

TESIS DE MAESTRIA

Dr. RAFAEL EDUARDO MONTAÑO ARRIETA

ANÁLISIS GENÉTICO MOLECULAR DE LOS POLIMORFISMOS C677T y A1298C DEL GEN DE LA METILEN TETRA HIDRO FOLATO REDUCTASA, COMO FACTOR DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE DESNUTRICION CRONICA EN NIÑOS MENORES DE 3 AÑOS DEL MUNICIPIO DE LURIBAY.

TUTOR

Dra. Ximena Aguilar Mercado



**INSTITUTO DE GENETICA
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
2009**

TESIS DE MAESTRIA

Dr. RAFAEL EDUARDO MONTAÑO ARRIETA

**ANÁLISIS GENÉTICO MOLECULAR DE LOS POLIMORFISMOS C677T y A1298C DEL
GEN DE LA METILEN TETRA HIDRO FOLATO REDUCTASA, COMO FACTOR DE RIESGO
PARA EL DESARROLLO DE DESNUTRICION CRONICA EN NIÑOS MENORES DE 3
AÑOS DEL MUNICIPIO DE LURIBAY.**

TUTOR

Dra. Ximena Aguilar Mercado.



**INSTITUTO DE GENETICA
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
2009**

Dr. RAFAEL EDUARDO MONTAÑO ARRIETA
"GENBLASTER"



**ANÁLISIS GENÉTICO MOLECULAR DE LOS POLIMORFISMOS C677T y A1298C DEL
GEN DE LA METILEN TETRA HIDRO FOLATO REDUCTASA, COMO FACTOR DE RIESGO
PARA EL DESARROLLO DE DESNUTRICION CRONICA EN NIÑOS MENORES DE 3
AÑOS DEL MUNICIPIO DE LURIBAY.**



**Tesis de Maestría presentada al programa de Post Grado en Ciencias Biológicas y
Biomédicas, mención Genética Médica.**

Tutor: Dra. Ximena Aguilar Mercado.

**INSTITUTO DE GENETICA
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
2009**

INDICE

RESUMEN. 10

CAPITULO I 11

1. INTRODUCCIÓN..... 12

CAPITULO II 13

2. ANTECEDENTES O MARCO TEÓRICO..... 14

 2.1. ASPECTOS GEOGRAFICOS DE BOLIVIA. 16

 2.1.1. DEPARTAMENTO DE LA PAZ..... 17

 2.1.2. MUNICIPIO DE LURIBAY 17

 2.1.2.1. Riesgos que Enfrenta la Comunidad de Luribay..... 18

 2.2. DESNUTRICIÓN..... 19

 2.2.1. Definición. 19

 Riesgo en la comunidad en General..... 20

 Riesgos Familiares. 20

 Factores de riesgo individuales. 21

 2.2.3. FISIOPATOLOGÍA DE LA DESNUTRICIÓN. 21

 2.2.3.1. Mecanismos fisiopatológicos comprometidos en el proceso de desnutrición. 21

 2.2.4. CLASIFICACIÓN DE LA DESNUTRICIÓN. 23

 2.2.4.1. Clasificación por tiempo de Evolución. 23

 2.2.4.2. curvas de crecimiento propuestas por la OMS..... 24

 Para realizar un buen seguimiento del peso y talla en los niños menores de 3 años la OMS, ha propuesto las gráficas donde se observan las curvas de seguimiento. [15]..... 24

 2.2.5. PROGRAMA DE DESNUTRICIÓN CERO EN BOLIVIA. 27

 2.3. RUTAS METABOLICAS Y VITAMINAS IMPLICADAS. 27

 2.3.1. ACIDO FOLICO (Vitamina B9)..... 28

HISTORIA. 28

DEFINICIÓN..... 28

CARACTERÍSTICAS..... 28

METABOLISMO DEL ACIDO FOLICO..... 29

POLIMORFISMOS DE LA MRHF..... 30

FOLATO EN LOS ALIMENTOS. 34

DEFICIENCIA DE ACIDO FOLICO FOLATO..... 36

ABSORCIÓN.....	36
TRANSPORTE.....	36
RESERVAS.....	37
FUNCIONES BIOLÓGICAS.....	37
2.3.2. METABOLISMO DE LA COBALAMINA (Vitamina B12).....	37
ABSORCIÓN.....	38
TRANSPORTE.....	38
RESERVAS.....	39
CAUSAS DE DÉFICIT.....	39
FUNCIONES BIOLÓGICAS.....	39
DEFICIENCIA INDIVIDUAL O COMBINADA DE LA HOMOCISTEÍNA, VITAMINA B12, B6 Y ÁCIDO FÓLICO.....	40
CAPITULO III.....	42
3. JUSTIFICACIÓN.....	43
CAPITULO IV.....	45
4. OBJETIVOS.....	46
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	46
4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	46
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	46
6. HIPÓTESIS.....	46
CAPITULO V.....	47
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	48
7.1. DISEÑO DE INVESTIGACION.....	48
7.2. ZONA DE ESTUDIO.....	48
MUNICIPIO DE LURIBAY, ASPECTOS ESPACIALES.....	48
LATITUD Y LONGITUD.....	48
LÍMITES TERRITORIALES.....	48
EXTENSIÓN.....	49
DIVISIÓN POLÍTICO – ADMINISTRATIVA.....	49
DISTRITOS Y CANTONES.....	50
COMUNIDADES Y CENTROS POBLADOS.....	50
CARACTERÍSTICAS DEL ECOSISTEMA.....	51

PISOS ECOLÓGICOS.....	51
7.3. POBLACION ESTUDIADA.....	51
UNIVERSO DE ESTUDIO.....	51
DENOMINACIÓN DE CASOS.....	52
DENOMINACION DE CONTROLES.....	52
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	52
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	52
Consideraciones de Género.....	53
7.4. VARIABLES.....	53
Variable Resultado.....	53
Variable de Exposición.....	53
Variables de Control.....	53
7.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	53
7.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	54
7.7. METODOS.....	54
7.7.1. Recopilación de la información (encuesta).....	54
Datos personales.....	54
7.7.2. Toma de muestras.....	54
7.7.3. Evaluación del estado nutricional.....	54
7.7.4. Extracción de ADN.....	54
7.7.5. Determinación de polimorfismos de MTHFR.....	54
CAPITULO VI.....	59
8. RESULTADOS.....	60
8.1. CLASIFICACION FENOTIPICA:.....	60
8.2. ANALISIS DEMOGRÁFICO.....	60
8.3. Estadística Descriptiva.....	61
8.3.1. Descripción poblacional.....	61
8.3.2. Estado Nutricional:.....	63
8.3.3. Frecuencias de Grupos Etarios.....	64
8.4. Cruce de Variables:.....	65
8.4.1. Relación Estado Nutricional – Comunidades.....	65
8.4.2. Relación entre Estado Nutricional y Género.....	65

8.4.3. Relación entre Estado Nutricional y Grupo Etario. 67

8.5. CLASIFICACION GENOTIPICA: 68

8.5.1. Estadística Descriptiva..... 68

8.5.2. Cruce de variables. 69

Cruce de la frecuencia de polimorfismos con grupo etario: 70

CAPITULO VII 76

9. DISCUSIÓN..... 77

CAPITULO VIII 80

10. CONCLUSIONES 81

CAPITULO IX 82

11. RECOMENDACIONES 83

CAPITULO X 84

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 85

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Prevalencia de desnutrición crónica en la Latino América. [6]	14
Figura 2. Desnutrición Infantil en Bolivia. [7]	15
Figura 3. Ubicación Geografica de Bolivia.....	16
Figura 4. Ubicación Geografica de La Paz en Bolivia.	17
Figura 5. Sembradíos en el Municipio de Luribay	17
Figura 6. Producción en el Municipio de Luribay	17
Figura 7. Comunidad en el Municipio de Luribay.....	18
Figura 8. Fisiopatología de la Desnutrición Crónica. [12].....	22
Figura 9. Curvas de peso y talla de la OMS.	24
Figura 10. Acido Fólico.	29
Figura 11. Molécula de la MTHFR	30
Figura 12. Estructura de la proteína de la MTHFR. (28).....	31
Figura 13. Ubicación del Gen de la MTHFR. [59].....	32
Figura 14. Metabolismo de los Folatos. [60].....	33
Figura 15. Provincia Loayza, División Política, Primera Sección Municipal Luribay	48
figura 16. Comunidades y Centros Poblados del Municipio de Luribay.....	50
Figura 17. Comunidades de Estudio.....	51
Figura 18. Patrones para el polimorfismo 677 de la MTHFR.	58
Figura 19. Patrones para el polimorfismo 1298 de la MTHFR.	58
Figura 20. Distribución de la población estudiada.....	61
Figura 21. Población de Estudio por Comunidades	62
Figura 22. Número de Niños con Desnutrición Crónica por Comunidades	63
Figura 23. Porcentaje de Niños con Desnutrición Crónica.....	63
Figura 24. POBLACIÓN GENERAL POR GRUPOS ETARIOS	64
Figura 25. Estado Nutricional Según Género	66
Figura 26. Frecuencia Genotípica del Polimorfismo 677 en Controles	68
Figura 27. Frecuencia Genotípica del Polimorfismo 677 en Casos	69

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. CAUSAS DE DESNUTRICIÓN. [12].....	21
Cuadro 2. CANTIDAD DIARIA RECOMENDADA DE ÁCIDO FÓLICO. [21].....	34
Cuadro 3. PRINCIPALES FUENTES DE ÁCIDO FÓLICO.	35
Cuadro 4. SECCIONES DE LA PROVINCIA LOAYZA	49
Cuadro 5. CANTONES DEL MUNICIPIO DE LURIBAY	50
Cuadro 6. TOTAL POBLACIÓN BENEFICIARIA DIRECTA	52
Cuadro 7. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	53
Cuadro 8. PROTOCOLO PARA EL MASTER MIX DEL PCR.	56
Cuadro 9. CONDICIONES DEL TERMOCICLADOR.....	57
Cuadro 10. PROTOCOLO PARA DIGESTIONES.	57
Cuadro 11. CLASIFICACION FENOTIPICA.	60
Cuadro 12. POBLACIÓN ESTUDIADA.	62
Cuadro 13. POBLACIÓN GENERAL POR GRUPOS ETARIOS.....	64
Cuadro 14. DESCRIPCION POR COMUNIDADES Y GRUPOS ETARIOS	64
Cuadro 15. TABLA DE CONTINGENCIA COMUNIDAD * ESTADO NUTRICIONAL	65
Cuadro 16. TABLA DE CONTINGENCIA GENERO * ESTADO NUTRICIONAL	65
Cuadro 17. PRUEBAS DE CHI-CUADRADO GÉNERO – ESTADO NUTRICIONAL	66
CUADRO 18. TABLA DE CONTINGENCIA EDAD EN MESES * ESTADO NUTRICIONAL	67
CUADRO 19. PRUEBAS DE CHI-CUADRADO DE PEARSON.....	67
Cuadro 20. FRECUENCIA GENOTIPICA Y ALELICA PARA EL POLIMORFISMO 677	68
Cuadro 21. FRECUENCIA GENOTIPICA Y ALELICA PARA EL POLIMORFISMO 1298	69
Cuadro 22. TABLA DE CONTINGENCIA EDAD EN MESES * POLIMORFISMO 677	70
Cuadro 23. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)	71
Cuadro 24. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)	71
Cuadro 25. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)	72
Cuadro 26. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)	73
Cuadro 27. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE GENERO).....	73

RESUMEN.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN: ¿Serán factores de riesgo para la desnutrición crónica, los polimorfismos C677T y A1298C del gen de la Metileno Tetrahidro Folato Reductasa, en niños menores de 3 años del Municipio de Luribay?

OBJETIVOS: El presente trabajo tuvo como objetivo determinar si son factores de riesgo para la desnutrición crónica, los polimorfismos C677T y A1298C del gen de la Metileno Tetra Hidrofolato Reductasa (MTHFR), en niños menores de 3 años del Municipio de Luribay. Evaluando la relación entre la presencia de los polimorfismos C677T y A1298C, del gen de la MTHFR y el estado nutricional de los niños menores de 3 años, que fueron evaluados a través del Programa de Crecimiento Comunitario, (Save the Children), utilizando estos datos para determinar si los polimorfismos de la enzima MTHFR son modificadores del estado nutricional.

DISEÑO: Casos-Controles.

POBLACIÓN: Se tomaron dentro la población estudiada al total de los niños menores de 3 años (n=170) residente del municipio de Luribay, a los cuales se los clasifico en dos grupos los niños sin desnutrición crónica (Controles n=128), y los niños con desnutrición crónica (Casos n=42).

MÉTODOS: Se realizó la extracción del DNA de las muestras de mucosa oral, para luego mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y de restricción enzimática, se identificaron los polimorfismos C677T y A1298C del gen de la Metileno Tetra Hidrofolato Reductasa (MTHFR), se analizaron los datos obtenidos mediante estadística descriptiva, test de significancia, χ^2 , odds ratio (OR), regresión logística, y análisis multivariado mediante gráficos de dispersión.

RESULTADOS:

En cuanto a la clasificación genotípica, y la frecuencia alélica, se encontró una diferencia del 10% en la presencia de los polimorfismos C677T y T677T, en los casos con relación a controles. Al realizar la evaluación de la relación entre los polimorfismos con las variables edad y grupo etario, mediante regresión logística, se evidencio que la presencia del polimorfismo C677T aumenta 1,65 (OR. 1,6493) veces mas las posibilidades de pertenecer al grupo de desnutridos, ajustado por el polimorfismo A1298C, edad y genero, se debe considerar que no existe significancia estadística (P=0.209).

Los grupos etarios mas relacionados con desnutricion cronica se encuentran entre los 13 y los 30 meses de edad, hay que resaltar que se evidencia que la frecuencia de los polimorfismos CT y TT, es más alta en las edades de 13 a 30 meses, (48,10% y 34,62% respectivamente) del total de los polimorfismos CT y TT. Lo que refuerza la relación del riesgo, de portar los polimorfismo C677T y T677T, y pertenecer al grupo de desnutridos. Por otro lado al hacer la relacion, tomando al genero femenino versus masculino, como variable dependiente, se tiene que hay 2.18 veces mas posibilidades de que el polimorfismo 677 mutado se encuentre en mujeres, ajustando por mutación el polimorfismo 1298, el estado nutricional y la edad, siendo este dato estadisticamente significativo (P=0,019). Los resultados del análisis multivariado, mostro que el vector que representa a género tiene una correlación positiva, con el vector de estado nutricional, siendo que la variable femenina, se encuentra más relacionada con la desnutrición, representadas ambas variables, por los vectores positivos.

CONCLUSIONES: Se identificaron datos que relacionan las siguientes condiciones, el poseer el Polimorfismo 677 mutado, al mismo tiempo pertenecer a los grupos etarios de 13 a 30 meses y ser del sexo femenino, que tendrían una relación importante en los procesos de desnutrición crónica. Este dato es primordial debido a que estamos ante una entidad compleja donde el análisis debe ser multifactorial, se evidencio que la presencia del polimorfismo C677T aumenta 1,65 (OR. 1,6493) veces más las probabilidades de pertenecer al grupo de desnutridos, ajustado por el polimorfismo A1298C, edad y genero.

La relación entre los polimorfismos C677T y A1298C, por si solos, relacionados con la desnutrición crónica, no son estadísticamente significativa, ni tampoco con el efecto combinado de ambos polimorfismos y la desnutrición crónica o evidencia de predicción para el futuro.

Por otro lado se evidencio una alta frecuencia en la población del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR, y para el polimorfismo T677T, que combinados dan un 64% de la población total de estudio.

Lo cual nos lleva a la conclusión, de que a pesar de no existir una relación significativa entre los niños con desnutrición crónica y la presencia de los polimorfismos de la MTHFR, los resultados encontrados, expresan un porcentaje importante en la presentación de los polimorfismos C677T y T677T, que son responsables de la deficiente y/o nula absorción del ácido fólico, en el metabolismo de los niños con desnutrición crónica del municipio de Luribay.

PALABRAS CLAVE: Metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR); Polimorfismos, Reacción en cadena de la polimerasa (PCR),

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN.

Los genes y/o sus polimorfismos son utilizados como marcadores moleculares en estudios epidemiológicos como predictores de cáncer por exposición ambiental, y están en estrecha relación con el estado nutricional de los individuos expuestos.(J, Kaput.2004) [1]. Es así que se estableció la importancia de los micronutrientes y las vitaminas, como modificadores del daño geonómico inducido, determinando los RADs (del ingles Recommended Dietary Allowances), para lograr una estabilidad genómica (Fenech. 2005).[2]

Save The Children viene implementando el programa de Seguridad Alimentaria, programa del cual depende el sub programa de Promoción de Crecimiento Comunitario, gracias al cual han identificado, niños < de 3 años con problemas de desnutrición crónica que no respondieron a las acciones de salud standard, coincidentemente habitantes de Luribay. Debido a que las autoridades municipales y población están conscientes de que la salud infantil es vital para la salud comunitaria, han pedido acciones sobre este problema.

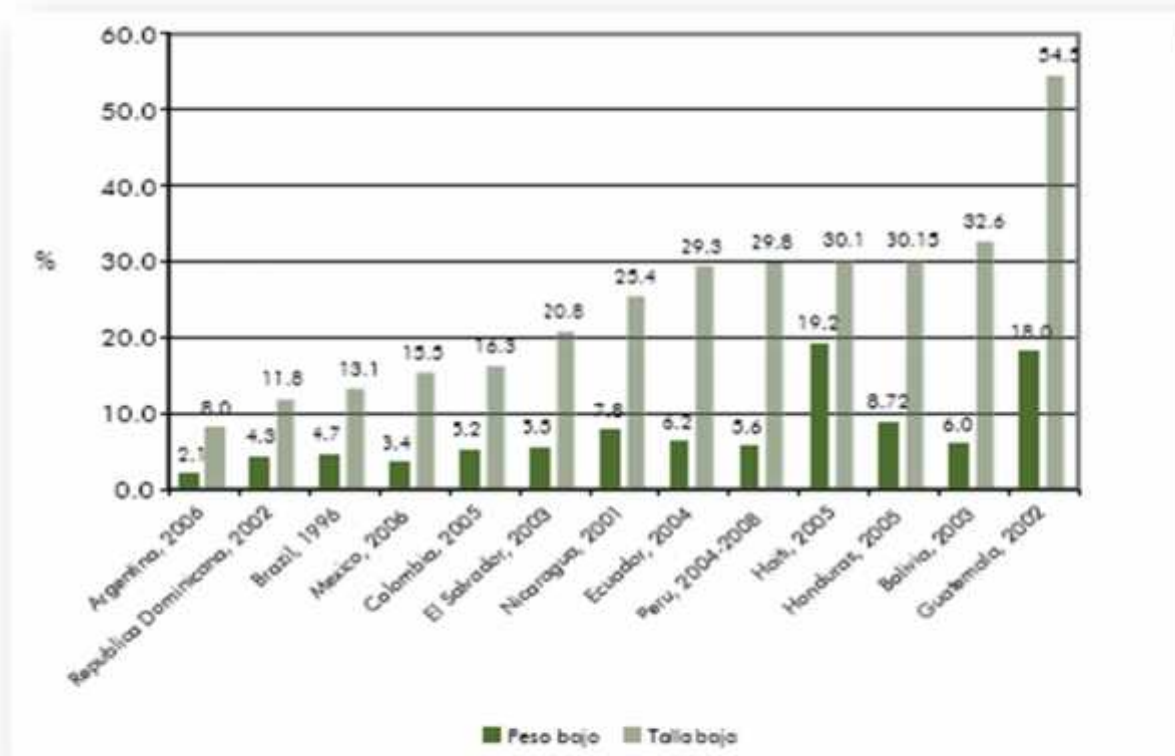
La trascendencia del estudio que se presenta a continuación, es grande, debido a que los niños con marcadas diferencias funcionales, y características adicionales de desnutrición crónica importante (problema priorizado por el Plan Nacional de Desarrollo), falta de hábitos higiénicos, medidas de protección personal, se convierten en población vulnerable para el proceso salud enfermedad. Además, considerando que la prevención se basa en una nutrición adecuada, acorde con las características genómicas individuales, pretendemos dar la herramienta para proponer acciones certeras de salud que respondan responsable y eficientemente a contribuir al bienestar de la sociedad , considerando particularidades como: condiciones de salud por efectos de la pobreza e insalubridad, a través de la evaluación de la variabilidad interindividual que está dada por los polimorfismos de la Metilen Tetrahidro Folato Reductasa y de las enzimas que inciden sobre el estado nutricional (Fenech. 2005) [2].

Por lo tanto el trabajo presente, rescata las bases conceptuales de la nutrigenómica, para lograr determinar mediante métodos de genética molecular, la existencia o no de la interrelación de los múltiples factores, en base a bases conceptuales de esta nueva ciencia.

2. ANTECEDENTES O MARCO TEÓRICO

[3]La desnutrición desde una perspectiva mundial, es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la infancia [4]. Así mismo, la desnutrición es, con mucho, la causa más común de retraso de crecimiento, pues dos tercios, de la población mundial, sufren de desnutrición. La falta de nutrientes también puede ser provocada por enfermedades crónicas.[5] Según la UNICEF, la desnutrición es la principal causa de muerte de lactantes y niños pequeños en países en desarrollo.

Figura 1. Prevalencia de desnutrición crónica en la Latino América. [6]



Esta problemática en Latinoamérica tiene una prevalencia de baja talla que varía desde 8% en Argentina, hasta 32m6 en Bolivia y 54.5% en Guatemala según el nuevo patrón de crecimiento de la OMS.[6]

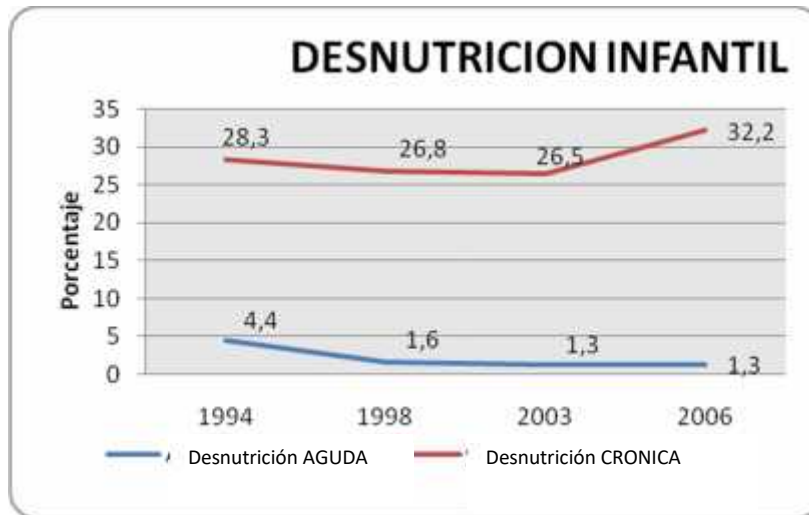
Los primeros 2 años de vida representan una ventana de oportunidades para mejorar la nutrición del niño, lo que se pierde en talla durante esta etapa, no se recupera posteriormente. Al comparar los datos de la región con los de niños bien nutridos del estudio multicéntrico de la OMS (Ghana, Noruega, Omán, India, Brasil y Estados Unidos), la falta de crecimiento, adecuado es brutal mientras que la falta de ganancia en peso adecuado no es tan grande. Por ende, el niño típico de la región tiene un peso para la talla más de lo esperado en una población saludable, lo que implica riesgo para las enfermedades crónicas no transmisibles en el futuro. [6]

Todos los países tienen como reto el cumplimiento de los (Objetivos de milenio) ODMs para el 2015, si pensamos en cumplir sólo con el indicador de bajo peso para la edad, todos los países en el estudio lograrán esa meta (excepto Haití), pero si tomamos la talla para la edad, nos encontramos con países como Colombia y México que están en camino para lograr esta meta y países como **Bolivia**, Guatemala y Perú que están lejos de alcanzarla [6].

