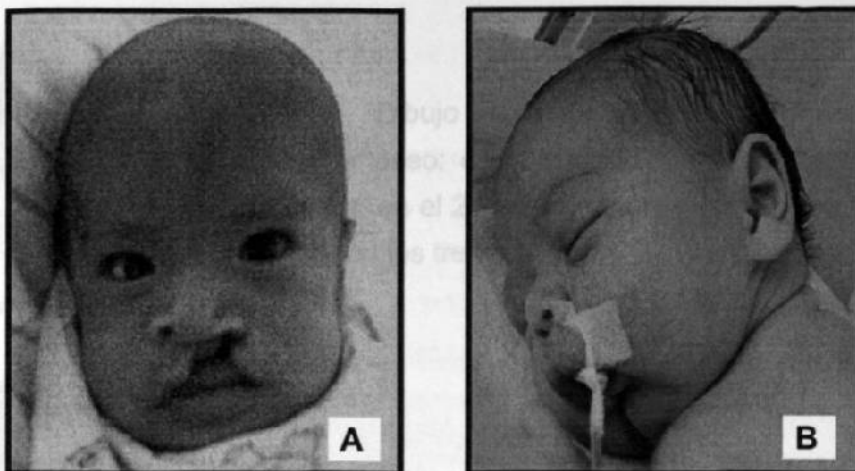
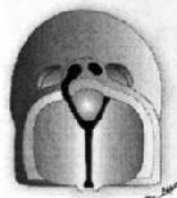


Figura 17. Clasificación de hendiduras orofaciales en aisladas y múltiples A, lactante mestizo, tarahumara con labio y paladar hendido unilateral clasificado como lesión aislada. B, recién nacida mestiza con lesiones múltiples por presentar paladar hendido bilateral y micrognatia.

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



Labio hendido unilateral



Labio hendido unilateral  
Y paladar hendido bilateral

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

### 3.5 Determinaciones sanguíneas en la madre



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

**Labio y paladar hendido unilateral**

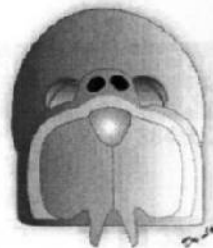


Figura 20. Dibujo esquemático donde se muestra la fisura de paladar blando: en el 63% se afectaron tres tercios del paladar y en el 13% solo se afectó un tercio.

**Paladar blando hendido**

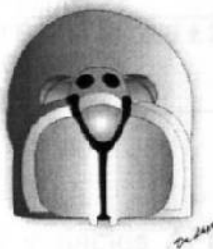


Figura 21. Dibujo esquemático donde se muestra la afectación entre el proceso maxilar y segmento intermaxilar. Este se presentó en el 31% de los casos, en diferentes grados de profundidad, provocando defecto del labio y la encía

