



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 en una muestra de niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado.

Johana Paola Ríos Ortega

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Maestría en Neurociencias

Bogotá, Colombia

2020

Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 en una muestra de niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado.

Johana Paola Ríos Ortegón

Tesis de investigación presentada como requisito para optar al título de:
Magister en Neurociencias.

Director:

MD. MSc. Juan José Yunis Londoño
Profesor Titular Departamento de Patología Molecular

Codirectores:

MSc. Angélica Jhoan Alarcón García
Terapeuta Ocupacional

MD. Rafael Antonio Vásquez Rojas
Psiquiatra infantil

Grupo de investigación:

Neurociencias
Patología Molecular

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Maestría en Neurociencias
Bogotá, Colombia
2020.

*Dedicada a mi madre, a su empuje,
perseverancia, amor y compromiso.*

Y a mis abuelos, mis amores eternos.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia y su programa "UN INNOVA" con su convocatoria nacional de proyectos para el fortalecimiento de la innovación, en la Universidad Nacional de Colombia a partir de desarrollo de prototipos y experiencias piloto 2016-2018 segunda cohorte, la cual permitió el financiamiento y ejecución de este proyecto.

Al profesor Juan José Yunis, por su guía y confianza en este proceso, por su interés en mi formación integral como profesional.

A la profesora Angelica Jhoan Alarcón por su orientación desde su visión como Terapeuta Ocupacional y por su acompañamiento permanente en la construcción de esta investigación.

Al Doctor Rafael Antonio Vásquez, por su apoyo en el proceso de evaluación de los participantes y su orientación durante mi proceso de formación.

A los docentes adscritos al Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia, por su gran labor docente y paciencia para la instauración de conocimientos que facilitarían el desarrollo de este proyecto.

A los directivos y funcionarios de las instituciones que abrieron sus puertas para la ejecución de este estudio: Fundación Huellas de Bienestar, Colegio Francisco Primero SS y a todos los participantes.

Al Departamento de la Ocupación Humana, por su constante apoyo y seguimiento a los diferentes estadios de este estudio.

A Gabriela Concha Mera, por su excelente labor de enseñanza en técnicas y procedimientos del laboratorio.

A Magda, por su apoyo incondicional desde el primer día de este proceso.

A mi familia y a Daniel.

¡Gracias!

Resumen

El desplazamiento humano se ha catalogado como una de las experiencias traumáticas con mayor prevalencia en todo el mundo, actualmente este fenómeno concierne a más de 70 millones de personas. En Colombia la situación de desplazamiento forzado ha sido un fenómeno social que ha impactado a los colombianos alrededor de 50 años; diferentes disciplinas han enfocado sus procesos de investigación a identificar cual es el impacto que la experiencia del desplazamiento tiene en diferentes grupos poblacionales, ya que, generalmente la exposición a experiencias traumáticas se relaciona con cambios en procesos de adaptación, dificultades de comportamiento, estrés postraumático y el desarrollo de psicopatología. El mecanismo que subyace la relación entre un evento adverso como el desplazamiento y el comportamiento aún no es claro, una vía probable es la del estrés; en presencia de estresores hay una activación del principal mecanismo de respuesta al estrés; el eje hipotálamo- pituitario- adrenal; la exposición a estrés en etapas pre, peri y post natales modula el desarrollo del eje, lo que puede llevar a modificaciones en el comportamiento del individuo. Actualmente existe un interés particular por el estudio epigenético, ya que ofrece una alternativa para comprender como las experiencias tempranas dan lugar a cambios en la expresión génica, diferentes estudios se centran en la metilación del exón 1_F del gen receptor de glucocorticoides NR3C1, dado que es susceptible a cambios mediados por la interacción con el medio ambiente. Por otro lado, en la constante interacción de la triada persona-ambiente-ocupación se presume que, al existir algún cambio a nivel epigenético, este supone un impacto sobre el comportamiento de la persona, desempeño en tareas propias de su rol ocupacional e interacciones funcionales con el ambiente. Teniendo en cuenta lo anterior la presente investigación pretendió identificar y analizar la relación entre el perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1, el desempeño ocupacional y el comportamiento en una muestra colombiana de niños de 7 a 11 años víctimas del desplazamiento forzado interno y en un grupo control. El protocolo de evaluación estuvo integrado por pruebas de integración visual motora (VMI), competencia motora (BOT-2), perfil sensorial (Sensory Profile 2) y evaluación de habilidades psicosociales (Méndez, 2015); también se realizó un análisis del porcentaje de metilación en 13 dinucleótidos CpG individuales. Los resultados dejaron en evidencia diferencias significativas entre casos y controles a nivel de desempeño visomotor, competencia motora, procesamiento de estímulos y comportamiento; con relación al porcentaje de metilación se encontró un patrón de hipermetilación en el grupo de casos en la posición 169 de la región objetivo. Por último, se encontraron correlaciones no generalizables entre el porcentaje de metilación de sitios CpG individuales y desempeño en las pruebas realizadas.

Palabras clave: Desempeño, metilación de ADN, comportamiento, estrés, desplazamiento forzado.

Abstract

Human displacement has been cataloged as one of the traumatic experiences with the highest prevalence worldwide, currently, this phenomenon concerns more than 70 million people. In Colombia, the situation of forced displacement has been a social phenomenon that has impacted Colombians for around 50 years; different disciplines have focused their research processes on identifying the impact that the experience of displacement has on different population groups since exposure to traumatic experiences is generally related to changes in adaptation processes, behavioral difficulties, post-traumatic stress, and psychopathology. The mechanism that underlies the relationship between an adverse event such as displacement and behavior is not clear yet, a probable path is that of stress; in the presence of stressors there is an activation of the main mechanism of the stress response; the hypothalamic-pituitary-adrenal axis; exposure to stress in pre, peri and postnatal stages modulates the development of the axis, which can lead to modifications in the behavior of the individual. Currently, there is a particular interest in the epigenetic study, since it offers an alternative to understand how early experiences lead to changes in gene expression, different studies focus on the methylation of exon 1F of the glucocorticoid receptor gene NR3C1 since it is susceptible to changes mediated by interaction with the environment. On the other hand, in the constant interaction of the person-environment-occupation triad, it is presumed that, if there is any change at the epigenetic level, it supposes an impact on the behavior of the person, performance in tasks of their occupational role, and functional interactions with the environment. Taking into account the foregoing, the present investigation sought to identify and analyze the relationship between the methylation profile of the glucocorticoid receptor gene NR3C1, occupational performance, and behavior in a Colombian sample of children from 7 to 11 years of age who were victims of internal forced displacement and in a control group. The evaluation protocol consisted of tests of visual-motor integration (VMI), motor competence (BOT-2), sensory profile (Sensory Profile 2), and evaluation of psychosocial skills (Méndez, 2015); A methylation percentage analysis was also performed on 13 individual CpG dinucleotides. The results showed significant differences between cases and controls at the level of visual-motor performance, motor competence, stimulus processing, and behavior; Regarding the percentage of methylation, a hypermethylation pattern was found in the group of cases at position 169 in the target region. Finally, non-generalizable correlations were found between the methylation percentage of individual CpG sites and performance in the tests carried out.

Keywords: Performance, DNA methylation, behavior, stress, forced displacement.

Contenido

Capítulo I. Planteamiento del problema	16
1.1. Descripción del problema de investigación	16
1.2. Objetivos	20
1.2.1. Objetivo general	20
1.2.2. Objetivos específicos	20
1.3. Delimitación del problema	21
1.3.1. Temporal	21
1.3.2. Espacial	21
1.3.3. Conceptual.....	21
Capitulo II: Marco teórico	22
2.1. Antecedentes legales	22
2.2. Antecedentes investigativos	23
2.2.1. Conflicto armado y desplazamiento interno	23
2.2.2. Estrés.	29
2.2.3. Eje Hipotálamo-Pituitario-Adrenal (HPA)	30
2.2.4. Gen receptor de glucocorticoides NR3C1	32
2.2.5. Epigenética	36
2.2.6. Metilación y trauma	38
2.2.7. Niñez, desplazamiento forzado y comportamiento.	40
2.2.8. Modelo persona ambiente ocupación	41
Capitulo III: Diseño metodológico	44
3.1. Tipo de estudio	44
3.2. Población	44
3.2.1. Casos	44
3.2.2. Controles	45
3.3. Procedimientos	46
3.3.1. Firma de consentimiento informado.....	46
3.3.2. Entrevista inicial	46
3.3.3. Escala de Goodenough- Harris	48
3.3.4. Medidas antropométricas	48
3.3.5. Caracterización de desempeño ocupacional.....	48
3.3.6. Análisis epigenético.	55
3.4. Análisis Estadístico	59
3.5. Categorías analíticas	60
3.5.1. Desempeño ocupacional:	60
3.5.2. Perfil de metilación:	60
3.5.3. Relación entre el perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides y el desempeño ocupacional	60
3.6. Consideraciones éticas	60
Capitulo IV: Resultados	62
4.1. Desempeño Ocupacional	62
4.1.1. Caracterización sociodemográfica de la población evaluada	62
4.1.2. Reporte de padres	66

4.1.3.	Integración visual motora	67
4.1.4.	Competencia motora	68
4.1.5.	Perfil sensorial	69
4.1.6.	Evaluación de habilidades psicosociales de niños(as) de 5 a 11 años	71
4.2.	Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1	78
4.3.	Correlación de entre porcentaje de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 y desempeño ocupacional.	80
Capítulo V: Discusión		82
Capítulo VI: Conclusiones y recomendaciones.....		86
Referencias.		88

Lista de figuras

Figura 1 Reporte de víctimas de desplazamiento forzado 1985-2013	24
Figura 2 Evolución histórica de la consolidación territorial de los actores presuntamente responsables del éxodo 1980-1996	26
Figura 3 Evolución histórica de la consolidación territorial de los actores presuntamente responsables del éxodo 1997-2014	27
Figura 4 Interconexiones del eje HPA.....	31
Figura 5: Localización cromosómica.....	33
Figura 6 Estructura del gen receptor de glucocorticoides NR3C1	34
Figura 7 Homología del hGR con GR de la rata.....	35
Figura 8 Gen NR3C1-características epigenéticas.....	38
Figura 9 Modelo persona-ambiente-ocupación	43
Figura 10 Flujograma del proceso de evaluación.....	47
Figura 11 Perfil motor de la batería BOT-2 (Bruininks & Bruininks, 2005)	49
Figura 12 Apartado del cuadernillo de evaluación test de Integración Visual Motora (VMI)	51
Figura 13 Apartado cuadernillo de aplicación de la prueba suplementaria de Percepción Visual... ..	51
Figura 14 Curva normal y el sistema de clasificación del Perfil Sensorial 2 (Dunn,2014).....	54
Figura 15 Representación gráfica de la cadena ADN previo y posterior a la conversión por bisulfito	56
Figura 16 Dinucleótidos CpG en la región de interés	57
Figura 17 Interacción con el ambiente grupo casos	76
Figura 18 Interacción con el ambiente grupo control.....	77

Lista de gráficos

Gráfico 1 Región de procedencia	64
Gráfico 2 Tiempo transcurrido desde el desplazamiento.....	64
Gráfico 3 Desempeño en prueba VMI y percepción visual	67
Gráfico 4 Desempeño en competencia motora y control motor fino BOT-2	69
Gráfico 5 Procesamiento de la información auditiva y táctil.....	70
Gráfico 6 Respuesta social -emocional según SP2.....	71

Lista de tablas

Tabla 1 Ortología del gen NR3C1 en diferentes especies.....	35
Tabla 2 Estudios relacionados con metilación y trauma.....	39
Tabla 3 Subdimensiones de la batería BOT-2 (Bruininks & Bruininks, 2005).....	49
Tabla 4 Conversión de puntuaciones estándar a categorías descriptivas de la batería BOT-2 (Bruininks & Bruininks, 2005)	50
Tabla 5 Conversión de puntuaciones escalares a categorías de desempeño VMI.....	52
Tabla 6 Criterios de selección de la frecuencia en que se presenta un comportamiento (Dunn, 2014)	53
Tabla 7 Conversión de categorías descriptivas a patrones numéricos (Dunn, 2014)	54
Tabla 8 Primers diseñados para BSP	58
Tabla 9 Condiciones de PCR- Reactivos y volúmenes	58
Tabla 10 Condiciones de termociclado	58
Tabla 11 Distribución por género de los participantes.....	62
Tabla 12 Distribución por edad de los participantes	63
Tabla 13 Características antropométricas de la población	63
Tabla 14 Distribución de los participantes por edad y grado escolar	65
Tabla 15 Distribución de los participantes por pérdida/no pérdida de años escolares.....	66
Tabla 16 Desempeño en pruebas de integración visual motora	67
Tabla 17 Desempeño en competencia motora total y subdimensiones del BOT-2.....	68
Tabla 18 Procesamiento sensorial distribución entre casos y controles	70
Tabla 19 Área de comportamiento SP 2.....	71
Tabla 20 CpG informativas evaluadas por BSP para el exón 1 _F del gen NR3C1	78
Tabla 21 Regresión beta para porcentajes de metilación por posición	79
Tabla 22 Asociación entre porcentaje de metilación y desempeño ocupacional	80

Lista de anexos

Anexo 1: Consentimiento informado

Anexo 2: Entrevista inicial

Anexo 3: Protocolo QIAamp DNA Mini Blood Kit (51104- Qiagen)

Anexo 4: Protocolo EZ DNA Methylation- Direct Kit (D5021-Zymmo-Research).

Anexo 5: Información del producto Thermo Scientific DreamTaq DNA Polymerase (EP 0701- Thermo Scientific).

Anexo 6: Protocolo de purificación Etanol- Acetato de amonio.

Anexo 7: Resultados ESME- Electroferograma

Anexo 8: Resultados de asociación entre porcentaje de metilación en posiciones específicas y desempeño ocupacional.

Lista de símbolos y abreviaturas.

ADN	Acido Desoxirribonucleico
BSP	Bisulfite Sequencing PCR
Chr	Cromosoma.
CpG	Citosina- enlace fosfodiester-Guanina
DE	Abreviatura para “desviación estándar”
ESME	Epigenetic Sequencing Methylation software
GR	Glucocorticoid receptor
HPA	Eje hipotálamo-pituitario-adrenal
NR3C1	Nuclear Receptor Subfamily 3, Group C, Member 1 / Gen receptor de glucocorticoides
PCR	Polymerase Chain Reaction
Tm	Temperatura de melting

Introducción

El desplazamiento forzado por causas políticas, económicas, religiosas y de vulneración de derechos humanos se ha catalogado como uno de los principales problemas sociales en todo el mundo, que actualmente cuenta con más de 70 millones de personas afectadas (ACNUR, 2018).

La respuesta humanitaria ante el fenómeno del desplazamiento interno en Colombia está centrada en la atención de la salud física, el acceso a recursos básicos y apoyo psicosocial en emergencias agudas, usualmente a aquellas concernientes a desplazamientos masivos de la población (ACNUR, 2012), estos acompañamientos se van desvaneciendo conforme avanza el tiempo después del desplazamiento. Es de mencionar que, en su mayoría, los eventos de desplazamiento forzado son de tipo individual, por lo que el acceso a la asistencia de emergencia oficial está condicionada a trámites que los individuos deben realizar por sus propios medios (OCHA, 2013)

Desde diferentes disciplinas se han adelantado acciones en la caracterización de las “condiciones posteriores al desplazamiento” relacionadas especialmente con factores sociodemográficos como: vivienda, alimentación, ocupación; pero se sabe poco sobre el papel de las condiciones relacionadas con el trauma y los aspectos metacognitivos en el desempeño relacionado con el desplazamiento forzado. En general, el estatus de desplazamiento se ha asociado en niños con una probabilidad diez veces mayor de desarrollar trastornos en el comportamiento asociado a trauma (Fazel, Wheeler & Danesh, 2005).

Del total de personas víctimas de desplazamiento forzado en el año 2018, el 10% corresponde a niñas y niños en el rango de 7 a 11 años (CODHES, 2018), esta etapa del desarrollo es relevante en cuanto a la consolidación de habilidades (Rice, 1997), es por ello por lo que un evento adverso puede resultar en cambios a nivel de maduración cerebral y por consiguiente en cambios funcionales evidenciables en el comportamiento.

El mecanismo por el cual la adversidad temprana puede llegar a impactar el comportamiento ha sido ampliamente estudiado, pero aún no es claro, se le ha asociado

con el funcionamiento alterado del eje hipotálamo-pituitario-adrenal, mediado por la acción del receptor de glucocorticoides (McGowan et al., 2009).

Para Terapia Ocupacional supone un reto el identificar más allá del comportamiento observable, como, la influencia del ambiente y el contexto podría estar relacionado directamente con el desempeño de los niños en escenarios educativos. Para ello, el estudio de modificaciones epigenéticas, puede llegar a ser una herramienta para la comprensión y análisis del impacto ambiental sobre la persona y como esto, puede llevar a cambios en la participación en actividades propias de su rol ocupacional, lo que podría ser un punto de partida para el diseño de planes de intervención y acompañamiento con esta población.

Capítulo I. Planteamiento del problema.

1.1. Descripción del problema de investigación.

El desplazamiento forzado en Colombia es un fenómeno que se deriva del conflicto armado interno que se ha prolongado por más de 50 años; en este sentido, es un problema que afecta el desarrollo social del país, según el registro único de víctimas (RUV) el número de personas víctimas de este hecho a junio de 2020 fue 9'031.048. Una persona en situación de desplazamiento es alguien que ha sido forzado a abandonar su hogar y sus actividades porque su vida, seguridad o libertad se han visto afectadas o amenazadas, previo a la exposición a: confrontaciones entre grupos armados, amenazas, abusos y violaciones a los derechos humanos como el reclutamiento de menores, violencia sexual, minas, extorsión, homicidio y/u hostigamiento (Ministerio de Defensa Nacional, p. 1).

En un análisis etario de la población desplazada en Colombia al momento de los hechos, resulta claro que los niños, niñas y adolescentes constituyen un grupo amplio de personas obligadas a desplazarse a causa del conflicto armado y la violencia. (CMHN, 2015). De acuerdo con el RUV, este grupo poblacional representa el 26% del total de la población desplazada.

Desde la perspectiva de la salud mental, el desplazamiento es un fenómeno que deteriora las condiciones de vida de las personas en esta situación (Alejo, 2005), este suceso necesariamente trae cambios no deseados, no solo en el ambiente físico y geográfico, sino en los esfuerzos que hace el individuo para adaptarse a las nuevas condiciones de vida (Slaikeu, 1995), esto implica la generación respuestas por parte del individuo que pueden ser o no adaptativas, en la literatura se ha descrito que una de las condiciones prevalentes en la población víctima es el estrés (Londoño, Sicachá & Gonzalez, 2011) y la presencia de comportamientos asociados a psicopatología por la exposición a estrés crónico. Un trastorno por estrés es claramente distinguible de reacción normal por su mayor severidad, la diversidad de síntomas y la alteración del funcionamiento social (APA, 2014). Los niños víctimas de desplazamiento forzado, pueden presentar cambios en el afecto, conducta, trastornos de aprendizaje, reacciones violentas, trastorno de estrés postraumático o intentos de suicidio (Cardona & Londoño, 2001).

La presencia de adversidad en los primeros años de vida se ha asociado con el desarrollo

de trastornos mentales en otras etapas de la vida (Afifi et al, 2008), estudios en roedores, primates no humanos y en humanos han encontrado una fuerte relación entre la exposición a eventos estresantes de tipo violento como el maltrato infantil, con el desarrollo de trastorno de ansiedad, trastorno depresivo mayor e incluso enfermedades cardiovasculares (Bustamante et al., 2016), dentro de los hallazgos de estas investigaciones se han encontrado marcas epigenéticas en genes del eje HPA, las cuales se han asociado con la desregulación del eje con consecuencias funcionales en la respuesta al estrés. (Oberlander et al., 2008; McGowan et al., 2009; Dammann et al., 2011; Perroud et al, 2013; Conradt et al., 2013; Hompes et al., 2013; Vukojevic et al, 2014; Melas et al., 2013 & Martin-Blanco, et al., 2014)

El cuerpo cuenta con mecanismos biológicos innatos que permiten la adaptación a las circunstancias para dar una respuesta adecuada, este mecanismo está regulado por el eje hipotálamo-pituitario-adrenal HPA, una región esencial del sistema neuroendocrino que controla las reacciones a estrés y regula otros procesos del organismo, esta homeostasis resulta funcional en situaciones de estrés agudo, sin embargo si esta exposición resulta crónica se verá afectada la respuesta biológica teniendo repercusión sobre las funciones cumplidas por el eje. (Pacak & Palkovits, 2001).