Otro problema muy importante asociado a la baja talla para la edad (desnutrición crónica) es la anemia, que se relaciona directamente con el desarrollo cognitivo del niño. En los países de América Latina y El Caribe alcanza prevalencias cercanas al 80% en los 2 primeros años de vida [6].

En Bolivia, los datos recolectados por el Ministerio de Salud y Deportes a fines del año 2007, proyectaron resultados donde se muestra la prevalencia de la desnutrición en niños menores de 5 años, que para el año 1994 se tenía 28,4% de niños con desnutrición crónica, y un 4,4% de niños con desnutrición aguda, para el año 2006 se observa un aumento importante en la prevalencia de desnutrición crónica, que llega a un 32,2% de niños con desnutrición crónica.

Figura 2. Desnutrición Infantil en Bolivia. [7]



Se puede observar que la desnutrición aguda fue disminuyendo su porcentaje de 4,4% a un 1,3% hasta el año 2006, (datos extraídos de la última encuesta nacional de salud (ENDSA), esto debido a la intervención realizada por las diferentes organizaciones de salud, dedicadas a coadyuvar con soluciones para el problema de salud pública más importante para la niñez, relativo a desnutrición aguda. [8]

El incremento de la desnutrición crónica, supone una preocupación importante, por lo tanto al ser esta una prioridad nacional, se debe buscar estrategias diagnósticas y de tratamiento, para lo cual se debe actuar con equipos de investigación multidisciplinarios,

esta situación ha impulsado a la realización del presente trabajo, buscando una forma alternativa desde un punto de vista que aún no fue explorado hasta la actualidad, que es la Genética Molecular, con el fin de ayudar desde una perspectiva diferente a encontrar la mejor forma de intervenir este enorme problema que es la desnutrición crónica, llegando principalmente con estrategias dirigidas a los niños menores de 3 años, que se consideran aun el grupo vulnerable más importante de la sociedad.

2.1. ASPECTOS GEOGRAFICOS DE BOLIVIA.

Figura 3. Ubicación Geografica de Bolivia



Bolivia se encuentra en el hemisferio sur del planeta y al oeste del Meridiano de Greenwich por lo tanto tiene latitud sur y longitud occidental.

Bolivia (Quechua: Bulibya; Aymara: Wuliwya; Guaraní: Volívia), oficialmente Estado Plurinacional de Bolivia, es un país situado en el centro-oeste de América del Sur. El territorio boliviano limita al norte y al este con Brasil, al sud con Paraguay y Argentina, y al oeste con Chile y Perú. Su territorio comprende parte importante de la Cordillera de los Andes, el Altiplano, la Selva Amazónica y el Gran Chaco, lo que le permite estar categorizado como país mega diverso. Es, junto con Paraguay, uno de los dos países de Sudamérica sin litoral marítimo.

Tiene una extensión de 1.098.581 km², siendo el octavo más extenso de América y el vigésimo séptimo a nivel mundial. Está formada por 9 departamentos. La población boliviana es multicultural. Sus cerca de 10,5 millones de habitantes se distribuyen étnicamente en mestizos, indígena-originarios, blancos descendientes de criollos, afro bolivianos y una menor proporción de descendientes de migrantes europeos y asiáticos.

Bolivia por sus características climáticas, altitudinales y fisiográficas presenta una amplia diversidad biológica resultante de una gran riqueza de eco-regiones y subunidades ecológicas que van desde la zona alto andina hasta la llanura amazónica pasando por los valles secos, Los Yungas y las serranías chiquitanas, entre otros. [9]

Esta amplia variedad de eco regiones contiene una alta diversidad biológica, considerada entre las mayores a nivel mundial.[9]

Este trabajo fue desarrollado en el departamento de La Paz, actualmente está subdividido en 20 provincias, 80 municipios y más de 400 cantones. Se encuentra situado en el occidente del territorio Boliviano, entre 12º y 18º de Latitud Sur y 67º y 69º33' de Longitud Oeste; con una superficie de 133.985

Km2 (12% del territorio nacional) ocupa el tercer lugar en extensión, después de los departamentos de Santa Cruz y Beni [3]

Limita al Norte con el departamento de Pando, al Sur con el departamento de Oruro, al Este con los departamentos de Cochabamba y Beni y al oeste con las Repúblicas de Perú y Chile.

2.1.1. DEPARTAMENTO DE LA PAZ.

El territorio del departamento de La Paz es una síntesis del relieve de Bolivia ya que presenta casi todas las regiones fisiográficas [3].

En la cordillera Oriental existen quebradas de accidentada topografía destacándose los valles de Pelechuco, Ulla Ulla, Mocomoco, Charazani, Ayata, Aucapata, Apolo, Chuma, Italaque, Ambaná, Tacacoma, Sorata, Zongo, Palca, Río Abajo, Sapahaqui, Araca, Luribay, Quime, Cajahuata.

Figura 4. Ubicación Geografica de La Paz en Bolivia.



2.1.2. MUNICIPIO DE LURIBAY

El Municipio de Luribay, lugar del estudio, se encuentra situado en el departamento de la Paz, por sus características climáticas se puede dividir en dos zonas, los valles y el altiplano, (mas detalle Capitulo VI, Zona de estudio) caracterizados ambos por la diferencia en la producción de sus alimentos. Con la particularidad de que entre las poblaciones se intercambian las producciones agrícolas.

Figura 5. Sembradíos en el Municipio de Luribay



En el valle, la producción agrícola que prevalece, es la de frutas y vegetales y el altiplano predominan los tubérculos y cereales andinos. Ambas zonas comparten un antecedente importante en relación al cultivo de sus productos, como es el uso de plaguicidas, en todos sus cultivos, motivo por el cual desde la década de los 80's se vienen desarrollando una

predominan los tubérculos y cereales andinos. Ambas zonas comparten un antecedente importante en relación al cultivo de sus productos, como es el uso de plaguicidas, en todos sus cultivos, motivo por el cual desde la década de los 80's se vienen desarrollando una

Figura 6. Producción en el Municipio de Luribay



serie de acciones destinadas a implementar un programa dirigido a preservar la salud de los trabajadores agrícolas frente a los riesgos causados por el uso de plaguicidas, esfuerzos que no vieron sus frutos hasta después de transcurridos 10 años, cuando la Agencia Danesa de Cooperación Internacional (DANIDA) aprobó la propuesta presentada por el INSO y la ONG Danesa DIALOGOS. De esta manera en octubre de 2001 el proyecto de PLAGBOL inicia actividades con el objetivo principal de contribuir a mejorar la calidad de vida de los agricultores del área [10].

2.1.2.1. Riesgos que Enfrenta la Comunidad de Luribay.

Luribay es una localidad, que por su difícil acceso se encuentra dentro de las localidades con mayor riesgo de sufrir problemas de salud, siendo el grupo de riesgo más vulnerable, los niños menores de tres años, por su elevado porcentaje de casos de desnutrición, comprobados con datos obtenidos de Save the Children.

Dada esta problemática, Save The Children viene implementando el programa de Seguridad Alimentaria, programa del cual depende el sub programa de Promoción de Crecimiento Comunitario, gracias al cual han identificado niños menores de 3 años con problemas de desnutrición crónica que no respondieron a las acciones de salud estándar.

Durante los años 2002 al 2008, Save The Children desarrollo un Programa de Seguridad Alimentaria, en 7 Municipios del Departamento de La Paz, en 200 comunidades rurales catalogadas como de extrema inseguridad alimentaria.

La intervención fue integral con los componentes de Salud y Nutrición Materno Infantil, Generación de Ingresos y Manejo de Recursos Naturales, con el objetivo en común de disminuir la desnutrición crónica de niños y niñas menores de 3 años.

La intervención en Salud y Nutrición Materno Infantil, consistió en:

- Distribución mensual de una ración de alimentos para 5 personas, a todas las familias con menores de 3 años y madres embarazadas.

Figura 7. Comunidad en el Municipio de Luribay.



- Seguimiento mensual al incremento de peso y talla de cada niño y niña.
- Capacitación individualizada a cada madre y embarazada sobre nutrición en base a alimentos disponibles y accesibles en la zona.
- Seguimiento al esquema de vacunación y distribución de micronutrientes a embarazadas, niños y niñas.
- Detección y manejo rural de enfermedades prevalentes de la infancia.
- Detección y referencia de embarazadas
- Construcción de sistemas de agua y saneamiento.

Durante estos 7 años la Desnutrición Crónica disminuyó de 38% a 29%, en todos los Municipios, excepto en el Municipio de Luribay. [11]

Teniendo en cuenta que las autoridades municipales y población están consientes que la salud infantil es vital para la salud comunitaria, han pedido acciones sobre este problema.

2.2. DESNUTRICIÓN.

Para comprender el problema que acarrea la desnutrición como entidad patológica se deben conocer a fondo sus implicaciones en la salud infantil para lo cual es necesario realizar un repaso teórico de la misma.

2.2.1. Definición.

La desnutrición puede ser consecuencia de una inadecuada ingesta de alimentos, tanto cualitativa como cuantitativa, o de una absorción deficiente. El escaso aporte de alimentos, los hábitos dietéticos incorrectos, gustos caprichosos y factores emocionales pueden limitar la ingesta. Algunas anomalías metabólicas pueden a su vez causar desnutrición. Los requerimientos de nutrientes esenciales pueden verse incrementados durante el stress y la enfermedad, así como durante la administración de antibióticos y otros medicamentos, anabolizantes o catabolizantes [4].

Una característica clave de este marco es el reconocimiento de que la desnutrición es una manifestación biológica de los efectos combinados de la ingesta alimentaria inadecuada y las enfermedades, las cuales están estrechamente relacionadas con el desarrollo social y económico. Así, la desnutrición no puede ser vista, a diferencia de otros problemas de desarrollo, sino más bien, como un reflejo de estos problemas [12]. Otra característica en este marco es que los supuestos subyacentes a los distintos enfoques a la desnutrición debe ser explícitos para que puedan ser cuestionados y debatidos en lugar de asumir implícitamente que la

desnutrición se debe únicamente a una causa específica (falta de alimentos, asistencia sanitaria insuficiente, la educación limitada de la mamá, pobres prácticas de alimentación, la insuficiente producción agrícola, entre otras). Otra característica clave del marco de la UNICEF es que la importancia relativa de las causas subyacentes de la desnutrición (falta de alimentos y asistencia sanitaria) debe ser reconocida ampliamente entre los hogares, comunidades y países. Esto implica que las causas y las soluciones universales no existen y que las restricciones en el suministro de una alimentación adecuada y atención de la salud deben ser evaluadas y tratadas en cada escenario. En lugar de imponer soluciones nacionales o globales, es necesario un enfoque altamente descentralizado para la evaluación, análisis y acción [12].

Para una mejor comprensión de la problemática desde el punto de vista de Salud Pública se deben tomar en cuenta o enfatizar los diferentes riesgos que se presentan por la desnutrición.

2.2.2. Factores de Riesgo de la Desnutrición Crónica.

Se puede establecer los factores de riesgo de desnutrición en tres niveles:

Riesgo en la comunidad en General.

Los riesgos que pueden surgir en la comunidad en general (cualquier comunidad), son, catástrofes naturales, catástrofes humanas (guerras, cercos, violencia social), explotación política-económica, explotación de los recursos naturales, poca disponibilidad de alimentos, distribución y almacenamiento inadecuado, alto costo de materiales, alteración climática que se refleja en la producción, distribución y almacenamiento de alimentos (sequías, inundaciones y lluvias), dificultad de transporte y comunicación, servicios de salud deficientes, en cantidad y calidad, determinando baja cobertura, y deficiente atención médica, sumados todos como condicionantes de Desnutrición Crónica.

Riesgos Familiares.

Los riesgos familiares tiene diferentes factores condicionantes, entre ellos, el bajo nivel educacional, desempleo de la persona responsable de la familia, condiciones sanitarias malas, baja renta familiar, familia numerosa, separación o ruptura de la unidad familiar, por muerte, separación o no, religiosa o social, trabajo materno, determinando el abandono del amamantamiento y cuidado precario con la población lactante o preescolar.

Factores de riesgo individuales.

Ausencia de cuidados prenatales, periodo intergenésico menor de dos años (agotamiento materno, multiparidad), edad inferior a 18 años o superior a 35 años, bajo peso al nacer (< 2,500g), gemelaridad, destete precoz e introducción de alimentos inadecuados, bajos niveles de inmunización e infecciones agudas y crónicas o de repetición (diarreas agudas), hospitalización en el primer año de vida.

Además de la implicancia de los riesgos debemos considerar las causas demostradas que condicionan a estados de desnutrición, las cuales pueden ser:

Cuadro 1. CAUSAS DE DESNUTRICIÓN.[12]

CAUSAS	CARACTERISTICAS
Disminución de la ingesta dietética.	Déficit Vitaminas. (B12).
Mal absorción.	Enfermedades del tubo digestivo.
Aumento de los requerimientos	Lactantes prematuros, infecciones, traumatismo importante o cirugía
Psicológica	Depresión y/o anorexia nerviosa

2.2.3. FISIOPATOLOGÍA DE LA DESNUTRICIÓN.

Para comprender estas causas se debe hacer énfasis en el proceso fisiopatológico que conlleva a los estados de desnutrición.

La disminución de la actividad física condicionada por la baja ingestión energética proteica es la primera adaptación que sucede en la desnutrición. Si la baja ingestión y el balance negativo se mantienen, el organismo se adaptará a la desaceleración del crecimiento (falta de aprovechamiento del peso y de la estatura) [13].

Únicamente, por la persistencia de las condiciones adversas en sus más variados grados, la adaptación se transformará en una mala adaptación, colocando en evidencia las manifestaciones clínicas recurrentes.

La disminución de la actividad física, del peso y de la estatura, es nada más que los resultados de esos mecanismos de adaptación que se producen durante el proceso de desnutrición.

2.2.3.1. Mecanismos fisiopatológicos comprometidos en el proceso de desnutrición.

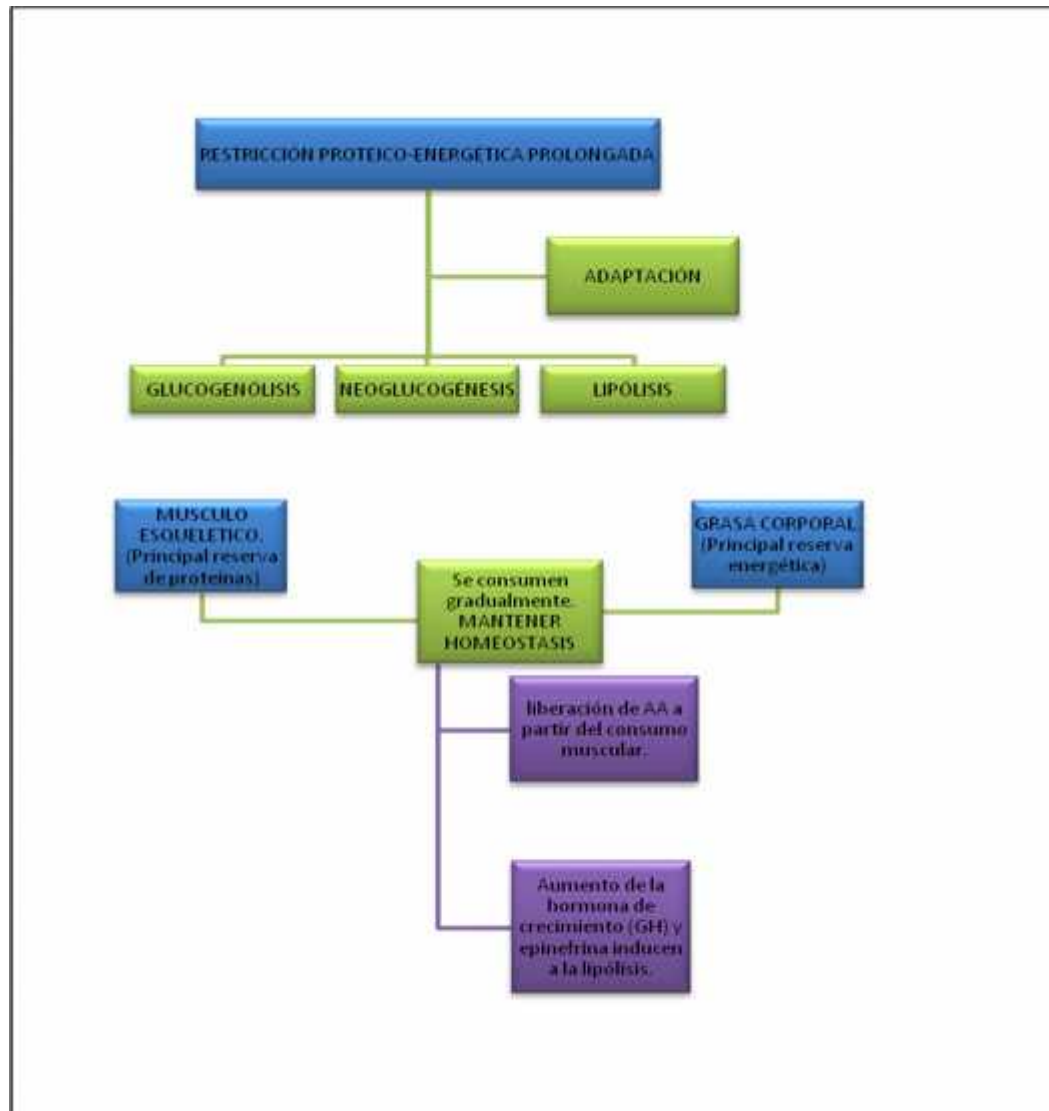
Las adaptaciones al proceso de desnutrición, son varios donde se interponen múltiples funciones y órganos específicos, de los cuales podemos citar:

Depresión de la inmunidad celular. El nivel de inmunoglobulina puede estar incrementado (a costa de infecciones). Los factores humorales, tipo opsoninas, responsables de la fagocitosis, están disminuidos, el nivel de IgA secretora también está disminuido, alterando el mecanismo de defensa de las barreras epiteliales.

Disminución del flujo cardíaco, disminución del flujo plasmático renal y de la filtración glomerular, disminución de la capacidad de concentración urinaria (siendo comunes la poliuria y nicturia).

Mala absorción, generalizada por atrofia de la mucosa intestinal y disminución de las enzimas intestinales como las disacaridasas, proteasas pancreáticas, lipasas, amilasas y sales biliares (mala absorción - diarrea crónica), anemia por depleción proteica de hierro (además de B12, cobre, vitamina C y riboflavina).

Figura 8. Fisiopatología de la Desnutrición Crónica. [12]



2.2.4. CLASIFICACIÓN DE LA DESNUTRICIÓN.

Una vez comprendido el proceso fisiopatológico se debe conocer los diferentes métodos para clasificar la desnutrición.

La clasificación se realiza basados en diferentes parámetros de los cuales se pueden citar: [14]

- Etiología.
- Intensidad. Utilizada para determinar la prevalencia de la desnutrición en estudios demográficos.
- Tiempo de evolución. Define el curso de la desnutrición como agudo (corta duración) o crónica (larga duración).
- Presentación clínica. Para la diferenciación de los tipos marasmáticos, kwashiorkor o mixto.[14]

2.2.4.1. Clasificación por tiempo de Evolución.

En el presente trabajo se hace énfasis en la clasificación por tiempo de evolución, y la relación antropométrica (peso/talla), que divide la desnutrición en aguda y crónica. Donde la desnutrición aguda afecta al peso, y la desnutrición crónica afecta a la talla principalmente, pudiendo también estar afectado el peso.

La evaluación antropométrica es fundamental para clasificar y acompañar al niño desnutrido. [6]

Las medidas antropométricas más comúnmente usadas son: peso, altura, perímetro cefálico, perímetro braquial y pliegue subcutáneo. Estas medidas deben ser realizadas con precisión a lo largo del seguimiento ambulatorio del niño, registradas en gráficos y comparadas con una curva padrón.

El peso es una medida que evalúa mejor la desnutrición aguda, mientras la altura es un criterio más adecuado para medir la desnutrición crónica, por no ser influenciada por factores no nutricionales, tales como edema y diarrea.

2.2.4.2. curvas de crecimiento propuestas por la OMS.

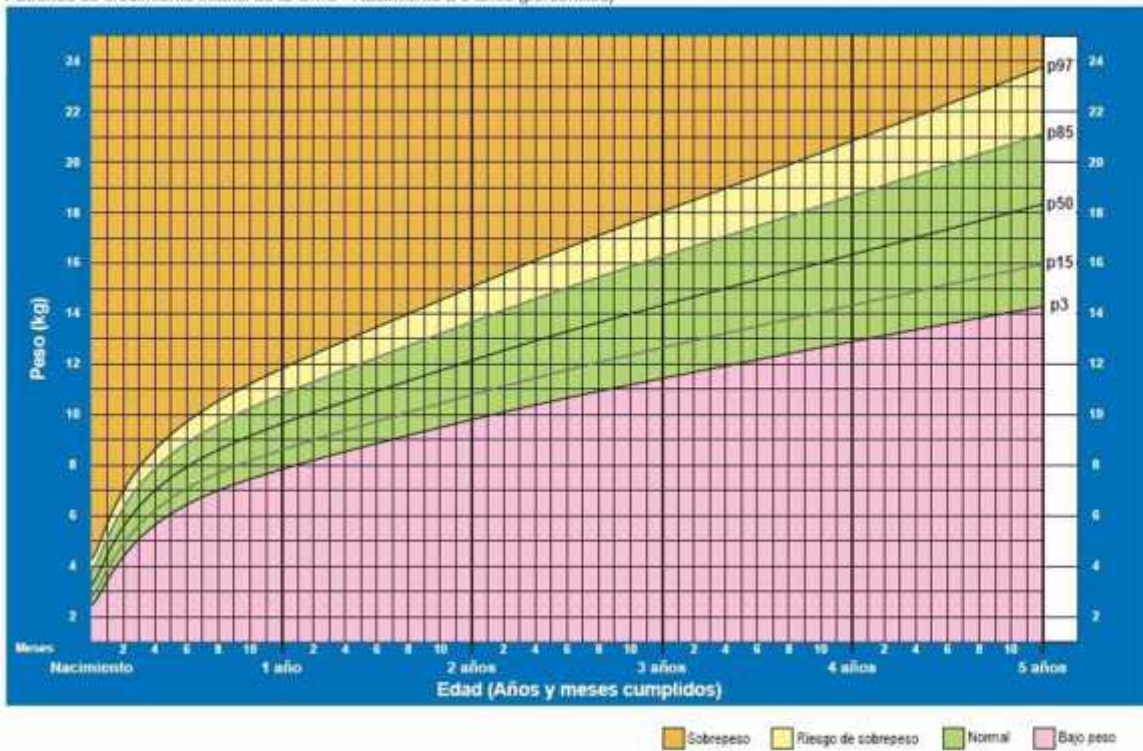
Para realizar un buen seguimiento del peso y talla en los niños menores de 3 años la OMS, ha propuesto las gráficas donde se observan las curvas de seguimiento. [15]

Figura 9. Curvas de peso y talla de la OMS.