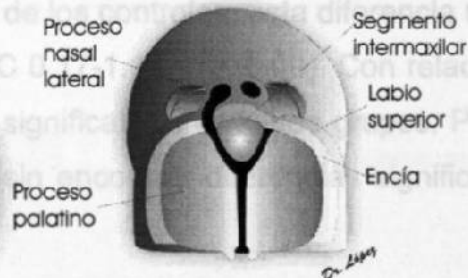
**Labio y paladar hendido bilateral**



**A**



**B**



**C**

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

### 3.5 Determinaciones sanguíneas en la madre

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

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

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

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

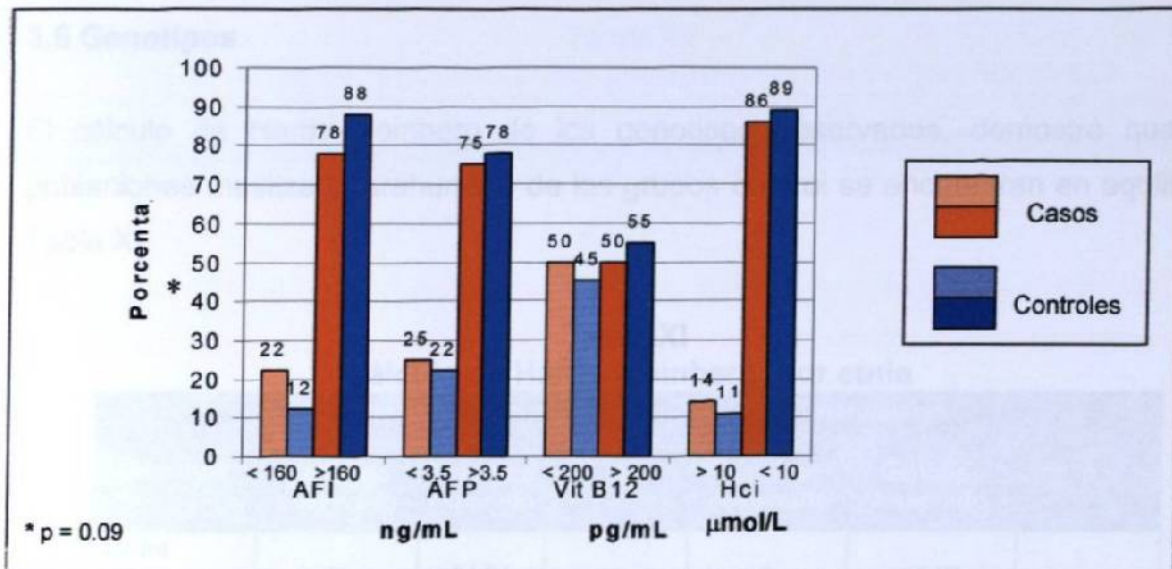


Figura 23. Porcentajes de las variables AFI, AFP, Vit B12 y Hci.

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

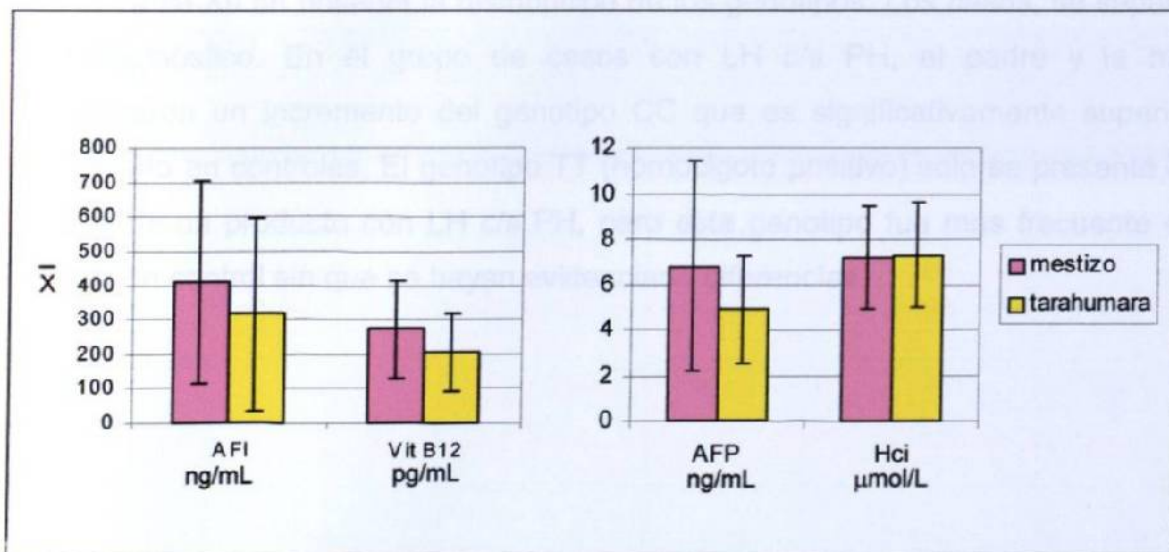


Figura 24. Se observan la media y desviación estándar en las determinaciones sanguíneas separadas por etnia ( $p > 0.05$ ).