Un mediador de la respuesta del eje HPA, particularmente relevante por su participación en el mecanismo de feedback negativo es el receptor de glucocorticoides GR, codificado por el gen receptor de glucocorticoides NR3C1. Una revisión sistemática identificó 40 artículos publicados entre 2004 y 2014, que describen cambios en la metilación del gen receptor de glucocorticoides en respuesta a la exposición a eventos adversos y estrés en la primera infancia, el estrés parental y la psicopatología de los padres (Turecki & Meaney, 2016), la observación más consistente es el aumento en la metilación en el exón 1_F (o el equivalente exón 1₇ en estudios en animales) del gen NR3C1 en respuesta a la exposición a situaciones adversas durante etapas tempranas de la vida. El exón 1_F contiene un elemento de secuencia de ADN que codifica para un sitio de unión sensible a los factores de transcripción NGF1A / EGR1 (McGowan et al., 2009), la expresión reducida de NR3C1 puede darse por cambios en la metilación en esta región, al tener poca disponibilidad del receptor de glucocorticoides, puede existir una disminución del feedback negativo mediada por glucocorticoides al hipotálamo y la pituitaria, dando lugar a la activación persistente del

eje HPA y a las alteraciones resultantes evidenciables en comportamiento, estado de ánimo, el aprendizaje y la memoria (Daskalakis & Yehuda, 2014).

El periodo de consolidación de habilidades a nivel sensorial, motor, cognitivo y socioemocional, va desde la niñez hasta la adultez temprana, estos procesos se relacionan con la mielinización y fortalecimiento de sinapsis en los lóbulos cerebrales, este es un periodo de tiempo donde la experiencia influye en cómo se darán estas consolidaciones (Noble et al, 2015), que además serán evidenciadas a través del desempeño y comportamiento de los niños y niñas en diferentes escenarios. En la literatura se describen cambios morfológicos a nivel de hipocampo y amígdala que pueden impactar sobre el desempeño en funciones neurocognitivas, como lenguaje, autorregulación, procesamiento socioemocional y funciones ejecutivas en general (Staff et al., 2012).

Los niños expuestos a niveles extremos de estrés durante etapas pre-peri y post natales son propensos a desarrollar ansiedad o trastornos agresivos, así como a experimentar dificultades de regulación emocional que interrumpen sus relaciones interpersonales en el hogar y en la escuela, lo que tiene amplias repercusiones en el aprendizaje y funcionamiento de la escuela (Parade, et al. 2016) como bajo desempeño en actividades, pérdidas de años, dificultades sociales, fracaso y/o abandono escolar (Van Meerbake et al., 2008); esto, tendrá impacto sobre su sentido de bienestar personal y en el reconocimiento de su capacidad de desempeño, que pueden ser fuentes secundarias para desarrollar trastornos mentales o del comportamiento.

Por otro lado, probablemente la sociedad no se vea enfrentada a un aumento de costos por la presencia de trastornos en estos niños, sin embargo, eventualmente el impacto resultará más evidente cuando los niños expuestos a situaciones adversas durante la niñez sean adultos en capacidad de producir (Lara et al., 2009); se ha descrito el riesgo elevado en esta población de desarrollar problemas en su funcionalidad a nivel social, familiar y académico que pueden resultar en aumento del consumo de sustancias psicoactivas, muerte prematura, involucramiento en actividades delictivas (Erskine et al., 2014) y en algunos casos en el desarrollo de una psicopatología.

La Unidad de víctimas ha establecido recursos para la atención, asistencia y reparación integral, estas medidas de reparación legalmente cobijan a toda la población víctima, pero estas funcionan diferencialmente según las características del desplazamiento, en general la atención, asistencia y seguimiento se privilegia en la etapa aguda del evento; una de

las medidas de reparación es la “Estrategia de Recuperación Emocional”, donde se tiene atención orientada al compartir sentimientos, creencias y experiencias; en relación con la asistencia en educación, acorde al decreto 4800 de 2011 el acceso a la educación preescolar, básica y media en instituciones oficiales de educación es de carácter gratuito velando por el cumplimiento de los derechos de las personas en situación de desplazamiento; sin embargo a pesar de los esfuerzos en la reparación emocional y la garantía de acceso a la educación, las estadísticas demuestran alta tasa de deserción y desescolarización en esta población, por lo que más recientemente se han formulado estrategias nacionales y municipales para la permanencia escolar.

Diversas investigaciones han caracterizado como el fenómeno de migración interna forzada o desplazamiento forzado en diferentes etapas del desarrollo genera dificultades de comportamiento de niños, niñas y adolescentes; sin embargo, aún no se ha relacionado con alteraciones en el desempeño ni el mecanismo biológico que puede subyacer estas respuestas.

El reconocer el impacto del desplazamiento a diferentes niveles, facilitará la comprensión del porqué algunas acciones pueden parecer insuficientes por las características de la población, y en tiempos de terminación del conflicto puede resultar como antecedente para el establecimiento de rutas de atención para una reparación con cobertura integral a las víctimas.

En ese sentido, el presente proyecto de investigación se plantea ¿Cuál es la relación entre el perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1, el desempeño ocupacional y el comportamiento, en niños, niñas y adolescentes víctimas de desplazamiento forzado?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Analizar la relación entre el perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides y desempeño ocupacional en una muestra de niños y niñas colombianos de 7 a 11 años expuestos a eventos estresantes de tipo violento como el desplazamiento forzado.

1.2.2. Objetivos específicos

Caracterizar el desempeño ocupacional en un grupo de niños y niñas de 7 a 11 años expuestos a eventos estresantes de tipo violento y en un grupo control.

Identificar el perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 en una muestra de niños y niñas colombianos de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado y en un grupo control.

Correlacionar la presencia de modificaciones epigenéticas en el gen NR3C1 y el desempeño ocupacional.

1.3. Delimitación del problema

1.3.1. Temporal

Este proyecto se ejecutó entre 2016 y 2020. En este periodo de tiempo se cumplieron cada una de las fases del proyecto que incluyen: la formulación del anteproyecto, aprobación por parte del comité de ética de facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia; obtención de la muestra, evaluación de los participantes, análisis en el laboratorio, puntuación y análisis de pruebas de desempeño ocupacional; por último, la descripción y el análisis de resultados aquí expuestos.

1.3.2. Espacial

El desarrollo de este proyecto se realizó en la ciudad de Bogotá, el entrenamiento en las pruebas aplicadas, los estudios de laboratorio y actividades administrativas tuvieron lugar en el Instituto de Genética y en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

La muestra fue captada en la localidad número 19 de Bogotá: Ciudad Bolívar, específicamente en el barrio Lucero Bajo, los dos días de pruebas tuvieron lugar en sitios aledaños a la ubicación de los niños.

Un segundo grupo de niños participantes en esta investigación corresponde a estudiantes del Colegio Francisco Primero SS, al igual que con el primer grupo las pruebas tuvieron lugar en inmediaciones del colegio, dentro de la jornada escolar, con autorización previa de los padres.

1.3.3. Conceptual

Para el desarrollo de esta investigación se tienen en cuenta las siguientes bases teóricas que enmarcan el objeto de estudio: desempeño ocupacional, perfil epigenético, gen receptor de glucocorticoides NR3C1 y la neurobiología del estrés.

Capítulo II: Marco teórico.

2.1. Antecedentes legales

Ley 1448 del 2011 por la cual se dictan medidas de atención, asistencia y reparación integral a las víctimas del conflicto armado. Esta ley tiene como objetivo establecer un conjunto de medidas judiciales, administrativas, sociales y económicas, en beneficio de las a las víctimas del conflicto armado interno; que hagan posible el goce de sus derechos a la verdad, justicia y reparación, reconociendo su condición de víctimas y se garantice el cumplimiento de sus derechos constitucionales.

Se consideran víctimas “aquellas personas que individual o colectivamente hayan sufrido un daño por hechos ocurridos a partir del 1º de enero de 1985, como consecuencia de infracciones al Derecho Internacional Humanitario o de violaciones graves y manifiestas a las normas internacionales de Derechos Humanos, ocurridas con ocasión del conflicto armado interno”. El Estado se compromete a adelantar prioritariamente acciones encaminadas al fortalecimiento de la autonomía de las víctimas para que las medidas de atención, asistencia y reparación establecidas en la presente ley, contribuyan a recuperarlas como ciudadanos en ejercicio pleno de sus derechos y deberes.

Las víctimas tienen derecho a ser reparadas de manera adecuada, diferenciada, transformadora y efectiva por el daño que han sufrido como consecuencia de las violaciones de que trata el artículo 3º de la presente ley. La reparación comprende las medidas de restitución, indemnización, rehabilitación, satisfacción y garantías de no repetición, en sus dimensiones individual, colectiva, material, moral y simbólica. Cada una de estas medidas será implementada a favor de la víctima dependiendo de la vulneración en sus derechos y las características del hecho victimizante.

Convención sobre los derechos del niño (1989): Es un tratado internacional para promover y proteger los derechos de la infancia. Es de particular interés el artículo 27 donde se estipula que: “Los Estados partes reconocen el derecho a todo niño a un nivel de vida adecuado para su desarrollo físico, mental, espiritual, moral y social”, el artículo 38 que contempla la protección de la población civil durante los conflictos armados, los Estados Partes adoptarán todas las medidas posibles para asegurar la protección y el cuidado de los niños afectados por un conflicto armado y el artículo 39 donde textualmente reza “Los

Estados Partes adoptarán todas las medidas apropiadas para promover la recuperación física y psicológica y la reintegración social de todo niño víctima de: cualquier forma de abandono, explotación o abuso; tortura u otra forma de tratos o penas crueles, inhumanos o degradantes; o conflictos armados. Esa recuperación y reintegración se llevarán a cabo en un ambiente que fomente la salud, el respeto de sí mismo y la dignidad del niño”.

Ley 949 del 2005 por la cual se dictan normas para el ejercicio de la profesión de Terapia Ocupacional en Colombia. La Terapia Ocupacional es una profesión liberal de formación universitaria que aplica sus conocimientos en el campo de la seguridad social y la educación y cuyo objetivo es el estudio de la naturaleza del desempeño ocupacional de las personas y las comunidades, la promoción de estilos de vida saludables y la prevención, tratamiento y rehabilitación de personas con discapacidades y limitaciones, utilizando procedimientos de acción que comprometen el autocuidado, el juego, el esparcimiento, la escolaridad y el trabajo como áreas esenciales de su ejercicio

2.2. Antecedentes investigativos

2.2.1. Conflicto armado y desplazamiento interno

En Colombia ha existido el conflicto armado interno hace más de medio siglo. En las dos últimas décadas este se extendió en el país, lo que ha llevado a cambios drásticos en las formas de vida y prácticas ancestrales, además de llevar a una reconfiguración forzada de las ciudades. (PNUD, 2003).

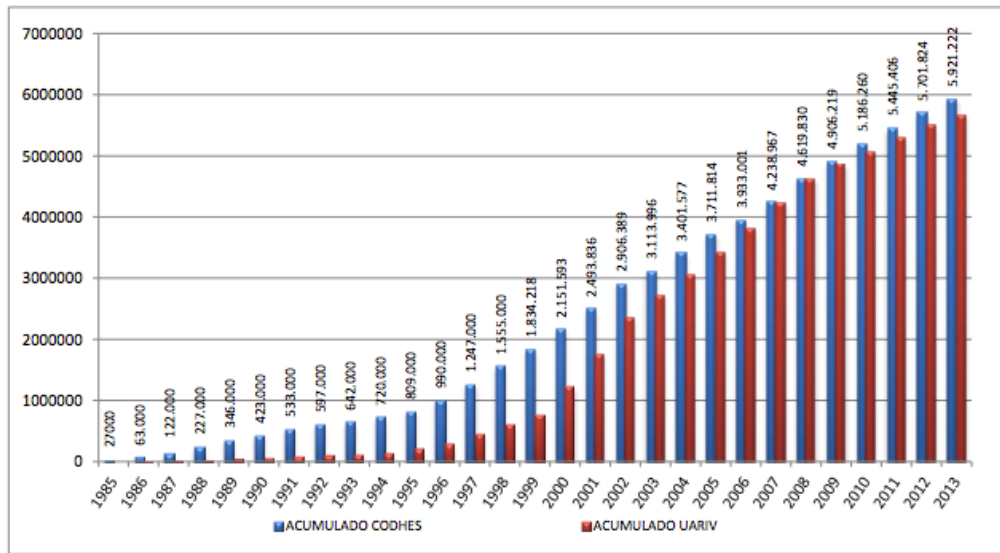


Figura 1 Reporte de víctimas de desplazamiento forzado 1985-2013

Fuente: Consultoría para los Derechos Humanos y el Desplazamiento. (2013). El desplazamiento forzado y la imperiosa necesidad de la paz. Informe desplazamiento. 2013. CODHES. Bogotá, Colombia.

A partir del registro oficial, el desplazamiento forzado ha tenido mayor intensidad desde mediados de la década de los noventa hasta el año 2002 donde se registró un crecimiento en los registros, seguido de una tendencia inestable. A junio de 2020 se tiene registro de 9'031.048 víctimas por el desplazamiento interno.

Reconociendo que los desencadenantes, intereses, prácticas de violencia y actores cambian con el paso del tiempo, se propone una breve reconstrucción de la historia del conflicto armado.

“En principio los grupos guerrilleros se establecieron en regiones que por sus características geográficas, sociales y políticas les permitían subsistir y adelantar la lucha de resistencia con grandes posibilidades de éxito. Se tuvo en consideración al determinar los lugares de ubicación de la guerrilla liberal, que las condiciones topográficas fueran favorables para el desarrollo de ese tipo de lucha, que existiese un relativo aislamiento de los centros de poder, que los habitantes de la región estuviesen unidos por un cierto grado de identificación política y que, en alguna medida, los propietarios de grandes extensiones fuesen tolerantes con la presencia de grupos armados en sus territorios. Las guerrillas se consolidaron, siguiendo estos parámetros, en tres tipos de áreas: En las zonas de colonización reciente del Sumapaz y el sur del

Tolima, en donde estaba aún latente el conflicto agrario por titulación de tierras y existía una base campesina politizada en otras épocas por el Partido Socialista, el Partido Comunista y la UNIR de Gaitán; En las Zonas de frontera abierta y colonización inicial dinamizada por el propio proceso de violencia: Los Llanos Orientales, El Magdalena Medio, El Río Sinú y el Río San Jorge y, en el Sureste Antioqueño y otras áreas en donde la estructura agraria ya estaba consolidada. La principal característica de estas regiones consistía en ser, desde el punto de vista logístico, despensas alimentarias en capacidad de sostener durante largo tiempo grupos de hombres armados relativamente grandes.” (Medina, 2010)

Desde mediados de la década de los años setenta, se inicia la siembra de cultivos de uso ilícito (inicialmente de marihuana, luego coca y amapola) que llevo a una transformación en la economía nacional y en las dinámicas del conflicto. Su propagación en el territorio nacional causó un cambio en el uso de la tierra, así como nuevas manifestaciones de violencia por motivaciones económicas por el control de recursos y territorios, esto por supuesto, llevo a una nueva era de desplazamientos, donde la población se vio obligada a abandonar sus tierras, ya que eran objetivo en la cadena de tráfico ilegal (Medina, 2010) (PNUD, 2003).

Precisamente en regiones de gran valor estratégico para el narcotráfico surgieron las primeras estructuras paramilitares en el país. Se reconoce que desde finales de la década de 1970 había grupos de paramilitares que operaban en regiones como el Magdalena Medio y la Sierra Nevada de Santa Marta. La década de los ochenta fue un periodo en que el Estado, las guerrillas, los paramilitares y los narcotraficantes legitimaron el uso de la violencia y el éxodo de la población como formas de resolución de conflictos, haciendo la guerra más intensa. (CMHN,2015). En términos generales parece haber una correlación entre el aumento de cultivos de coca en el país y el aumento de la población víctima del desplazamiento forzado a partir de mediados de la década de los años noventa, factores asociados como las disputas entre los actores armados ilegales y la confrontación con la fuerza pública, las medidas gubernamentales emprendidas en la lucha contra las drogas, entre ellas la erradicación forzada y las fumigaciones, han ocasionado el éxodo masivo de la población. (PNUD, 2003).

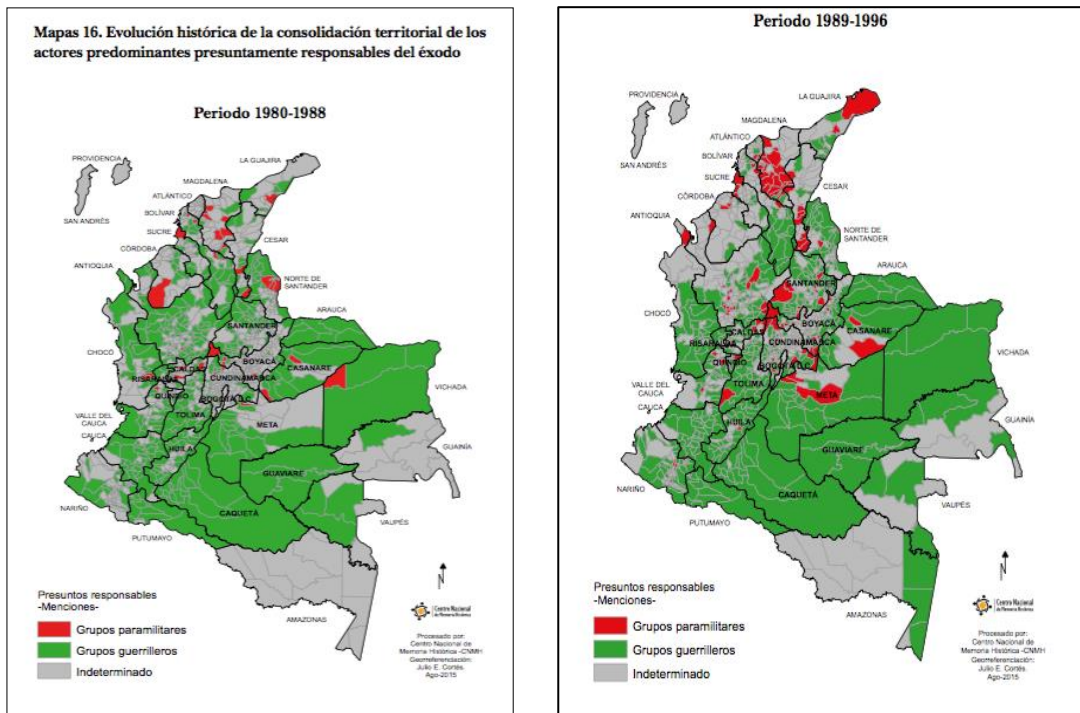


Figura 2 Evolución histórica de la consolidación territorial de los actores presuntamente responsables del éxodo 1980-1996

Fuente: Centro Nacional de Memoria Histórica (2015) Una nación desplazada. Informe nacional del desplazamiento forzado en Colombia. Bogotá, CNMH - UARIV,

Al analizar la evolución de los actores en el territorio nacional, se observa la expansión histórica que tuvieron los grupos paramilitares en el norte del país. Durante la época del desplazamiento silencioso en el escalamiento del conflicto armado (1980-1988), esto se ve representado en los municipios marcados en rojo, de los cuales se resalta los casos de Montería y Puerto Boyacá, donde nacen los grupos paramilitares en los años ochenta. Además, se observa como los grupos guerrilleros dominan el oriente del país y parte del sur. (Medina, 2010)

En el periodo caracterizado por la continuidad del desplazamiento en el nuevo pacto social (1989-1996), los grupos paramilitares son identificados en algunos municipios como principales presuntos responsables, especialmente en zonas como el departamento de Magdalena y parte del norte de Cesar. En cuanto a los grupos guerrilleros, se observa que estos mantienen el control en las regiones en las que hacían presencia en la década de los ochenta incrementando sus menciones respecto al periodo pasado. (CHMN, 2015)

Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 en una muestra de niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado.