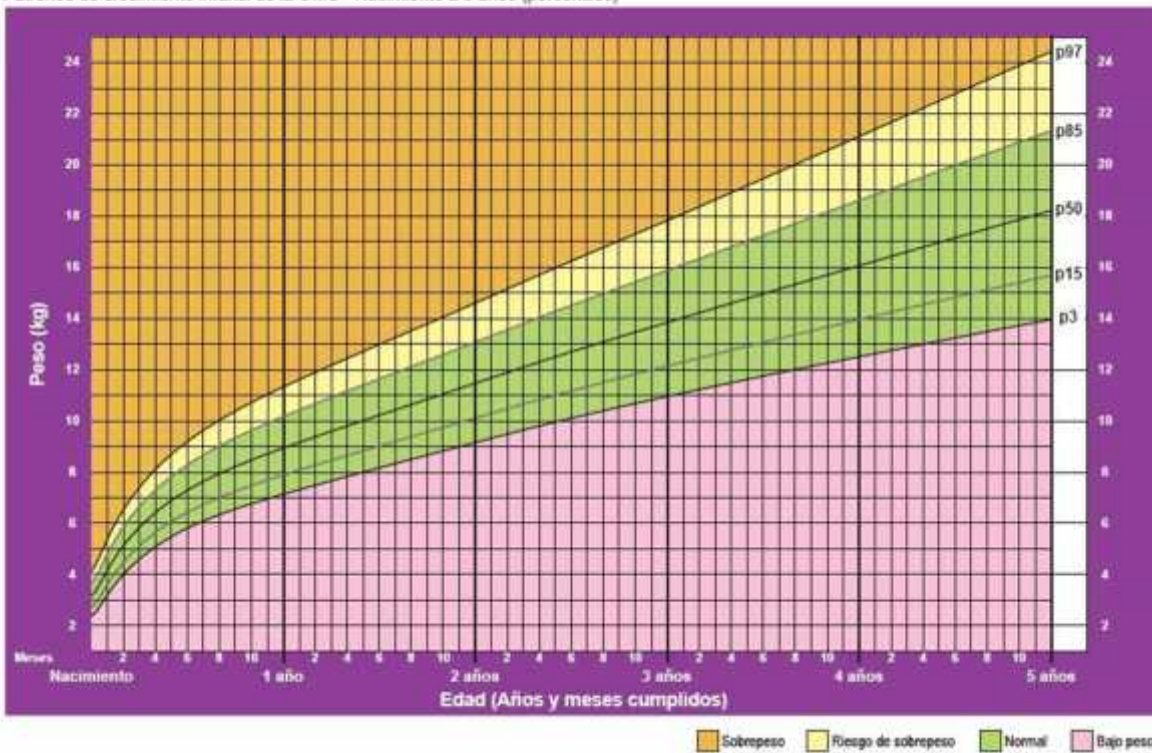
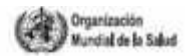
Peso para la edad - NIÑOS

Patrones de crecimiento infantil de la OMS - Nacimiento a 5 años (percentiles)



Peso para la edad - NIÑAS

Patrones de crecimiento infantil de la OMS - Nacimiento a 5 años (percentiles)



Length-for-age GIRLS

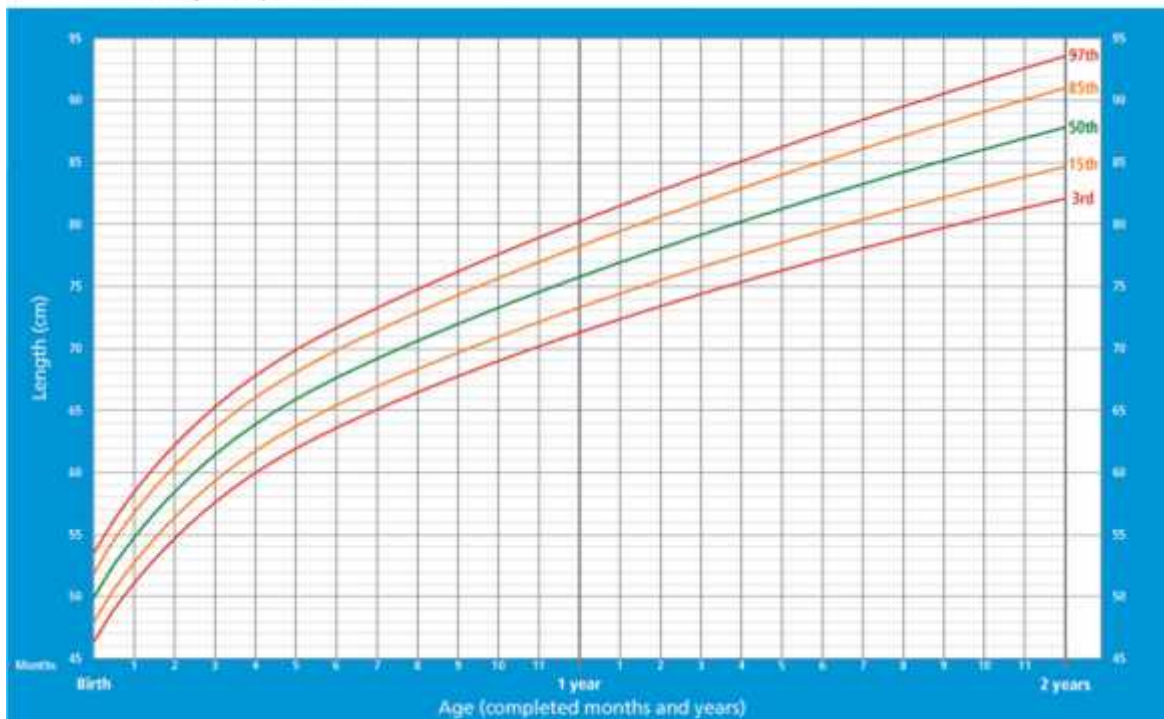
Birth to 2 years (percentiles)



WHO Child Growth Standards

Length-for-age BOYS

Birth to 2 years (percentiles)



WHO Child Growth Standards

2.2.5. PROGRAMA DE DESNUTRICIÓN CERO EN BOLIVIA.

El Programa Desnutrición Cero del Sector Salud (www.sns.gov.bo/), define las siguientes líneas de acción, orientadas a contribuir a la erradicación de la desnutrición, desde el Sector Salud: [7]

- Promoción de las mejores prácticas de alimentación y cuidado de los niños y niñas, con participación social, a través de la estrategia AIEPI-Nut Comunitario, apoyadas por la comunicación interpersonal, así como la aplicación de la estrategia de información, comunicación y educación a través de medios masivos.
- Fortalecimiento de la capacidad institucional para la atención nutricional y de las enfermedades prevalentes de los niños/as menores de 5 años e identificación y tratamiento de niños desnutridos, para lo cual, las intervenciones principales son el AIEPI-Nut Clínico, la Iniciativa Hospitales Amigos de la Madre y el Niño (IHAMN) y el manejo estandarizado del desnutrido severo en hospitales de referencia.
- Por otra parte, el Programa Sectorial, incluye la suplementación con micronutrientes, la promoción del consumo de alimentos fortificados, del alimento complementario “NutriBebé” para niños de 6 a 24 meses y de otro complemento nutricional para mujeres embarazadas desnutridas.

Como puede apreciarse, AIEPI-Nut (Clínico y Comunitario), se constituye en la estrategia central, desde el Sector Salud, para contribuir a la erradicación de la desnutrición de la niñez.¹¹ (12)

Es necesario mencionar que el enfoque multisectorial del Programa Desnutrición Cero, es coordinado por el Consejo Nacional de Alimentación y Nutrición (CONAN), el cual está compuesto por 9 ministerios (Presidencia, Planificación del Desarrollo, Hacienda, Producción y Microempresa, Desarrollo Rural, Agropecuario y Medio Ambiente, Educación y Culturas, Salud y Deportes, Justicia, Agua), representantes de la sociedad civil y es presidido por el Presidente de la República. El Ministerio de Salud y Deportes tiene el rol de Secretaría Técnica.[16]

2.3. RUTAS METABOLICAS Y VITAMINAS IMPLICADAS.

Una vez repasados los conceptos referidos a desnutrición es pertinente consolidar las bases del conocimiento científico referido a las diferentes rutas metabólicas y vitaminas implicadas en el presente trabajo.

2.3.1. ACIDO FOLICO (Vitamina B9).

HISTORIA.

Una observación clave realizada por la investigadora Lucy Wills en 1931 guió la identificación del folato como un nutriente requerido para prevenir la anemia durante el embarazo. La Dra. Wills demostró que la anemia podía ser revertida con levadura de cerveza. El folato fue identificado como una sustancia contenida en la levadura de cerveza durante 1930 y fue extraída de la espinaca después en 1941. Fue sintetizada por primera vez en 1946 por Yellapragada Subbarao. [17]

El ácido fólico, folacina o ácido pteroil-L-glutámico (la forma aniónica se llama folato), también conocido como vitamina B9 o vitamina M (o, factor de fermentación de Lactobacillus Casei, factor de eluato de norita, vitamina B9, factores R, S y U y factor SLR). [17] [18]

DEFINICIÓN.

Es una vitamina hidrosoluble necesaria para la formación de proteínas estructurales y hemoglobina. Es una vitamina del complejo de vitaminas B que se encuentra en algunos alimentos enriquecidos y en forma sintética. El Folato deriva su nombre de la palabra latín folium que significa hoja de árbol. [19]

CARACTERÍSTICAS.

El ácido fólico no posee actividad coenzimática, pero sí su forma reducida, el ácido tetrahidrofólico, representado frecuentemente como FH4. Actúa como transportador intermediario de grupos con un átomo de carbono, especialmente grupos formilo, que se precisa en la síntesis de purinas, compuestos que forman parte de los nucleótidos, sustancias presentes en el ADN y el ARN, y necesarias para su síntesis durante la fase S del ciclo celular, y por lo tanto para la división celular; también actúa en la transferencia de grupos metenilo y metileno. [19]

El ácido fólico es efectivo en el tratamiento de ciertas anemias, además es utilizado en la prevención de defectos del cierre del tubo neural.[20] [21] [22] [23].

Se encuentra en las vísceras de animales, verduras de hoja verde, legumbres, frutos secos y granos enteros, como las almendras y la levadura de cerveza. El ácido fólico se pierde en los alimentos conservados a temperatura ambiente y durante la cocción. A diferencia de otras vitaminas

hidrosolubles, el ácido fólico se almacena en el hígado y no es necesario ingerirlo diariamente. [19].

El déficit del ácido fólico es asintomático hasta que la mujer se embaraza. Si la mujer tiene suficiente ácido fólico en el plasma antes del embarazo, esta vitamina puede prevenir defectos del cierre de tubo neural (DTNs). [20] [23]

La espina bífida, un defecto de nacimiento en la columna, puede producir la parálisis de la parte inferior del cuerpo, la falta de control del intestino y la vejiga, y dificultades en el aprendizaje. Si el feto sufre déficit de ácido fólico durante la gestación también puede padecer anemia megalobástica, ser prematuro o presentar bajo peso al nacer. La madre puede sufrir eclampsia, un proceso que cursa con hipertensión y albuminuria.

Propiedades físicas.[19] [18]

Apariencia: amarillo –
naranja cristalino.

Punto de fusión. 523 K (249,85 °C)

Punto de ebullición. K (-273,15 °C)

Propiedades químicas. (14)

Acidez (pKa): 1st: 2.3, 2nd:
8.3

Solubilidad en agua: 0.0016 mg/ml (25 °C)

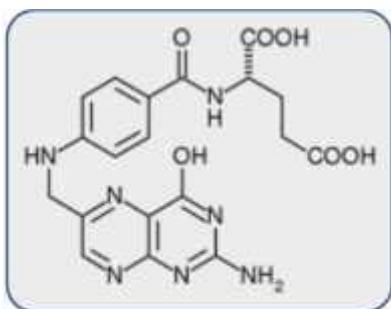
Fórmula molecular.

C₁₉H₁₉N₇O₆

METABOLISMO DEL ACIDO FOLICO.

En la forma de una serie de componentes tetrahidrofolatos, el folato deriva como sustrato en un número de reacciones y también está involucrado en la síntesis de dTMP (timidina monofosfato o 5'-timidilato) (2'-deoxitimidina-5-fosfato) a partir de dUMP

Figura 10. Acido Fólico.



(2'-deoxiuridina-5-fosfato). [18] [24]

Ayuda a convertir la vitamina B12 en una de sus formas coenzimáticas y participa en la síntesis de ADN requerido para un rápido crecimiento celular. [19] [25].

Las vías que llevan a la formación de tetrahidrofolato (FH4) comienzan cuando el folato (F) es reducido a dihidrofolato (FH2), el cual es entonces reducido a tetrahidrofolato (FH4). La dihidrofolato reductasa cataliza ambos pasos. El metileno tetrahidrofolato (CH2FH4) es formado a partir del tetrahidrofolato con la adición de grupos metileno de uno de los carbonos donadores:

formaldehído, serina o glicina. El metil tetrahidrofolato (CH₃FH₄) puede ser formado desde el metileno tetrahidrofolato por reducción del grupo metileno; el tetrahidrofolato final (CH₃-FH₄) resulta de la oxidación del metileno tetrahidrofolato. [18] [25]

La 5,10 metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) es responsable de la reducción de la 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato, un donante de metilo necesarios para la creación de la S-adenosilmetionina (SAM) necesarios para la síntesis de purina y de la timidina. [18] [25]

POLIMORFISMOS DE LA MRHF.

El gen que codifica la MTHFR está en el cromosoma 1p36 y tiene bien descrito varios polimorfismos de nucleótido simple (SNP). [22]

El gen de la MTHFR contiene 2,2 kilobases, y codifica para una proteína de 77 K Da, que constituye una enzima clave en el metabolismo del folato y la homocisteína. El alelo C677T (termolábil), asociado con un aumento de la susceptibilidad para DTN, se caracteriza por una mutación puntual en la posición 677 del exón 4 del gen, que consiste en una transición de una citosina (C) por timina (T). Esta mutación determina la sustitución del aminoácido alanina por valina en el dominio catalítico de la enzima. El genotipo 677TT de la MTHFR, está asociado con una deficiencia parcial de esta enzima que se traduce en la disminución de 50% de la actividad enzimática. En condiciones de baja ingesta de folatos, el genotipo 677TT se asocia a una moderada hiperhomocisteinemia; disminución de la concentración de folatos en el plasma, disminución de la metilación del DNA genómico y riesgo aumentado de tener hijos con DTN; se ha asociado también a síndrome de Down [26] [27], enfermedad cardiovascular, algunos tipos de cáncer y, por consiguiente, a una menor respuesta a la suplementación con folatos.

La sustitución de citosina por timina en el nucleótido C677T cambia una alanina por valina en el aminoácido 222. Esto cambia la actividad catalítica de la enzima, disminuye su afinidad por el cofactor, flavina adenina dinucleótido.

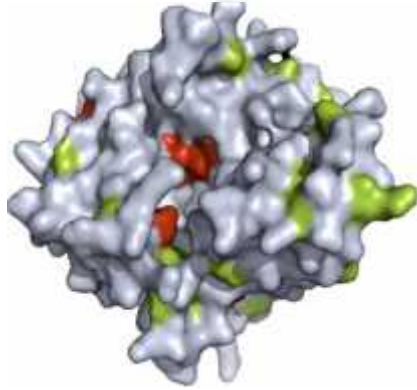
Esta mutación se ha demostrado que causa disminución en los niveles de 5-metiltetrahidrofolato, esta disminución está involucrada en enfermedades

Figura 11. Molécula de la MTHFR



cardiacas, hiperhomocisteinemia y defectos de cierre del tubo neural (DTNs) [20] [21] [23] [28].

Figura 12. Estructura de la proteína de la MTHFR. (28)



En segundo lugar, la sustitución de adenina por citosina en el nucleótido A1298C cambia la glutamina a él aminoácido alanina en la posición 429. Este cambio no parece afectar directamente la función de la enzima, pero puede tener un efecto cuando se combina con el polimorfismo C677T.

Los estudios en poblaciones han descrito la frecuencia y las condiciones de los SNPs de la MTHFR común en muchas poblaciones. Los dos polimorfismos funcionales han sido relacionados con la protección y algunos casos mayor riesgo de algunos tipos de cáncer. Los SNP de la MTHFR, en particular el C677T, también son más frecuentes en ciertas condiciones, tales como enfermedad vascular, los defectos del tubo neural, el aborto espontáneo, leucemias, malignidad de algunos cánceres, fisuras del paladar o paladar hendido, complicaciones en el síndrome de Down, ansiedad, depresión, niños con falla renal, hipertensión, aterosclerosis, artritis reumatoide, cáncer de colon, abortos espontáneos, abruptio placentario, [29] [30] [31] [32] [33] [34] [35] [36] [37] [38] [39] [40] [41] [42] [43] [44] [45] [46] [47] [48] [49] [50] [51]

Existe controversia en cuanto al papel de estos polimorfismos en relación a algunas patologías, como la neoplasia de cuello uterino. [22] [52] [53] [54] [55] [56] [57] [58]

Figura 13. Ubicación del Gen de la MTHFR. [59]

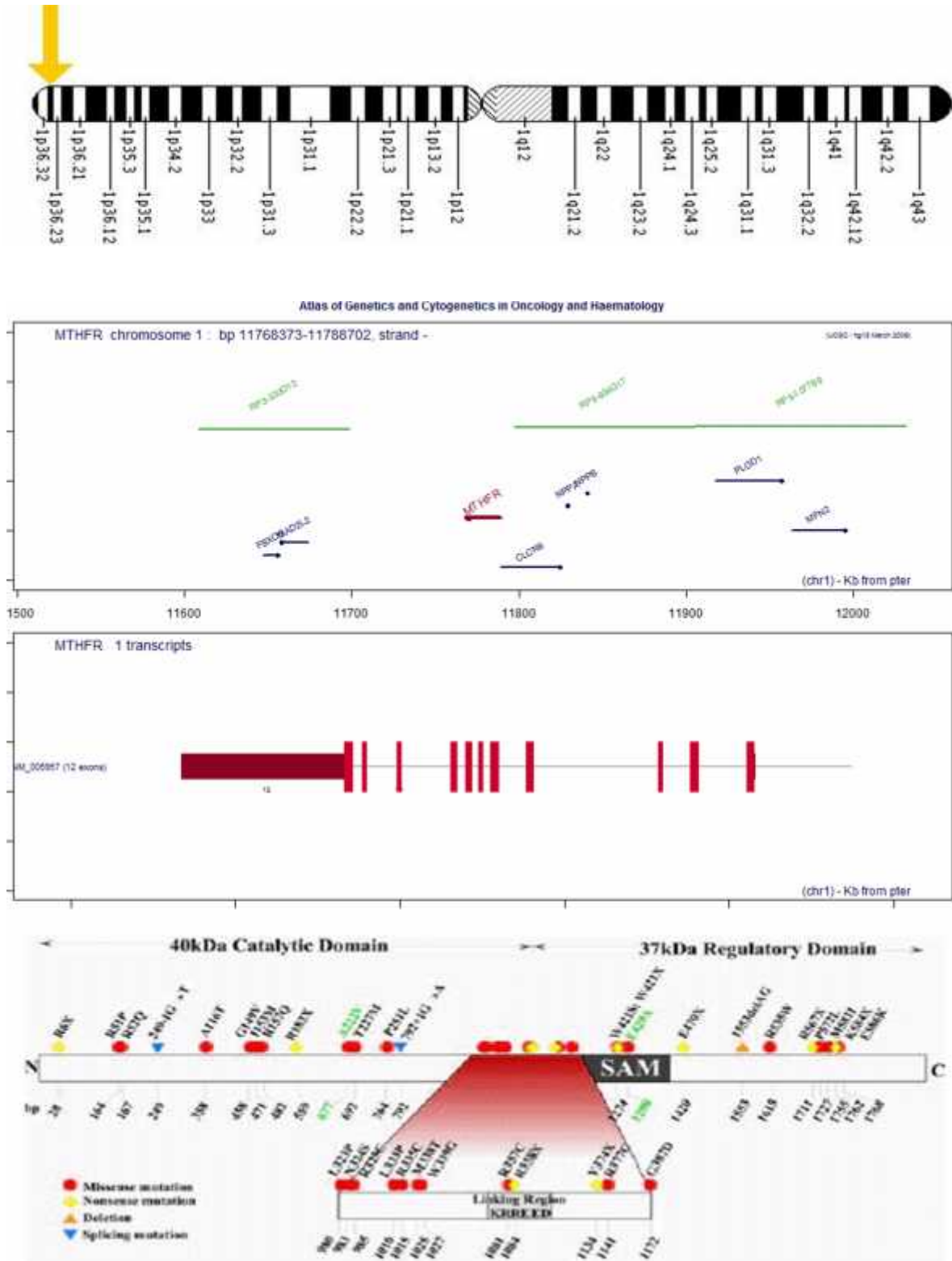
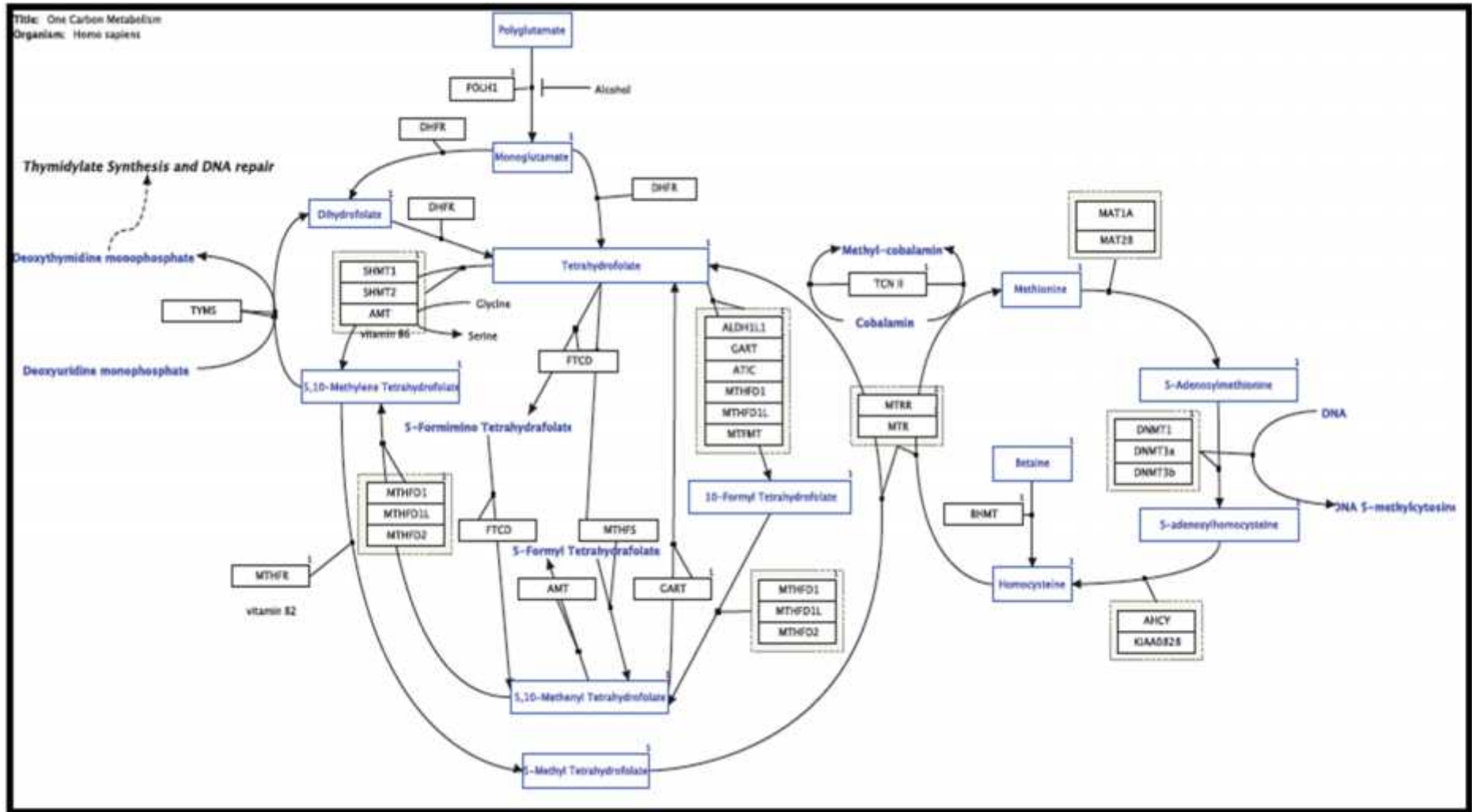


Figura 14. Metabolismo de los Folatos. [60]



Existen drogas que interfiere con la biosíntesis de ácido fólico o tetrahidrofolato. La mayoría son inhibidores de la dihidrofolato reductasa (como la trimetropina y la pirimetamina), las sulfonamidas y las drogas utilizadas contra el cáncer como el metrotexate (ambas inhiben la folato reductasa y dihidrofolato reductasa). [61]

Existe además recomendaciones que se deben tomar en cuenta en relación a la dieta diaria para el aporte de ácido fólico. El estudio NHANES III, 1988 - 91 (The National Health and Nutrition Examination Survey) y la Investigación Continua de Ingesta de Alimentos por Individuos (CSFII 1994-96), indicaron que la mayoría de adultos no consumen la cantidad adecuada de folato. [62]

Cuadro 2. CANTIDAD DIARIA RECOMENDADA DE ÁCIDO FÓLICO. [21]

RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCE FOR FOLATE			
Hombres	Mujeres		
19 o más años	19 o más años	Embarazo	Lactantes
400 µg	400 µg	600 µg	500 µg

1 µg de folato en los alimentos= 0.6 µg de ácido fólico de suplementos y alimentos fortificados.