### 3.6 Genotipos

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

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

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

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



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

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

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

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

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

**Tabla XIV**

**Genotipos de la población Tarahumara estudiada**

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

N.A. No analizado estadísticamente

**3.7 Frecuencia alélica**

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

**Tabla XV**

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

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

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

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

## **CAPITULO CUATRO**

### **DISCUSIÓN**

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

#### **4.1 Factores de riesgo**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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



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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### **4.6 Determinación del polimorfismo C677T de la metilentetrahidrofolato reductasa**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **CAPITULO CINCO**

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

#### **5.1 Conclusiones:**

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

#### **5.2 Perspectivas**

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



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

### **5.3 Aportaciones**

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

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

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

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

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

## BIBLIOGRAFÍA

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

13. Fleming A, Mutchinick OM, Romero G. (2001) The role of folate in the prevention of neural tube defects: Human and animal studies. *Nutr Rev.* 59(8):13-23.
14. Garabedian BH., Fraser FC. (1993). Upper and lower neural tube defects: an alternate hypothesis. *J Med Genet.* 30:849-51.
15. Johnston MC. Bronsky PT. (1995) Prenatal craneofacial development: new insights on normal and abnormal mechanisms. *Crit Rev Oral Biol Med.* 6(4):368-422.
16. Sandberg DJ., Magee WP., Denk MJ. (2002) Neonatal cleft lip and cleft palate repair. *J AORN.* 75(3):490-508.
17. Shaw GM, Lammer EJ, Wasserman CR, O'Malley CD. Tolarova MM. (1995) Risks of orofacial clefts in children born to women using multivitamins containing folic acid periconceptionally. *Lancet.* 346:393-46.
18. Hernández-Arriaga JL., Cortés-Gallo G., Aldana-Valenzuela C., Ramírez-Huerta AC. (1991) Incidencia de malformaciones congénitas externas en el hospital de Ginecopediatría N° 48 de León, Guanajuato. *Bol. Med Hosp Infant Mex.* 48(10):717-721.
19. Mutchinick O. (1996) Epidemiología de las malformaciones congénitas. *Gac Med.* 131:152-160.
20. Graham JM., Edwards MJ., Edwards MJ. (1998) Teratogen update: gestational effects of maternal hyperthermia due to febrile illnesses and resultant patterns of defects in humans. *Teratology.* 58:209-21.
21. Hernández-Díaz S., Werler MM., Walker AM., Mitchell AA. (2000) Folic acid antagonists during pregnancy and the risk of birth defects. *N Engl J Med.* 343:1608-1614.
22. Lemire RJ. (1988) Neural tube defects. *JAMA.* 259:558-62.
23. Martínez-Villareal LE, Delgado-Enciso I., Valdés-Leal R., Ortiz-López R., y col. (2001) Folate levels and N5, N10- methylenetetrahydrofolate reductase genotype (MTHFR) in mothers of offspring with neural tube defects: a case-control study. *Arch. Med Res.* 32:277-82.