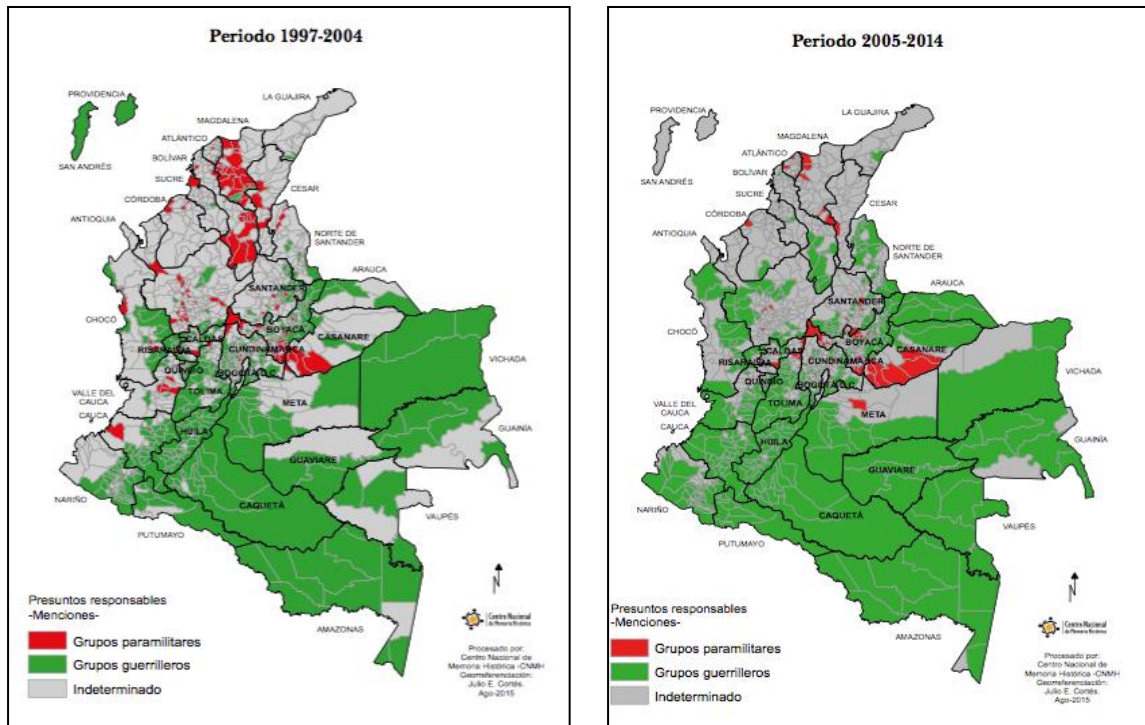


Figura 3 Evolución histórica de la consolidación territorial de los actores presuntamente responsables del éxodo 1997-2014

Fuente: Centro Nacional de Memoria Histórica (2015) Una nación desplazada. Informe nacional del desplazamiento forzado en Colombia. Bogotá, CNMH - UARIV,

En el periodo del gran éxodo forzado en la Colombia contemporánea (1997-2004), se observa que los grupos paramilitares controlan el Magdalena Medio y, en general, van ganando más territorio. Sin embargo, en regiones altamente expulsoras como el Urabá, Montes de María o Catatumbo, no es posible determinar con precisión el actor armado responsable. Un factor que la altísima impunidad del delito de desplazamiento forzado. (CNMH, 2015)

En el periodo caracterizado por la persistencia del desplazamiento en escenarios de búsqueda de la paz (2005-2014), se observa una reducción drástica de la cantidad de municipios en los que los grupos paramilitares son encontrados como los principales presuntos responsables del desplazamiento. Esto se ve contrastado con el incremento de menciones de grupos guerrilleros. Además, se incrementa la cantidad de municipios en los que no es posible determinar el principal presunto responsable. Esto va en línea con la “desmovilización” de los grupos paramilitares y la posterior conformación de bandas

criminales. (Medina, 2010)

Al hacer un balance de los cuatro periodos, se tiene que en la mayoría de municipios no se puede determinar con precisión el principal presunto responsable. Lo anterior quiere decir que, a partir de la información contenida en el RUV, en el 53% del territorio nacional no es posible estimar un responsable del desplazamiento. (CNMH, 2015)

La población colombiana tiene una larga trayectoria de movilidades internas. Durante todo el siglo XX ha sido expulsada de sus sitios habituales de vivienda y producción, ha migrado o colonizado nuevas tierras, a causa de violencia política, de ensanche de latifundios, de fragmentación de minifundios, de modernización de relaciones de producción, de megaproyectos hidroeléctricos, o por una variable mezcla de los causales y motivos anteriores.

Las áreas expulsoras en su mayoría son departamentos de la región andina, caribe y pacífica y los sitios receptores usualmente son cabeceras municipales de los respectivos municipios, ciudades intermedias y las grandes ciudades como Bogotá, Medellín, Cali y Bucaramanga, esto ha acelerado exponencialmente el crecimiento de las ciudades, lo que supone un reto para el estado en relación con el suministro de agua, alcantarillado, sistema de salud, la atención tardía del estado lleva a la concentración de población desplazada en barrios de invasión con viviendas deficientes, insolubles, con dificultad para movilidad, además tienen una menor probabilidad de obtener un empleo asalariado, entre otros, en general, un sin número de modificaciones al estilo de vida de las personas. (CNMH, 2015)

En resumen, el desplazamiento conlleva un cambio radical en el contexto (la tierra, el trabajo, la participación social) y en las relaciones con los otros, atravesadas, primero, por hechos violentos, y luego por la imposición de categorías estigmatizantes. Desplazarse forzosamente significa romper con el proyecto vital, lo cual implica una pérdida de rumbo, una desorientación hacia el futuro y un sentimiento fuerte, a veces paralizante, de nostalgia.

Lo anterior, más que estimular el desarrollo de ciertas habilidades, tiene un efecto devastador sobre las ilusiones y tiende a fortalecer la dimensión pasiva de la vida móvil como referente identitario.

2.2.2. Estrés.

Chrousos y Gold (1992) definieron el estrés como un estado de desarmonía o de homeostasis amenazada, evocando respuestas adaptativas fisiológicas y conductuales que pueden ser específicas al estresante o generalizadas e inespecíficas y que usualmente ocurren estereotípicamente produciendo un síndrome de estrés "inespecífico" cuando la amenaza a la homeostasis excede un umbral. Más adelante Goldstein (1995) lo describió como "una condición en la que las expectativas, ya sean programadas genéticamente, establecidas por aprendizaje previo o deducidas de las circunstancias, no coinciden con las percepciones actuales o anticipadas del ambiente interno o externo, y esta discrepancia entre lo que se observa o percibe y lo que es esperado o programado provoca respuestas compensatorias".

La asociación americana de Psicología APA por sus siglas en inglés (2007) reporta la existencia de tres tipos de estrés, clasificado según la intensidad, periodicidad o la permanencia del evento estresor:

Estrés agudo: Surge de las exigencias y presiones del pasado reciente y las exigencias y presiones anticipadas del futuro cercano, reconociendo que es a corto plazo, no suele causar daños importantes en el futuro, puede darse en cualquier etapa del ciclo vital, es tratable y manejable, su sintomatología corresponde a combinaciones de irritabilidad, ansiedad y depresión, problemas musculares, estomacales y sobreexcitación parasimpática.

Estrés agudo episódico: Son aquellas personas expuestas a estrés agudo con frecuencia. Asumen muchas responsabilidades, tienen demasiadas cosas entre manos y no pueden organizar la cantidad de exigencias autoimpuestas ni las presiones que reclaman su atención. Parecen estar perpetuamente con estrés agudo. Se muestran como personas irritables, ansiosas, tensas y hostiles, quienes tienen un impulso de competencia excesivo, agresividad, poca flexibilidad al cambio e impaciencia. Otra forma de estrés agudo episódico surge de la preocupación incesante, los síntomas son de sobre agitación dolores de cabeza, pecho y enfermedad cardíaca.

Estrés crónico: Algunos tipos de estrés crónico provienen de experiencias traumáticas de la niñez que se interiorizaron y se mantienen dolorosas y presentes constantemente. Algunas experiencias afectan profundamente la personalidad. Se genera una visión del

mundo, o un sistema de creencias, que provoca un estrés interminable para la persona, es causa de suicidio, violencia y enfermedades crónicas.

2.2.3. Eje Hipotálamo-Pituitario-Adrenal (HPA)

Desafíos externos desencadenan la activación del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) y la secreción de cortisol, manteniendo la homeostasis y permitiendo la adaptación. El receptor de glucocorticoides, las isoformas de la proteína y los niveles de glucocorticoide en todos los tejidos, controla el feedback del eje contribuyendo al establecimiento de niveles individuales de reactividad al estrés y la capacidad de respuesta. (De Kloet, Joels & Holsboer, 2005).

Las teorías actuales sostienen que el eje hipotálamo- pituitario- adrenal es fundamental en la respuesta al estrés, lo que indica que una alteración en este eje puede llegar a repercutir sobre la conducta del individuo (Pacak & Palkovits, 2001). La modulación de este eje depende de distintas variables como el sexo, la edad y el medio ambiente. (Rodríguez & García, 2010).

El eje HPA es un circuito de interconexiones implicado en diferentes procesos, entre ellos el comportamiento (Pacak & Palkovits, 2001), cuya respuesta ante el factor de estrés es:

Las neuronas neuroendocrinas presentes en el núcleo paraventricular del hipotálamo, segregan la hormona liberadora de la adrenocorticotropa CRH "*Corticotropin-releasing hormone*", la cual actúa sobre la pituitaria y estimula la liberación de la hormona adrenocorticotropa ACTH "*Adrenocorticotropic hormone*", que a su vez actúa sobre la glándula adrenal, lo que resulta en la producción de cortisol. El cortisol se une con los receptores de glucocorticoides (GR) del hipotálamo y la pituitaria para regular el eje HPA e inhibe la liberación adicional de CRH (Lupien, McEwen, Gunnar & Heim, 2009).

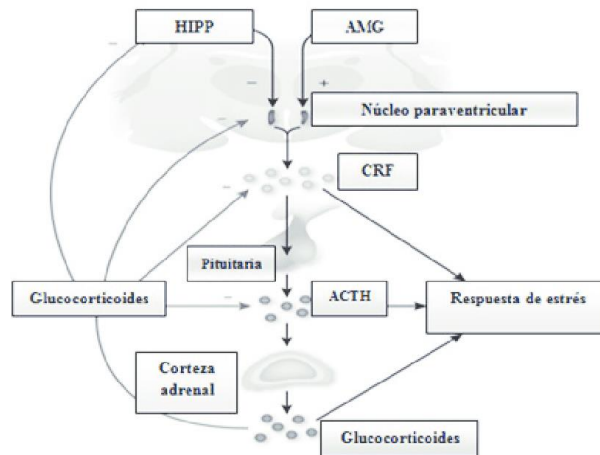


Figura 4 Interconexiones del eje HPA

Tomado de: Martino (2014)

En etapas pre, peri y post natales la exposición a estrés es importante, ya que modula el desarrollo del eje, lo que puede llevar a modificaciones en el comportamiento del individuo. Maccari y Morley-Fletcher (2007) reportan que la exposición a un evento estresante lleva a un aumento en la liberación de GC con disminución en la expresión de GR, similar a la fisiopatología del trastorno depresivo mayor. Una vez el individuo se expone a estrés crónico se darán modificaciones neuroendocrinas afectando directamente las respuestas al estrés.

Los modelos epigenéticos complementan estos enfoques al abordar la persistencia de la respuesta a un factor estresante, que no se explica bien por los modelos clásicos de estrés y miedo o la arquitectura neural del miedo. De hecho, la trayectoria clásica que sigue a la provocación del miedo y el estrés en los animales es la recuperación y, al eliminar el factor estresante, la restitución de las respuestas biológicas hacia la homeostasis. El acondicionamiento del miedo aborda la cuestión de cómo los desencadenantes neutrales se asocian con las respuestas al miedo, lo cual es de gran relevancia para el síndrome de TEPT, pero no explica bien la variabilidad individual en la adquisición y extinción del miedo.

Para hacer frente al estrés de manera efectiva, la respuesta al estrés debe activarse rápidamente de acuerdo con las necesidades específicas actuales, pero también debe terminarse de manera eficiente para limitar los posibles efectos nocivos. Los humanos muestran un alto grado de variabilidad interindividual en la capacidad de respuesta del eje HPA después de diferentes factores estresantes lo que podría tener implicaciones

importantes para la vulnerabilidad a los trastornos relacionados con el estrés, como la depresión.

Se ha informado una reducción de la habituación a los eventos recurrentes en sujetos con una puntuación alta en el estrés percibido, la ansiedad y la depresión, lo que respalda la hipótesis de que la afectividad negativa está relacionada con la secreción elevada de cortisol durante las actividades diarias normales (Van Eck et al., 1996). De acuerdo con estos datos, estudios más recientes muestran que "los que responden de manera elevada" al estrés físico también exhiben una mayor reactividad de HPA en las enfermedades psicológicas.

2.2.4. Gen receptor de glucocorticoides NR3C1

Gen que codifica para el receptor nuclear subfamilia 3 grupo C miembro 1, acorde a la clasificación propuesta por Novac y Heinzl (2004), los receptores nucleares son subdivididos en subfamilias basadas en sus propiedades de unión al ADN y preferencias de dimerización. El hGR es un miembro de un subconjunto particular de los receptores nucleares, los receptores de hormonas esteroides que incluyen estrógeno, andrógenos y receptores de progesterona. (Turner & Muller, 2005).

Los receptores nucleares NR "nuclear receptor" son una familia de factores de transcripción que se unen y responden a ciertos esteroides y otras moléculas de señalización. Casi todos los receptores nucleares tienen dominios estructurales bien definidos, van desde las representaciones amino-terminal 3' que son altamente variables en secuencia, tamaño y en algunas ocasiones alberga funciones de activación de la transcripción conocidos como AF-1 "activation function-1", contigua a un dominio de unión al ADN DBD "DNA binding domain", seguido por una región bisagra y un dominio de unión al ligando LBD "Ligand binding domain" donde también se encuentra la AF-2 "activation function-2", allí se reclutan activadores de la transcripción de una manera dependiente al ligando, por último se representa la región la carboxi-terminal 5' (Huang, Chandra & Rastinejad, 2010).

En ausencia de ligandos, los receptores nucleares distintos a ER, se mantienen en una conformación inactiva por proteínas de choque térmico HSP "heat shock proteins" en el citoplasma, tras la unión del ligando se disocian de estas proteínas chaperonas, son sometidos a procesos de homodimerización y se intercala en el ADN. (Lu, et al., 2006)

Este gen codifica el receptor de glucocorticoides, que puede funcionar tanto como un factor de transcripción que se une a los elementos de respuesta a glucocorticoides en los promotores de genes sensibles a glucocorticoides para activar su transcripción, como un regulador de otros factores de transcripción.

Los glucocorticoides juegan un rol importante en la regulación del metabolismo, diferenciación celular, funciones del sistema nervioso e inmune y el mantenimiento de la homeóstasis después de un evento estresante, estas actividades están mediadas por el receptor de glucocorticoides (Turner & Muller, 2005).

Se conoce que el gen receptor de glucocorticoide NR3C1 mapea en el brazo largo del cromosoma 5, 5q31-5q32, su localización genómica es 143,277,930-143,435,512, es expresado prácticamente en todos los tipos de células, pero su nivel de mRNA y proteína varía considerable entre tejidos, además la expresión está sujeta al nivel de plasticidad en algunos tejidos como el hipocampo (Herman et al, 1989).

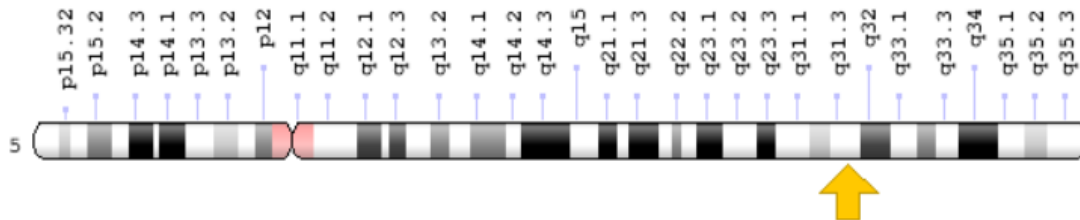


Figura 5: Localización cromosómica

Tomado de: Gen Home Reference

En los roedores la regulación de los niveles de GR ocurre casi exclusivamente a nivel transcripcional (Strahle et al., 1992). Esta observación que se ha confirmado también para el GR humano (hGR) (Pedersen et al., 2004), el gen NR3C1 cubre una región de más de 80 kb dentro del cromosoma 5, con 17 exones, ocho de ellos codificantes (exones 2-9), los 9 restantes son exones no codificantes localizados en el promotor del gen (Breslin et al., 2001). La secuencia génica da cuenta que los sitios de inicio de la transcripción de NR3C1 se encuentran en la región promotora (Geng & Vedeckis 2004), el codón de inicio se encuentra situado a 13 nucleótidos corriente abajo del inicio del exón 2 (Turner et al., 2010). hGR modula la expresión de genes sensibles a glucocorticoides al unirse a un elemento de respuesta a glucocorticoides específico (GRE) secuencia de ADN.

Tabla 1 Ortología del gen NR3C1 en diferentes especies

Especie	Localización (Cromosoma)	Especie	Localización (Cromosoma)
Chimpancé	5	Vaca	7
Macaco	6	Cerdo	2
Ratón	18	Zarigüeya	1
Rata	18	Ornitorrinco	Desconocido
Perro	2	Pollo	13
Caballo	14	Anole Lizard	2
Xenopus	3	Pez cebra	14
Drosophila	3L		

Fuente: HGNC (2007).

	Length	3' end	3' location upstream of ATG ^a	Rat homologue ^b	rat homologue length ^c	NCBI accession number	Reference
1-B	104	GGCCCAA	-3536	1 _a	53		(Breslin & Vedeckis, 1998)
1-C1	54	TGCCAGAG	-2371	1 _a and 1 ₁₀	80; 116	AJ877170	
1-C2	130	TGCCAGAG	-2371	1 _a and 1 ₁₀	80; 116	AJ877171	
1-C3	306	TGCCAGAG	-2371	1 _a and 1 ₁₀	80; 116	AJ877173	
1-D ^d	174	CGCACAAG	-4310	1-4	227	AJ877166	
1-E	47	CCTTCGAG	-3780	1-5	54	AJ877167	
1-F	62	GAGACCAG	-3146	1-7	52	AJ877168	
1-G*	98	ACCAACAG	-2945	1-8	101	AJ888004	
1-H	126	CTCAACAG	-1769	1-11	108	AJ877169	

* The 3' location following the numbering of McCormick *et al.* (2000).

Figura 7 Homología del hGR con GR de la rata

Fuente: Tomado de Turner & Muller (2005)

Varias mutaciones del NR3C1 afectan su unión, estructura y actividad transcripcional especialmente en la resistencia a la familia de glucocorticoides (Charmandari & Kino, 2010). Numerosos SNPs en GR se han asociado con consecuencias funcionales a nivel de expresión y la respuesta del eje HPA, tres haplotipos, *Bcl I*, *TthIII I*+ *Bcl I* y N363S están asociados con un aumento de la sensibilidad a los GC (Van Rossum, et al., 2003) El polimorfismo N363S se asoció con un mayor índice de masa corporal, niveles elevados de colesterol y un mayor riesgo de enfermedad arterial coronaria (Van Rossum & Lambert, 2004). A la inversa, dos haplotipos *TthIII I* + 9β y *TthIII I* + 9β + ER22/23EK han sido asociadas con la resistencia GC (Derijk et al., 2001). Es importante destacar que hay un total de 12 variantes genéticas conocidas a lo largo de las 8 regiones promotoras que controlan la expresión de los primeros 11 exones heterogéneos en la región UTR 5'. Este

5' UTR es responsable de controlar la expresión específica de tejido, los niveles generales de GR y las isoformas (Turner & Muller, 2005).

El exón 1_F es transcripcionalmente activo en el hipocampo, en linfocitos B y en células inmunitarias innatas, pero no en linfocitos T o monocitos (Turner & Muller, 2005), las investigaciones relacionadas con este exón encuentran un aumento en la metilación en sangre de cordón umbilical con la presencia de depresión materna. (Oberlander et al., 2008) y en el hipocampo de adulto con el abuso infantil (McGowan et al, 2009), mientras que otros han encontrado una reducción en la metilación en células mononucleares de sangre periférica en veteranos de combate con trastorno de estrés postraumático (Yehuda et al., 2014), en ambos casos se ha tenido un impacto funcional sobre funciones endocrinas.

Actualmente existe un interés particular por el estudio epigenético, ya que ofrece una alternativa para comprender como las experiencias tempranas dan lugar a cambios en la expresión génica, siendo un factor de riesgo para el desarrollo de múltiples enfermedades, muchos estudios se centran en la metilación del exón 1_F del hGR, dado que es susceptible a cambios por el medio ambiente, inicialmente se estudió la metilación del exón 1₇ del GR del hipocampo de la rata mostrando asociaciones con cambios en la atención materna durante la primera semana de vida esta metilación se dio particularmente en el sitio de unión de factores de transcripción NGF1-A. (Weaver et al., 2004), posteriormente inicio el estudio de la metilación del promotor de GR ortólogo en humanos GR- 1_F, el cual también contiene la secuencia NGF1-A, estos estudios reportaron cambios en la metilación de dinucleótidos CpG específicos en relación con eventos adversos. (Oberlander et al., 2008; McGowan et al., 2009; Dammann et al., 2011; Perroud et al, 2013; Conradt et al., 2013 ; Hompes et al., 2013; Vukojevic et al, 2014; Melas et al., 2013 & Martin- Blanco, et al., 2014) encontrando diferentes resultados respecto a direccionalidad y asociaciones con experiencias estresantes.

2.2.5. Epigenética

Una modificación epigenética se refiere a un cambio en el ADN producto de una perturbación ambiental, que altera la función pero no la estructura de un gen, estos cambios son estables y duraderos, en algunos casos pueden incluso ser transmitidos intergeneracionalmente (Feil & Fraga, 2011). Ha habido un interés reciente por la epigenética en la psiquiatría, ya que ofrece un medio para comprender cómo las

experiencias estresantes de la vida, en la interacción con el genotipo, dan lugar a cambios epigenéticos que resultan en una expresión génica alterada, afectando en última instancia el riesgo de trastornos mentales (Yehuda & Bierer, 2008). Cuando este cambio ocurre durante una ventana crítica del desarrollo, puede servir para recalibrar los sistemas biológicos para influir en la respuesta a una exposición traumática posterior.