Sin embargo; el programa de fortificación en Estados Unidos ha incrementado el contenido de ácido fólico comúnmente consumido en alimentos como cereales y granos y como resultado de esto, la mayoría de adultos ahora ingieren cantidades recomendadas de folato diario. [63]

FOLATO EN LOS ALIMENTOS.

Las legumbres (garbanzos, lentejas, etc.). Los vegetales de hoja verde como la espinaca, escarola, guisantes, alubias secas, cereales fortificados, frutos secos, semillas de girasol son fuentes ricas en ácido fólico. Algunos cereales para el desayuno son fortificados con el 25 al 100% del requerimiento diario de ácido fólico. La carne es pobre en ácido fólico, pero este lo encontramos en los hígados de carnes como el de ternera y también en el pescado azul.

Cuadro 3. PRINCIPALES FUENTES DE ÁCIDO FÓLICO.

<i>ALIMENTO</i> <i>(100 gramos)</i>	<i>ÁCIDO FÓLICO</i> <i>(mcg)</i>
Hígado de pollo	738.0
Hígado de res	248.0
Hígado de camero	220.0
Berros	200.0
Perejil	183.0
Yema de huevo	152.0
Cacahuete	145.0
Lechuga	136.0
Espinaca	140.0
Almendras	96.0
Acelga	90.0
Quelite	85.0
Brócoli	71.0
Coliflor	67.0
Chicharo	65.0
Aguacate	62.0
Pan integral (trigo)	39.0
Plátano	22.0

Las principales fuentes de folatos son los vegetales de hojas verdes, el hígado, las frutas y los jugos cítricos, el pan de trigo integral y la levadura de cerveza; sin embargo, el contenido de folatos en los alimentos es bastante variable.

PAPEL BIOLÓGICO DEL ACIDO FOLICO.

El Folato es necesario para la producción y mantenimiento de nuevas células. Esto es especialmente importante durante periodos de división y crecimiento celular rápido como en la infancia y embarazo. El folato es necesario para la replicación del ADN. Por esto, la deficiencia de folato dificulta la síntesis y división celular, afectando principalmente la médula ósea, un sitio de recambio celular rápido. Debido a que la síntesis de ARN y proteínas no se obstaculiza completamente, se forman células sanguíneas largas o sin forma regular llamadas megaloblastos, resultando en anemia megaloblastica. [64]

DEFICIENCIA DE ACIDO FOLICO FOLATO.

Una deficiencia de folato puede ocurrir cuando las necesidades del nutriente están aumentadas, cuando la ingesta diaria de folato es inadecuada y cuando el cuerpo excreta más folato de lo usual (pérdidas). Algunas investigaciones indican que la exposición a rayos ultravioletas incluyendo las cámaras de bronceado, puede conducir a deficiencia de ácido fólico. La evolución del color de la piel en humanos es particularmente controlada por la necesidad de tener un color oscuro en la piel para proteger el ácido fólico de los rayos ultravioletas. [28] [65] [66]

La deficiencia de ácido fólico se manifiesta con diarreas, pérdida del apetito, pérdida de peso. Signos adicionales son debilidad, lengua adolorida, dolor de cabeza, taquicardia, irritabilidad y desórdenes de conducta. Las mujeres con deficiencia de folato que están embarazadas, en su mayoría tienen niños de bajo peso al nacer, prematuros y con defectos del tubo neural. En adultos, la anemia (macrocítica, megaloblástica) es un signo avanzado de deficiencia de folato. En niños, la deficiencia de folato puede retardar el crecimiento.

ABSORCIÓN.

Se obtiene a partir de alimentos de origen vegetal, en especial de hojas verdes como la espinaca, lechuga, espárrago y brócoli. Algunas frutas, particularmente los cítricos, el melón y la banana contienen cantidades importantes de Ac. Fólico. Finalmente, y en mucha menos cuantía encontramos folatos en derivados animales, dentro de los cuales el hígado es el más rico en ésta sustancia.

Es importante destacar que si bien se encuentra ampliamente distribuido en los alimentos, la cocción de los mismos destruye hasta el 95% de los folatos contenidos en ellos, debido a que son altamente sensibles al calor. Debido a que los alimentos contienen folatos en forma de poliglutamatos, previamente a su absorción debe ser hidrolizado a monoglutamato. Esta reacción es catalizada por la enzima folato hidrolasa que se encuentra en el ribete en cepillo de la mucosa intestinal. El metil-tetrahidrofolato (metil-THF) es absorbido rápidamente en los enterocitos del yeyuno. [67]

TRANSPORTE.

El THF es transportado por la sangre en su mayoría en forma libre. Una porción sin embargo se une a la albumina y a otras proteínas plasmáticas. Desde allí será captado ampliamente por todos los tejidos, en especial aquellos con alto índice mitótico.

RESERVAS.

Se almacena en el hígado. Las reservas de folatos son pequeñas, y en condiciones de balance negativo, o sea, cuando se utiliza más que lo que se incorpora, se produce el déficit en un plazo no mayor a los 3 o 4 meses.

Causas de déficit: Puede ocurrir por una dieta baja en folatos o bien por malabsorción intestinal de los mismos. La deficiencia en la dieta es más frecuente en alcohólicos crónicos, indigentes y pacientes muy ancianos que, en general, se acompaña de otras carencias vitamínicas. Algunos fármacos, como por ejemplo los anticonceptivos orales, pueden interferir en la absorción de folatos.

Una causa no menos importante es el concepto de deficiencia relativa, en donde la demanda aumentada de THF excede a la incorporación de la dieta, de manera que si bien el aporte de folatos en el alimento es normal, no alcanza para satisfacer las

necesidades metabólicas aumentadas del paciente. Esto ocurre por ejemplo en el embarazo, lactancia, y en los cuadros clínicos asociados a aumentos en la eritropoyesis (como las anemias hemolíticas).

Incluso puede estar aumentada su demanda en el cáncer diseminado, en donde la alta tasa de división celular agota las reservas de folato rápidamente.

FUNCIONES BIOLÓGICAS.

El THF interviene en la síntesis del ADN y en la metilación de la homocisteína para formar metionina. El THF sin embargo se obtiene a partir del precursor N5-metil- THF, por lo que se necesita una enzima que catalice la reacción. Esta enzima es la metionina sintasa, que utiliza como cofactor aceptor del grupo metilo a la vitamina B12. De allí surge la íntima relación entre la cobalamina y el ácido fólico, ya que sin la primera no podemos obtener THF para la síntesis del ADN, aunque haya alta concentración de folatos en sangre. Por lo tanto, el déficit de ácido fólico causara muchos de los síntomas y signos del déficit de vitamina B12, con excepción de los trastornos neurológicos por alteración de la mielina, ya que el THF no participa en esta vía metabólica.

2.3.2. METABOLISMO DE LA COBALAMINA (Vitamina B12).

Es importante conocer también el metabolismo de la Cobalamina (Vitamina B12) por la relación que existe en el metabolismo y las deficiencias de ácido fólico y vitamina B12 pueden dar lugar a aumento de la velocidad del daño y metilación del DNA, los cuales son importantes factores de riesgo para el cáncer y un mayor nivel de homocisteína un factor de riesgo importante

para el aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares. Estos mismos defectos también pueden desempeñar un importante papel en anomalías del desarrollo neurológico.[64].

ABSORCIÓN.

La Vitamina B12 o Cobalamina se obtiene a partir de alimentos de origen animal, en especial del hígado, la carne y el pescado, como también en el huevo y productos lácteos. Los microorganismos (bacterias) también pueden sintetizar ésta vitamina y los vegetales contienen muy pequeñas concentraciones de B12, las cuales aumentan por contaminación bacteriana.

El proceso de absorción de la cobalamina es complejo, y requiere una serie de pasos intermedios que permiten que ésta pueda ser reconocida por receptores específicos a nivel del ileon distal. Luego de la deglución, la Vitamina B12 es separada del alimento que la contiene por acción de la pepsina liberada en la cámara gástrica. Una vez libre en el estómago, se une a la “proteínas ligadoras R” o “cobalofilinas” que son secretadas en la saliva y deglutidas junto con el alimento. Ya en el duodeno, el complejo cobalofilina – Vit. B12 se descompone por acción de las proteasas pancreáticas, y es allí que la cobalamina nuevamente libre se une al factor intrínseco. Este último es liberado por las células parietales de la mucosa del fundus gástrico, pero se no se une a la B12 en un medio ácido, por ello el complejo B12 – factor intrínseco se forma a pH duodenal. Este último finalmente es endocitado por los enterocitos del ileon terminal, que expresan receptores específicos para el factor intrínseco, por lo cual este es un mecanismo absorbivo de alta eficiencia.

Se ha demostrado que incluso en casos de déficit total de factor intrínseco, la administración de grandes dosis de vitamina B12 por vía oral produce un aumento de las concentraciones plasmáticas y de sus reservas, por lo que hoy se cree en la existencia de un mecanismo de absorción de B12 independiente del factor intrínseco, aunque de baja eficiencia (aproximadamente 1%). [18] [64]

TRANSPORTE.

Dentro del enterocito ésta vitamina se une a una proteína transportadora denominada “transcobalamina II”. El complejo es liberado a la sangre por el polo basolateral de la célula entérica y circulará hasta ser reconocido en los diferentes órganos de la economía. La captación de B12 unida a transcobalamina II será mayor en aquellos tejidos con alto recambio celular (alta tasa mitótica), como por ejemplo el epitelio del aparato

gastrointestinal y las células hematopoyéticas de la médula ósea. La transcobalamina I y III se relacionan con el almacenamiento y posiblemente la eliminación de la vitamina B12. [18]

RESERVAS.

La cobalamina se almacena en el hígado y en condiciones de déficit total de incorporación a través de la dieta, se contaría con reservas hepáticas por aproximadamente 3 años.

CAUSAS DE DÉFICIT.

Si bien son muchas las causas, puede deberse a una dieta inadecuada o escasa en B12, un trastorno en su absorción intestinal, un aumento de las demandas, o bien competencia por su captación (por ejemplo por parásitos intestinales). Si bien existen condiciones de ausencia total de incorporación de B12 en la dieta, esta no es una causa muy frecuente de déficit, debido a que está ampliamente distribuida en los derivados animales y que las reservas hepáticas son duraderas. No ocurre lo mismo en los regímenes de tipo vegetariano estricto.

La causa más frecuente del déficit es un trastorno en el complejo proceso de absorción de la B12. Por ejemplo, el déficit de ácido clorhídrico y/o de pepsina que dificulta la separación de la vitamina del alimento, o deficiencia de factor intrínseco (ver anemia perniciosa) que dificulta su captación intestinal. También en trastornos de la secreción pancreática, por falta de proteasas que actúen a nivel duodenal separando la cobalamina de la proteína R.

FUNCIONES BIOLÓGICAS.

La Vitamina B12 participa en dos reacciones químicas esenciales para los seres humanos; una de ellas interviene en la síntesis de las bases del ADN, la segunda es intervenir en la isomerización del malonil-CoA a succinil-CoA.

En la síntesis del ADN, la cobalamina tiene un papel central, siendo el cofactor de una doble vía metabólica. Por un lado actúa como aceptor de un grupo metilo en la reacción de desmetilación del ácido N5-metil-tetrahidrofolico a tetrahidrofolato.

Por otro lado, como dador de grupos metilo a la reacción de metilación del aminoácido homocisteína que forma metionina. Ambas reacciones son catalizadas por la enzima "metionina sintasa". De manera que un déficit de B12, impide la obtención de THF a partir de N5-metil-THF.[68]

El THF es necesario como cofactor de la enzima Timidilato sintasa que media la transformación del dUMP a dTMP, este último precursor directo en la síntesis del ADN. La consecuencia directa del déficit es una alteración

en la replicación celular, que se manifestará en los tejidos de alto recambio como la mucosa gastrointestinal y el hemopoyético de la medula ósea, dando una anemia megaloblástica junto a alteraciones de los glóbulos blancos. Sumado a esto, síntomas neurológicos por alteración de la vaina de mielina debido a que se forman ácidos grasos anormales por la deficiencia del succinil-coA.

DEFICIENCIA INDIVIDUAL O COMBINADA DE LA HOMOCISTEÍNA, VITAMINA B12, B6 Y ÁCIDO FÓLICO.

La deficiencia individual o combinada de las vitamina B12, B6 y ácido fólico, puede ser causa de hiperhomocisteinemia, lo cual es lógico al considerar la participación de estas vitaminas en las dos principales rutas metabólicas de la homocisteína (Anderson et al, 2004; Ardawi et al, 2002; Lee et al, 2003; Leon et al, 2004; Lim et al, 2002; Walkers et al, 2003; Mark et al, 2002; Mattson et al, 2002; Moleerergpoom et al, 2004; Sassi et al, 2002). Las más estudiadas han sido la vitamina B12 y ácido fólico.

En 600 pacientes hospitalizados, con una edad media de 79 años, (Ventura et al, 2001) observaron que las concentraciones plasmáticas de homocisteína correlacionaba de forma negativa con las concentraciones plasmáticas de ácido fólico.

Miller et al (2003) en un estudio de 1789 pacientes de más de 60 años, encontraron que la homocisteína depende de forma importante del ácido fólico y la vitamina B12.

Marengoni et al (2004), en un estudio de 214 pacientes de más de 65 años ingresados en un hospital geriátrico, vieron que el 24% tenían déficit de vitamina B12 o de ácido fólico. El 86% de estos pacientes tenían hiperhomocisteinemia (homocisteína plasmática mayor de 12 $\mu\text{mol/l}$) mientras que el 64% de los pacientes sin déficit de vitamina B12 ni de ácido fólico tenían hiperhomocisteinemia. Estas diferencias fueron significativas.

Ducloux et al (2000), en un estudio de 207 pacientes con insuficiencia renal crónica estable que habían sido trasplantados del riñón, observaron que la homocisteína correlacionaba de forma negativa con el ácido fólico.

Montaudon et al (2003), recogieron 196 pacientes (edad media de 85 años), estudiados por gastritis atrófica a los que se les realizó una endoscopia digestiva alta.

Observaron que la hiperhomocisteinemia correlacionaba con el déficit de cobalamina.

James et al (2004), en un estudio randomizado y doble ciego de 3680 pacientes con edad media de 66 años, que habían padecido un accidente

vascular isquémico y con un tiempo de seguimiento de 2 años, observaron que aquellos pacientes que recibían dosis terapéuticas de vitaminas B12, B6 y ácido fólico (1827 pacientes) tenían una reducción media de 2 $\mu\text{mol/l}$ de homocisteína con respecto a aquellos pacientes que recibían dosis muy bajas de vitaminas (1853 pacientes). Sin embargo, ésto no repercutió en las incidencias de infarto agudo de miocardio, muerte, ni nuevos episodios de ictus isquémico.

Strassburg et al (2004) estudiaron a 252 sujetos aparentemente sanos con edades comprendidas entre 60 y 87 años y a 99 jóvenes entre 20 y 34 años. Observaron que el aumento de la homocisteína en las personas de más edad con respecto a los jóvenes era debido a que los primeros tenían concentraciones plasmáticas más bajas de vitamina B12, B6 y ácido fólico; además, en el grupo de personas mayores, la homocisteína correlacionaba con la edad con independencia de las concentraciones de vitaminas.

Lim et al (2002) estudiaron a 195 voluntarios sanos con edades comprendidas entre 23 y 72 años y observaron que la homocisteína correlacionaba de forma negativa con el ácido fólico y con la vitamina B12.

3. JUSTIFICACIÓN

Los efectos de la desnutrición crónica en el desarrollo físico y mental, sobre todo en edades tempranas del ciclo vital, son diversos y sus repercusiones más evidentes se reflejan en la elevada prevalencia de enfermedades infecciosas, elevada mortalidad, deserción escolar, baja productividad y bajo desarrollo ponderal estatural entre otros factores que caracterizan el perfil de un país “en vías de desarrollo”, como Bolivia.

A nivel mundial los niños por su condición de dependencia e imposibilidad de asumir sus derechos, es responsabilidad de los adultos el darles mejor calidad de vida y salud, la desnutrición continúa siendo un problema significativo. La pobreza, los desastres naturales, los problemas políticos y muchos otros más han demostrado que la desnutrición y el hambre no son elementos extraños a este mundo. Y en nuestro país más aún, la nutrición es la base para evitar enfermedades comunes en los países en desarrollo. Se debe tomar en cuenta que los niños de Luribay menores de tres años de edad con desnutrición crónica no respondieron a las acciones de intervención nutricional del programa de desarrollo y crecimiento aplicado por Save the Children, a diferencia de los niños menores de tres años de los municipios vecinos, sumada esta situación a los antecedentes mencionados, existe una fuerte justificación para realizar la presente investigación.

Además, la trascendencia de estudios científicos multidisciplinarios como el que se propone en este trabajo, radica en que existe marcadas diferencias funcionales, con características adicionales de desnutrición crónica importante (problema priorizado por el Plan Nacional de Desarrollo), falta de hábitos higiénicos, medidas de protección personal, presencia de plaguicidas residuales en productos alimenticios, aguas, suelo y aire, se convierten en población vulnerable para el proceso salud enfermedad, características comunes de las poblaciones pobres de Bolivia y específicamente de los niños en el Municipio de Luribay.

Además, considerando que la prevención de la desnutrición crónica, se basa en una nutrición adecuada, acorde con las características geonómicas individuales, este trabajo pretende dar una herramienta o información científica relevante, para proponer acciones acertadas de salud que respondan responsable y eficientemente al bienestar de la sociedad, considerando particularidades sobre condiciones de salud por efectos de la pobreza e insalubridad, a través de la evaluación de la variabilidad interindividual que está dada por los polimorfismos de enzimas de detoxificación de xenobióticos (J. S. Leedor. 1996) y de las enzimas que inciden sobre el estado nutricional (Fenech. 2005).

Por otro lado, el déficit de cofactores indispensables para el normal funcionamiento de las rutas metabólicas relacionadas con los folatos, vitamina B12 podría dar lugar al desarrollo de enfermedades crónicas como desnutrición y de manera indirecta y/o directa relacionarse con una peor evolución a mediano plazo con desnutrición crónica.

No ha sido estudiada hasta el momento la posible relación de la desnutrición crónica y los polimorfismos de la metilentetrahidrofolato reductasa, que podrían así mismo justificar su hipotética influencia sobre la desnutrición crónica.

CAPITULO IV

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar si son factores de riesgo para la desnutrición crónica, los polimorfismos C677T y A1298C del gen de la Metilen Tetra Hidro Folato Reductasa, en niños menores de 3 años del Municipio de Luribay.

4.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar la relación entre la presencia de los polimorfismos C677T y A1298C, del gen de la MTHFR y el estado nutricional en niños menores de 3 años del municipio de Luribay.
- Determinar el estado nutricional en menores de 3 años a través del Programa de Crecimiento Comunitario, Save the Children.
- Determinar si los polimorfismos de la enzima MTHFR son modificadores del estado nutricional.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Serán factores de riesgo para la desnutrición crónica, los polimorfismos C677T y A1298C del gen de la Metilen Tetrahidro Folato Reductasa, en niños menores de 3 años del Municipio de Luribay?

6. HIPÓTESIS

La presencia de determinadas variantes alélicas del gen de la Metilen Tetrahidro Folato Reductasa, como ser los polimorfismos C677T y A1298C, parece relacionarse con diferentes enfermedades que afectan al desarrollo y crecimiento principalmente a defectos del cierre del tubo neural, y podría tener influencia en la aparición y severidad de enfermedades crónicas como ser la desnutrición crónica.

Asumo, que la frecuencia de los polimorfismos C677T y A1298C de la MTHFR, son factores de riesgo para desnutrición crónica en niños menores de 3 años del municipio de Luribay, y la frecuencia de los polimorfismos es mayor en nuestro grupo de casos en relación al grupo de control del municipio.

Tomando en cuenta que los niños menores de tres años con desnutrición crónica, habitantes de Luribay, no han respondido a las acciones de salud del programa de Crecimiento y Desarrollo, a diferencia de los niños menores de tres años de los municipios aledaños, supongo que pueden presentar susceptibilidad genética incrementada, por la presencia de polimorfismos de la MTHFR relacionados con bajos niveles de ácido fólico en plasma, por tanto pretendo, evaluar la relación entre el estado nutricional y los polimorfismos genéticos, con el objeto de identificar estrategias de prevención, e intervención nutricional personalizada, eficiente en este grupo poblacional vulnerable.

CAPITULO V

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. DISEÑO DE INVESTIGACION

Caso - Control

7.2. ZONA DE ESTUDIO

MUNICIPIO DE LURIBAY, ASPECTOS ESPACIALES.

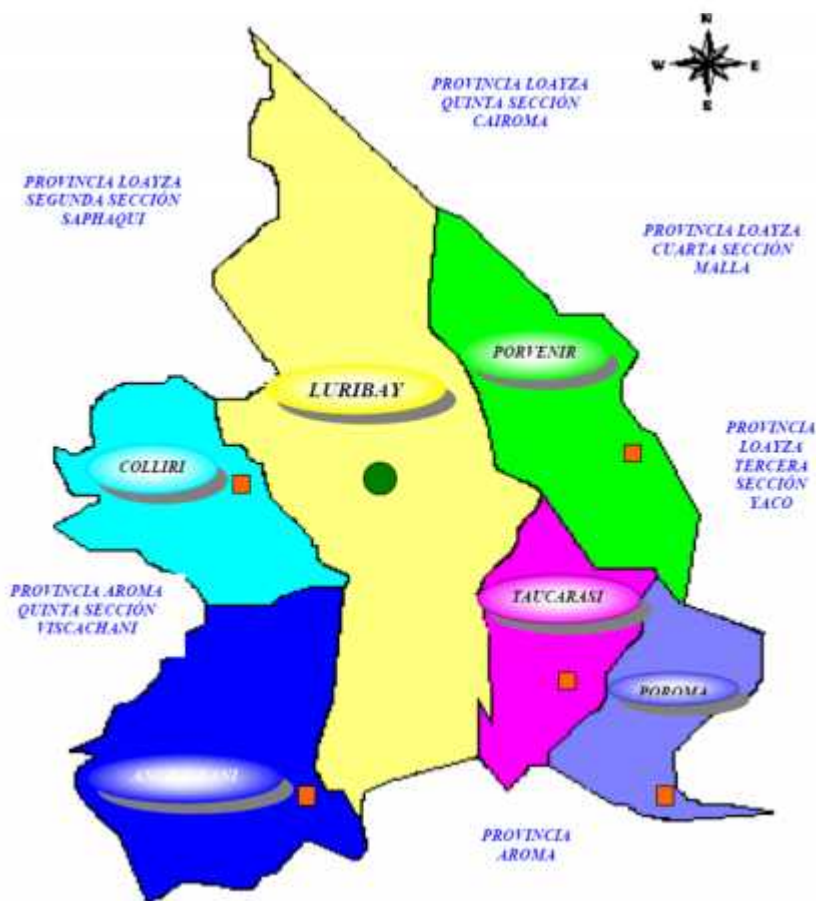
LATITUD Y LONGITUD.