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

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

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

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

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



- homocysteine levels with congenital cardiac malformations. *Am J Obstet Gynecol.* 184(5):806-17.
76. Hauser RA., Zesiewics T.A. (1997). Focus on homocysteine and vitamins. Ed. Merit Publishing International. U.S.A.
77. BM/MSDOS. Dbase IV Plus. Ashton-Tate, 1993.
78. STATA (1997) Corp Stata Statistical software. Release 5.0, Colege Station, Tx: Stata Corporation.
79. [www.kursus.kvl.dk/shares/vetgen/\\_Popgen/genetik/applets/kitest.htm](http://www.kursus.kvl.dk/shares/vetgen/_Popgen/genetik/applets/kitest.htm)
80. Van der Put N., Van Straaten H., Trijbels F., Blom HJ. (2001) Folate, homocysteine and neural tube defects: an overview. *Exp Biol Med.* 226(49):243-270.
81. Frey, Lauren, Hauser, Allen W. (2003) Epidemiology of neural tube defects. *Epilepsia.* 44:4-13.
82. Ramos MA., Enguidanos M. (2001) Mielomeningocele lumbosacro. *Pediatría de atención primaria.* 11:51-56.
83. Iglesias J., Ingilde M., Naddeo S., Sanchez M., Spinelli S., Van der Velde J. (2000) Detección y tratamiento del Mielomeningocele por un equipo interdisciplinario. *Rev Hosp Mat Inf Ramón Sarda.* 19(1)11-17.
84. Shaw GM., Todoroff K., Finnell RH., Lammer EJ. (2000) Spine bifida phenotypes in infants or fetuses of obese mothers. *Teratology.* 61(5):376-81.
85. Guízar-Vázquez J. (1988) Herencia multifactorial. En: Zavala C. *Genética clínica, Diagnostico y manejo de las enfermedades hereditarias.* 1ª Ed. Manual moderno, México, DF.
86. Hernández-Valencia M., Carrillo-Pacheco A. (2002) Glucose screening during active labor for the detection of undiagnosed hyperglycaemia and newborn malformations in a population without prenatal car. *Diabetes, Obesity and Metabolism.* 4:132-37.
87. Melve KK., Rolv S. (2002) Families with defects: is birth weight of nonmalformed siblings affected? *Am J Epidemiol.* 155(10):932-40.

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

- south African blacks with a history of pregnancy complicated by neural tube defects. *Metabolism*. 48(2):269-274.
97. Bjorke-Monsen AL, Ueland PM., Schneede J., Vollset SE., Refsum H. (1997). Elevated plasma total homocysteine and C677T mutation methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with spina bifida. *J Med*. 90(9):593-96.
98. Boduroglu K., Alikasifoglu M., Anar B., Tuncbilek E. (1999) Association of the 677-C mutation on the methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkish patients with neural tube defects. *J Child Neurol*. 14(3); 159-161.
99. Koch MC., Stegmann K., Ziegler A., Schröter B., Ermert A. (1998) Evaluation of the MTHFR C677T allele and the MTHFR gene locus in German spine bifida population. *Eur J Pediatr*. 157:487-492.
100. González-Herrera L., García-Escalante G., Castillo-Zapata I., Canto-Herrera J., Cevallos-Quintal J., Pinto-Escalante D., Díaz-Rubio F., Del Angel RM., Orozco-Orozco L. (2002) Frequency of the thermolabile variant C677T in the MTHFR gene and lack of association with neural tube defects in the state of Yucatán, México. *Clinic Genet*. 62(5):394-98.

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

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

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

**FICHA DE IDENTIFICACION**

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

\_\_\_\_\_  
Testigo

\_\_\_\_\_  
Testigo

1. Unidad de atención médica

--

2. Ciudad

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

3. Edad de la madre en años cumplidos

--	--

4. Edad del padre en años cumplidos

--	--

5. Raza

		Padre	Madre
1	Mestizo		
2	Tarahumara		
3	Menón		
4	Otra		

6. Fecha de última menstruación

Día	Mes	Año

7. Acudió a control prenatal

0	Si	
1	No	

Si su respuesta es NO pase a la pregunta 9

8. Número de consultas prenatales

--

9. Semanas de gestación

--	--

10. Número de embarazos

(Contando este embarazo)

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

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

11. ¿Sabe usted leer y escribir?

0	Si	
1	No	

12. Escolaridad de la madre

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

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

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

14. Escolaridad del esposo

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

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

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

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

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

0	Si	
1	No	

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

0	Si	
1	No	

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

0	Si	
1	No	

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

0	Si	
1	No	

Si su respuesta es NO pase a la pregunta 22

20. ¿Con qué frecuencia?

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

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

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

22. ¿Utilizó anticonceptivos antes de este embarazo?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 26

23. ¿Qué tipo de anticonceptivos utilizó?