Entre varias modificaciones epigenéticas se pueden caracterizar: la modificación de histonas, ARN no codificante y la metilación de ADN.

La modificación de histonas es una modificación postraduccional a las histonas estas modificaciones incluyen metilación, fosforilación, acetilación, ubiquitinación. Los cambios postraductionales pueden tener un impacto sobre la expresión génica al alterar la estructura de la cromatina. Las histonas actúan “empaquetando” el ADN. Las modificaciones de histonas están relacionadas con diferentes procesos biológicos como la activación o inactivación de la transcripción y el daño o reparación del ADN (Sutherland y Costa, 2003).

El papel de los ARN no codificantes (ncRNAs) en la regulación génica está siendo gradualmente descrito. Los ncRNAs son RNAs pequeños de aproximadamente 22 nucleótidos, que regulan la expresión génica de dos formas por un lado los miRNAs reprimen la traducción al formar un complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC) e induce a la degradación de mRNA por unión imperfecta a la región 3' no traducida (3'UTR). (Eulalio, Huntzinger & Izaurralde, 2008).

Aunque se han descrito varios mecanismos de regulación epigenética estable, el mejor caracterizado en el genoma de los mamíferos es la metilación del ADN en el sitio de la citosina (Novik et al., 2002). La incorporación de un grupo metilo en el carbono 5' de las citosinas del ADN se ha estudiado con mayor fiabilidad en entornos clínicos y experimentales (Klengel et al., 2014). Típicamente una mayor metilación promotor se asocia con regulación a la baja de la expresión génica, mientras que la hipometilación se correlaciona con una mayor actividad transcripcional (Jones, 2012) Si bien hay datos que no se conocen como el grado de hipometilación para el aumento de la expresión génica o el grado de hipermetilación para la reducción de dicha expresión, se ha encontrado que pequeños cambios porcentuales en la metilación de un promotor tiene gran impacto sobre el fenotipo (Feil & Fraga, 2011).

Sin embargo, interpretar el significado funcional de una marca epigenética implica obtener medidas adicionales para evaluar el impacto en el fenotipo. Además, al igual que con los estudios de expresión génica, es crítico determinar la relevancia de las modificaciones epigenéticas observadas en las células de sangre periférica (linfocitos) para el funcionamiento del sistema nervioso central con órganos donde se ha identificado la expresión del gen objeto de estudio.

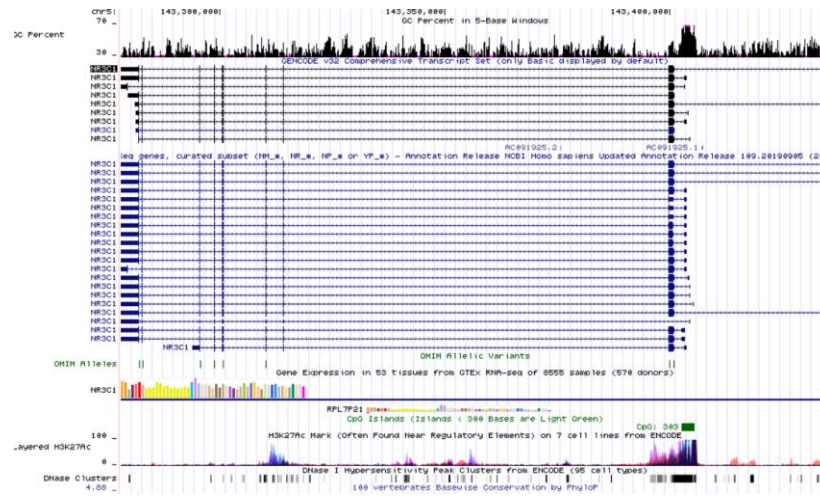


Figura 8 Gen NR3C1-características epigenéticas

Fuente: Tomado de UCSC

En la figura 8 se describen características epigenéticas del gen NR3C1, este gen se encuentra en la isla CpG del NR3C1, esta isla cuenta con 3.032 pb y un total de 303 dinucleótidos CpG.

2.2.6. Metilación y trauma

Múltiples estudios han examinado el rol de la adversidad temprana en la vulnerabilidad para desarrollar patologías relacionadas con el estrés, contemplando el impacto que la experiencia puede tener sobre la plasticidad cerebral durante el desarrollo. Estos estudios sugieren que esta relación está mediada, por lo menos en parte, por mecanismos epigenéticos. De hecho, diferentes tipos de adversidad temprana han sido asociados con la hipermetilación de gen receptor de glucocorticoides NR3C1.

La región 1_F contiene 47 sitios CpG, aproximadamente 25 de ellos han sido reportados

como diferencialmente metilados, sin embargo, no hay consenso sobre los dinucleótidos CpG estudiados. La mayoría de investigadores incluyen la región inmediatamente anterior al exón 1_F, este locus es particularmente importante, ya que contiene un sitio de unión de factores de transcripción, este sitio fue reportado como blanco de modificaciones epigenéticas por Weaver et al. (2004), esta área ha sido asociada con adversidad temprana y psicopatología.

Se presenta una síntesis de estudios expuestos por Palma- Gudiel et al. en el año 2015, a continuación, se relacionan aquellos relacionados con adversidad temprana y cambios epigenéticos en el exón 1_F.

Tabla 2 Estudios relacionados con metilación y trauma.

Estudio	Evento estresante	Hallazgos epigenéticos	Marcadores biológicos	CpG analizadas
Oberlander et al. (2008)	Estrés prenatal.	Depresión materna severa asociada con metilación en el promotor del exón 1 _F en neonatos	La metilación predijo la reactividad del eje HPA	Exón 1 _F 13 CpG analizadas
McGowan et al. (2009)	Adversidad infantil	Abuso en la niñez fue asociado con un aumento en la metilación en el promotor del exón 1 _F . La expresión de mRNA de GR disminuyó en víctimas de suicidio		Exón 1 _F 38 CpG analizadas
Perroud et al. (2011)	Adversidad infantil	La metilación del exón 1 _F está correlacionada con la severidad del abuso		Exón 1 _F 8 CpG analizadas
Conradt et al. (2013)	Estrés prenatal	Depresión materna asociada con hipermetilación en CpG específicas y está correlacionado con varios cambios comportamentales. Ansiedad en el embarazo está asociado con la metilación en CpG específicas correlacionada con hipotonía en recién nacidos		Exón 1 _F 13 CpG analizadas
Vukojevic et al. (2014)	Adversidad infantil	Metilación de CpG específicas del exón 1 _F		Exón 1 _F 8 CpG

		correlacionadas negativamente con la severidad de los síntomas y la expresión de GR		analizadas
Melas et al. (2014)	Adversidad infantil	Asociado con hipermetilación en CpG específicas del exón 1 _F		Promotor y exón 1 _F 47 CpG analizadas
Martin-Blanco et al. (2014)	Adversidad infantil	Metilación correlacionada con maltrato infantil y la severidad clínica		Exón 1 _F 8 CpG analizadas
Yehuda et al. (2014)	Adversidad infantil	TEPT mostraron una menor metilación. Metilación correlacionada negativamente con la severidad clínica		Promotor 1 _F 39 CpG analizadas

Adaptado de Palma- Gudiel et al., 2015

2.2.7. Niñez, desplazamiento forzado y comportamiento.

En Colombia, la violencia producto del conflicto armado incide hoy como elemento determinante en la salud mental de los colombianos (MINSALUD, 2015), origina sufrimiento en niños, jóvenes, adultos mayores, hombres y mujeres. A nivel individual, el impacto del hecho violento puede llegar a afectar los mecanismos internos de protección como el optimismo, autoestima, inteligencia, creatividad, humor e independencia y generar un deterioro paulatino o abrupto del proceso de desarrollo psicológico. (Papalia, Wendkos & Duskin, 2009).

Según la directriz para la atención diferencial de los niños, niñas y adolescentes víctimas de desplazamiento, el desplazamiento forzado altera y transforma a los niños, niñas y adolescentes, y trastorna su desarrollo como producto de las siguientes experiencias:

- El conflicto armado genera en la población un estado de alerta permanente.
- Ser testigos silenciosos de homicidios, violaciones, incineraciones y despojo de bienes, que generan traumas psicológicos y físicos.
- Vivir situaciones de miedo, rabia, rechazo, hostilidad y despojo, con su consecuente pérdida de confianza.
- Detrimiento de los derechos económicos, sociales y culturales ocasionados por el desarraigo y la pérdida de recursos.
- Cambios drásticos en la estructura familiar, orfandad y separación.
- Pérdida del entorno cotidiano.

- Menoscabo de los referentes sociales, culturales y ambientales, por ruptura y destrucción del tejido social.
- Deterioro de las condiciones de vida, especialmente de salubridad y abastecimiento.
- Agudización de la marginación y de la pobreza
- Quebranto psicosocial y sociocultural.
- Mayor exposición a la vulneración de los derechos y al sufrimiento.
- Ser víctimas de un crimen de lesa humanidad.
- Desarraigo y desarticulación de los sistemas familiares, lo que genera una pérdida irreparable que afecta su desarrollo integral y el ejercicio de sus derechos.

Por su parte, Unicef- Colombia expone, que por la duración de la violencia en Colombia, se infiere que los efectos emocionales y psicosociales que los niños colombianos padecen son más graves que otros niños en América Latina; los problemas de aprendizaje, las dificultades en la concentración y memoria causan atrasos en el proceso educativo, el miedo, temor, angustia, dificultades al dormir, enuresis y dolencias psicosomáticas como dolores de cabeza, vómitos, apneas, están afectando a muchos niños principalmente a los desplazados forzosamente.

Varios estudios llegan a la conclusión de que niños de distintas culturas víctimas de la guerra son más propensos a estar en algún grado de riesgo de problemas psicosociales. En Uganda, por ejemplo, se han caracterizado niños con trastornos psicosociales como ansiedad generalizada y desordenes del comportamiento. (Betancourt et al., 2009).

En Bogotá, se realizó una caracterización de niños de 6 a 12 años provenientes de territorios rurales, víctimas del conflicto armado, allí se reporta que la relación entre pares está mediada por la agresión física o verbal, son tímidos para socializar, pero por medio del juego logran relacionarse con los demás. (Guerrero et al., 2017).

2.2.8. Modelo persona ambiente ocupación

Se entiende por desempeño ocupacional como la acción de hacer y completar una actividad o una ocupación seleccionada como resultado de la interacción entre la persona, el contexto y la actividad. (Law et al. 1996), involucrando habilidades de percepción, memoria, planeación, motivación y ejecución de roles, rutinas o tareas con propósitos de autocuidado, productividad, ocio en respuesta a las demandas del ambiente.

El modelo persona-ambiente- ocupación surge del Modelo Canadiense de Desempeño Ocupacional (CAOT, 1991). Este ilustra la conexión entre la persona, el ambiente en el cual vive y la ocupación que desempeña. En esta propuesta, el desempeño ocupacional es el resultado de la interacción dinámica entre la persona, el ambiente y la ocupación. (Letts et al, 1996)

Según Corregidor et al. este modelo consta de tres componentes: la persona (P), el ambiente (A) y la ocupación (O). La persona es un ser único, que adopta roles de naturaleza cambiante y simultánea. Posee habilidades (físicas, cognitivas y afectivas) aprendidas e innatas que facilitan el desempeño ocupacional. (Corregidor, et al., 2010)

El ambiente se define como el contexto en el que el desempeño ocupacional se lleva a cabo y se clasifica en cultural, socioeconómico, institucional, físico y social. Proporciona indicios o señales a la persona que le indican como ha de ser el comportamiento. El ambiente es considerado desde la perspectiva única de la persona, la familia y la comunidad.

La ocupación es entendida como las tareas y actividades llevadas a cabo durante toda la vida que se dirigen a satisfacer una necesidad intrínseca de autocuidado. Se identifican tres áreas de ocupación: actividades de la vida diaria, productividad y ocio. La naturaleza de estos elementos es dinámica durante toda la vida de un individuo.

Una interacción eficiente entre los tres componentes se relaciona con el desempeño óptimo, mientras que una interacción mínima se refiere a un desempeño ocupacional poco funcional y por tanto disfuncional.

Dentro de un proceso de Terapia Ocupacional, se incluyen procesos de evaluación, intervención y seguimiento, el primer paso es la generación de un perfil ocupacional, donde se identifican dificultades para llevar a cabo sus ocupaciones, como herramienta principal se emplea el análisis de desempeño ocupacional, donde se especifican problemas y potencialidades de la persona, se tienen en cuenta destrezas y patrones de ejecución, el entorno, las demandas de la actividad y las características particulares de la persona, en este punto es fundamental seleccionar aspectos específicos para obtener resultados concretos en cada área de desempeño, una vez se tiene un perfil de desempeño ocupacional es posible el planteamiento de objetivos y el iniciar un proceso de intervención orientado a favorecer el desempeño de las personas en las diferentes áreas (AOTA, 2008).

Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 en una muestra de niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado.

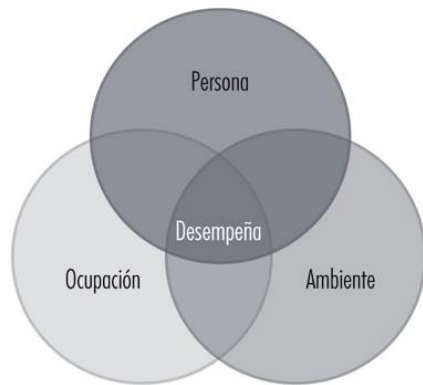


Figura 9 Modelo persona-ambiente-ocupación

Fuente: Tomado de García, et al. (2008)

Capítulo III: Diseño metodológico

3.1. Tipo de estudio.

Esta es una investigación aplicada de tipo mixta que contempló variables cuantitativas y cualitativas derivadas de la investigación de campo y la investigación en laboratorio (Zorrilla, 1993).

Este es un estudio de casos y controles, el cual parte de un grupo de individuos con una condición particular: ser víctimas de desplazamiento forzado, a esta población se le denominó casos, el otro grupo estuvo conformado por individuos comparables por edad y sexo, pero sin ninguna condición específica, ellos fueron los controles (Montrull, 2002); con estos grupos se estudió la relación de la exposición previa a eventos violentos en etapas tempranas de su desarrollo con el perfil de metilación y el comportamiento.

3.2. Población

En este estudio se incluyeron niños y niñas colombianos de 7 a 11 años, que asisten a instituciones educativas de nivel básico y secundario de carácter público de la ciudad de Bogotá.

Un primer grupo se derivó del colegio distrital Francisco Primero SS de la ciudad de Bogotá; el segundo grupo fue captado en la localidad de Ciudad Bolívar por convocatoria. Ambos grupos cuentan con características sociodemográficas homogéneas y similares entre sí. Vale la pena aclarar tanto en Ciudad Bolívar como en el colegio distrital, se obtuvieron casos y controles. Los casos participantes fueron elegidos acorde al cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión.

3.2.1. Casos

Criterios de inclusión:

- Niños y niñas colombianos de 7 a 11 años
- Contar con inscripción comprobable en el Registro Único de Víctimas RUV
- Niños y niñas escolarizados
- Residentes en la ciudad de Bogotá

Criterios de exclusión:

- Presencia de déficit cognitivo, enfermedad mental, neurológica, respiratoria, cardíaca o trastorno generalizado del desarrollo.
- Diagnóstico de alteraciones eje HPA (síndrome de Cushing o pseudo- Cushing)
- Antecedente de maltrato infantil.
- Madre con antecedente de estrés postraumático u otros trastornos psiquiátricos como ansiedad, depresión, alcoholismo o alteraciones neuroendocrinas.
- Exposición de la madre a eventos estresantes crónicos durante la etapa de gestación, incluyendo maltrato, pérdida de un ser querido, violencia o un cambio en condiciones de vida que le afecten emocionalmente.

3.2.2. Controles

Criterios de inclusión:

- Niños y niñas colombianos de 7 a 11 años
- Niños y niñas escolarizados
- Residentes en la ciudad de Bogotá

Criterios de exclusión:

- Exposición previa a situación de desplazamiento forzado.
- Presencia de déficit cognitivo, enfermedad mental, neurológica, respiratoria, cardíaca o trastorno generalizado del desarrollo.
- Diagnóstico de alteraciones eje HPA (síndrome de Cushing o pseudo- Cushing)
- Presencia de trastornos destructivos del control de impulsos y de la conducta.
- Antecedente de maltrato infantil.
- Madre con antecedente de estrés postraumático u otros trastornos psiquiátricos como ansiedad, depresión, alcoholismo o alteraciones neuroendocrinas.
- Exposición de la madre a eventos estresantes crónicos durante la etapa de gestación, incluyendo maltrato, pérdida de un ser querido, violencia o un cambio en condiciones de vida que le afecten emocionalmente.

3.3. Procedimientos

3.3.1. Firma de consentimiento informado

Corresponde a una declaración de la voluntad de que su hijo(a), participara en el estudio luego de recibir información sobre los procedimientos a realizar, sus posibles riesgos y recibir el asentimiento verbal por parte del niño; este, es un documento escrito, firmado y reposa en la historia clínica del participante (Anexo 1) a la cual solo tienen acceso los investigadores del proyecto.

3.3.2. Entrevista inicial

Prueba semiestructurada que presenta un conjunto de preguntas que busca caracterizar la población, empleando este instrumento se obtienen datos sociodemográficos, información personal, así, como antecedentes médicos, de desarrollo y antecedentes familiares APAP_A; esta entrevista tiene un carácter clasificatorio dado que a partir de los datos obtenidos se establecerá si el niño presenta o no alguna de las condiciones descritas en los criterios de exclusión (Anexo 2).

Una vez identificados los posibles casos y controles, se inició el proceso de evaluación acorde al siguiente diagrama de ruta.

Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 en una muestra de niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado.

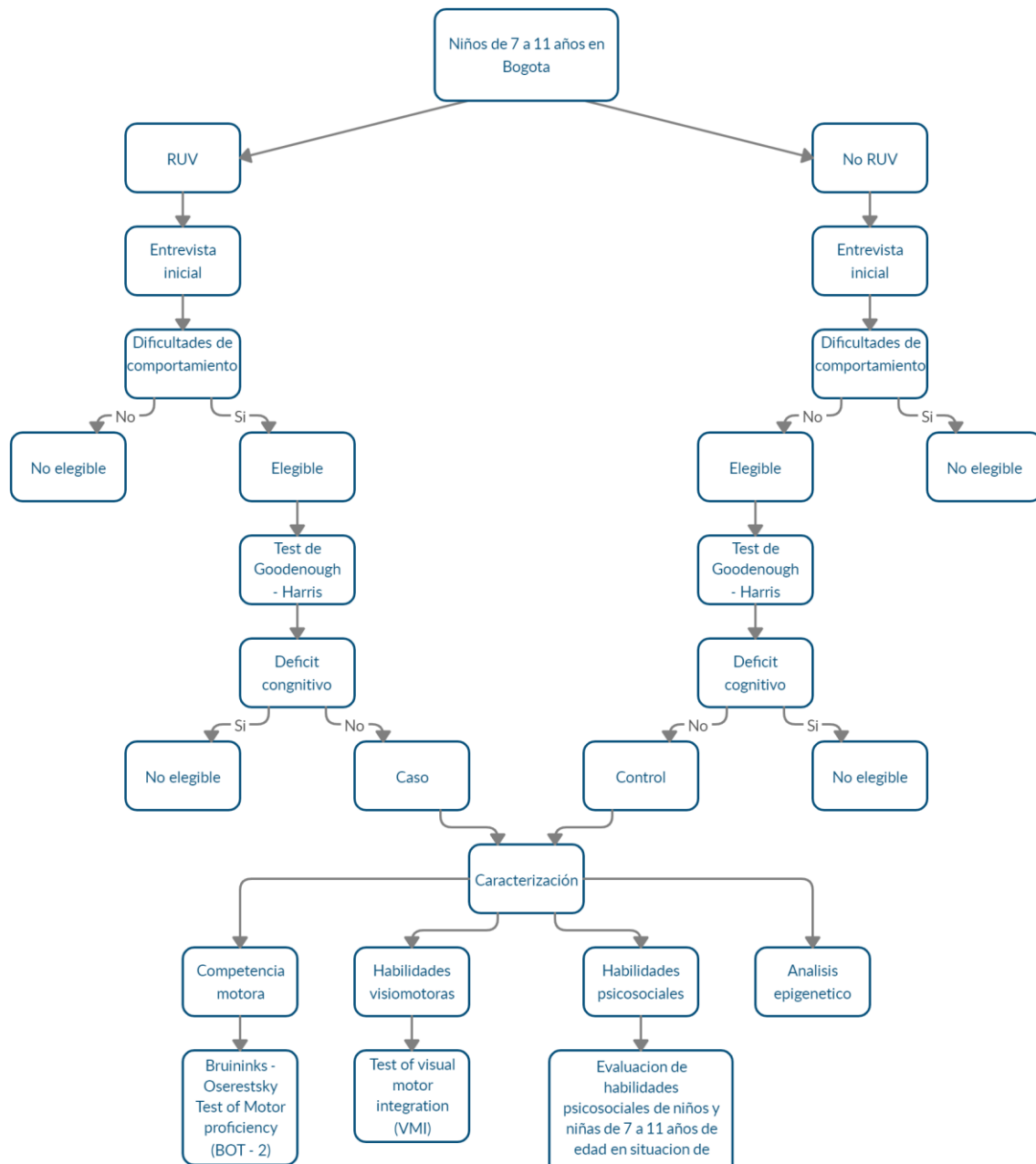


Figura 10 Flujograma del proceso de evaluación

El equipo de Terapia Ocupacional, Psiquiatría y Enfermería, se desplazó a sitios aledaños a la ubicación de los niños.