El Municipio de Luribay se encuentra ubicado a 17º 04' de Latitud Sur y 67º 40' de Longitud Oeste del meridiano de Greenwich y políticamente se constituye en la capital de la Provincia Loayza, siendo su Primera Sección.

LÍMITES TERRITORIALES.

El Municipio se encuentra situado en la parte Sur de la Provincia Loayza y sus límites son: Al Norte, con la Quinta Sección Cairoma, al Sur con la Provincia Aroma, al Noroeste con la Segunda Sección Sapahaqui, al Este con la Cuarta Sección Malla y Tercera Sección Yaco

Figura 15. Provincia Loayza, División Política, Primera Sección Municipal Luribay



EXTENSIÓN.

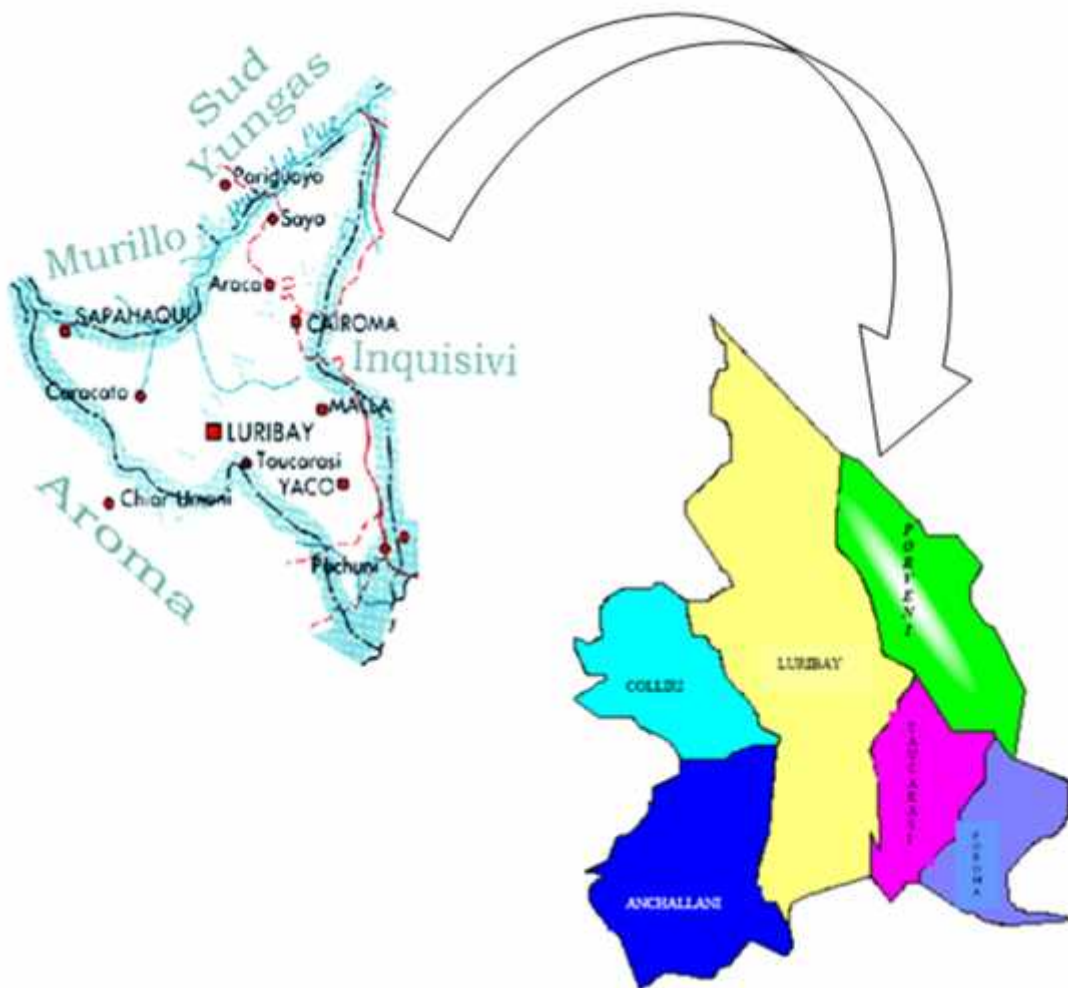
Según datos oficiales del Instituto Geográfico Militar, la Primera Sección Municipal Luribay, posee una superficie aproximada de 475 Km².

DIVISIÓN POLÍTICO – ADMINISTRATIVA.

La Provincia Loayza, políticamente se halla dividida en 5 Secciones:

Cuadro 4. SECCIONES DE LA PROVINCIA LOAYZA

Primera Sección	Luribay
Segunda Sección	Sapahaqui
Tercera Sección	Yaco
Cuarta Sección	Malla
Quinta Sección	Cairoma



DISTRITOS Y CANTONES.

La Sección Municipal Luribay está dividida en 6 Cantones:

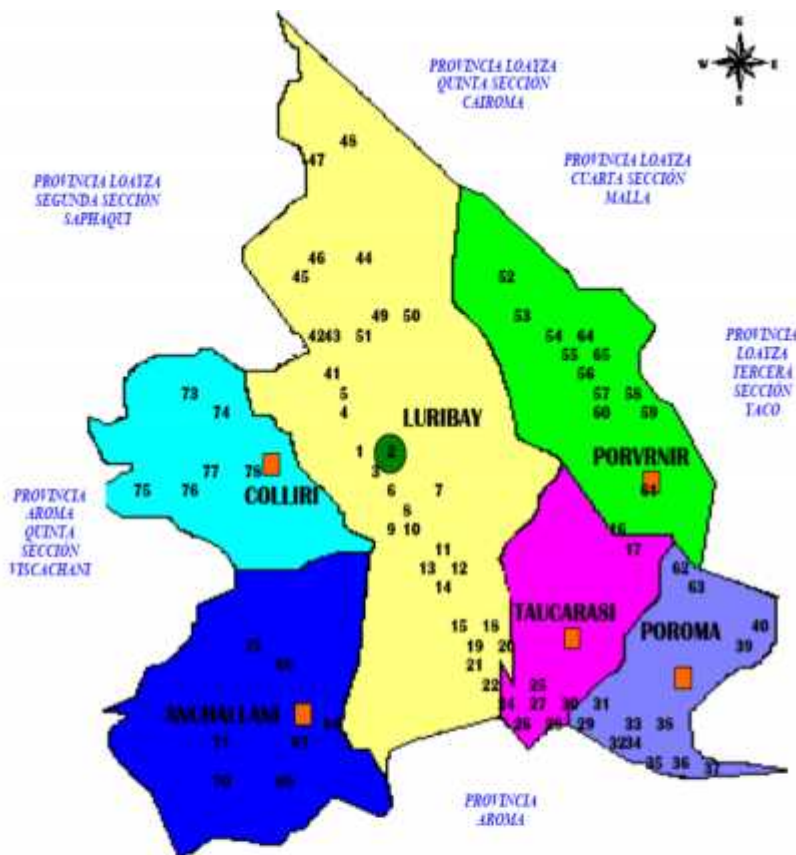
Cuadro 5. CANTONES DEL MUNICIPIO DE LURIBAY

1. Anchallani	4. Taucarasi
2. Colliri	5. Porvenir
3. Poroma	6. Luribay

COMUNIDADES Y CENTROS POBLADOS.

La Jurisdicción Municipal de Luribay actualmente está dividida en 78 comunidades 10 más relacionado al anterior Plan de Desarrollo Municipal, las mismas están organizadas en 13 subcentrales.

figura 16. Comunidades y Centros Poblados del Municipio de Luribay



1 San Pedro	17 Alto Collpani	33 Chapichapini	49 Anquioma Bajo	65 Villa Granada
2 Luribay	18 Tamasa	34 Ajata	50 Anquioma Alto	66 Queroma
3 Calvario	19 Villa Florida	35 Poroma	51 Paica	67 Anchallani
4 Achocara Alto	20 Mulincati	36 Choquepampa	52 Azambo	68 Sanucachi
5 Achocara Bajo	21 Pucuma	37 Capinota	53 Chinchá	69 Tume
6 Peña Colorada	22 Carayapu Bajo	38 Condado	54 Chirimaya	70 Ticoma
7 Catavi	23 Carayapu Alto	39 Villa Huancane	55 Matara	71 Cochuni
8 Cutty Pampa	24 Mojon	40 Huancane	56 Oquepampa	72 Totora
9 Cutty Rincon	25 Peña Taucarasi	41 Aucamarca	57 Villa San Juan	73 Ocellane
10 Cutty Molino Pampa	26 Taucarasi	42 Alto Rosariani	58 Cotaña	74 Klupi
11 Callavuri	27 Llapallapani	43 Vidacora	59 Cala Cala	75 Huichuraya
12 Bambaru	28 Uyupampa Rincon	44 Bravillo	60 Choquesa	76 Suqui
13 Collpani	29 Huya Pampa	45 Bravo	61 Porvenir	77 Ojellani
14 Cachualla	30 Altos Huru	46 Bravo Salviani	62 Mumuntani	78 Colliri
15 Cachualla Alto	31 Rancho Grande	47 Lacayani	63 Luquiri	
16 Pinani	32 Ancharate	48 Samaca	64 Ancocora	

CARACTERÍSTICAS DEL ECOSISTEMA.

PISOS ECOLÓGICOS.

Según el Mapa Ecológico de Bolivia, Luribay corresponde a:

REGIÓN : Subtropical
 PISO : Montano Bajo
 CLASE : Estepa espinosa montano bajo subtropical

Por los rangos altitudinales y las características fisiográficas observadas en el Municipio, se definieron dos pisos ecológicos:

7.3. POBLACION ESTUDIADA

Para realizar el presente trabajo, se coordinó con las autoridades de las comunidades de Azambo, Colliri, Matara,

Figura 17. Comunidades de Estudio



comunidades de Azambo, Colliri, Matara, Luribay (comunidad), Callaviri, Pucuma, Taucarasi y Poroma, todas ubicadas en la Primera sección de la provincia Loayza (MUNICIPIO LURIBAY), del departamento de La Paz.

El Municipio de Luribay cuenta en la actualidad con 9.004 habitantes, Los datos demográficos de niños menores de 3 años, se tomaron de "The Save The Children" (Programa de Crecimiento y Desarrollo) No cuenta con todos los servicios básicos, faltando agua potable, y alcantarillado.

UNIVERSO DE ESTUDIO.

La población de estudio del presente trabajo, abarca la totalidad de los niños desnutridos, del municipio de Luribay, que no respondieron a la primera acción de intervención del Programa de Crecimiento y Desarrollo (The Save The Children), que fueron 172 niños, de los cuales 128 fueron niños sin desnutrición y 42 con desnutrición crónica, de acuerdo a la evaluación del Programa Crecimiento y Desarrollo. Es importante aclarar que la última evaluación de este programa se realizó el mes de Junio de 2008, y la toma de muestra se realizó el mes de Noviembre del mismo año, motivo por el cual en el grupo de niños menores de 3 años, existen mayores de 36 meses.

Previo proceso de información y firma del consentimiento informado

Cuadro 6. TOTAL POBLACIÓN BENEFICIARIA DIRECTA

GRUPOS POR EDAD DE POBLACIÓN BENEFICIARIA DIRECTA	NÚMERO DE BENEFICIARIO	SEXO		ÁREA GEOGRÁFICA	
		mujeres	hombres	urbana	rural
Niños <3a	170	84	86		X
Totales	170	84	86		X

Fuente de la información: Save the Children Noviembre 2008.

DENOMINACIÓN DE CASOS.

Se denominó casos a aquellos niños menores de 3 años, de ambos sexos diagnosticados clínicamente como desnutridos crónicos, que no respondieron a la primera acción de intervención del Programa de Crecimiento y Desarrollo (The Save The Children), y que cumplan los criterios de inclusión.

Se realizó la toma de muestra mediante hisopeado de la mucosa bucal.

DENOMINACION DE CONTROLES.

Se consideraron controles a los niños menores de 3 años, del Municipio de Luribay, que no estén con desnutrición crónica, pertenecientes a las poblaciones incluidas en el Programa de Crecimiento y Desarrollo (The Save The Children).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- * Niños menores de tres años del municipio de Luribay, de las poblaciones incluidas en el Programa de Crecimiento y Desarrollo (The Save The Children).
- * Niños de familias residentes de Luribay en los últimos 5 años.
- * Niños que cuenten con el consentimiento informado, firmado por sus padres o apoderados.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- * Niños que reciban tratamiento con fármacos, radio y/o quimio terapia.
- * Niños con enfermedades crónicas y agudas, diferentes a la desnutrición crónica.
- * Niños de familias que hayan migrado a la región de estudio, en los últimos tres años.

Consideraciones de Género

El proyecto fue realizado en forma equitativa en ambos géneros. Priorizando al grupo más vulnerable de la sociedad, niños menores de 3 años.

7.4. VARIABLES

Edad, sexo, estado nutricional y polimorfismos genéticos.

Variable Resultado.

Desnutrición Crónica.

Variable de Exposición.

Polimorfismos de la MTHFR 1298 Y 677.

Variabes de Control.

Edad

Sexo

7.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Cuadro 7. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Nivel de Medición	Categorías
Edad	Tiempo de vida	Cuantitativa discreta	0 to 6 Meses; 7 to 12 Meses; 13 to 18 Meses; 19 to 24 Meses; 25 to 30 Meses; 31 to 36 Meses.
Genotipos	MTHFR C677T, A1298C	Cualitativa	Para 677 CC; CT; TT Para 1298 AA; AC; CC
Estado Nutricional	Peso/Talla para la edad	Cualitativa	Desnutridos Crónicos No desnutridos
Sexo	Fenotipo	Cualitativa	Varón Mujer

7.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

7.7. METODOS

7.7.1. Recopilación de la información (encuesta)

Datos personales

Para la recolección de datos, se coordinó con las autoridades del Municipio de Luribay, además con el personal de la institución Save the Children, de tal manera que se tomaba la muestra de los niños menores de 3 años, como instrumento de recolección de datos se elaboró una “Hoja de recolección de datos” (ver anexo 1) donde se consignan datos que se mencionarán en los resultados, además se utiliza la hoja del consentimiento informado, cumpliendo con las normas del comité de ética y bioética Nacional Boliviana.

7.7.2. Toma de muestras

La toma de muestra se efectuó con hisopos estériles, a partir de las células de descamación de mucosa oral, por duplicado.

Las muestras fueron codificadas y posteriormente conservadas a -4°C en tubos ependorff, para su transporte.

7.7.3. Evaluación del estado nutricional

De acuerdo al Programa de Crecimiento Comunitario, utilizando la evaluación antropométrica, realizando seguimientos de peso y talla, desde el nacimiento hasta Junio 2008. (Save the Children).

7.7.4. Extracción de ADN

Se empleó DNA extraído a partir de células de descamación de cavidad oral, para el genotipaje de polimorfismos de la MTHFR se utilizó el protocolo descrito por Redextrac. (Ver Protocolo de extracción)

7.7.5. Determinación de polimorfismos de MTHFR.

Para identificar a los individuos que poseen los polimorfismos C677T y A1298C, del gen de la Metilen Tetra Hidrofolato reductasa (MTHFR), se utilizó endonucleasas de restricción, mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que determino desde un punto de vista objetivo a los niños que poseían dichos polimorfismos.

PROTOCOLO:

EXTRACCION DE DNA, MUCOSA ORAL.

EQUIPO:

Microcentrífuga, Micro-pipetas ajustables P1000, P200, P20. (Pipeta ajustable de 0.5 - 10 ul), cámara de electroforesis.

MATERIALES:

Tubos de 0.5 ml estériles, Puntas de pipetas de 1000 ul de capacidad, puntas de pipetas de 10 ul. de capacidad. Gradillas para tubos de microcentrífuga, recipiente con hielo, guantes.

REACTIVOS:

Kit Red Extract.

Tris-Base, 0.5%

Agua destilada.

Primers con las diferentes secuencias.

C677T:

Forward: 5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'

Reverse: 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG -3'

A1298C:

Forward: 5'-CAAGGAGGAGCTGCTGAGA-3'

Reverse: 5'-CCACTCCAGCATCACTCACT-3'

TOMA DE LA MUESTRA. (En la Comunidad)

Para el análisis de los genotipos de los polimorfismos de la MTHFR se obtuvo muestras de la mucosa bucal (citoma bucal) de cada uno de los niños que participaron en el estudio. Las muestras fueron recogidas mediante isopeado de la mucosa bucal, y posteriormente almacenados en tubos eppendorf, conservados a -4 °C, previamente identificados con el código de cada uno de los niños. Las muestras fueron transportadas al Instituto de Genética donde se realizó la extracción del DNA y el análisis. La identificación de los polimorfismos se hizo de forma separada para cada uno de los niños, mediante una prueba de PCR, siguiendo el protocolo de Gautam G. Rao y Carolyn Y. Muller et al. (2006). [22]

EXTRACCION DEL DNA.

Utilizando un hisopo de madera (estéril), se frota las encías y pared bucal, se dejar secar la punta de algodón del hisopo, durante 30 minutos. Posteriormente en un ependorf, mezclar 200ul del RedExtract, mas, 25ul de solución preparación de tejido, introducir la punta de algodón del hisopo en el ependorf, mantener durante 1 minuto aproximadamente, luego exprimir la punta contra las paredes del ependorf, todo lo posible.

Una vez exprimido el isopo, mezclar en el Bortex, todo la solución, e incubar a 35°C de temperatura por 10 minutos, sacar e incubar a 95°C de temperatura por 3 minutos, se añade a la solución, 200ul de Buffer de neutralización, se mezcla con el Bortex, y por ultimo se guardar el DNA obtenido a 4°C de temperatura, con un volumen final de 50ul.

PRESENCIA DE DNA.

Se realiza la verificación de la concentración de DNA, mediante espectro Fotómetro (Eppendorf Bio Phtometer), en el volumen final de extracción, posteriormente se verifica mediante electroforesis, en gel de agarosa al 2%, el cual se prepara, con 50ml de TBE al 0,5 X (Tris Borato), 1gr de agarosa de baja fusión, y 6,3ul de bromuro de etidio.

Se realiza el sembrado de las muestras en los pozos del gel, con 5ul de muestra y 3ul de marcador de corrida (Blue/Orange Loading Dye, 6X). Se procede a realizar la electroforesis, a 100 voltios y 32 mA^o, durante 35 minutos, luego se observan los resultados con luz ultravioleta, los resultados son almacenados en la hoja de resultados. (Anexo 2).

ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS C677T Y A1298T, DEL GEN DE LA METILEN TETRAHIDROFOLATO REDUCTASA, UTILIZANDO LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERAZA (PCR).

ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS.

El MasterMix del PCR se realizó en base al protocolo utilizado por SIGMA, en su producto REExtract-N-Amp Tissue PCR Kit, donde se modificó la técnica a:

Cuadro 8. PROTOCOLO PARA EL MASTER MIX DEL PCR.

REACTIVO	VOLUMEN	MUESTRAS
REExtract-N-Amp Tissue PCR Reaction Mix	10ul	Nro. de Muestras
Forward primer	1ul	Nro. de Muestras
Reverse primer	1ul	Nro. de Muestras
DNA Extraído	10ul	Cada muestra
Volumen Total	20ul	

Los primers que se utilizaron para PCR, tomando en cuenta el Tm, para cada segmento y fueron los siguientes

C677T: Forward: 5´-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3´

Tm: 73.0

Reverse: 5´-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3´

Tm: 70.1

A1298C Forward: 5´-CAAGGAGGAGCTGCTGAGA-3´

Tm: 63.0

Reverse: 5´-CCACTCCAGCATCACTCACT-3´

Tm: 58.3

Condiciones de la reacción: La desnaturalización inicial 95° por 8 min seguidos de 40 ciclos de desnaturalización a 95° por 1 min, Annealing (Hibridación) 63°C por 1 min, y la extensión a 72° por 1 min. Esto seguido de un paso de extensión final a 72° C por 7 min.

Cuadro 9. CONDICIONES DEL TERMOCICLADOR.

REACTIVO	VOLUMEN	MUESTRAS
H ₂ O Tridestilada	2,3ul	Nro. de Muestras
RE 10X Buffer	2	Nro. de Muestras
Buffer de acetilación BSA, 10ug/ul	0,2	Nro. de Muestras
Enzima de Restricción	0.5	Nro. de Muestras
DNA amplificado	10ul	Cada muestra
Volumen Final	15ul	

Los productos del PCR se analizaron por electroforesis en geles de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Posteriormente se verifica el amplificado mediante electroforesis, en gel de agarosa al 2%, el cual se prepara, con 50ml de TBE al 0,5 X (Tris Borato), 1gr de agarosa de baja fusión, y 6,3ul de bromuro de etidio.

Se realiza el sembrado de las muestras en los pozos del gel, con 5ul de muestra y 3ul de marcador de corrida (Blue/Orange Loading Dye, 6X). Se procede a realizar la electroforesis, a 100 voltios y 32 mA^º, durante 35 minutos, luego se observan los resultados con luz ultravioleta, los resultados son almacenados en la hoja de resultados. (Anexo 2).

Digestiones:

Se utilizaron enzimas de restricción de Promega, para los polimorfismos 677 de la MTHFR, se uso la HinfI y para los polimorfismos 1298 de la MTHFR, se uso la MbolI, ambas con el siguiente protocolo.

Cuadro 10. PROTOCOLO PARA DIGESTIONES.

Programa del termociclador			
Paso	Temperatura (° C)	Tiempo (min)	No. Ciclos
Desnaturalización inicial	95	8	1
Desnaturalización	95	1	
Hibridación (annealing)	63	1	40
Extensión	72	1	
Extensión Final	72	7	1

Modificado del protocolo de Promega.

Posteriormente se verifica el amplificado mediante electroforesis, en gel de agarosa al 2%, el cual se prepara, con 50ml de TBE al 0,5 X (Tris Borato), 1gr de agarosa de baja fusión, y 6,3ul de bromuro de etidio.