0	Orales	
1	Espermaticidas	
2	Inyectables	
3	DIU	

24. ¿Cuánto tiempo los utilizó?

		Especificar
0	Meses	
1	Años	

25. ¿Continuó con anticonceptivos durante el embarazo?

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

27. ¿Cuánto tiempo deja los vegetales en cocimiento?

0	Menos de 30´	
1	30´	
2	Mas de 30´	

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

0	Misma	
1	Mas	
2	Menor	

29. Consume con frecuencia los siguientes alimentos

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

30. Número de abortos anteriores a este último embarazo

0	
1	
2	
3	

31. ¿Ha tenido embarazos anteriores con defectos congénitos?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 34

26. En que forma consume los vegetales

0	Frescos	
1	Congelados	
2	Cocidos	

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

		Mortinato	Obito	RN
0	Si			
1	No sabe			

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

0	Cabeza	
1	Espalda	
2	Cara	
3	Extremidades	
4	Otros	

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

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

35. ¿Cursó con patologías durante el embarazo?

0	Si	
1	No	

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

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

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

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 40

38. ¿Le dio tratamiento médico?

0	Si	
1	No	

39. ¿Cuál?

---

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

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

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

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 44

42. ¿Le dió tratamiento médico?

0	Si	
1	No	

43. ¿Cuál?

---

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

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



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

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

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

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 48

47. ¿De qué parte de su cuerpo?

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

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

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 50

49. ¿De qué parte de su cuerpo?

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

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

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 53

51. ¿Cuánto tiempo duró en el agua?

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

52. ¿Cuántos meses tenía de embarazo?

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

53. ¿Tuvo fiebre durante su embarazo?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 56

54. ¿Cuántos meses tenía de embarazo?

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

55. ¿Cuál medicamento tomó para la fiebre?

0		
1		
2		

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

0	Si	
1	No	

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

0	Si	
1	No	

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

0	Si	
1	No	

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

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

60. ¿Cuál? \_\_\_\_\_

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

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

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

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 65

63. ¿Sabe de que manera?

64.

0	Avión	
1	Tierra	
2	Tractor	
3	Otros	

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

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

66. ¿En su casa alguien trabaja con insecticidas?

0	Padre	
1	Madre	
2	Ambos	
3	Otros	
4	Nadie	

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

0	Si	
1	No	

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

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 69

69. Con que frecuencia

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

69. Empleo de la madre

1	Hogar	
2	Maquiladora	
3	Estilista	
4	Anotar ¿cual?	

70. Nombre de la compañía en que trabaja

71. ¿Qué trabajo realiza en ese lugar?

72. ¿Qué sustancias químicas utiliza?

73. ¿Cuánto tiempo tiene trabajando en ese lugar?

Años	Meses

74. Empleo del padre

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

75. Nombre de la compañía en que trabaja

76. ¿Qué trabajo realiza en ese lugar?

77. ¿Qué sustancias químicas utiliza?

78. ¿Cuánto tiempo tiene trabajando en ese lugar?

Años	Meses	

79. ¿Alguna vez ha fumado?

0	Si	
1	No	

Si la respuesta es NO pase a la pregunta 85

80. ¿Fuma ahora?

0	Si	
1	No	

81. ¿Cuántos cigarros se fuma al día?

\_\_\_\_\_ número de cigarros

82. ¿Fumó durante su último embarazo?

0	Si	
1	No	

83. ¿Cuántos cigarros se fuma al día?

\_\_\_\_\_ número de cigarros

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

\_\_\_\_\_ años enteros

85. ¿Fuma su esposo?

0	Si	
1	No	
3	Ocasionalmente	

Si la respuesta es NO de por terminada la entrevista

86. ¿Cuántos cigarros se fuma al día?

\_\_\_\_\_ número de cigarros

87. ¿Fumó durante su último embarazo?