3.3.3. Escala de Goodenough- Harris

Es una técnica para medir la inteligencia general por el análisis de la representación de la figura humana; se pretendía conocer la madurez intelectual de los participantes, evaluando su habilidad para comprender ideas, conceptos, procesos cognitivos y de inteligencia que se revelan a través del dibujo de la figura humana (Ramírez, 2014).

Esta prueba se realizó de forma individual; en un consultorio se aplicaron 4 pruebas simultáneas, con los niños debidamente separados entre sí para evitar sesgos en sus representaciones; allí, se dio la instrucción al niño que dibujara una figura humana de él mismo o de sus padres, la única indicación adicional fue hacerlo lo mejor que pudiera. El tiempo de aplicación fue de 30 minutos. La prueba fue revisada y calificada por el servicio de Psiquiatría de la Universidad Nacional de Colombia, quienes, teniendo en cuenta la edad cronológica del niño y criterios de calificación de la prueba, establecieron que algunos de los participantes presentaban posible diagnóstico de déficit cognitivo. Estos participantes fueron excluidos del estudio.

3.3.4. Medidas antropométricas

A los participantes seleccionados, un profesional en Enfermería les realizó una caracterización antropométrica para identificar diferencias físicas entre los grupos de estudio, a cada niño se le tomaron medidas de talla y peso.

3.3.5. Caracterización de desempeño ocupacional

Se presentan las pruebas aplicadas al total de la muestra, estas evaluaciones permitieron identificar el desempeño en habilidades específicas necesarias para participar en actividades propias de su rol ocupacional en diferentes contextos.

3.3.5.1. Evaluación de la competencia motora

Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, Second Edition (BOT-2) (Bruininks, R. & Bruininks, B., 2006) es una prueba individual en la que se evalúa en detalle los niveles de competencia motora y la calidad de los patrones de movimiento (Serrano- Gómez & Correa-Bautista, 2015); esta prueba se divide en cuatro subdimensiones cada una de las cuales comprende dos subtest, relacionados a continuación:

Tabla 3 Subdimensiones de la batería BOT-2 (Bruininks & Bruininks, 2005)

Control manual fino	Precisión motora fina
	Integración motora fina
Coordinación manual	Destreza manual
	Coordinación de miembros superiores
Coordinación corporal	Coordinación bilateral
	Equilibrio
Fuerza y agilidad	Velocidad y agilidad
	Fuerza

SCORE PROFILE

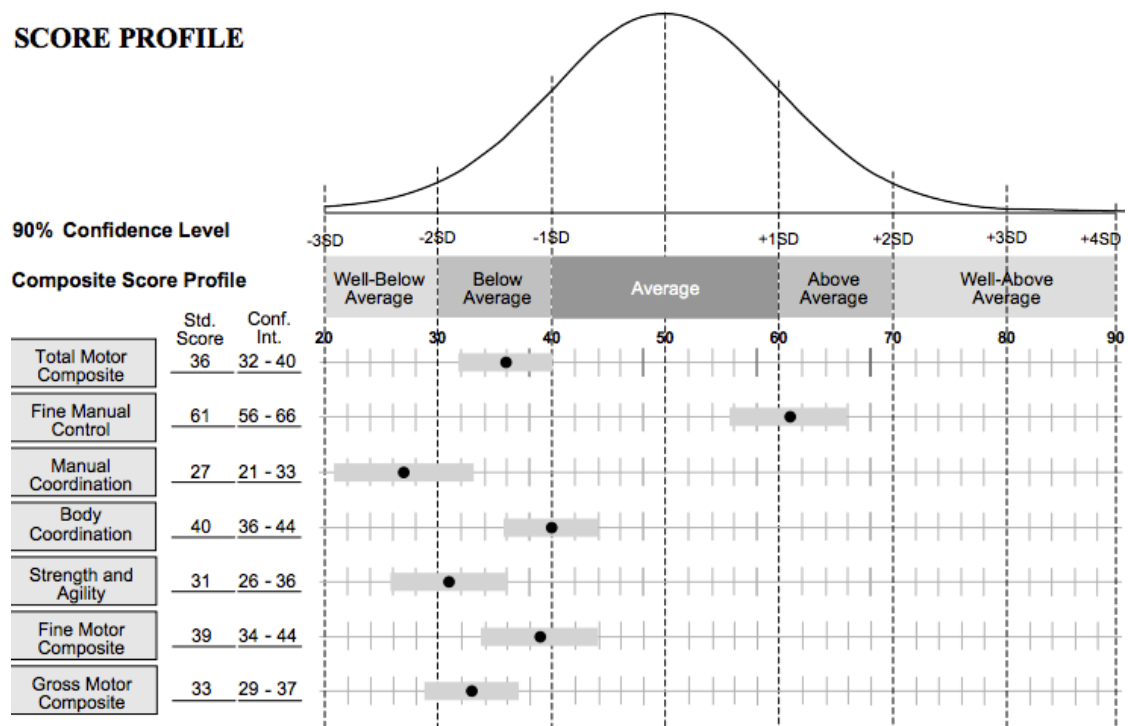


Figura 11 Perfil motor de la batería BOT-2 (Bruininks & Bruininks, 2005)

Este test también permite obtener una puntuación global que brinda información objetiva sobre la competencia motriz.

Esta evaluación se aplicó en una (1) hora por participante, se realizaron las actividades establecidas por la prueba y se hizo un registro de datos crudos, estos fueron sumados por test, convertidos posteriormente a puntuaciones escalares y puntuaciones estándar empleando los baremos específicos por edad, combinados por sexo.

Los datos convertidos en puntuaciones escalares, estándar, percentiles o desviaciones estándar, permiten definir categorías descriptivas descritas en el manual de la prueba, para este estudio, dichas categorías descriptivas fueron obtenidas a partir de puntuaciones estándar:

Tabla 4 Conversión de puntuaciones estándar a categorías descriptivas de la batería BOT-2 (Bruininks & Bruininks, 2005)

Categoría descriptiva	Rango de puntuaciones estándar
Muy alto	Mayor o igual a 70
Alto	60-69
Promedio	41-59
Bajo	31-40
Muy bajo	Menor o igual a 30

3.3.5.2. Evaluación de habilidades visomotoras

El Test of Visual Motor Integración VMI (Beery, 2010) es conveniente para la detección de déficit visuales y motrices que subyacen problemas de aprendizaje y/o problemas de conducta, incluye normas para la aplicación para personas de 3 a 18 años, el VMI evalúa el grado en que los individuos integran sus habilidades visuales y motoras, allí se pide a la persona que copie las formas geométricas dispuestas en orden aumentando el nivel de dificultad. Este test proporciona pruebas complementarias de percepción visual y coordinación motora que utilizan las mismas formas geométricas como estímulo.

Esta prueba fue aplicada en 45 minutos, con un formato por niño, en grupos de máximo 4 niños, debidamente separados entre sí, para efectos de este estudio, se tienen en consideración dos cuadernillos

1. Integración visual motora (VMI): Contiene 24 figuras que debían imitarse y copiarse de forma directa, la aplicación fue supervisada y siempre se invitó a corregir errores de postura y de procedimiento como el mantener los formatos siempre de frente (no es posible girar las hojas en el escritorio), solo hay un intento por imagen y no es permitido borrar. Se otorga un punto por cada forma correcta según los criterios de calificación descritos en el manual.

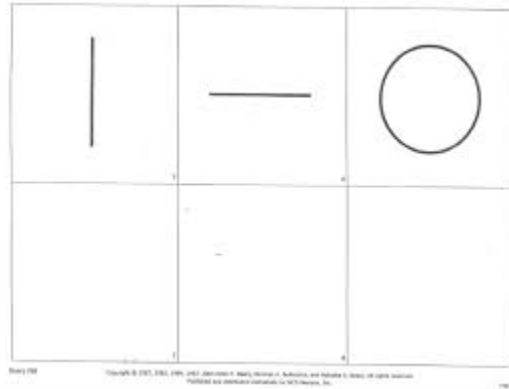


Figura 12 Apartado del cuadernillo de evaluación test de Integración Visual Motora (VMI)

2. Prueba suplementaria "Percepción visual": Esta prueba se aplicó después del VMI, con un tiempo máximo de 3 minutos, se dio la instrucción general para el grupo mostrando un ejemplo, donde debían señalar una imagen similar a la del estímulo, la calificación se hizo respetando los criterios establecidos en el manual de la prueba; la prueba se detuvo una vez se cumplieron los 3 minutos o cuando existieron 3 errores consecutivos.

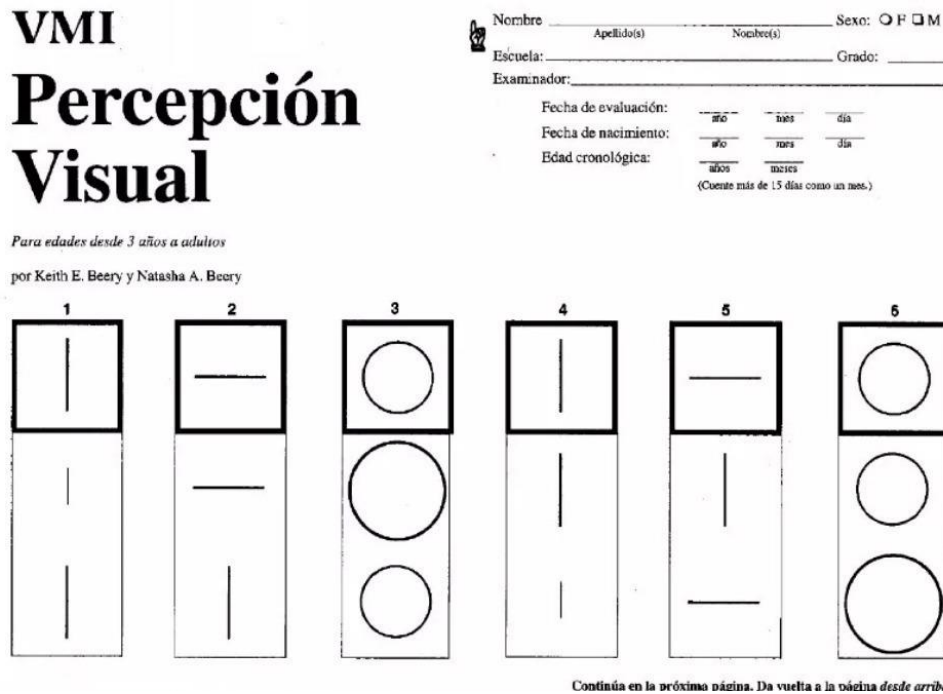


Figura 13 Apartado cuadernillo de aplicación de la prueba suplementaria de Percepción Visual

De forma posterior se asignó la puntuación cruda a cada prueba, que se convirtió a puntuaciones estándar empleando los baremos de la prueba teniendo en consideración la edad cronológica de los niños.

Utilizando estas puntuaciones estándar, se obtuvo la interpretación descriptiva, así:

Tabla 5 Conversión de puntuaciones escalares a categorías de desempeño VMI

Puntuaciones estándar	Desempeño
133 - 160	Muy alto
118 - 132	Alto
83 - 117	Promedio
68 - 82	Bajo
40 - 67	Muy bajo

3.3.5.3. Evaluación de habilidades psicosociales

Evaluación de habilidades psicosociales de niños(as) en condiciones de vulnerabilidad. (Adaptación: Méndez, 2015): Evaluación diseñada por Laurette Olson en 1993 para detectar el desarrollo o alteración de habilidades psicosociales, afectando las relaciones con su entorno y su ocupación (Olson, 2010). Esta evaluación está dirigida a niños y niñas de 7 a 12 años en situación de vulnerabilidad incluyendo: menor trabajador, niños en situación de desplazamiento, maltrato, discapacidad; tomando en cuenta las necesidades, sentimientos, habilidades, intereses y comportamientos con el fin de lograr una mejor adaptación e integración con su entorno.

Las habilidades evaluadas fueron: temperamento, afectividad, interacción con pares, juego, hacer frente a situaciones estresantes e interacción con el ambiente que, en su conjunto, son aquellas necesarias para relacionarse con el entorno. Esta evaluación fue de carácter individual mediada por la participación en actividades grupales (Méndez, 2015). Las actividades de evaluación fueron diseñadas acorde a las recomendaciones del autor, todas soportadas en el juego como actividad principal de un niño de estas edades; el escenario de evaluación corresponde a espacios comunitarios, los participantes fueron evaluados en tres momentos distintos, el primer grupo fue conformado por 13 niños, el segundo grupo por 13 niños y el tercer grupo por 22 niños, en todas las sesiones de evaluación se contó con el apoyo de Terapeutas Ocupacionales en formación.

Esta prueba considera una entrevista inicial, la cual sirvió como insumo y complemento a la entrevista inicial planteada en este estudio.

El instrumento de evaluación de las habilidades psicosociales cuenta con los siguientes criterios de valoración: (A= Nunca, B= Algunas veces, C= Siempre), a partir de esta evaluación se establecieron los indicadores que permitieron establecer en que habilidad el niño presenta mayor dificultad y la relación entre las variables evaluadas.

El tiempo de aplicación de esta prueba fue de 4 horas para cada grupo.

3.3.5.4. Evaluación de patrones de procesamiento sensorial.

Sensory Profile 2 (Dunn, 2014): El perfil sensorial se categoriza como una de las herramientas estandarizadas para ayudar a evaluar los patrones de procesamiento sensorial de un niño en el contexto del hogar, la escuela y las actividades basadas en la comunidad. Este cuestionario evalúa los patrones de procesamiento sensorial únicas de un niño, proporcionando una visión más profunda para ayudarlo a personalizar los siguientes. El cuestionario fue llenado por los cuidadores, porque ellos son las personas idóneas para observar la respuesta del niño a las interacciones sensoriales que se producen durante todo el día. Este test contiene enunciados que describen como se pueden comportar los niños, los acudientes seleccionaron la opción que mejor describía que tan seguido el niño presentaba el comportamiento descrito, con los siguientes criterios:

Tabla 6 Criterios de selección de la frecuencia en que se presenta un comportamiento (Dunn, 2014)

Casi siempre	Responde de esta manera Casi siempre (90% o más del tiempo)
Frecuentemente	Responde de esta manera Frecuentemente (75% del tiempo)
La mitad del tiempo	Responde de esta manera La mitad del tiempo (50% del tiempo)
Ocasionalmente	Responde de esta manera Ocasionalmente (25% del tiempo)
Casi nunca	Responde de esta manera Casi nunca (10% o menos del tiempo)
No aplicable	Si no puede contestar porque no ha observado ese comportamiento o cree que no es aplicable a su niño, por favor marque No aplicable

El tiempo de aplicación fue de 30 minutos. Posterior a la aplicación del test, a cada categoría descriptiva siguiendo el manual Sensory Profile 2, se le asignó un valor numérico, así:

Tabla 7 Conversión de categorías descriptivas a patrones numéricos (Dunn, 2014)

Casi siempre	5
Frecuentemente	4
La mitad del tiempo	3
Ocasionalmente	2
Casi nunca	1

Se realizó la suma de ítems según las áreas definidas en (Dunn, 2014), donde se obtuvo la puntuación cruda en: la sección sensorial (auditivo, visual, táctil, movimiento, posición del cuerpo, sensorial oral) y en la sección de comportamiento (conducta, social-emocional, atencional); el puntaje crudo obtenido, se ubicó en el rango correspondiente; el cual brinda información sobre el procesamiento de la información sensorial y conductual.

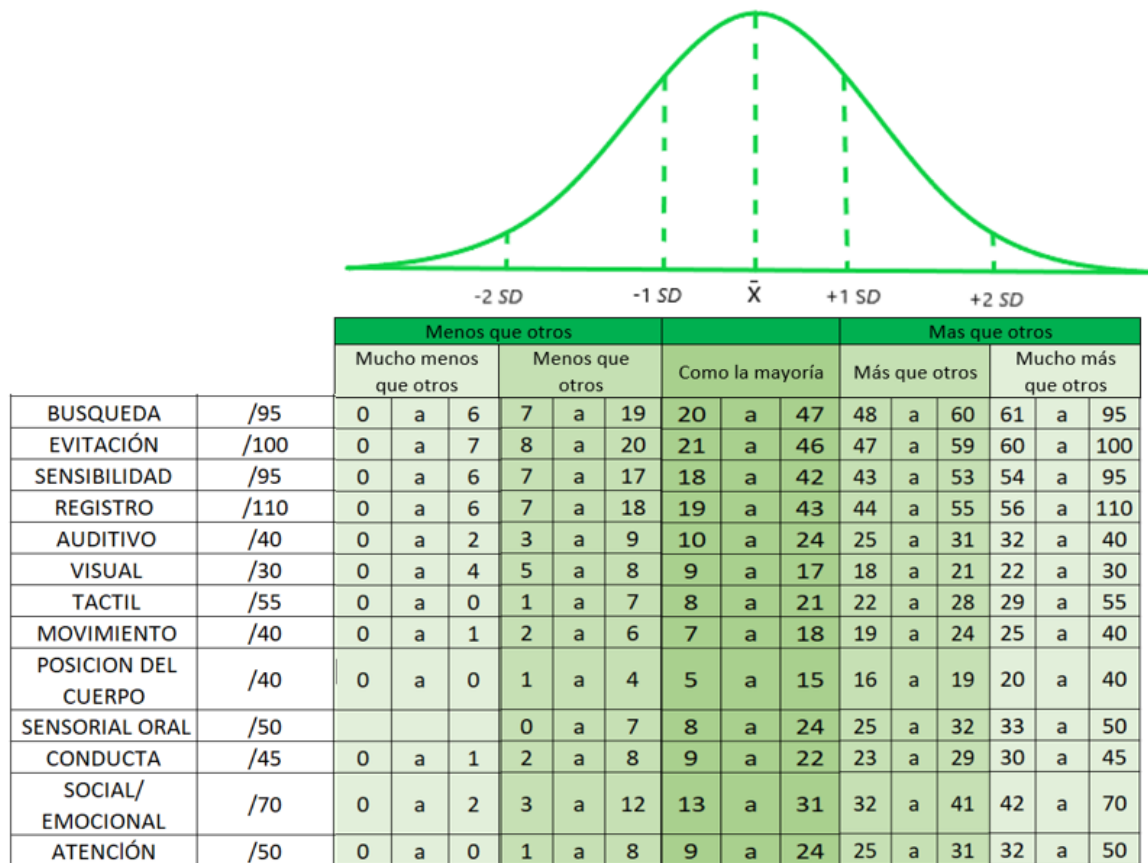


Figura 14 Curva normal y el sistema de clasificación del Perfil Sensorial 2 (Dunn,2014)

3.3.6. Análisis epigenético.

3.3.6.1. Toma de muestras

En la literatura se ha descrito que las modificaciones epigenéticas en algunos loci pueden ser los mismos en la periferia y el cerebro dando indicios sobre el origen del desarrollo de la enfermedad (Daskalakis & Yehuda, 2014; Hernández, 2015), por ello, se obtuvieron las muestras de ADN por extracción de sangre periférica obtenida a través de venopunción. Estas muestras fueron almacenadas a -20°C y codificadas para mantener el anonimato de los participantes, estas muestras fueron procesadas y almacenadas en el biobanco del Instituto de Genética Humana de la Universidad Nacional de Colombia – Bogotá.

3.3.6.2. Extracción, purificación, cuantificación y almacenamiento de ADN

El ADN fue aislado a partir de sangre periférica usando el *QIAamp DNA Mini Blood Kit* (51104- Qiagen) siguiendo el protocolo del fabricante (Anexo 3).

La cuantificación del ADN extraído se realizó mediante espectrofotometría con el NanoDrop 2000 de Thermo Scientific y se evaluó el ratio 260/280nm para determinar la pureza del material, el ADN extraído se mantuvo almacenado en tubos eppendorf de 1.5 ml a una temperatura de -20°C.

Además, se realizó una electroforesis con un gel de agarosa al 1.5% en Buffer SB 1X para verificar la calidad del ADN.