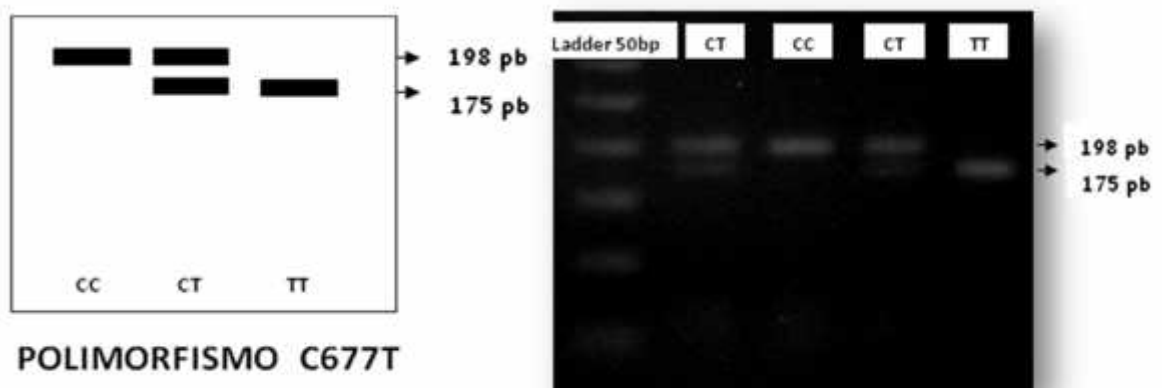
Se realiza el sembrado de las muestras en los pozos del gel, con 5ul de muestra y 3ul de marcador de corrida (Blue/Orange Loading Dye, 6X), para el control de las bandas se utilizó una escalera de 50pb.

Se procede a realizar la electroforesis, a 100 voltios y 32 mA^e, durante 45 minutos, luego se observan los resultados con luz ultravioleta, los resultados son almacenados en la hoja de resultados.

La presencia o ausencia de los polimorfismos de la MTHFR se detectó por la presencia o ausencia de las bandas según el polimorfismo.

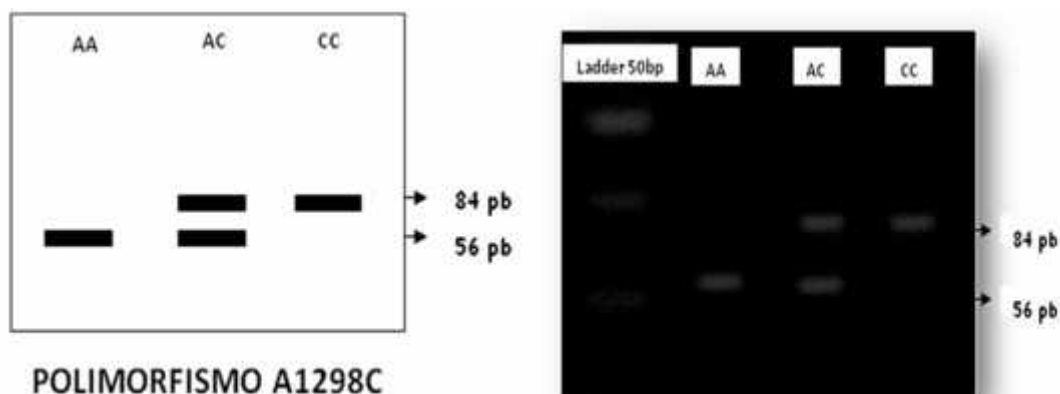
Para el polimorfismo C677C una banda a 198bp, para el polimorfismo C677T dos bandas una a 198pb y otra a 175pb, para el polimorfismo T677T una banda a 175pb.

Figura 18. Patrones para el polimorfismo 677 de la MTHFR.



Para el polimorfismo A1298A una banda a 198bp, para el polimorfismo C677T dos bandas una a 198pb y otra a 175pb, para el polimorfismo T677T una banda a 175pb.

Figura 19. Patrones para el polimorfismo 1298 de la MTHFR.



CAPITULO VI

8. RESULTADOS

8.1. CLASIFICACION FENOTIPICA:

Se clasificaron a los sujetos de estudio, desde el punto de vista fenotípico, con desnutrición crónica de acuerdo a datos del programa de seguridad alimentaria de Save the Children por antropometría (peso/talla).

Cuadro 11. CLASIFICACION FENOTIPICA.

	NIÑOS CON DESNUTRICIÓN CRONICA	NIÑOS SIN DESNUTRICIÓN
Menores de 3 años	X	X
Residentes del Municipio de Luribay en los últimos 5 años	X	X
Baja talla para la edad	X	
Bajo peso para la edad	X	

8.2. ANALISIS DEMOGRÁFICO

Los datos poblacionales que se presentan han sido obtenidos a partir del análisis de las encuestas efectuadas a cada uno de los responsables de familias, o tutores de los niños menores de 3 años incluidos en el estudio. El modelo de encuesta aplicada se adjunta en Anexo 1.

Del análisis se obtuvo la descriptiva poblacional del grupo de estudio, y luego se efectuó el análisis con los resultados obtenidos de los procedimientos de genotipificación de los polimorfismos para la MTHFR de las muestras de células de descamación de la mucosa bucal.

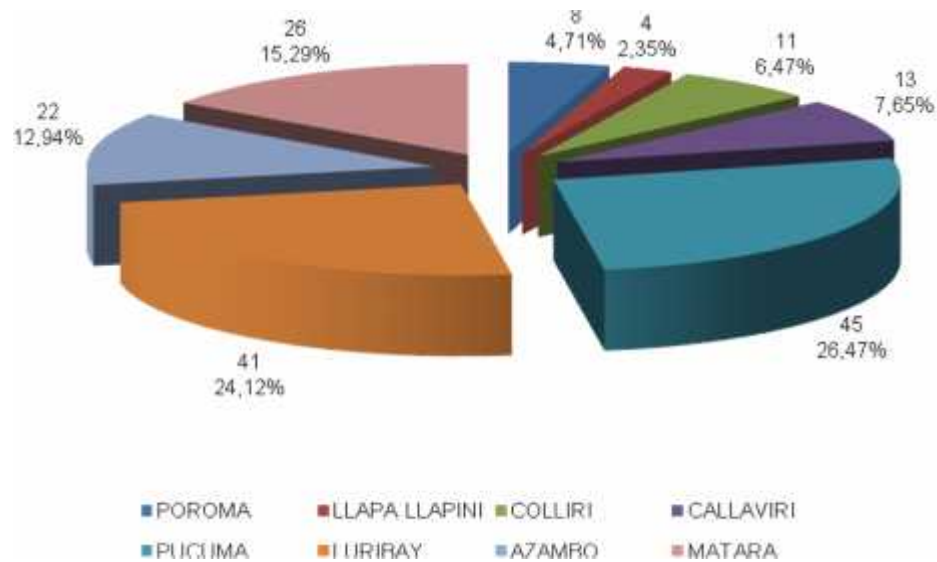
La base de datos para este análisis se realizó con el programa SPSS versión 18 y en el STATA versión 10.

Después de hacer el análisis de las distintas variables, se ha considerado que los posibles factores de confusión a tener en cuenta en este estudio son los siguientes: la edad, el sexo.

8.3. Estadística Descriptiva.

8.3.1. Descripción poblacional

Figura 20. Distribución de la población estudiada.

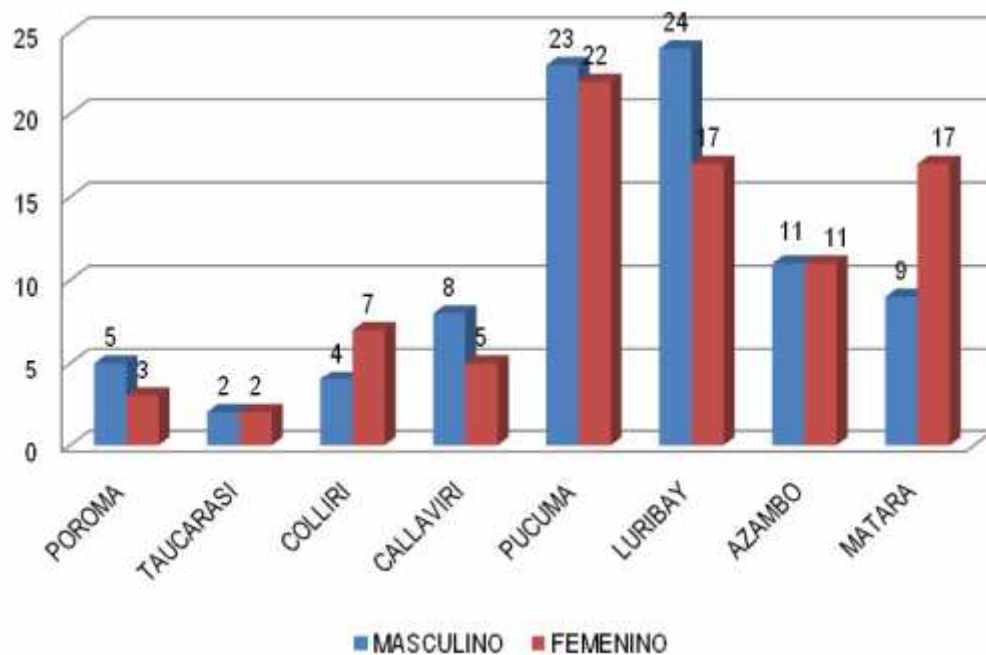


En el grafico se representa la distribución general de la población de estudio por Comunidades del Municipio de Luribay: Poroma (4,71%), Llapa llapini (2,35 %), Colliri (6,47%), Callaviri (7,65%), Pucuma (26,47%), Luribay (24,12%), Azambo (12,94%), Matara (15,29%).

Cuadro 12. POBLACIÓN ESTUDIADA.

	MASCULINO	FEMENINO
POROMA	5 (2,94%)	3 (1,76%)
TAUCARASI	2 (1,18%)	2 (1,18%)
COLLIRI	4 (2,35%)	7 (4,12%)
CALLAVIRI	8 (4,70%)	5 (2,94%)
PUCUMA	23 (13,53%)	22 (12,94%)
LURIBAY	24 (14,12%)	17 (10,00%)
AZAMBO	11 (6,47%)	11 (6,47%)
MATARA	9 (5,29%)	17 (10,00%)
Total (170; 100%)	86 (50,59%)	84 (49,41%)

Figura 21. Población de Estudio por Comunidades



De los 170 niños que participaron en el estudio, el 49,41% fue del sexo femenino y el 50,59% del sexo masculino.

8.3.2. Estado Nutricional:

En este estudio se analizaron 170 individuos, menores de 3 años de los cuales, 42 fueron con desnutrición crónica (casos) y 128 sin desnutrición (controles).

Figura 22. Número de Niños con Desnutrición Crónica por Comunidades

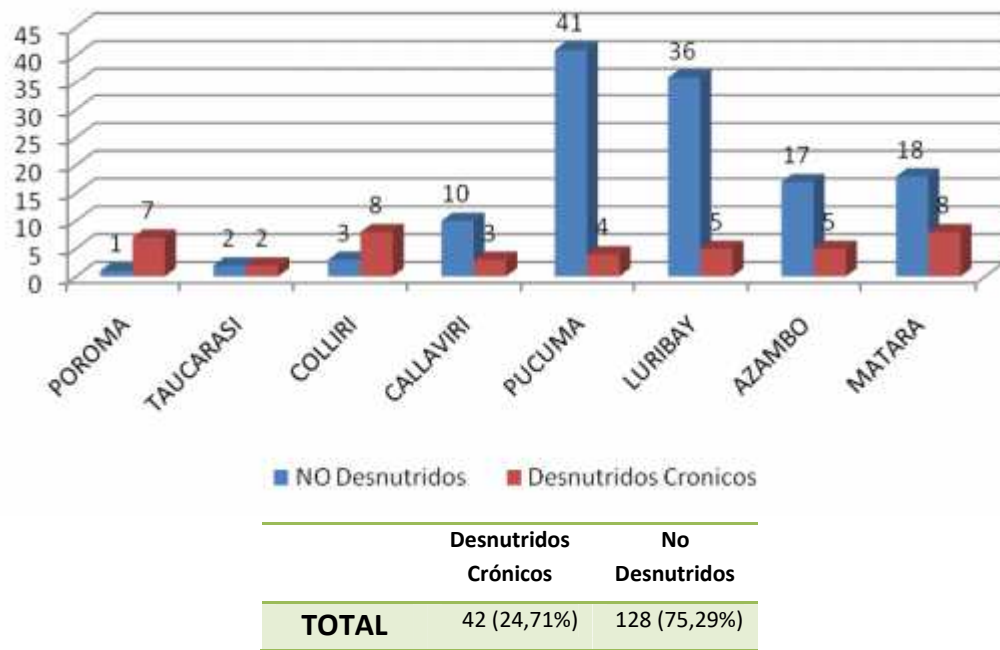
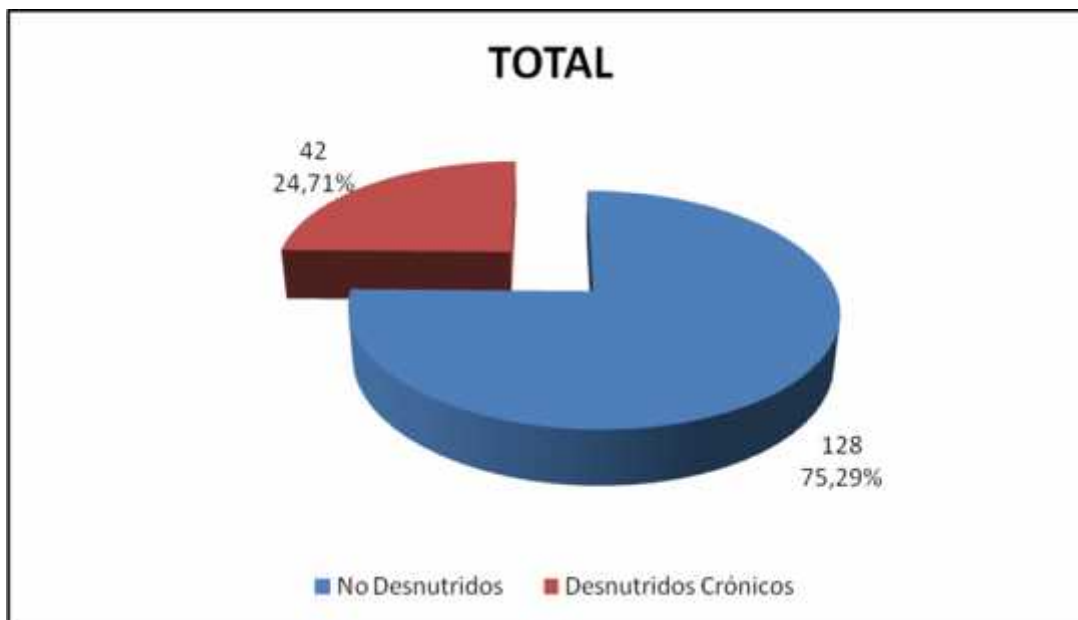


Figura 23. Porcentaje de Niños con Desnutrición Crónica

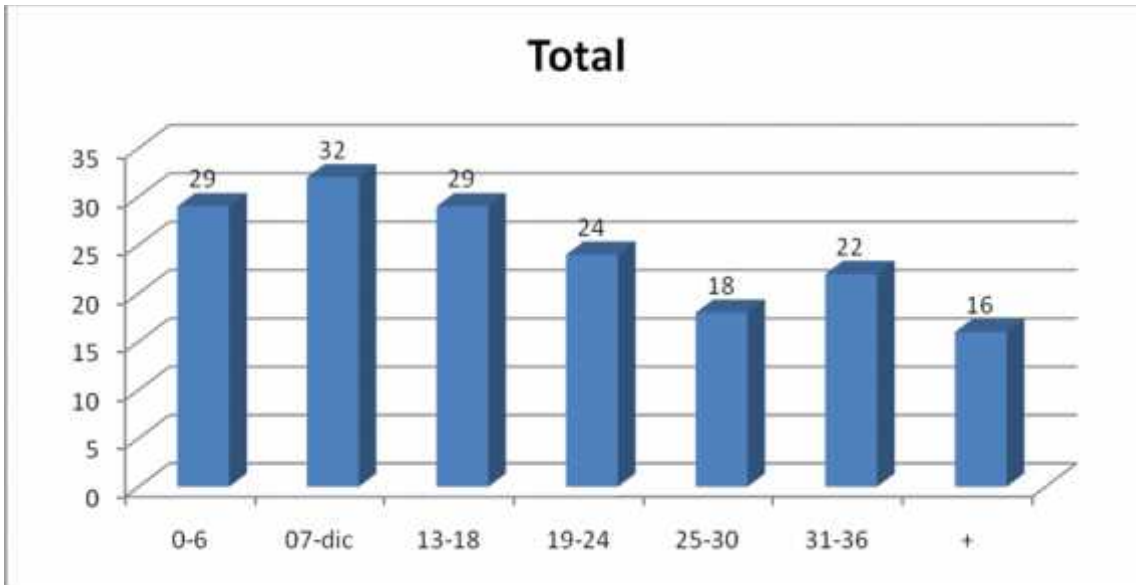


8.3.3. Frecuencias de Grupos Etarios.

Cuadro 13. POBLACIÓN GENERAL POR GRUPOS ETARIOS

	0-6	7-12	13-18	19-24	25-30	31-36	+
Total	29 (17,06%)	32 (18,82%)	29 (17,06%)	24 (14,12%)	18 (10,59%)	22 (12,94%)	16 (9,41%)

Figura 24. POBLACIÓN GENERAL POR GRUPOS ETARIOS



Cuadro 14. DESCRIPCION POR COMUNIDADES Y GRUPOS ETARIOS

	0-6	7-12	13-18	19-24	25-30	31-36	+
POROMA	2 (1,18%)	1 (0,59%)	2 (1,18%)	2 (1,18%)	0 (0,00%)	1 (0,59%)	0 (0,00%)
TAUCARASI	1 (0,59%)	1 (0,59%)	1 (0,59%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (0,59%)
COLLIRI	0 (0,00%)	2 (1,18%)	2 (1,18%)	1 (0,59%)	1 (0,59%)	2 (1,18%)	3 (1,76%)
CALLAVIRI	0 (0,00%)	3 (1,76%)	3 (1,76%)	2 (1,18%)	3 (1,76%)	1 (0,59%)	1 (0,59%)
PUCUMA	6 (3,53%)	7 (4,12%)	8 (4,70%)	9 (5,29%)	4 (2,35%)	7 (4,12%)	4 (2,35%)
LURIBAY	9 (5,29%)	8 (4,70%)	8 (4,70%)	4 (2,35%)	4 (2,35%)	5 (2,94%)	3 (1,76%)
AZAMBO	4 (2,35%)	4 (2,35%)	2 (1,18%)	4 (2,35%)	2 (1,18%)	4 (2,35%)	2 (1,18%)
MATARA	7 (4,12%)	6 (3,53%)	3 (1,76%)	2 (1,18%)	4 (2,35%)	2 (1,18%)	2 (1,18%)
Total (170) 100,00%	29 (17,06%)	32 (18,82%)	29 (17,06%)	24 (14,12%)	18 (10,59%)	22 (12,94%)	16 (9,41%)

8.4. Cruce de Variables:

Se analizaron las variables:

8.4.1. Relación Estado Nutricional – Comunidades.

Cuadro 15. TABLA DE CONTINGENCIA COMUNIDAD * ESTADO NUTRICIONAL

		Estado Nutricional		Total
		No desnutridos	Desnutridos	
Comunidad	Matara	18 (10,6%)	8 (4,7%)	26 (15,3%)
	Azambo	17 (10,0%)	5 (2,9%)	22 (12,9%)
	Luribay	36 (21,2%)	5 (2,9%)	41 (24,1%)
	Pucuma	41 (24,1%)	4 (2,4%)	45 (26,5%)
	Callaviri	10 (5,9%)	3 (1,8%)	13 (7,6%)
	Colliri	3 (1,8%)	8 (4,7%)	11 (6,5%)
	Llapa llapini	2 (1,2%)	2 (1,2%)	4 (2,4%)
Poroma	1 (0,6%)	7 (4,1%)	8 (4,7%)	
Total		128 (75,3%)	42 (24,7%)	170 (100,0%)

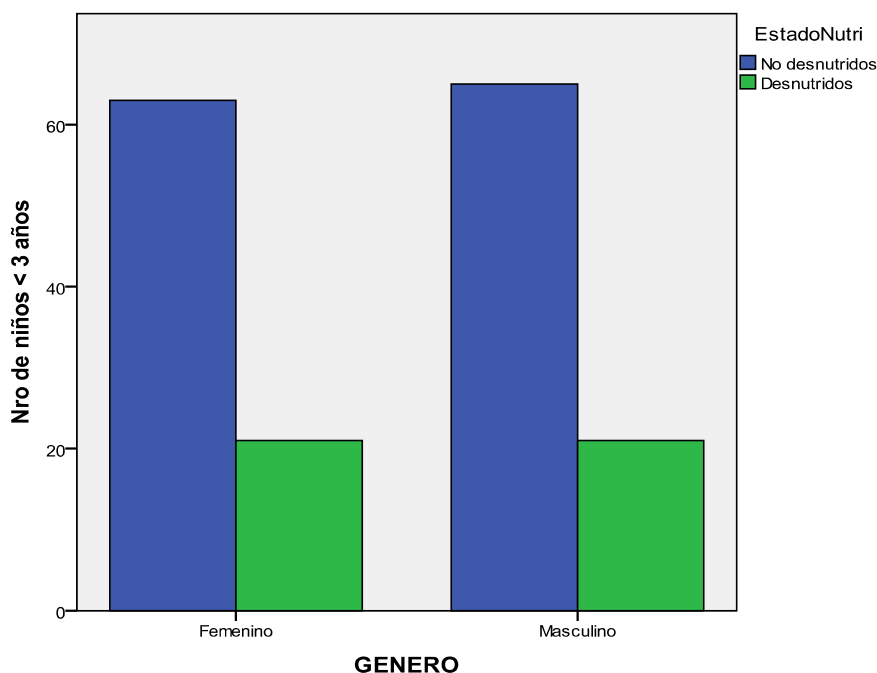
8.4.2. Relación entre Estado Nutricional y Género.

En ambos grupos existen hombres y mujeres. En la población casos hay un 50,0 % de mujeres y un 50,0% de hombres, mientras que en el grupo de controles un 49,2% son mujeres y un 50,8% son hombres.

Cuadro 16. TABLA DE CONTINGENCIA GENERO * ESTADO NUTRICIONAL

			Estado Nutricional		Total
			No desnutridos	Desnutridos	
GENERO	Femenino	Recuento	63 (49,2%)	21 (50,0%)	84 (100%)
		% del total de la Población	37,1%	12,4%	49,4%
	Masculino	Recuento	65 (50,8%)	21 (50,0%)	86 (100%)
		% del total de la Población	38,2%	12,4%	50,6%
Total		Recuento	128 (100%)	42 (100%)	170 (100,0%)
		% del total de la Población	75,3%	24,7%	100,0%

Figura 25. Estado Nutricional Según Género



Se analizó la relación entre estado nutricional y género, mediante la prueba de independencia de Chi², dando como resultado un Chi²= 0,008 y un P=0,930.

Cuadro 17. PRUEBAS DE CHI-CUADRADO GÉNERO – ESTADO NUTRICIONAL

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
chi-cuadrado de Pearson	0,008 ^a	1	0,930		
Corrección por continuidad ^b	0,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	0,008	1	0,930		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	0,536
Asociación lineal por lineal	0,008	1	0,930		
N de casos válidos	170				

a. 0 casillas (0,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es 20,75.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se analizó la relación entre estado nutricional y grupo etario, mediante la prueba de independencia de Chi², dando como resultado un Chi²=0,008 y un P=0,930.