0	Si	
1	No	

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

\_\_\_\_\_

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

0	Si	
1	No	

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

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

Talla \_\_\_\_\_

Hb \_\_\_\_\_

Hto \_\_\_\_\_

## APÉNDICE B Encuesta Morfológica

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

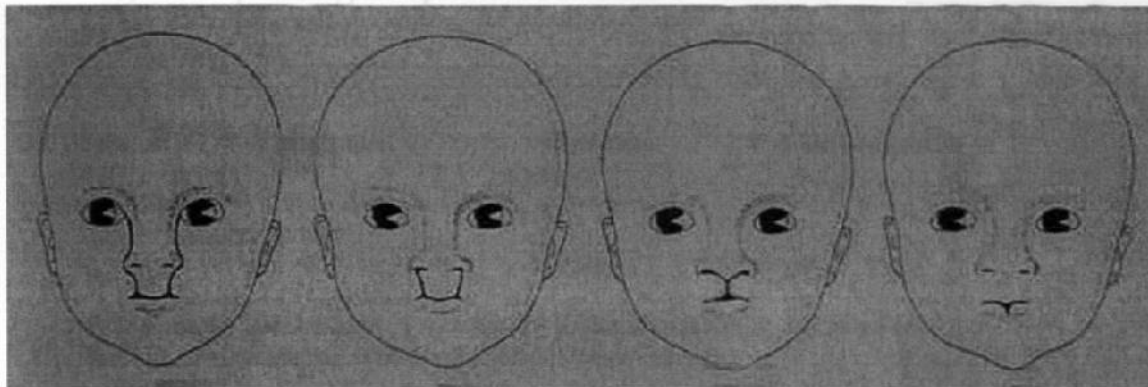
Marcar con una X el lugar afectado

Labio (1)		Encía (2)		Paladar óseo (3)		Paladar blando (4)	
Derecho (1)	Izquierdo (2)	Derecho (1)	Izquierdo (2)	Derecho (1)	Izquierdo (2)	Derecho (1)	Izquierdo (2)
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Extensión de la fisura:

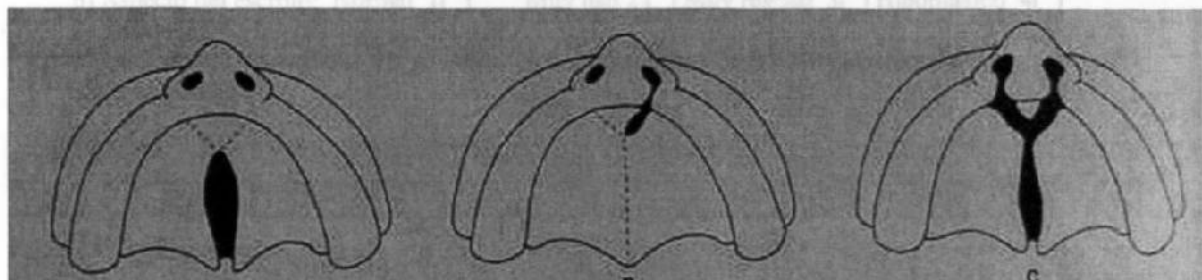
		Labio (1)
0	No hay fisura	<input type="checkbox"/>
1	La fisura llega al borde mucoso-cutáneo	<input type="checkbox"/>
2	La fisura pasa del borde mucoso-cutáneo	<input type="checkbox"/>
3	La fisura penetra en la narina	<input type="checkbox"/>

		Encía (2)
0	No hay fisura	<input type="checkbox"/>
1	La fisura incompleta afecta menos de la mitad del reborde alveolar	<input type="checkbox"/>
2	La fisura incompleta afecta mas de la mitad del reborde alveolar	<input type="checkbox"/>
3	La fisura completa que quiebra la arcada maxilar (hay dislocación)	<input type="checkbox"/>



		Paladar óseo (3)	Paladar blando (4)
0	No hay fisura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	Afecta un tercio del paladar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	Afecta dos tercios del paladar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	Afecta tres tercios del paladar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Marcar en los dibujos la alteración



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

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

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

Otros \_\_\_\_\_

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

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

Otros \_\_\_\_\_

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

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

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

Género masculino:

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

Género femenino:

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

Hipospadias:

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

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

a) Espina bífida:

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

Mielomeningocele \_\_\_\_\_

Mielocele \_\_\_\_\_

Raquisquisis \_\_\_\_\_

Mielosquisis \_\_\_\_\_

Espina bífida oculta \_\_\_\_\_

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

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

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

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

Sacro 4( )

Extensión: en centímetros \_\_\_\_\_

Hacer dibujo

b) Cráneo bífido:

Tipo: Encefalocele

Meroanencefalia

Iniosquisis

Anencefalia con sus puntos de cierre

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

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

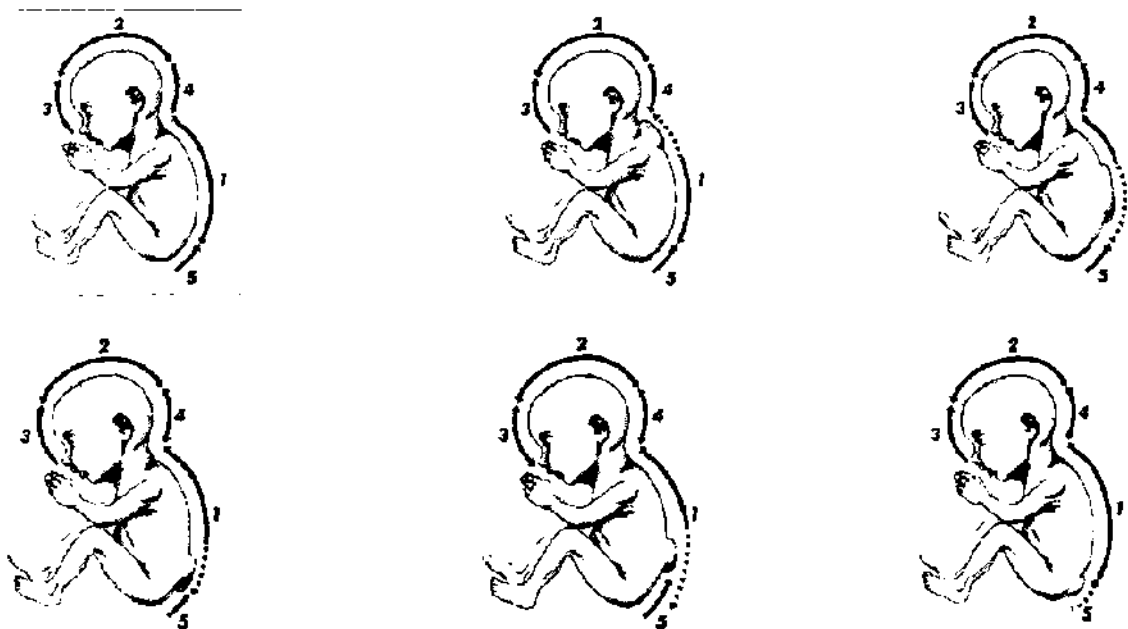
Parcialmente epitelizada \_\_\_\_\_

Nivel: cervical ( )

Extensión: en centímetros \_\_\_\_\_

Hacer dibujo

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



## APÉNDICE C

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

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

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

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

#### *Preparación de la muestra:*

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

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

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

#### Ácido fólico plasmático

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



### ***Procedimiento del Radioinmunoensayo***

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

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

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

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

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

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

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

## APÉNDICE D

### Método para determinar Homocisteína

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

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

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

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

## APÉNDICE E

### Análisis del gen de la enzima MTHFR C677T

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

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

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

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

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

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

### Programa del termociclador:

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

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

### Digestión:

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

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

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

## **RESUMEN AUTOBIOGRAFICO**

**Dora Virginia Chávez Corral**

**Candidato para el grado de**

**Doctor en Ciencias con especialidad en Morfología**

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

**Área de estudios: Morfología**

### **Biografía:**

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

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

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