3.3.6.3. Conversión por bisulfito.

El tratamiento con bisulfito consiste en la conversión de citosinas no metiladas a uracilos (deaminación) en presencia de bisulfito de sodio NaOH mientras que las citosinas metiladas permanecen intactas. Por lo tanto, la secuenciación del ADN tratado después de la amplificación de la región objeto permite el análisis de metilación, mediante la determinación de la relación de citosina a timina, en un solo sitio. (Zhang et al., 2013)

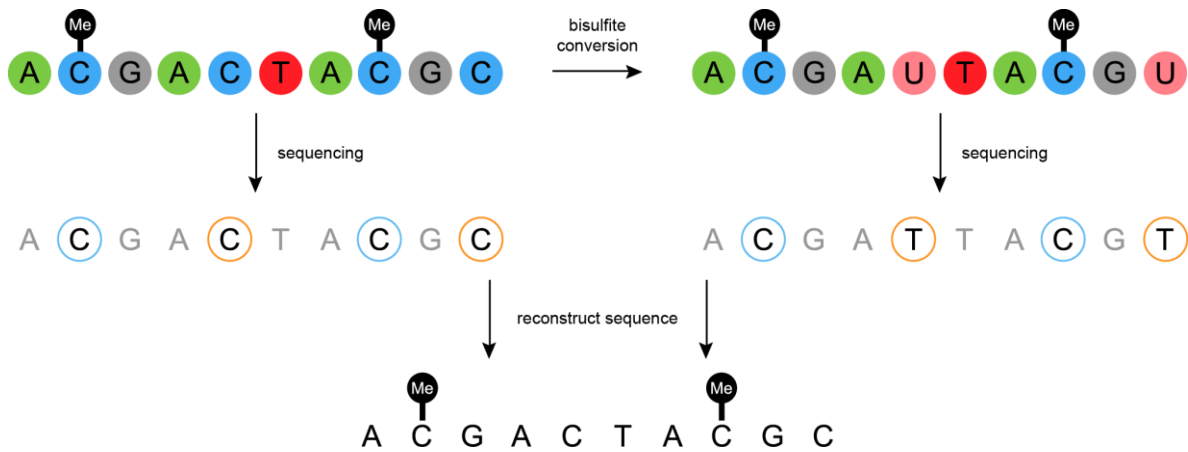


Figura 15 Representación gráfica de la cadena ADN previo y posterior a la conversión por bisulfito

El DNA extraído fue convertido por bisulfito siguiendo el protocolo propuesto por Clark et al., 1994 - *EZ DNA Methylation- Direct Kit* (D5021-Zymmo-Research) (Anexo 4) utilizando el termociclador *Agilent Technologies SureCycler 8000*.

El ADN obtenido a partir de la conversión, es de cadena sencilla, por ello fue cuantificado usando NanoDrop 2000 en la opción ssDNA.

El ADN convertido fue utilizado inmediatamente, en caso de requerir almacenarlo para usos posteriores, este debe ser a una temperatura $\geq -70^{\circ}\text{C}$ máximo por 8 días.

3.3.6.4. Amplificación por BSP

3.3.6.4.1. Primers

La amplificación de la región target del ADN convertido con bisulfito, se realizó con la metodología BSP *Bisulfite Sequencing PCR*, cuyo objetivo principal es determinar el nivel de metilación promedio en cada dinucleótido CG lo cual fue determinante para la elección de este método que ha demostrado ser sensible, confiable y concreto, facilitando el análisis (Eckhardt et al., 2006; Lewin et al., 2004).; los creadores de esta técnica (Clark, Harrison, Paul, & Frommer, 1994), sugieren diseñar los primers con las siguientes propiedades:

- Longitud aproximada de 30pb.
- Diseño para una región rica en citosinas para asegurar la especificidad de la conversión.
- Contenido mínimo de dinucleótidos CG.

Tabla 8 Primers diseñados para BSP

Descripción	Primers	Secuencia	Tm	Numero de CpG evaluadas	Tamaño del amplicón
Chr5: 143,277,931 -143,435,512	Forward	5'- GATTTGGTTTTTTTTGGGG-3'	57.7	31	283
	Reverse	5'- TACAACCCCATACCCCTTT-3'	61.4		

3.3.6.4.2. Reacción de PCR

Se realizaron reacciones de PCR para el ADN que fue tratado con bisulfito, esta reacción fue estandarizada con los primers seleccionados usando el *Agilent Technologies SureCycler 8000* y teniendo en cuenta las condiciones sugeridas para el uso de la *DreamTaq DNA Polymerase* (Anexo 5).

A continuación, se presentan las condiciones de BSP para el gen NR3C1.

Tabla 9 Condiciones de PCR- Reactivos y volúmenes

Reactivo	Volumen
Agua grado biología molecular	10.3 µL
10X Dream Taq Buffer	2 µL
dNTPs 2.5 mM	1.5 µL
Forward primer 10 µM	1.5 µL
Reverse primer 10 µM	1.5 µL
DreamTaq DNA Polymerase	0.2 µL
DNA convertido con bisulfito	3 µL
Volumen total	20 µL

Siguiendo las siguientes condiciones de ciclado.

Tabla 10 Condiciones de termociclado

	Temperatura	Tiempo
Denaturación inicial	95°C	5 minutos
Denaturación	42 ciclos	95°C
Anillamiento		61°C
Extensión		72°C
Extensión final		72°C
Hold	4°C	∞

Los productos de PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 1.5%,

Purificación productos de PCR: La purificación de los productos de PCR se llevó a cabo

con el fin de remover primers, sales, etc. mediante purificación con la técnica etanol-acetato de amonio (Anexo 6).

3.3.6.5. Perfil de metilación por análisis de secuencias.

Los productos de PCR purificados fueron secuenciados por el método Sanger, utilizando el equipo *ABI Prism 3500* (Applied Biosystem) en el servicio de secuenciación SSIGMol del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia. Las muestras fueron preparadas en tubos de microcentrífuga de 1.5 mL, agregando 10 µL de muestra purificada a una concentración de 3.5 ng/µL y 1.2 µL del primer reverse, el volumen final de cada preparación fue de 11.2 µL.

Los resultados obtenidos en la secuenciación se disponen como cromatogramas (.ab1), los cuales fueron analizados con *Epigenetic Sequencing Methylation Software* (ESME) (Eckhardt et al., 2006) Este software disponible en <http://www.epigenome.org/index.php?page=download>, permite verificar individualmente los porcentajes de metilación de cada dinucleótido CG; el algoritmo permite el alineamiento de la secuencia obtenida, con la secuencia de referencia disponible en NCBI, este programa realiza una normalización de la señal del electroferograma obtenido en la secuencia, comparando la intensidad de los picos y determina el porcentaje de metilación de la secuencia objeto de estudio; los datos que arroja están en la escala de 0 (no metilación) a 1 (total metilación) o -1 (sin información). Dentro de los archivos resultantes del análisis, se encuentra información cuantitativa formato .text que permite análisis posteriores y un electroferograma en formato PDF con información sobre la conversión (Anexo 7). El análisis es detenido si el archivo está dañado, si falta la secuencia de referencia genómica de referencia, si la longitud es inferior a 50 pb o si las tasas de conversión están por debajo de un umbral mínimo (65%) (Lewin et al., 2004) Particularmente, para esta investigación se tuvo en consideración datos como: ID, proporción de metilación y posición genómica con respecto a la secuencia de referencia.

3.4. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos en pruebas de desempeño ocupacional fueron analizados mediante pruebas no paramétricas; Mann-Whitney, Chi-cuadrado y Test exacto de Fisher; para identificar diferencias entre casos y controles. Los datos obtenidos sobre el porcentaje de

metilación de las regiones evaluadas de NR3C1 fueron analizados bajo el modelo de regresión beta, que permite el análisis de los resultados dados en porcentajes, considerando el intervalo de 0-1.

Para determinar la relación entre la metilación encontrada y el desempeño obtenido en la caracterización del desempeño ocupacional se utilizó una regresión simple.

Los análisis estadísticos se realizaron en el software R con el paquete betareg y con el programa SPSS (Statistical Package for Social Science) versión 23. Todas las pruebas fueron realizadas con un nivel de confianza del 95%.

3.5. Categorías analíticas

3.5.1. Desempeño ocupacional:

En esta categoría se exponen características sociodemográficas, reporte de padres, perfil psicomotor, habilidades visomotoras, habilidades psicosociales y características del procesamiento sensorial.

3.5.2. Perfil de metilación:

Características relacionadas con el análisis epigenético de dinucleótidos en CpG individuales del exón 1F del gen receptor de glucocorticoides.

3.5.3. Relación entre el perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides y el desempeño ocupacional.

3.6. Consideraciones éticas

Esta investigación se ajustó a las normas científicas, técnicas y administrativas expuestas en la Resolución N°008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia donde se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, se fundamentó en experimentación previa realizada en animales y en humanos; considerando que el ser humano fue el sujeto de estudio, prevaleció la seguridad de los usuarios, se contó con consentimiento informado por parte del representante legal del niño y asentimiento por parte del niño.

Esta fue una investigación con riesgo mínimo durante la extracción de material genético por venopunción, no hubo reporte de eventos adversos como consecuencia de este proceso. Durante la investigación se manejó una codificación para mantener el anonimato de los participantes, a su vez, las muestras de sangre periférica y los resultados de las evaluaciones realizadas se encuentran almacenadas en el Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia; la investigación fue suspendida para aquellos participantes que así lo decidieron.

El presente estudio fue sometido a evaluación por parte del comité de ética de la Universidad Nacional de Colombia fue aprobado bajo el acta No. 004-036-17 del 09 de marzo de 2017 y actualizado bajo el acta No. 003-19 del 28 de febrero de 2020.

Capítulo IV: Resultados.

En este capítulo se exponen los resultados obtenidos de acuerdo con las categorías analíticas

4.1. Desempeño Ocupacional

4.1.1. Caracterización sociodemográfica de la población evaluada

Se evaluaron un total de 45 niños y niñas colombianos, escolarizados y residentes de la ciudad de Bogotá; estableciendo un grupo de casos con 22 participantes y un grupo control con 23 individuos.

4.1.1.1. Sexo

Se evaluaron 23 niñas, 8 casos y 15 controles; y 22 niños, 14 casos y 8 controles; esta variable fue analizada con un Test exacto de Fisher, a partir del cual se define que no existen diferencias significativas entre casos y controles para la variable sexo con un $P=0.0758$.

Tabla 11 Distribución por género de los participantes

Sexo	Distribución por sexo en casos y controles					
	Casos		Controles		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Niño	14	31,1	8	17,7	22	49
Niña	8	17,7	15	33,3	23	51
Total	22	49	23	51	45	100

4.1.1.2. Edad

Los 45 niños valorados se encontraban en edades entre los 7 y los 11 años, se aplicó el Test de Kruskal- Wallis para examinar las diferencias entre los dos grupos con respecto a la edad, se obtiene un valor $P = 0.2471$, por lo que se determina que no hay diferencias significativas entre los grupos evaluados. El grupo de participantes de 10 años representa el 37,8% del total de la muestra.

Tabla 12 Distribución por edad de los participantes

Edad	Casos		Controles		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
7	1	2,2	3	6,7	4	8,9
8	3	6,7	5	11	8	17,7
9	2	4,4	5	11	7	15,5
10	8	17,7	9	20	17	37,8
11	8	17,7	1	2,2	9	20
	22	49	23	51	45	100

4.1.1.3. Características antropométricas.

Las variables antropométricas consideradas en este estudio fueron: talla y peso; se aplicaron Test de Kruskal- Wallis para identificar diferencias relacionadas con estas características antropométricas entre los grupos de este estudio; no se encuentran diferencias significativas para talla con un $P = 0.2511$ y para peso con un $P = 0.2963$.

Tabla 13 Características antropométricas de la población

		Casos	Controles
	N	22	23
Peso (Kg)	Mínimo	20	22
	Máximo	45	48
	Media	30,6	27,8
	DE	7,1	5,6
Talla (cm)	Mínimo	118	120
	Máximo	157	146
	Media	137	134
	DE	10,7	6,7

A partir de la Tabla 13, se puede determinar que las características antropométricas son similares entre los grupos de estudio.

4.1.1.4. Lugar de nacimiento

El total de los participantes evaluados residen en la ciudad de Bogotá, los niños pertenecientes al grupo control, son todos nacidos en la capital del país, el grupo de casos es proveniente de diferentes regiones del país donde hay/hubo presencia de grupos armados o actividades relacionadas con conflicto armado, discriminadas así:

Región Amazónica: Departamento del Caquetá.

Región Andina: Se incluyen los departamentos de Boyacá, Tolima, Quindío, Antioquia, Santander y Cundinamarca.

Región Caribe: Se incluyeron los departamentos de Sucre, Atlántico, Valledupar y Magdalena.

Región Orinoquia: Departamentos de Arauca y Meta.

Región Pacífica: Departamentos de Choco y Nariño.

En el Gráfico 1 se relaciona el número de participantes provenientes de las regiones previamente descritas.

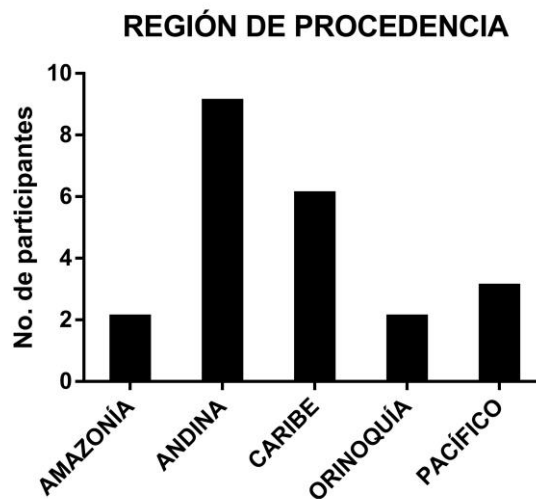


Gráfico 1 Región de procedencia

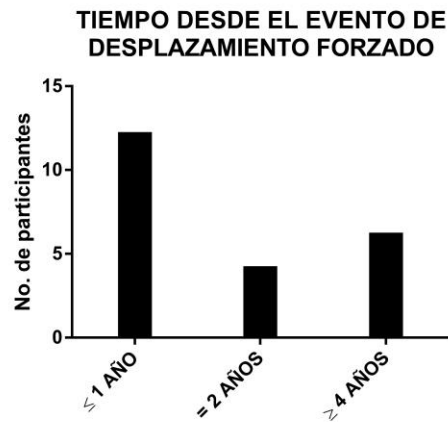


Gráfico 2 Tiempo transcurrido desde el desplazamiento

Los niños víctimas de desplazamiento forzado son residentes de la ciudad de Bogotá a causa de la movilización involuntaria, en el Gráfico 2 se presentan agrupaciones de datos que corresponden al tiempo transcurrido entre el momento exacto del desplazamiento hasta la fecha de evaluación.

4.1.1.5. Grado escolar

A continuación, se presentan de forma detallada las frecuencias en la variable grado escolar con respecto a la edad. Estos datos resultan claves en la caracterización de la población, ya que permiten el reconocimiento de condiciones diferenciales entre casos y controles.

Tabla 14 Distribución de los participantes por edad y grado escolar

Grado escolar (Primaria)	Edad (años)	Casos		Controles		Total	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Primero	8	2	4,4	0	0	2	4,4
Segundo	7	1	2,2	2	4,4	3	6,7
	8	1	2,2	0	0	1	2,2
	9	1	2,2	0	0	1	2,2
	11	1	2,2	0	0	1	2,2
Tercero	7	0	0	1	2,2	1	2,2
	8	0	0	5	11,1	5	11,1
	9	1	2,2	4	8,8	5	11,1
	10	5	11,1	0	0	5	11,1
Cuarto	9	0	0	1	2,2	1	2,2
	10	1	2,2	6	13,3	7	15,5
	11	2	4,4	0	0	2	4,4
Quinto	10	1	2,2	3	6,7	4	8,8
	11	4	8,8	1	2,2	5	11,1
Primaria en aceleración	10	1	2,2	0	0	1	2,2
	11	1	2,2	0	0	1	2,2
Total		22	49	23	51	45	100

En la Ley 115 de 1994 por la cual se expide la Ley General de Educación, se establecen objetivos y reglamentaciones relacionadas con rangos normativos de edad según el nivel educativo; para el nivel de primaria se incluyen niños y niñas de 6 a 10 años. Si se considera que el rango teórico se aplicaría así: Primero: 6-7 años, segundo: 7-8 años, tercero: 8-9 años, cuarto: 9-10 años y quinto: 10-11 años; algunos de los niños víctimas de desplazamiento forzado participantes en este estudio, pertenecerían a un grupo denominado extra-edad.

El Ministerio de Educación Nacional (2014) define “extra-edad” como los alumnos matriculados en un grado escolar, cuya edad supera en dos años o más la edad teórica para cursarlo. Teniendo en cuenta este criterio, tres (3) participantes (6,6%) se encuentran en condición de extra-edad o en aceleración de primaria en educación regular. Esta información fue analizada con un test de Wilcoxon encontrando diferencias significativas con un $P = <0.0001$ entre la población de casos y controles.

Sin embargo, si se evalúa el ajuste de las edades por grado escolar, muchos de los niños del grupo de casos, se encuentran por fuera de los rangos teóricos. Esto es atribuible a que los casos tienen un índice superior de pérdida de años escolares. Encontrando una distribución que se explica en la tabla 13.

Tabla 15 Distribución de los participantes por pérdida/no pérdida de años escolares.

	Casos		Controles		Total	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Perdida	11	24.5	0	0	11	24.5
No pérdida	11	24.5	23	51	34	75.5
Total	22	49	23	51	45	100

4.1.2. Reporte de padres

Por reporte de padres e interés de esta investigación se indaga sobre aspectos puntuales de interacción y desempeño en diferentes escenarios donde participan los niños casos y control:

En el reporte de los padres de los niños pertenecientes al grupo de casos incluye indicios de timidez en el contexto escolar con otros niños, posible rechazo por parte de otros niños con motivo de raza y peso, además refieren situaciones de agresión física por parte de sus pares, encontrando posibles respuestas de pasividad en unos y reactividad en otros ante esta situación. También reportan alto nivel de actividad en casa y en colegio con aparentes dificultades en lectura, escritura, matemáticas y atención.

Por su parte el reporte de los padres de los niños del grupo control es de posibles dificultades de atención y en matemáticas.

4.1.3. Integración visual motora

Los resultados de la prueba de integración visual motora se presentan en la tabla 15.

Tabla 16 Desempeño en pruebas de integración visual motora

	Desempeño	Casos		Controles		Total		Chi ²
		n	%	n	%	n	%	Valor p
VMI	Muy alto	0	0	4	8,8	4	8,8	0.0073*
	Alto	0	0	3	6,6	3	6,6	
	Promedio	17	37,7	16	35,5	33	73,3	
	Bajo	5	11,1	0	0	5	11,1	
Percepción visual	Alto	0	0	3	6,6	3	6,6	0.0072*
	Promedio	14	31,1	20	44,4	34	75,5	
	Bajo	5	11,1	0	0	5	11,1	
	Muy bajo	3	6,6	0	0	3	6,6	

La población evaluada en su mayoría tuvo un desempeño promedio en ambas pruebas VMI: 73,3% y Percepción visual 75,5%; las diferencias estadísticas obtenidas con la prueba Chi cuadrado surgen a partir del de los desempeños superiores o por debajo del establecido como promedio; resultando evidente que los casos tuvieron desempeños por debajo del esperado para su edad cronológica; diferente al grupo control que tuvo desempeño alto/muy alto.

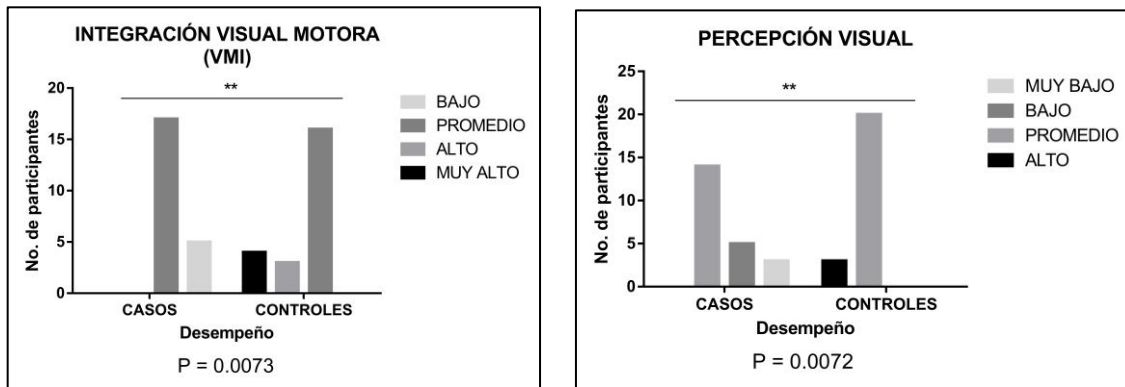


Gráfico 3 Desempeño en prueba VMI y percepción visual

Las dificultades de integración visual motora con marcadores de riesgo de dificultades en la lectura e impactan significativamente los resultados académicos en edades (Roberts et al., 2006). Esto coincide con el reporte de los padres donde refieren que los niños tienen dificultades a nivel de lectura y escritura, además, un indicador que respalda este hallazgo,

es la tasa de extra-edad y el número de años repetidos, esto puede ser con ocasión a la migración involuntaria pero el índice de reincidencia en pérdida de años en notoria en el grupo de casos.