8.4.3. Relación entre Estado Nutricional y Grupo Etario.

CUADRO 18. TABLA DE CONTINGENCIA EDAD EN MESES * ESTADO NUTRICIONAL

			Estado Nutricional		Total
			No desnutridos	Desnutridos	
EDAD en Meses	0-6	Recuento	26 (15,3%)	3 (1,8%)	29 (17,1%)
	7-12	Recuento	26 (15,3%)	6 (3,5%)	32 (18,8%)
	13-18	Recuento	20 (11,8%)	9 (5,3%)	29 (17,1%)
	19-24	Recuento	17 (10,0%)	7 (4,1%)	24 (14,1%)
	25-30	Recuento	10 (5,9%)	8 (4,7%)	18 (10,6%)
	31-36	Recuento	17 (10,0%)	5 (2,9%)	22 (12,9%)
	Más de 36	Recuento	12 (7,1%)	4 (2,4%)	16 (9,4%)
Total		% del total	128 (75,3%)	42 (24,7%)	170 (100,0%)

CUADRO 19. PRUEBAS DE CHI-CUADRADO DE PEARSON

		Estado Nutricional
EDAD en Meses	Chi cuadrado	8,524
	gl	6
	Sig.	0,202

Se analizó la relación entre estado nutricional y grupo etario, mediante la prueba de independencia de Chi², dando como resultado un Chi²=8,524 y un P=0,202.

8.5. CLASIFICACION GENOTIPICA:

8.5.1. Estadística Descriptiva.

Genotípicamente se clasifico como portadores de los polimorfismos C677T y A1298C del gen de la Metilen Tetrahydro Folato Reductasa, teniendo en cuenta los patrones, según se muestran en las ilustraciones correspondientes, donde para el polimorfismo C677T, CC es el normal, CT es la mutación incompleta, y TT es la mutación completa, sus clasificaciones CC; CT; TT.

Frecuencia del Polimorfismo 677: Las frecuencias genotípicas y alélicas para los SNP (Polimorfismo de nucleótido simple), fueron calculadas por la base de datos de genotipificación y el equilibrio de Hardy-Weinberg que fue determinado con herramientas en línea. (<http://www.genes.org.uk/software/hardy-weinberg.shtml>) teniendo como resultado. Los resultados de este análisis demuestran que la población en estudio se encuentra en equilibrio.

Cuadro 20. FRECUENCIA GENOTIPICA Y ALELICA PARA EL POLIMORFISMO 677

	FRECUENCIA GENOTIPICA			FRECUENCIA ALELICA	
	CC (%)	CT (%)	TT (%)	Alelo T	Alelo C
Controles (N=128)	52 (40,62%)	56 (43,75%)	20 (15,63%)	0,38	0,62
Casos (N=42)	13 (30,95%)	23 (54,76%)	6 (14,29)	0,42	0,58

Figura 26. Frecuencia Genotípica del Polimorfismo 677 en Controles

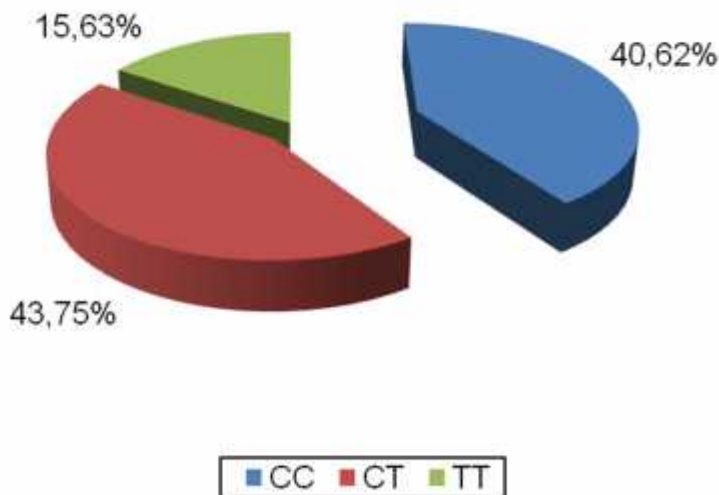
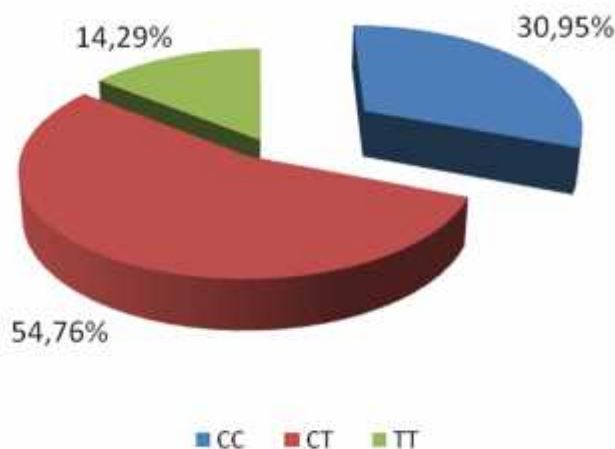


Figura 27. Frecuencia Genotípica del Polimorfismo 677 en Casos



Los patrones, según muestran los cuadros correspondientes, donde para el polimorfismo A1298C, AA es el normal, AC es la mutación incompleta, y CC es la mutación completa, sus clasificaciones AA AC CC.

Frecuencia del Polimorfismo 1298: Las frecuencias genotípicas y alélicas para los SNP (Polimorfismo de nucleótido simple), fueron calculadas por la base de datos de genotipificación y el equilibrio de Hardy-Weinberg que fue determinado con herramientas en línea. (<http://www.genes.org.uk/software/hardy-weinberg.shtml>) teniendo como resultado.

Cuadro 21. FRECUENCIA GENOTÍPICA Y ALELICA PARA EL POLIMORFISMO 1298

	FRECUENCIA GENOTÍPICA			FRECUENCIA ALELICA	
	AA (%)	AC (%)	CC (%)	Alelo C	Alelo A
Controles (N=128)	104 (81,25%)	22 (17,19%)	2 (1,56%)	0,12	0,88
Casos (N=42)	35 (83,33%)	7 (16,67%)	0 (00,00%)	0,08	0,92

8.5.2. Cruce de variables.

Los resultados estadísticos de la relación entre los polimorfismos y el estado nutricional son:

	677 CC (n= 65) n (%)	677 CT (n= 79) n (%)	677 TT (n= 26) n (%)	TOTALS (n=170) n (%)
CONTROL	52 (40,62%)	56 (43,75%)	20 (15,63%)	128 (100%)
CASOS	13 (30,95%)	23 (54,76%)	6 (14,29%)	42 (100%)
	Pearson Chi ² (2)= 1.6361		P=0.441	

Se analizó la relación entre estado nutricional y el polimorfismo C677T, mediante la prueba de independencia de χ^2 , dando como resultado un $\chi^2=1,6361$ y un $P=0,441$, no significativo estadísticamente.

Para el Polimorfismos 1298:

	1298 AA (n= 139) n (%)	1298 AC (n= 29) n (%)	1298 CC (n= 2) n (%)	TOTALS (n= 170) n (%)
CONTROL	104 (81,25%)	22 (17,19%)	2 (1,56%)	128 (100%)
CASOS	35 (83,33%)	7 (16,67%)	0 (00,00%)	42 (100%)
	Pearson χ^2 (2)= 0.6781		P=0.712	

Se analizó la relación entre estado nutricional y el polimorfismo A1298C, mediante la prueba de independencia de χ^2 , dando como resultado un $\chi^2=0,6781$ y un $P=0,712$, no significativo estadísticamente.

Cruce de la frecuencia de polimorfismos con grupo etario:

Cuadro 22. TABLA DE CONTINGENCIA EDAD EN MESES * POLIMORFISMO 677

		POLIMORFISMO 677			Total
		CC	CT	TT	
EDAD en Meses	0-6	13 (20,0%)	12 (15,2%)	4 (15,4%)	29 (17,1%)
	7-12	12 (18,5%)	16 (20,3%)	4 (15,4%)	32 (18,8%)
	13-18	8 (12,3%)	17 (21,5%)	4 (15,4%)	29 (17,1%)
	19-24	8 (12,3%)	14 (17,7%)	2 (7,7%)	24 (14,1%)
	25-30	8 (12,3%)	7 (8,9%)	3 (11,5%)	18 (10,6%)
	31-36	12 (18,5%)	8 (10,1%)	2 (7,7%)	22 (12,9%)
	Mas de 36	4 (6,2%)	5 (6,3%)	7 (26,9%)	16 (9,4%)
Total	65 (100,0%)	79 (100,0%)	26 (100,0%)	170 (100,0%)	

Se evidencia que la frecuencia de los polimorfismos CT y TT, es más alta en las edades de 13 a 30 meses, representado en el caso del polimorfismo C677T, 38 casos siendo el 48,10% del total de los polimorfismos CT, y en el caso del polimorfismo T677T, la frecuencia es de 9 casos siendo el 34,62%.

Posteriormente se dicotomizaron las variables, para poder obtener el valor del posible riesgo y se realizó una regresión logística, con las variables dicotomisadas a mutados y no mutados.

Para el polimorfismo C677T, que dio como resultados:

Logistic regression

Number of obs = 170

LR chi²(4) = 6.25

Prob > chi2 = 0.1813

Pseudo R2 = 0.0329

Log likelihood = -91.919461

Cuadro 23. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)

Estado Nutricional	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
pol677	1.649384	0.6563542	1.26	0.209	0.7561282 3.597891
pol1298	0.9949468	0.4847581	-0.01	0.992	0.3828929 2.585368
género	1.35144	0.5065798	0.80	0.422	0.6482295 2.817507
edad	1.034139	0.0161257	2.15	0.031	1.003011 1.066232

Donde, se observa un P valor estadísticamente no significativo

Para el polimorfismo A1298C, que dio como resultados:

Logistic regression

Number of obs = 170

LR chi²(4) = 6.25

Prob > chi2 = 0.1813

Pseudo R2 = 0.0329

Log likelihood = -91.919461

Cuadro 24. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)

Estado Nutricional	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
npol677	1.649384	0.6563542	1.26	0.209	0.7561282 3.597891
npol1298	0.9949468	0.4847581	-0.01	0.992	0.3828929 2.585368
genero	1.35144	0.5065798	0.80	0.422	0.6482295 2.817507
edad	1.034139	0.0161257	2.15	0.031	1.003011 1.066232

Donde, se observa un P valor estadísticamente no significativo.

Por otra parte, se obtuvo los siguientes resultados en el análisis de regresión logística:

Logistic regression

Number of obs. = 170

LR chi2(4) = 6.25

Prob > chi2 = 0.1813

Pseudo R2 = 0.0329

Log likelihood = -91.919461

Cuadro 25. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)

Estado Nutricional	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
npol677	1.649384	0.6563542	1.26	0.209	0.7561282 3.597891
npol1298	0.9949468	0.4847581	-0.01	0.992	0.3828929 2.585368
genero	1.35144	0.5065798	0.80	0.422	0.6482295 2.817507
edad	1.034139	0.0161257	2.15	0.031	1.003011 1.066232

El P 0.031, en la edad en relación al estado nutricional, por lo cual se clasificó, en 7 grupos de edades, tanto casos como controles donde, en el Grupo 1 están los niños de 0 a 6 meses, en el Grupo 2 los niños de 7 a 12 meses, en el grupo 3 los niños de 13 a 18 meses, en el grupo 4 los niños de 19 a 24 meses, en el grupo 5 los niños de 25 a 30 meses, en el grupo 6 los niños de 31 a 36 meses y en el grupo 7 los niños de más de 36 meses (para el momento de la evaluación nutricional, tenían menos de 36 meses), y los datos estadísticos obtenidos son:

Resultados de la regresion logistica por grupos etarios.

Logistic regression

Number of obs = 170

LR chi2(9) = 12.55

Prob > chi2 = 0.1841

Pseudo R2 = 0.0660

Log likelihood = -88.769081

Cuadro 26. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE ESTADO NUTRICIONAL)

Estado Nutricional	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
pol677	1.582311	0.6546165	1.11	0.267	0.7033019	3.559932
pol1298	1.039866	0.5284733	0.08	0.939	0.384048	2.815587
Género	1.14249	0.4420956	0.34	0.731	0.5351467	2.439111
Grupo 2	3.032516	2.619891	1.28	0.199	0.5577273	16.48862
Grupo 3	5.533004	4.678083	2.02	0.043	1.05507	29.01622
Grupo 4	5.430302	4.689988	1.96	0.050	0.9992335	29.5108
Grupo 5	10.97128	9.638722	2.73	0.006	1.96084	61.3865
Grupo 6	5.357212	4.711952	1.91	0.056	0.9555686	30.03418
Grupo7	4.311576	4.060867	1.55	0.121	0.6806598	27.31128

Se puede observar:

El grupo 1 no fueron tomado por el programa estadístico (STATA v. 10.).

Logistic regression

Number of obs = 170

LR chi2(4) = 9.09

Prob > chi2 = 0.0590

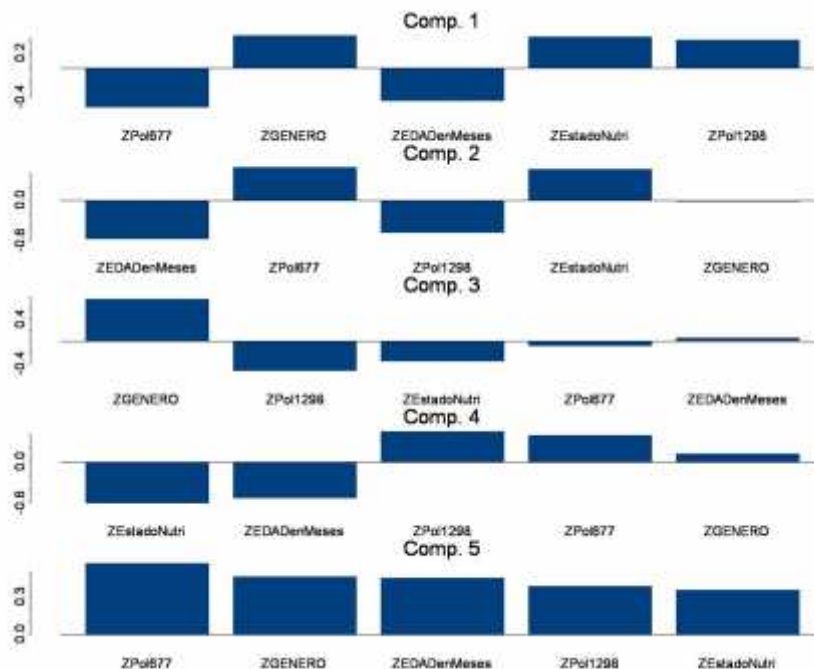
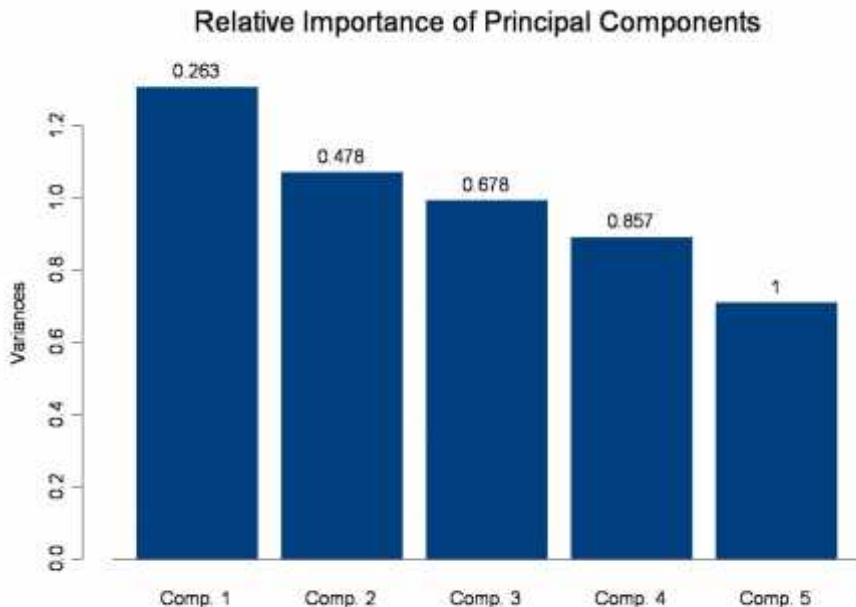
Log likelihood = -113.27989

Pseudo R2 = 0.0386

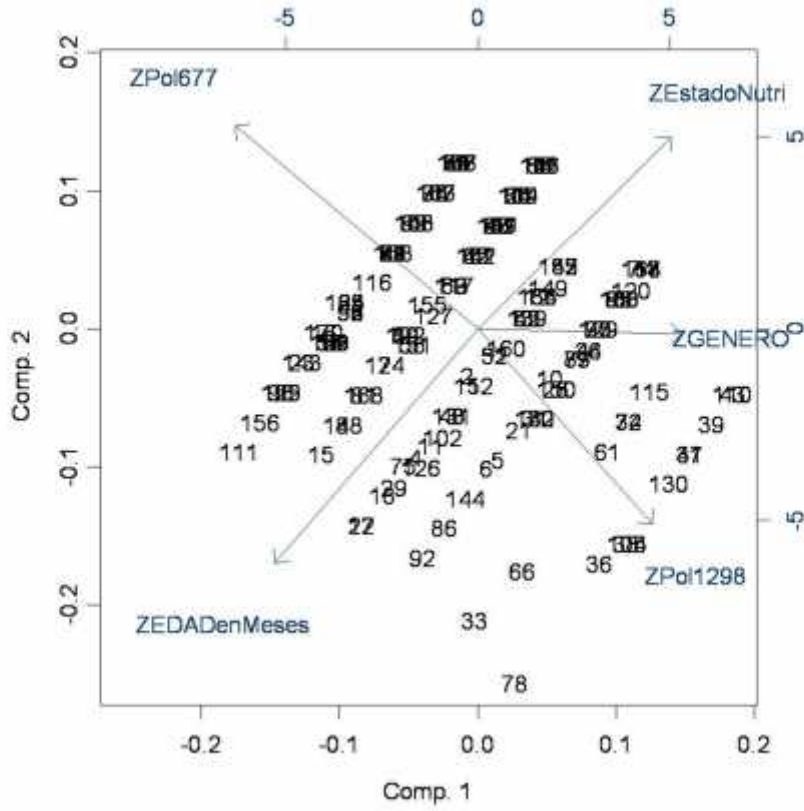
Cuadro 27. REGRESION LOGISTICA (VARIABLE DEPENDIENTE GENERO)

Genero Fem Vs Masc	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]	
Pol677	2.187056	0.7280433	2.35	0.019	1.138953	4.19966
Pol1298	1.141871	0.4720305	0.32	0.748	0.5078603	2.567377
Estado Nutricional	0.7505876	0.2778063	-0.78	0.438	0.3633758	1.550411
Edad	1.026754	0.0142647	1.90	0.05	0.9991734	1.055097

Teniendo al genero (Femenino Vs Masculino) como variable dependiente, se tiene un OR 2.18m y un P=0.019.



Se evidencia la relación el componente 1 y el componente 2, donde se observa el desglose de las variables, involucradas en cada componente, que sumados explican hasta el 47% de la variación en la relación de estos componentes, dentro del estudio.



Este grafico multivariado para tendencias y relaciones, entre el componente 1 y componente 2.

CAPITULO VII

9. DISCUSIÓN

En cuanto a la población de estudio, la proporción en sexo femenino y masculino fue similar (49,41% y 50,59% respectivamente). En nuestro grupo de casos se tiene una igual proporción en sexo femenino y masculino (50% - 50% respectivamente), considero que disminuye influencia de esta variable como un factor confundente.

Se debe tomar en cuenta que la tasa de desnutrición en la región de estudio (25%) es menor a la tasa de desnutrición nacional (32.2%), se asume que esta diferencia con relación a la tasa nacional, es el resultado de la primera acción de intervención nutricional del programa de Crecimiento y Desarrollo (Save the Children).

Llama la atención la población de Colliri en cuanto al estado nutricional, pues 8 de sus 11 menores de 3 años son desnutridos crónicos, siendo esta la única población perteneciente a la región altiplánica, del municipio de Luribay, con diferentes hábitos alimenticios con relación a las otras comunidades estudiadas. Este dato es relevante desde el punto de vista de nutrigenómica, ya que la dieta ha moldeado profundamente la capacidad metabólica humana, allanado el camino para la aparición de enfermedades modernas. Desde una perspectiva evolutiva, la dieta es un factor limitante que impone presiones selectivas sobre una población, tal como lo hacen otros factores ambientales. [69]

En cuanto a la clasificación genotípica, y la frecuencia alélica, llama la atención la diferencia del 10% en la presencia de los polimorfismos C677T y T677T, en los casos con relación a controles, polimorfismos relacionados con la disminución de la función de la enzima Metilen Tetrahydro Folato Reductasa. Dicha función deficitaria incide sobre la concentración de folatos plasmáticos, importantes cofactores para el crecimiento y desarrollo del niño.

La frecuencia alélica denota similitud, en frecuencia, en comparación a otras poblaciones como las poblaciones chilenas, estando equilibrio y confirmando el mayor porcentaje de hétérecigocidad en poblaciones latinas. [21] [70] [71]

Al realizar la evaluación de la relación entre los polimorfismos con las variables edad y grupo etario, mediante regresión logística, se evidencio que la presencia del polimorfismo C677T aumenta 1,65 (OR. 1,6493) veces mas las posibilidades de pertenecer al grupo de desnutridos, ajustado por el polimorfismo A1298C, edad y genero, se debe considerar que no existe significancia estadística ($P=0.209$). Por otro lado se debe considerar que la presencia del polimorfismo A1298C no aumenta la posibilidad de pertenecer al grupo de desnutridos, ajustado por las variables, polimorfismo C677T, genero y edad.

Para el análisis, de la relación entre edad y estado nutricional, se obtuvo un valor estadísticamente significativo ($P=0,031$), que indica que la edad está relacionada con el estado nutricional. Debido a este hallazgo, se estratificó la variable edad en 7 grupos de edades, tanto casos como controles donde, en el Grupo 1 están los niños de 0 a 6 meses, en el Grupo 2 los niños de 7 a 12 meses, en el grupo 3 los niños de 13 a 18 meses, en el grupo 4 los niños de 19 a 24 meses, en el grupo 5 los niños de 25 a 30 meses, en el grupo 6 los niños de 31 a 36 meses y en el grupo 7 los niños de más de 36 meses (para el momento de la evaluación nutricional, tenían menos de 36 meses), con el objetivo de ver la relación entre el periodo de lactante menor (0 a 6 meses), lactante mayor (7 a 18 meses) y niños de 3 años, relacionando estos grupos con la ablactación y alimentación complementaria, desde el punto de vista nutricional, dando como resultado valores estadísticamente significativos, para los grupos 3, 4 y 5.

En el grupo 2, se evidencia un OR, que indica que existe 3,03 veces la posibilidad de ser desnutridos si se encuentran en este grupo etario. En el grupo 3, un OR que indica 5,53 veces la posibilidad de ser desnutridos, si se encuentran en este grupo etario, tomando en cuenta que el valor P ($P=0.043$) es estadísticamente significativo. En el grupo 4, un OR que indica 5,43 veces la posibilidad de ser desnutridos si se encuentran en este grupo etario, tomando en cuenta que el valor P ($P=0.05$) es estadísticamente significativo. En el grupo 5, un OR que indica 10,97 veces la posibilidad de ser desnutridos si se encuentran en este grupo etario, tomando en cuenta que el valor P ($P=0.006$) es estadísticamente significativo. En el grupo 6, un OR que indica 5,36 veces la posibilidad de ser desnutridos si se encuentran en este grupo etario. El grupo 7, un OR que indica 4,31 veces la posibilidad de ser desnutridos si se encuentran en este grupo etario. Todos los datos son ajustados por las variables, polimorfismo C677T, polimorfismo A1298C y género.