En este estudio no se encontraron diferencias significativas en el desempeño en actividades con demandas de integración visual-motora entre niños y niñas, esto coincide con lo reportado por Williams (1983) no informó diferencias significativas entre niños y niñas a cualquier edad en su capacidad visoespacial. En general, los niños de un grupo tienden a ser más variables que las niñas en su desempeño visual-motor. Los niños tienen un rango más amplio desempeño, mientras que el desempeño de las niñas tiende a ser más focalizado.

4.1.4. Competencia motora

La aplicación de esta prueba comprende actividades orientadas a evaluar cuatro subdimensiones, a partir de las puntuaciones estándar de cada una de ellas, se logra caracterizar el desempeño de cada grupo de la siguiente manera:

Tabla 17 Desempeño en competencia motora total y subdimensiones del BOT-2

Dimensiones		Casos		Controles		Total		Chi ²
		n	%	n	%	n	%	Valor p
Competencia motora	Promedio	9	20	21	46.6	30	66.6	0.0004*
	Bajo	13	28.9	2	4.4	15	33.3	
Control manual fino	Alto	0	0	5	11.1	5	11.1	<0.0001*
	Promedio	5	11.1	15	33.3	20	44.4	
	Bajo	17	37.7	3	6.6	20	44.4	
Coordinación manual	Promedio	7	15.5	15	33.3	22	48.9	0.2801
	Bajo	12	26.6	11	24.4	23	51.1	
Coordinación corporal	Alto	5	11.1	5	11.1	10	22.2	0.3244
	Promedio	15	33.3	18	40	33	73.3	
	Bajo	2	4.4	0	0	2	4.4	
Fuerza y agilidad	Alto	0	0	3	6.6	3	6.6	0.0162*
	Promedio	13	28.8	18	40	31	61.9	
	Bajo	9	20	2	4.4	11	24.4	

Al aplicar la prueba Chi cuadrado, se encuentran diferencias significativas entre casos y controles en las subdimensiones relacionadas con control manual fino $P = <0.0001$, en esta categoría se incluye precisión motora fina e integración motora fina; lo que confirma los hallazgos de la prueba de VMI y percepción visual.

A nivel de fuerza y agilidad también se encuentran diferencias con un $P= 0.0162$, a partir de estos resultados se puede inferir, que probablemente el desempeño en actividades de tipo visomotor, estén relacionadas con fatiga muscular fácil y componentes de velocidad de planeación y ejecución. La competencia motora corresponde a la conversión y suma de puntuaciones estándar de cada una de las subpruebas, en el desempeño motor global también se encuentran diferencias significativas con un $P= 0.0004$.

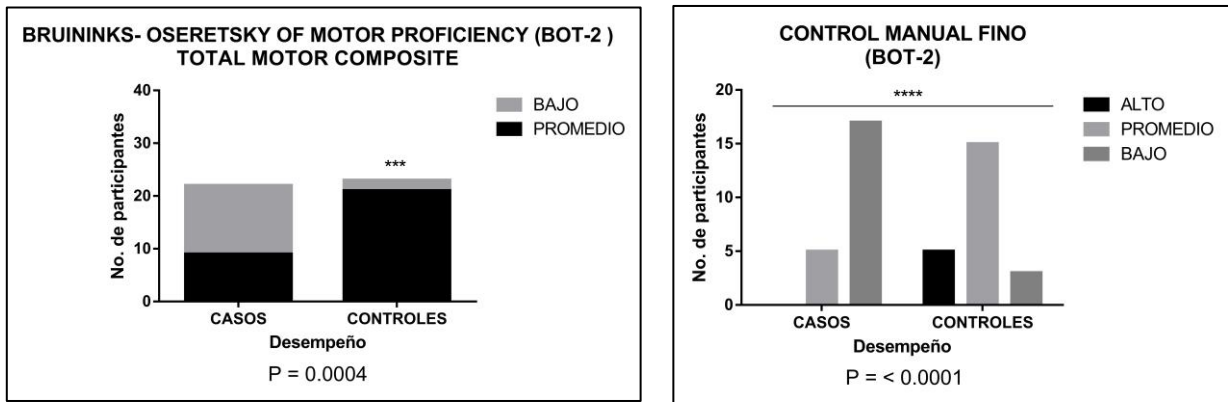


Gráfico 4 Desempeño en competencia motora y control motor fino BOT-2

Balalian et al. en el año 2019 encontró que en el componente motor grueso del BOT-2 los niños tuvieron de 1.6 puntos por encima las niñas, esto coincide con los hallazgos aquí presentados donde se reporta una diferencia con 0.04 de significancia en el componente de fuerza y agilidad en el grupo de casos.

4.1.5. Perfil sensorial

Se presentan los resultados para las diferentes áreas de procesamiento de la información sensorial, se encuentran diferencias significativas en el área auditiva con $P= 0.014$ y táctil con un $P= 0.003$.

Tabla 18 Procesamiento sensorial distribución entre casos y controles

Procesamiento información		Casos		Controles		Total		Chi²
		n	%	n	%	n	%	Valor p
Auditiva	Menos que los demás	4	8.8	3	6.6	7	15.5	0.014*
	Igual que los demás	9	20	19	42.2	28	62.2	
	Más que los demás	4	8.8	1	2.2	5	11.1	
	Mucho más que los demás	5	11.1	0	0	5	11.1	
Visual	Mucho menos que los demás	0	0	1	2.2	1	2.2	0.09
	Menos que los demás	2	4.4	2	4.4	4	8.8	
	Igual que los demás	9	20	17	37.7	26	57.7	
	Más que los demás	7	15.5	2	4.4	9	20	
Táctil	Mucho más que los demás	4	8.8	1	2.2	5	11.1	0.003*
	Más que los demás	0	0	1	2.2	1	2.2	
	Igual que los demás	5	11.1	14	31.1	19	42.2	
	Menos que los demás	6	13.3	7	15.5	13	28.8	
Movimiento	Mucho más que los demás	11	24.4	1	2.2	12	26.6	0.59
	Más que los demás	7	15.5	5	11.1	12	26.6	
	Igual que los demás	8	17.7	13	28.8	21	46.6	
	Menos que los demás	1	2.2	1	2.2	2	4.4	
Posición corporal	Mucho más que los demás	7	15.5	4	8.8	11	24.4	0.15
	Más que los demás	6	13.3	2	4.4	8	17.7	
	Igual que los demás	8	17.7	15	33.3	23	51.1	
	Menos que los demás	1	2.2	2	4.4	3	6.6	
Sensorial oral	Mucho más que los demás	6	13.3	4	8.8	10	22.2	0.74
	Más que los demás	5	11.1	4	8.8	9	20	
	Igual que los demás	10	22.2	13	28.8	23	51.1	
	Menos que los demás	1	2.2	2	4.4	3	6.6	

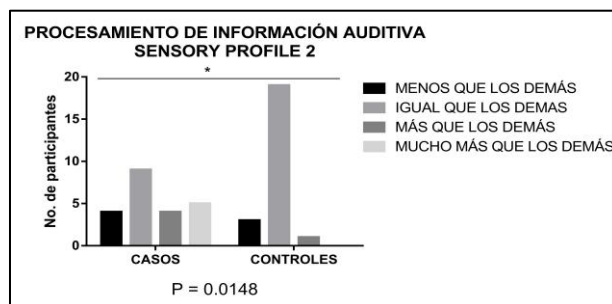
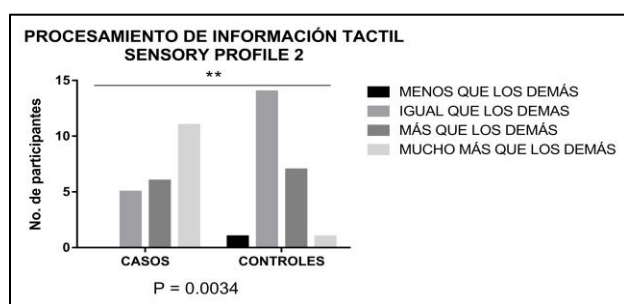


Gráfico 5 Procesamiento de la información auditiva y táctil

A continuación, se presentan las distribuciones por casos y controles en áreas comportamentales, se encuentran diferencias significativas en el área social-emocional P=0.017

Tabla 19 Área de comportamiento SP 2

Comportamiento		Casos		Controles		Total		Chi ²
		n	%	N	%	n	%	Valor p
Conducta	Mucho menos que los demás	0	0	1	2.2	1	2.2	0.10
	Menos que los demás	1	2.2	3	6.6	4	8.8	
	Igual que los demás	10	22.2	14	31.1	24	53.3	
	Más que los demás	6	13.3	5	11.1	11	24.4	
	Mucho más que los demás	5	11.1	0	0	5	11.1	
Social emocional	Menos que los demás	1	2.2	2	4.4	3	6.6	0.0117*
	Igual que los demás	11	24.4	14	31.1	25	55.5	
	Más que los demás	0	0	5	11.1	5	11.1	
	Mucho más que los demás	10	22.2	2	4.4	12	26.6	
Atención	Menos que los demás	1	2.2	1	2.2	2	4.4	0.09
	Igual que los demás	7	15.5	11	24.4	18	40	
	Más que los demás	5	11.1	9	20	14	31.1	
	Mucho más que los demás	9	20	2	4.4	11	24.4	

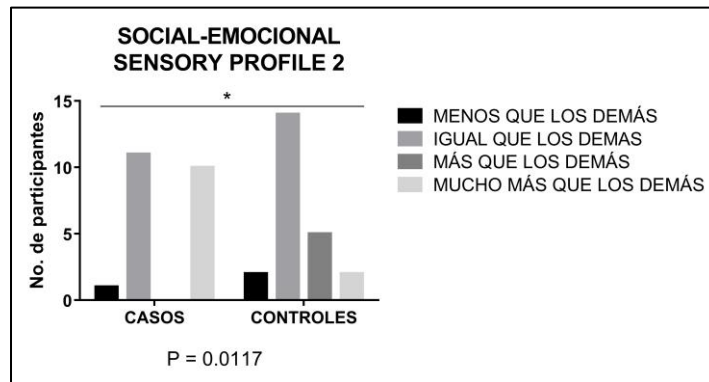


Gráfico 6 Respuesta social -emocional según SP2

4.1.6. Evaluación de habilidades psicosociales de niños(as) de 5 a 11 años

Se presentan en forma descriptiva los resultados en términos de las habilidades valoradas: temperamento innato, hacer frente a situaciones estresantes, afectividad, interacción con pares, juego e interacción con el ambiente del hogar.

Habilidades de interacción con el ambiente comunitario y educativo no fueron contempladas en este análisis.

Temperamento innato y hacer frente a situaciones estresantes

Esta habilidad fue evaluada a través de la entrevista a los padres y los comportamientos observados en los niños durante las actividades propuestas.

Con respecto a los ritmos biológicos, es posible determinar que todos los participantes en el estudio tienen hábitos y rutinas instaurados por su participación activa en el ámbito educativo, allí les proporcionan espacios académicos, artísticos y deportivos, sin embargo, en el grupo de casos la mayoría de niños presenta dificultades en el establecimiento de las rutinas por fuera del colegio por lo que no es clara su participación en otras áreas del desempeño ni con quien interactúan en estos momentos del día, el reporte más relevante en este grupo fue el tiempo empleado para ver televisión, el cual fue relacionado con su tiempo libre en casa, generalmente realizan esta actividad solos o con familia extensa y amigos, dado que sus padres se encuentran laborando.

Resulta llamativo en el grupo de casos el reporte de 3 niños con episodios de enuresis nocturna y en un caso puntual, ante la exposición a estrés.

En cuanto al grupo de controles se evidencia una participación efectiva en diferentes actividades deportivas, culturales y de juego, la mayoría de estas tareas/ actividades involucra la interacción con la familia nuclear, extensa y amigos. El tiempo empleado para ver televisión generalmente es de 1 a 2 horas al día entre semana.

Por reporte de padres de los niños pertenecientes al grupo de casos, se presume una tendencia a la hiperreactividad y dificultades en la modulación a nivel sensorial oral con signos como el llevarse los dedos a la boca y evitación de consumo de ciertos alimentos, en un caso particular se reporta que el niño perdió interés en la actividad de alimentación porque en alguna ocasión le tocó comer de la basura.

En la actividad de evaluación propuesta se tuvo disponible una variedad de materiales que brindaban información de tipo táctil, por ejemplo: pegante líquido, escarcha y pintura; el grupo de casos, en su mayoría, ejecuta la actividad propuesta de forma funcional, dejando en evidencia que algunos niños presentaban una evitación por el contacto con texturas, por lo que realizan la actividad de formas alternativas, sin un paso a paso claro y algunos otros

imitan lo que los otros realizaban, sacrificando la calidad del producto final, en algunos casos tomándose más tiempo del esperado, por lo que no logran finalizar, resulta llamativo que la presencia de dos reacciones frente a la situación, por un lado, algunos parecen no estar interesados en terminar y cuando finaliza el tiempo de evaluación, dejan su producto en el sitio; mientras que otros presentan reacciones emocionales fuertes como la tentativa de llanto y rabia por no poder finalizar la actividad.

Por su parte, el reporte de la mayoría de los padres del grupo control no deja en evidencia fallas a nivel de procesamiento de información multisensorial. En la actividad evaluativa propuesta por la Terapeuta Ocupacional se evidencia un uso funcional de los materiales y busca de soluciones de forma adaptativa ante dificultades en el proceso de construcción del producto final. En su mayoría lograron finalizar exitosamente la tarea y solicitan llevarlo a su casa, aquellos que no lo terminaron indagan sobre la posibilidad de llevarse el producto a su casa con algunos materiales para finalizarlo después.

Durante el desarrollo de la actividad en el grupo de casos se pudo observar una tendencia a la hipervigilancia, haciendo seguimiento visual a cada cosa en el ambiente, por lo que algún sonido o movimiento de personas en el salón resultó en la pérdida de concentración en la tarea. Por su parte en el grupo control se evidenció permanencia durante todo el tiempo de actividad a pesar del estímulo auditivo y visual durante toda la sesión.

Con respecto al nivel de actividad no se encuentra diferencias relevantes entre grupos, en ambos grupos se encontraron niños que disfrutaban del juego de movimiento privilegiándolo sobre juegos de mesa; sin desconocer que otros muestran claramente su preferencia por actividades que requieren menor nivel de actividad.

Los niños de ambos grupos son autónomos en sus ejecuciones, en el grupo de casos se evidencia cierta evitación a la situación de pedir ayuda tanto a pares como a los adultos, su trabajo es en su mayoría individual, mostrando escaso contacto visual con el adulto y respuesta negativa al indagar sobre si requerían ayuda. Se percibe mayor facilidad en el grupo control para solicitar apoyo por parte del adulto, mostrándose tranquilos, refiriendo su duda puntual.

En el grupo de casos fue evidente la dificultad en el reconocimiento de las emociones frente a estímulos o actividades presentadas, la retroalimentación realizada al final de la actividad estuvo restringida a respuestas de sí o no, con muy poco interés por participar en este

momento de la actividad, evitando el contacto visual y dejando ver incomodidad por estar expuestos a esa situación.

El grupo de controles en su mayoría se muestra tranquilo con la retroalimentación, dando respuestas estructuradas a las preguntas del adulto y aunque se percibió cierta tensión al estar expuestos a esta situación de grupo, lograron expresar su sentir durante la actividad.

Afectividad

En ambos grupos el estado anímico fue estable, con claro reconocimiento de figuras de autoridad y los límites.

Los niños pertenecientes al grupo de casos en su mayoría se muestran distantes con el adulto, aun cuando finalizan las sesiones de valoración se mantienen con escasos gestos pragmáticos, algunos niños requieren la intervención de su cuidador para la despedida.

Los niños del grupo control, en su mayoría se muestran muy cariñosos con la evaluadora, dejando ver sus emociones positivas frente al proceso desarrollado.

Los padres del grupo de casos hacen reportes de que los niños requieren refuerzo positivo, se angustia y se frustra fácilmente, llanto cuando no puede completar algo, berrinches, terquedad, escaso contacto visual, alto/bajo nivel de actividad, escasa interacción con pares, sensibilidad emocional, agresividad, posible baja autoestima por ideas de muerte, sentimiento de fracaso. En el grupo control no se encuentran reportes negativos en cuanto a afectividad.

Interacción con pares y juego

Estas habilidades se presentan en dos categorías: juego dirigido y juego libre.

Juego dirigido: La característica principal de este tipo de juego, es que es planeado y tiene un objetivo específico, en este juego fue posible observar el seguimiento de instrucciones, respeto a las reglas y la interacción con pares.

En el grupo de casos, el desempeño en juego dirigido fue funcional, requiriendo que se les repitieran las instrucciones en varias ocasiones, los niños se muestran tolerantes ante la necesidad de repetición. Uno de los juegos demandaba agilidad y era clasificatorio; algunos niños se mostraron atentos y participativos al juego, mientras que otros preferían “perder” rápido para salir y jugar el rol de observador.

Por su parte el grupo control, también fue funcional, en este grupo fue llamativo el nivel de participación por parte de todos los niños, todos se involucraron sin excepción y entre ellos mismos propusieron estrategias de seguridad velando por el cuidado de los más pequeños.

Respecto a la negociación con pares, ambos grupos se muestran propositivos con el grupo para realizar la actividad, llegando acuerdos con el grupo, en el grupo de casos nunca ayudan para que la opinión de sus compañeros sea escuchada y tenida en cuenta, ni participan en la integración de sus pares a la actividad. (Palomino & Valero, 2018)

Juego libre: Para evaluar este tipo de juego, se presentó material como pelotas, rompecabezas y juguetes. En ambos grupos se encuentran relaciones entre pares especialmente de su mismo sexo donde se privilegia más la comunicación no verbal.

En juegos motores gruesos para los niños caso, el juego resulto inherente al material, y fue a modo de competencia, inicialmente los niños se muestran tranquilos y con un interés de comunicación, conforme avanza el juego, lo abandonan uno a uno, sin negociar, toman otro material y este juego ya no es tan funcional, ya que tiende a incomodar a otros participantes y al solicitar organización, no siguen la instrucción.

El juego motor fino surgió como opción para aquellos que preferían el juego individual, donde no requería interacción con pares.

Para el grupo de controles, se observa inicialmente una división por grupos donde proponen juegos de tipo motor fino y de tipo motor grueso; se debe señalar que fue posible evidenciar que los grupos se fueron uniendo entre sí, formando un juego motor grueso de velocidad en conjunto. Al momento de suspender la actividad, la mayoría se organiza y finaliza el momento de juego.

Interacción con el ambiente

Por actividad proyectiva realizada por los niños y reporte por parte de los padres, se obtienen características de la interacción con el ambiente del hogar.

En el grupo de casos, en su mayoría los niños reconocen a su familia nuclear y familia extensa (abuelos, tíos, primos) como su red de apoyo, al indagar sobre a quién le pedirían ayuda en diferentes casos usualmente se reportan su familia extensa (generalmente son los cuidadores) y a sus amigos; estos mismos son quienes generalmente acompañan a los

niños en las diferentes actividades que realizan en casa, aunque son unos pocos también hay niños que no reportan red de apoyo familiar y que usualmente comparte actividades diarias con pares o no comparten con nadie.

En el grupo de controles, la mayoría de niños reconocen a su familia nuclear y familia extensa como su red de apoyo, es evidente que su familia nuclear es a quienes pedirían apoyo ante una contingencia, estos niños señalan que se involucran en actividades diarias en compañía de su familia y amigos.



Figura 17 Interacción con el ambiente grupo casos

La Figura 17 corresponde a una actividad proyectiva donde los niños del grupo caso representaron a su familia. Los dibujos de la figura 18 fueron realizados por niños de 8 y 9 años, en general es posible observar alteraciones en las redes de apoyo, en la primera imagen aparece un niño solo con una evidente ausencia de cualquier apoyo fuera o dentro de la vivienda. En esta imagen toma fuerte relevancia el ambiente ilustrado, es un día lluvioso con árboles negros. En las otras imágenes resulta llamativo la ilustración de su figura paterna, esta, es la tendencia en la mayoría de las imágenes realizadas por los niños, donde el padre aparece lejano, ausente o con expresiones de enojo.



Figura 18 Interacción con el ambiente grupo control

La Figura 18 corresponde a una actividad proyectiva donde los niños control plasmaron a su familia. Las imágenes fueron realizadas por niños de 9, 10 y 11 años respectivamente, en común encontramos expresiones en los dibujos de felicidad, los miembros de las diferentes familias se encuentran muy cercanos entre sí y los niños se sienten parte de este grupo.