Los grupos etarios más relacionados con desnutrición crónica se encuentran entre los 13 y los 30 meses de edad (lactante mayor y menores de 3 años), probablemente relacionado a los hábitos alimenticios, y socioculturales de la población, hay que resaltar que se evidencia que la frecuencia de los polimorfismos CT y TT, es más alta en las edades de 13 a 30 meses, (48,10% y 34,62% respectivamente) del total de los polimorfismos CT y TT. Lo que refuerza la relación del riesgo, de portar los polimorfismos C677T y T677T, y pertenecer al grupo de desnutridos.

Por otro lado al hacer la relación, tomando al género femenino versus masculino, como variable dependiente, se tiene que hay 2.18 veces más posibilidades de que el polimorfismo 677 mutado se encuentre en mujeres, ajustando por mutación del polimorfismo 1298, el estado nutricional y la edad, siendo este dato estadísticamente significativo ($P=0,019$).

Y por último, se realizó un análisis multivariado, utilizando un gráfico de dispersión para realizar la relación entre las diferentes variables, transformadas en vectores. Este gráfico demuestra la relación no solo de las variables, sino también la relación de cada individuo sometido al estudio, y se mide en función del ángulo que forman con respecto a otra variable. El ángulo que forman estos vectores es una indicación de relación, los ángulos agudos ($>90^\circ$), tiene una relación positiva, los ángulos rectos (90°) tienen una relación de 0, los ángulos obtusos ($> 90^\circ$), tienen un correlación negativa, y los ángulos opuestos (180°) tienen in relación de -1 (inversa).

Entonces decimos que el vector que representa a género tiene una correlación positiva, con el vector de estado nutricional, siendo que la variable femenina, se encuentra más relacionada con la desnutrición, representadas ambas variables, por los vectores positivos.

CAPITULO VIII

10. CONCLUSIONES

Si bien no existe un valor estadísticamente significativo, que relacione los polimorfismos estudiados con la desnutrición, se identificaron datos que relacionan las siguientes condiciones, el poseer el Polimorfismo 677 mutado, al mismo tiempo pertenecer a los grupos etarios de 13 a 30 meses y ser del sexo femenino, que tendrían una relación importante en los procesos de desnutrición crónica. Este dato es primordial debido a que estamos ante una entidad compleja donde el análisis debe ser multifactorial.

Este dato está respaldado por la evaluación de la relación entre los polimorfismos con las variables edad y grupo etario, mediante regresión logística, donde se evidencio que la presencia del polimorfismo C677T aumenta 1,65 (OR. 1,6493) veces más las probabilidades de pertenecer al grupo de desnutridos, ajustado por el polimorfismo A1298C, edad y genero.

La relación entre los polimorfismos C677T y A1298C, por si solos, relacionados con la desnutrición crónica, no son estadísticamente significativa, ni tampoco con el efecto combinado de ambos polimorfismos y la desnutrición crónica o evidencia de predicción para el futuro.

Por otro lado se evidencio una alta frecuencia en la población del polimorfismo C677T del gen de la MTHFR, y para el polimorfismo T677T, que combinados dan un 64% de la población total de estudio.

Lo cual nos lleva a la conclusión, de que a pesar de no existir una relación significativa entre los niños con desnutrición crónica y la presencia de los polimorfismos de la MTHFR, los resultados encontrados, expresan un porcentaje importante en la presentación de los polimorfismos C677T y T677T, que son responsables de la deficiente y/o nula absorción del ácido fólico, en el metabolismo de los niños con desnutrición crónica del municipio de Luribay.

CAPITULO IX

11. RECOMENDACIONES

El cribado genético identificó a niños con desnutrición crónica con genotipo CT y TT en un 69%. Por tanto recomendamos:

Realizar una reevaluación clínico nutricional que involucre la cuantificación de los niveles de Homocisteína plasmática como biomarcador.

Finalmente, sugerimos que en la próxima intervención nutricional, se debe hacer mayor énfasis en los aspectos socioeconómicos y culturales, fortaleciendo la adherencia a la dieta recomendada y personalizada, la integración de las preferencias alimenticias de consumo en la personalización de la dieta. La elaboración de la dieta personalizada para la futura acción de intervención, con la cantidad adecuada de folatos (incremento de alimentos ricos en folatos), basándonos en el hecho de que una dieta rica en ácido fólico compensa el defecto génico. (Ordovas, JM; Kaput, J) [72] [73] [74] [75] [76] [77]

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nancy Fogg-Johnson, Jim Kaput: **Nutrigenomics: An Emerging Scientific Discipline**. *Food Techniligy* 2003, **54**(4):60-67.
2. Fenech M: **The Genome Health Clinic and Genome Health Nutrigenomics concepts diagnosis and nutritional treatment of genome and epigenome damage on an individual basis**. *Mutagenesis* 2005, **20**(4):255-259.
3. **Wikipedia , La Paz Bolivia** [http://es.wikipedia.org/wiki/La_Paz]
4. Nelson W Vaughan V Behrman R: **Nutrition, Textbook of Pediatrics** In: *Textbook of Pediatrics*. Edited by Interamericana, vol. 1, 3ra edn. Mexico 1987: 170-171.
5. **Dietas y Alimentos** [[http://www.dietasyalimentos.com/archivo/conceptos-generales-sobre-desnutricion-infantil.](http://www.dietasyalimentos.com/archivo/conceptos-generales-sobre-desnutricion-infantil)]
6. Organización Panamericana de Salud Organización Mundial Salud UNICEF PMA: **Memoria de la Reunión subregional de los Países de Sudamérica**. In: *Alimentación y Nutrición del niño pequeño: 2008; Lima, Perú; 2008*.
7. Ana María Aguilar Liendo Cecilia De la Vega Baradi y Dilberth Cordero Valdivia: **Programa Desnutrición Cero**. In. Edited by MSD. La Paz Dirección General de Promoción de la Salud, Unidad de Nutrición, Unidades de Nutricion Integral, Estructura, Organización y Funcionamiento.; Diciembre, 2007: 46. 16.
8. Instituto Nacional de Estadística, Ministerio de Salud y Deportes: **Salud y Nutrición Infantil**. In: *Encuesta Nacional de Demografía y Salud 2003*. vol. 1. La Paz; 2004: 21-22.
9. **Wikipedia Boliva** [<http://es.wikipedia.org/wiki/Bolivia>]
10. Rafael Cervantes Rojas Omar Huici: **Documento de Sistematización del Proyecto "PLAGBOL" 2001-2005**. La Paz, Bolivia; 2005.
11. Rita Menacho Caroline de Hilari Aleja Quenta: **Programa de Seguridad Alimentaria**. In. La Paz; 2008.
12. Nelson W Vaughan V Behrman R: **Nutrition Textbook of Pediatría**,. In: *Textbook of Pediatría*. vol. I. Philadelphia: Elsevier inc.; 2007: 922.
13. **Medcenter**
[http://www.medcenter.es/Medscape/content.aspx?LangType=1034&menu_id=593&id=1755]
14. Tom Lissauer Graham Clayden: **Texto Ilustrado de Pediatría**. Madrid, España: Harcourt Brace; 2003.
15. Dilberth Cordero Valdivia, Martha Mejía Soto: **Los Nuevos Patrones de Crecimiento de la OMS**.
. In: *I CRECIMIENTO IN FANTIL II PATRONES DE CRECIMIENTO III BIENESTAR DEL NIÑO IV BOLIVIA*. Edited by Catalogado por el Centro de Información y Documentación OPS/OMS Bolivia, Dr. Dilberth Cordero Valdivia (Consultor)
Dra. Martha Mejía Soto (OPS/OMS) edn; Julio 2007,: 42.
16. **Oficina regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud**.
[<http://www.ops.org.bo/areas/salud-ninez/?TE=20070702000003>]
17. Mauricio Fidel Mendoza González: **La Ciencia y el Hombre**. In.: REVISTA DE DIVULGACIÓN CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD VERACRUZANA.
http://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol18num1/articulos/acido_folico/index.htm;
2005.
18. ROWENA G. MATTHEWS: **Methylenetetrahydrofolate Reductase: A Common Human Polymorphism and Its Biochemical Implications**. *The Chemical Record, The Japan Chemical Journal Forum and John Wiley & Sons*, June 2002, **2**:4-12.

19. Enciclopedia Libre Wikipedia: **Acido Folico**. In.: Enciclopedia Libre Wikipedia. http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=%C3%81cido_f%C3%B3lico&oldid=29963728; 2009.
20. José Ignacio Gutiérrez Revillaa FPH, M. Teresa Calvo Martínez, Manuel Tamparillas Salvadora y Jesús Gracia Romero: **Implicación de los polimorfismos C677T y A1298C del gen MTHFR en el desarrollo de los defectos del tubo neural en la población española.** *Medicina Clínica* 2003, **12**(120).
21. Nitsche V F, Alliende R MA, Santos M JL, Pérez B F, Santa María V L, Hertrampf D E, Cortés M F: **Frecuencia del polimorfismo C677T de la 5, 10-metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) en mujeres chilenas madres de afectados con espina bífida y en controles normales.** *Revista médica de Chile* 2003, **131**:1399-1404.
22. Gautam G. Carolyn Y. Muller ea: **A case-control study of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms in cervical carcinogenesis.** *Gynecologic Oncology* 2005, **101** (2006):250 – 254.
23. William G. Johnson, Edward S. Stenroos, Simon C. Heath, Yanping Chen, Regina Carroll, Vershon V. McKoy, Sansnee Chatkupt, Thomas Lehner: **Distribution of Alleles of the Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T Gene Polymorphism in Familial Spina Bifida.** *American Journal of Medical Genetics*, 1999, **87**:407-412.
24. Tamura T, Picciano MF: **Folate and human reproduction.** *Am J Clin Nutr* 2006, **83**(5):993-1016.
25. M. L. Faixas, Y. Manginelli, M. L. Strada Agodino, P. Galarza, A. Perusco, Correa GE: **Niveles Plasmáticos de Homocisteína y presencia del Polimorfismo C677T: Estudio Preliminar en un grupo de pacientes.** *Bioquímica y Patología Clínica Asociación Bioquímica Argentina* 2005, **69**(002):62-65.
26. Messika AH, Kaluski DN, Lev E, Iakobishvili Z, Shohat M, Hasdai D, Mager A: **Nutrigenetic impact of daily folate intake on plasma homocysteine and folate levels in patients with different methylenetetrahydrofolate reductase genotypes.** *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.*
27. Liebres KJ, Boers GH, Verhoef P, Den Heijer M, Kluijtmans LS, Van Der Put NM, et al: **A second common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene and its relationship to MTHFR enzyme activity, homocysteine, and cardiovascular disease risk.** *Journal of Molecular Medicine* Volume 79, Number 9 / septiembre de 2001 **79**(9):522-528.
28. Anne M. Molloy PD, Edward V. Quadros PD, Jeffrey M. Sequeira MS, James F. Troendle PD, John M. Scott SD, Peadar N. Kirke, F.F.P.H.M.I., James L. Mills MD: **Lack of Association between Folate-Receptor Autoantibodies and Neural-Tube Defects.** *The new england journal of medicine* 2009, **361**:152-160.
29. Felix TM, Leistner S, Giugliani R: **Metabolic effects and the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism associated with neural tube defects in southern Brazil.** *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2004, **70**(7):459-463.
30. Parle-McDermott A, Mills JL, Kirke PN, O'Leary VB, Swanson DA, Pangilinan F, Conley M, Molloy AM, Cox C, Scott JM *et al*: **Analysis of the MTHFR 1298A-->C and 677C-->T polymorphisms as risk factors for neural tube defects.** *J Hum Genet* 2003, **48**(4):190-193.
31. De Marco P, Calevo MG, Moroni A, Arata L, Merello E, Finnell RH, Zhu H, Andreussi L, Cama A, Capra V: **Study of MTHFR and MS polymorphisms as risk factors for NTD in the Italian population.** *J Hum Genet* 2002, **47**(6):319-324.
32. Fodinger M, Wolf G, Fischer G, Rasoul-Rockenschaub S, Schmid R, Horl WH, Sunder-Plassmann G: **Effect of MTHFR 677C>T on plasma total homocysteine levels in renal graft recipients.** *Kidney Int* 1999, **55**(3):1072-1080.
33. Heijmans BT, Gussekloo J, Kluit C, Droog S, Lagaay AM, Knook DL, Westendorp RG, Slagboom EP: **Mortality risk in men is associated with a common mutation in the**

- methylene-tetrahydrofolate reductase gene (MTHFR).** *Eur J Hum Genet* 1999, **7(2)**:197-204.
34. Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chen C, Bostick R, Fosdick L, Beresford SA, Yasui Y, Potter JD: **Colorectal adenomas and the C677T MTHFR polymorphism: evidence for gene-environment interaction?** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999, **8(8)**:659-668.
 35. Ulrich CM, Kampman E, Bigler J, Schwartz SM, Chen C, Bostick R, Fosdick L, Beresford SA, Yasui Y, Potter JD: **Lack of association between the C677T MTHFR polymorphism and colorectal hyperplastic polyps.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000, **9(4)**:427-433.
 36. Crott JW, Mashiyama ST, Ames BN, Fenech M: **The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001, **10(10)**:1089-1096.
 37. Wiemels JL, Smith RN, Taylor GM, Eden OB, Alexander FE, Greaves MF: **Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and risk of molecularly defined subtypes of childhood acute leukemia.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001, **98(7)**:4004-4009.
 38. Wrone EM, Zehnder JL, Hornberger JM, McCann LM, Coplon NS, Fortmann SP: **An MTHFR variant, homocysteine, and cardiovascular comorbidity in renal disease.** *Kidney Int* 2001, **60(3)**:1106-1113.
 39. Blanton SH, Patel S, Hecht JT, Mulliken JB: **MTHFR is not a risk factor in the development of isolated nonsyndromic cleft lip and palate.** *Am J Med Genet* 2002, **110(4)**:404-405.
 40. Hobbs CA, Cleves MA, Lauer RM, Burns TL, James SJ: **Preferential transmission of the MTHFR 677 T allele to infants with Down syndrome: implications for a survival advantage.** *Am J Med Genet* 2002, **113(1)**:9-14.
 41. Stuppia L, Gatta V, Gaspari AR, Antonucci I, Morizio E, Calabrese G, Palka G: **C677T mutation in the 5,10-MTHFR gene and risk of Down syndrome in Italy.** *Eur J Hum Genet* 2002, **10(6)**:388-390.
 42. Balta G, Yuksek N, Ozyurek E, Ertem U, Hicsonmez G, Altay C, Gurgey A: **Characterization of MTHFR, GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes in childhood acute leukemia.** *Am J Hematol* 2003, **73(3)**:154-160.
 43. Bjelland I, Tell GS, Vollset SE, Refsum H, Ueland PM: **Folate, vitamin B12, homocysteine, and the MTHFR 677C->T polymorphism in anxiety and depression: the Hordaland Homocysteine Study.** *Arch Gen Psychiatry* 2003, **60(6)**:618-626.
 44. Canepa A, Carrea A, Caridi G, Dertenois L, Minniti G, Cerone R, Canini S, Calevo MG, Perfumo F: **Homocysteine, folate, vitamin B12 levels, and C677T MTHFR mutation in children with renal failure.** *Pediatr Nephrol* 2003, **18(3)**:225-229.
 45. Garfunkel VA, Porto PI, Garcia SI, Dieuzeide G, Kirsznar T, Plotquin Y, Spataro RJ, Gonzalez C, Pirola CJ: **Hyperhomocysteinemia but not MTHFR genotype is associated with young-onset essential hypertension.** *J Hum Hypertens* 2003, **17(5)**:361-364.
 46. Girelli D, Martinelli N, Pizzolo F, Friso S, Olivieri O, Stranieri C, Trabetti E, Faccini G, Tinazzi E, Pignatti PF *et al*: **The interaction between MTHFR 677 C->T genotype and folate status is a determinant of coronary atherosclerosis risk.** *J Nutr* 2003, **133(5)**:1281-1285.
 47. Yanamandra K, Bocchini JA, Jr., Thurmon TF: **Absence of association of fetal MTHFR C677T polymorphism with prenatal Down syndrome pregnancies.** *Eur J Hum Genet* 2003, **11(1)**:5.
 48. Berkun Y, Levartovsky D, Rubinow A, Orbach H, Amar S, Grenader T, Abou Atta I, Mevorach D, Friedman G, Ben-Yehuda A: **Methotrexate related adverse effects in patients with rheumatoid arthritis are associated with the A1298C polymorphism of the MTHFR gene.** *Ann Rheum Dis* 2004, **63(10)**:1227-1231.

49. Curtin K, Bigler J, Slattery ML, Caan B, Potter JD, Ulrich CM: **MTHFR C677T and A1298C polymorphisms: diet, estrogen, and risk of colon cancer.** *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004, **13**(2):285-292.
50. Li XM, Zhang YZ, Xu YX, Jiang S: **[Study on the relationship of MTHFR polymorphisms with unexplained recurrent spontaneous abortion].** *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2004, **21**(1):39-42.
51. Gebhardt GS, Scholtz CL, Hillermann R, Odendaal HJ: **Combined heterozygosity for methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutations C677T and A1298C is associated with abruptio placentae but not with intrauterine growth restriction.** *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2001, **97**(2):174-177.
52. Zoodsma M, Nolte IM, Schipper M, Oosterom E, van der Steege G, de Vries EG, te Meerman GJ, van der Zee AG: **Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and susceptibility for (pre)neoplastic cervical disease.** *Hum Genet* 2005, **116**(4):247-254.
53. Delgado-Enciso I, Martinez-Garza SG, Rojas-Martinez A, Espinoza-Gomez F, Canseco-Avila LM, Vidal-Gutierrez O, Garza-Leal JG, Barboza-Quintana O, Flores-Gutierrez JP, Barrera-Saldana HA *et al*: **[The effect of MTHFR polymorphisms, pregnancy and first intercourse on cervical cancer in a population from the Northeastern Mexico].** *Rev Invest Clin* 2006, **58**(5):462-469.
54. Piyathilake CJ, Azrad M, Macaluso M, Johanning GL, Cornwell PE, Partridge EE, Heimburger DC: **Protective association of MTHFR polymorphism on cervical intraepithelial neoplasia is modified by riboflavin status.** *Nutrition* 2007, **23**(3):229-235.
55. Shekari M, Sobti RC, Kordi Tamandani DM, Suri V: **Impact of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) codon (677) and methionine synthase (MS) codon (2756) on risk of cervical carcinogenesis in North Indian population.** *Arch Gynecol Obstet* 2008, **278**(6):517-524.
56. Agodi A, Barchitta M, Cipresso R, Marzagalli R, La Rosa N, Caruso M, Castiglione MG, Travali S: **Distribution of p53, GST, and MTHFR polymorphisms and risk of cervical intraepithelial lesions in sicily.** *Int J Gynecol Cancer* 2010, **20**(1):141-146.
57. Kohaar I, Kumar J, Thakur N, Hussain S, Niyaz MK, Das BC, Sengupta S, Bharadwaj M: **Homocysteine levels are associated with cervical cancer independent of methylene tetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) polymorphisms in Indian population.** *Biomarkers* 2010, **15**(1):61-68.
58. Tong SY, Lee JM, Song ES, Lee KB, Kim MK, Yun YM, Lee JK, Son SK, Lee JP, Kim JH *et al*: **The effects of polymorphisms in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), methionine synthase (MTR), and methionine synthase reductase (MTRR) on the risk of cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer in Korean women.** *Cancer Causes Control* 2010, **21**(1):23-30.
59. Daniel Leclerc, Sahar Sibani, Rima Rozen: **Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Overview of Mutations/Polymorphisms.** In: *NCBI*. 2009.
60. WikiPathways: **Folic acid in the wikipathways,** <http://www.wikipathways.org/index.php/Pathway:WP241>. In.; 2009.
61. Toffoli G, Veronesi A, Boiocchi M, Crivellari D: **MTHFR gene polymorphism and severe toxicity during adjuvant treatment of early breast cancer with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil (CMF).** *Ann Oncol* 2000, **11**(3):373-374.
62. Centers for Disease Control and Prevention C: **National Health and Nutrition Examination Survey.** In. Edited by Prevention CfDca. Atlanta,; 2009.
63. Yang Q, Cogswell ME, Hamner HC, Carriquiry A, Bailey LB, Pfeiffer CM, Berry RJ: **Folic acid source, usual intake, and folate and vitamin B-12 status in US adults: National Health**

- and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2006.** *Am J Clin Nutr* 2010, **91**(1):64-72.
64. M Fenech, C Aitken, J Rinaldi: **Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults.** *Carcinogenesis* 1998, **19**:1163-1171.
65. Cordain L, Hickey MS: **Ultraviolet radiation represents an evolutionary selective pressure for the south-to-north gradient of the MTHFR 677TT genotype.** *Am J Clin Nutr* 2006, **84**(5):1243; author reply 1244-1245.
66. Han J, Colditz GA, Hunter DJ: **Polymorphisms in the MTHFR and VDR genes and skin cancer risk.** *Carcinogenesis* 2007, **28**(2):390-397.
67. Abratte CM, Wang W, Li R, Moriarty DJ, Caudill MA: **Folate intake and the MTHFR C677T genotype influence choline status in young Mexican American women.** *J Nutr Biochem* 2008, **19**(3):158-165.
68. Angela M Devlin, Robert Clarke, Jacqueline Birks, John Grimley Evans, Charles H Halsted, American Society for Nutrition: **Interactions among polymorphisms in folate-metabolizing genes and serum total homocysteine concentrations in a healthy elderly population.** *American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, **83**:108-713.
69. Víctor Hugo Durán: **Nutrigenómica: La interfase entre genoma y los alimentos.** In: *Ciencia & Trabajo Seguridad Alimentaria*. vol. 1; 2008.
70. Iván Delgado-Enciso, Hugo Alberto Barrera-Saldaña, et al: **Mutación 677T del gen MTHFR en adenomas y cáncer colorrectal en el noreste de México.** *Revista Gastroenterología Mexicana*, 2001, **66**(1):55-60.
71. Rosa-Maria Guéant-Rodriguez, Jean-Louis Guéant, Renée Debard, Sylvie Thirion, Lu Xiao Hong, Osvaldo M Mutchinick: **Prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase 677T and 1298C alleles and folate status: a comparative study in Mexican, West African, and European populations.** *American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, **83**(American Society for Nutrition):701-707.
72. Ordovas JM, Kaput J, Corella D: **Nutrition in the genomics era: cardiovascular disease risk and the Mediterranean diet.** *Mol Nutr Food Res* 2007, **51**(10):1293-1299.
73. Crott JW, Choi SW, Ordovas JM, Ditelberg JS, Mason JB: **Effects of dietary folate and aging on gene expression in the colonic mucosa of rats: implications for carcinogenesis.** *Carcinogenesis* 2004, **25**(1):69-76.
74. Kaput J: **Nutrigenomics research for personalized nutrition and medicine.** *Curr Opin Biotechnol* 2008, **19**(2):110-120.
75. McCabe-Sellers B, Lovera D, Nuss H, Wise C, Ning B, Teitel C, Clark BS, Toennesen T, Green B, Bogle ML *et al*: **Personalizing nutrigenomics research through community based participatory research and omics technologies.** *OMICS* 2008, **12**(4):263-272.
76. Kaput J, Rodriguez RL: **Nutritional genomics: the next frontier in the postgenomic era.** *Physiol Genomics* 2004, **16**(2):166-177.
77. Kaput J: **Diet-disease gene interactions.** *Nutrition* 2004, **20**(1):26-31.

TESIS DE MAESTRIA

Dr. RAFAEL EDUARDO MONTAÑO ARRIETA

ANEXOS



TUTOR

Dra. Ximena Aguilar Mercado

**INSTITUTO DE GENETICA
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES**

2009