Con base al desempeño en las pruebas aplicadas se concluye que:

El grupo control corresponde a niños entre 7 y 11 años, residentes de la ciudad de Bogotá, escolarizados cursando entre segundo y quinto de primaria. A nivel general, se evidencian habilidades de integración visual motora promedio- altas, competencia motora promedio y en su mayoría, el procesamiento de la información sensorial es igual al de la media de la población; con respecto a habilidades psicosociales se evidencia una fácil adaptabilidad a

situaciones nuevas, autonomía, facilidad en la resolución de problemas e interacción con sus pares y adultos funcional. Lo anterior puede ser considerado como facilitador para el desempeño en actividades propias de sus roles ocupacionales.

El grupo de casos corresponde a niños de 7 a 11 años, provenientes de diferentes departamentos del territorio colombiano, víctimas de desplazamiento forzado, los integrantes de este grupo se encuentran escolarizados cursando entre primero y quinto de primaria, algunos en condición de extra-edad y otros en primaria en aceleración. Se evidencian habilidades de integración visual motora promedio – bajas, competencia motora promedio- baja evidenciando un control manual fino muy por dejado de lo esperado para este grupo etario. Por otro lado, el procesamiento de la información auditiva y táctil, en su mayoría lleva a la generación de respuestas poco adaptativas al contexto. Además, en dinámicas psicosociales se evidencia escasa tolerancia a la frustración, poco interés en finalizar las actividades, dificultades de atención y escasa interacción con otros niños. Lo anterior puede llegar a generar dificultades en su participación en actividades propias de sus roles ocupacionales.

4.2. Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1

Porcentaje de metilación de NR3C1 por metodología BSP

El amplificado del exón 1_F del gen receptor de glucocorticoides contiene 31 dinucleótidos CpG que fueron analizados con el software ESME, este, le asigno un número a cada CpG evaluada según su posición genómica respecto a la secuencia de referencia. No todos los dinucleótidos CpG resultaron informativos, por lo que se seleccionan aquellas posiciones con 10 o más lecturas.

Tabla 20 CpG informativas evaluadas por BSP para el exón 1_F del gen NR3C1

Región	ID ESME	Secuencia vecina de la CpG
NR3C1 Chr5: 143,277,931 - 143,435,512	37	AGAGGGtAt GAGTTTtTt
	60	TTTtTTTTtT GtTAttTtT
	74	AttTtTTt GtttCGtt
	80	TTtCGttt GttAGtTtC
	90	CGttAGtTt GCGGtTtAG
	92	tttAGtTtCG GGtTtAGAt

116	tTCGGGAGtT GtTtTGttt
131	TGtttTTGG GGtAAGCGtC
138	TGGCGGtAAG GtCGttAGTG
141	CGGtAAGCGt GttAGTGttt
155	AGTGtttTG GGGTGAtAGC
165	CGGGTGAAtAG GGGCGGGtA
169	TGAAtAGCGGG GGGtAtAAG

En la tabla se presenta la posición asignada por ESME a los dinucleótidos CpG y la secuencia vecina que corresponde a los nucleótidos alrededor de la Citosina evaluada la cual está identificada con el símbolo |, t corresponde a citocinas convertidas.

Se realizó un modelo de regresión beta donde se obtiene el porcentaje de metilación esperada para controles y para casos; se observan diferencias significativas para la posición 169 con un $P = 0.006$, la potencia estadística de esta prueba es baja por lo que este resultado no es generalizable.

Tabla 21 Regresión beta para porcentajes de metilación por posición

Posición	% de metilación esperada control	% de metilación esperada caso	Valor P	R ²
60	3,65%	4,70%	0,487	0,023
74	1,07%	1,07%	0,998	0,000
80	4,06%	4,59%	0,690	0,005
90	6,32%	10,94%	0,063	0,062
92	6,69%	6,88%	0,930	0,000
108	5,16%	6,79%	0,375	0,025
131	1,11%	1,43%	0,408	0,041
138	3,36%	5,21%	0,137	0,062
141	2,91%	3,56%	0,504	0,021
155	2,05%	2,84%	0,294	0,080
165	6,83%	8,47%	0,471	0,009
169	7,71%	17,24%	0,006*	0,094
183	0,97%	0,97%	0,996	0,000

*Los sitios 74 y 80 corresponden al sitio de unión de factores de transcripción; la posición 169 tuvo una diferencia estadísticamente significativa entre casos y controles.

4.3. Correlación de entre porcentaje de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 y desempeño ocupacional.

Se presentan los valores p obtenidos a partir de una regresión lineal simple, para este análisis se tomaron los datos del total de los participantes, es decir no se considera la clasificación entre casos y controles; las asociaciones encontradas tienen valores p significativos, encontrando una tendencia en la asociación entre el perfil de metilación en posiciones CpG específicas y el desempeño en pruebas como integración visual motora y percepción visual; sin embargo la potencia de la prueba es baja, esto es atribuible a que el tamaño de la muestra es pequeño; por ello en este momento de la investigación, no es posible concluir que exista una asociación entre el perfil de metilación y el desempeño ocupacional para la población en general; los resultados completos de la regresión lineal simple se encuentran disponibles en el Anexo 8.

Tabla 22 Asociación entre porcentaje de metilación y desempeño ocupacional

POSICIÓN	PRUEBA	SUB-PRUEBA	REGRESION LINEAL SIMPLE			
			INTERCEPTO	PENDIENTE	VALOR P	R ²
80	BOT	Coordinación motora	2,2	3,6	0,04	0,1
90	BOT	Competencia motora	2,5	1,7	0,04	0.1
92	BOT	Fuerza y agilidad	2,6	2,8	0,02	0.2
108	SP	Movimiento	4,0	-3,5	0,03	0.1
138	VMI	VMI	2,9	3,9	0,05	0.1
138		Visual	2,6	3,8	0,04	0.1
138	SP	Visual	2,6	3,8	0,04	0.1
138		Atención	4,1	-5,7	0,02	0.1
141	VMI	VMI	2,9	4,9	0,01	0.2
141		Visual	2,7	4,9	0,01	0.2
141	BOT	Control manual fino	2,5	4,8	0,05	0.1
141	SP	Visual	2,7	4,9	0,01	0.2
141		Social emocional	3,7	-5,6	0,04	0.1
165	VMI	VMI	2,8	3,4	0,01	0.2
165		Visual	2,6	2,5	0,03	0.1
165	SP	Visual	2,6	2,5	0,03	0.1
169	VMI	VMI	2,7	2,5	0,02	0.2
169		Visual	2,5	2,0	0,04	0.1
169	SP	Visual	2,5	2,0	0,04	0.1

Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoides NR3C1 en una muestra de niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado.

169		Conducta	3,7	-2,8	0,05	0.1
169		Atención	4,2	-3,0	0,04	0.1
GLOBAL	VMI	VMI	2,7	7,1	0,01	0.1
GLOBAL	BOT	Competencia motora	2,4	4,2	0,04	0.1
GLOBAL	SP	Atención	4,3	-9,7	0,01	0.1

Capítulo V: Discusión

El desplazamiento forzado acarrea cambios en las formas de vida, vínculos sociales y de comunidad de quienes son víctimas de este evento, que además lleva a periodos de marginalización, estigmatización y discriminación en los entornos receptores, lo que puede llegar a deteriorar las condiciones de vida e implican una menor sensación de bienestar.

Como consecuencia de la exposición al desplazamiento forzado, desde las ciencias sociales, se han descrito respuestas en los niños como agresividad física y verbal con pares y adultos, pasividad, enuresis y menor control de impulsos (Steiner, García, & Matthews, 1997; Van der Kolk, Perry, & Herman, 1991; Betancourt et al, 2009; Guerrero et al. 2017), la población evaluada perteneciente al grupo de casos, en su mayoría cursan con un rango de patrones desadaptativos que incluyen: desinterés por la participación en actividades, evitación de la interacción con padres y adultos, escasa tolerancia a la frustración, enuresis, entre otros.

Sin embargo, dentro de las consecuencias de la exposición al desplazamiento forzado también se incluye un desempeño diferencial en habilidades visoespaciales, motoras y procesamiento sensorial que han sido poco exploradas como resultado de la exposición a un evento estresante de estas características.

Y es que el cambio en las demandas del ambiente, cambio de roles, involucramiento en actividades no acordes a las capacidades; tiene una afectación frente a la capacidad de desempeño que impacta el sentido y significado sobre las ocupaciones (Caballero et al., 2018)

En la población de casos, por ejemplo, se encontraron patrones de comportamiento como tiempos de ejecución prolongados, conductas de evitación y desinterés hacia la actividad propuesta, estos comportamientos pueden ser atribuibles a la percepción propia de su capacidad de desempeño o causalidad personal, donde permanentemente se está en una autoevaluación para examinar si las demandas de la actividad sobrepasan las habilidades con las que se cuenta. Wieggersma (1980) demostró que el ser competente desempeña un papel particular en el desarrollo del autoconcepto en la

escuela, por ello se puede suponer que aquellos niños con habilidades motrices bajas o poco competentes vean afectada su capacidad de desempeño o autoconcepto, lo que sería un factor de riesgo en esta población. En este sentido, se encontraron niños pertenecientes al grupo de casos con comportamientos que denotan alteraciones a nivel autoconcepto, ellos tuvieron respuestas como la evitación del contacto visual, evitación de exponerse al público, entre otras.

Esto a su vez, puede estar relacionado con otras variables como la poca adherencia y abandono del proceso escolar y que esto, esté impactando sobre niveles de repitencia y posterior fenómeno de extra- edad, sin embargo, sobre estas dinámicas también interviene la movilización repetida entre municipios y/o colegios por diferentes causas.

El desempeño en pruebas específicas puede estar influenciado por la causalidad personal y otros factores como el procesamiento sensorial donde se generan respuestas poco adaptativas ante estímulos ambientales; algunos niños exhibieron hipervigilancia, con hiperreactividad a estímulos auditivos e hiporreactividad a estímulos táctiles, los niños del grupo de casos tuvieron respuestas más demoradas que los controles y cuando se presentaban demandas de tiempo su calidad se veía seriamente afectada, este fue el caso en pruebas de percepción e integración visual motora.

Ante toda esta corriente de eventos asociados al desplazamiento, un ambiente seguro resulta protector, ayudando a neutralizar los sentimientos negativos y brindando oportunidades que faciliten la autoeficacia, el autoconcepto y la participación; sin embargo, ante la alteración en estas redes de apoyo tal como se evidencia en la población de casos, se deja en una posición aún más crítica a los niños de esta edad que están en proceso de búsqueda y consolidación de su identidad.

También resulta relevante que, aunque el tiempo transcurrido desde el desplazamiento fue variable, algunos participantes llevaban 6 meses en la ciudad y otros más de 4 años, el desempeño en las pruebas aplicadas estuvo dentro del mismo rango; lo que quiere decir que las dificultades encontradas, se mantienen a través del tiempo, es de mencionar que la sintomatología encontrada, como los procesos de evitación, bajo disfrute en las actividades, escaso interés en la relación con pares, falta de persistencia

en la tarea, está asociada con el desarrollo de dificultades de comportamiento (Dawson & Ashman, 2000) y psicopatología en la edad adulta.

El trascender de las dificultades en habilidades viso- motoras, motoras finas, psicosociales y de procesamiento sensorial puede estar mediado por mecanismos biológicos que sean susceptibles o modificables en la interacción con el ambiente.

Los signos aquí encontrados, se les ha asociado a nivel biológico con el gen receptor de glucocorticoides y el eje HPA. En el perfil de metilación del exón 1_F del gen receptor de glucocorticoides NR3C1, se encuentra diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de metilación en la posición 169, esta posición según la literatura, tiene influencia sobre la metilación global del exón (McGowan et al, 2009) pero no se le han atribuido características funcionales de forma individual; otras posiciones como la 90, 138 y 141 también presentan diferencias, pero posiblemente por el tamaño de la muestra no resultan estadísticamente significativas.

En el análisis entre los resultados de desempeño en pruebas y metilación del exón 1_F del gen receptor de glucocorticoides, se encontró una tendencia en la asociación entre el perfil de metilación en posiciones CpG específicas como 138, 141, 165 y 169 y el desempeño en pruebas como la de integración visual motora y percepción visual; sin embargo, la fuerza de asociación de esta prueba es baja; por ello en este momento de la investigación, no es posible concluir que exista una asociación entre el perfil de metilación y el desempeño ocupacional.

Es de considerar que la interacción de los niños con su ambiente necesariamente genera huellas a nivel biológico, alterando la estructura cerebral y la función de estructuras como el eje HPA al modificar la transcripción génica, por ello cobra especial relevancia el estudio del desempeño desde la epigenética, conociendo el impacto inmediato y a futuro que puede llegar a tener el entorno sobre la persona y su participación ocupacional.

Esto, deja en evidencia la necesidad de seguimiento por parte de los programas de reparación integral, que faciliten una real inclusión en las ciudades o municipios receptores, donde a pesar de enfrentarse al evento de desplazamiento, los niños, niñas

y adolescentes estén en la capacidad de volver a dar sentido y significado a sus ocupaciones.

Los procesos de adaptación y resignificación a partir de la comprensión de las necesidades individuales, serán claves para contrarrestar fenómenos como la deserción escolar y el escalamiento del impacto físico y psicológico derivado del evento del desplazamiento. (Caballero, et al., 2018)

Se sugiere incorporar una intervención que contemple patrones de hábitos saludables; rutinas familiares predecibles; entrenamiento en habilidades específicas, mayor compromiso en ocupaciones significativas que sirven como factores protectores para combatir los efectos negativos del estrés (AOTA, 2007) y así permitir que los niños y las niñas participen efectivamente en las actividades propias de su rol ocupacional, esto, puede constituirse en una forma de superar la inequidad en salud, producto del impacto de determinantes genéticos y sociales.

Capítulo VI: Conclusiones y recomendaciones

- Este es el primer proyecto en Colombia que analiza el desplazamiento forzado con perspectiva ocupacional, donde se destaca que la influencia del ambiente y el contexto podría estar relacionado directamente con el desempeño de los niños en escenarios educativos; lo cual podría ser un punto de partida para el diseño de planes de intervención y acompañamiento con esta población.
- Con respecto a la caracterización del desempeño ocupacional y desarrollo de habilidades, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles, con una tendencia por parte de los casos al desempeño promedio-bajo; si bien, estos hallazgos pueden tener orígenes distintos según las perspectivas de análisis; en este estudio las condiciones socio-demográficas de la población total fueron similares con la condición de desplazamiento como factor distintivo entre los grupos; por ello se establece que el desempeño en actividades de tipo visomotor y competencia motora están relacionadas con velocidad de procesamiento/ ejecución disminuida por escasa regulación de la emoción evidenciable en la causalidad personal.
- Se encontraron diferencias en los porcentajes de metilación en las diferentes posiciones de la región analizada en muestras de casos y controles. Se encontró una diferencia significativa únicamente en la CpG 169, con una potencia de prueba bajo, posiblemente por el tamaño de la muestra.
- En el análisis entre los resultados de desempeño en pruebas y metilación del gen receptor de glucocorticoides, se encuentran asociaciones estadísticamente significativas para las CpG 138, 141, 165 y 169; sin embargo, la fuerza de esta asociación es baja; por ello en este momento de la investigación, no es posible concluir que exista una asociación entre el perfil de metilación y el desempeño ocupacional.
- No se debería esperar a que los hechos de violencia y fenómeno de desplazamiento de nuestro país finalicen para implementar estrategias de prevención e intervención temprana de los niños y familias en comunidades afectadas, de la oportunidad y eficacia

de la intervención depende la recuperación de los niños afectados por el conflicto armado.

- Los resultados presentados no pueden generalizarse al resto de niños colombianos víctimas de desplazamiento forzado o con exposición prolongada a situaciones de estrés.
- Otros estudios deberían continuar la aproximación a la evaluación individual de metilación de sitios CpG, con énfasis en áreas biológicamente relevantes como los sitios de unión de factores de transcripción.
- Se sugiere que para futuros estudios se aumente el número de la muestra, así, corroborar los resultados aquí descritos, caracterizando a nivel ocupacional y epigenético las víctimas de desplazamiento forzado, identificando asociaciones con tendencias con valores estadísticamente significativos.
- Se sugiere considerar otras variables de análisis, como el estrato socioeconómico y su impacto en el desempeño, nivel educativo de los padres, desempeño en lectura y escritura de los niños, además podría resultar informativo el realizar análisis estratificados por tiempo de desplazamiento para determinar diferencias en el desempeño ocupacional y en el perfil de metilación en el evento agudo y crónico, obteniendo así, información sobre adaptación y resiliencia ante la exposición a situaciones de adversidad en la infancia.
- Se recomienda involucrar como categoría de análisis el tipo de exposición a eventos propios del desplazamiento, para identificar las consecuencias
- Se sugiere para futuros análisis, el análisis de expresión de mRNA para examinar consecuencias funcionales del aumento o disminución de la metilación en el gen receptor de glucocorticoides.
- Por último, se han descrito alelos de riesgo para desarrollar susceptibilidad genética relacionada con la escasa capacidad de dar respuestas a estrés, por ello se sugiere estudiar SNPs en el gen NR3C1 en esta población e identificar incluso su patrón de herencia.

Referencias.

ACNUR. (2012). Desplazamiento. El nuevo reto del siglo XXI. UNHCR. ACNUR. Disponible en: <https://www.acnur.org/fileadmin/Documentos/Publicaciones/2013/9180.pdf?file=t3/fileadmin/Documentos/Publicaciones/2013/9180>

ACNUR. (2018). Tendencias globales- Desplazamiento forzado en Colombia en 2018. Disponible en: <https://www.acnur.org/5d09c37c4.pdf>

Afifi, T., Enns, M., Cox, B., Asmundson, G., Stein, M. & Sareen, J. (2008). Population attributable fractions of psychiatric disorders and suicide ideation and attempts associated with adverse childhood experiences. *Am.J.Public Health*. 98: 946–952.

American Occupational Therapy Association. (2007). AOTA's Statement on Stress and Stress Disorders. *The American Journal of Occupational Therapy*

American Occupational Therapy Association. (2008). Occupational therapy practice framework: Domain and process (2nd Ed.). *Am J Occup Ther*. 62: 625-683

American Psychology Association. (2007). The stress solution. APA. United States.

American Psychiatric Association. (2014). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th Edition (DSM-V). Washington, DC: American Psychiatric Association.

Alejo, E. (2005). Aplicación del modelo de estrés postraumático en el estudio del impacto de la violencia sobre la salud mental en población desplazada. *Med UNAB*. 8: 23-28.

Asociación de pediatras de atención primaria de Andalucía. APAP_A. (2012) *Modelo historia clínica*. Asociación de pediatras de atención primaria de Andalucía. España.

Balalian, A., Whyatt, R., Liu, X., Insel, B., Rauh, V. , Herbstman, J., & Factor-Litvak, P. (2019). *Prenatal and Childhood Exposure to Phthalates and Motor Skills at Age 11 Years*. *Environmental Research*. doi:10.1016/j.envres.2019.01.046

Bamberger, C., Schulte, H. & Chrousos, G. (1996). Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev*. 13: 245-261.

Beery, K., & Beery, M. (2010). The Beery-Buktenica Developmental Test of Visual-Motor Integration, Berry VMI. Administration Scoring and Teaching Manual. TX, USA: Sixth Ed. Pearson.

Betancourt, T., Speelman, L., Onyango, G. & Bolton, P (2009) Psychosocial Problems of War-Affected Youth in Northern Uganda: A Qualitative Study. *Transcult Psychiatry*. 46(2): 238–256.

Breslin, M. & Vedeckis, W. (1998). The human glucocorticoid receptor promoter upstream sequences contain binding sites for the ubiquitous transcription factor, Yin Yang 1. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 67: 369–381.

Breslin, M., Geng, C. & Vedeckis, W. (2001). Multiple promoters exist in the human GR gene, one of which is activated by glucocorticoids, *Molecular Endocrinology*., 15, 1318-1322.

Bruininks, R. & Bruininks, B. (2005). *Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, Second Edition, Manual*. Pearson.

Bruininks, R. & Bruininks, B. (2006). *Bruininks-Oseretsky Test of Motor Proficiency, Second Edition, complete form report*. Pearson.

Bustamante, A., Aiello, A., Galea, S., Ratanatharathorn, A., Noronha, C., Wildman, D. & Uddin, M. (2016). Glucocorticoid receptor DNA methylation, childhood maltreatment and major depression. *Journal of affective disorders*. 206: 181-188.

Caballero, A., Fernández-Moreno, A., García-Ruíz, S., Navas, A., Moreno-Sosa, M. (2018). Terapia Ocupacional y desplazamiento humano forzado. Colombia, febrero de 2012. *Revista Ocupación Humana*, 18(1), 65-70.

Canadian Association of Occupational Therapy (1991). Occupational Therapy guidelines for client-centered practice. (Disponible en CAOT, 110 Eglinton Ave. West. 3rd floor, Toronto, Ontario, Canadá, M4R 1A3).

Cardona, D. & Londoño, G. (2001). Experiencias de Atención en Salud Mental después del terremoto del 25 de enero de 1999 en Pereira. [Internet] Congreso Virtual de Psiquiatría 1 febrero – 7 marzo Interseques 2001. Disponible en: <http://www.psiquiatria.com>.

Centro Nacional de Memoria Histórica (2015) Una nación desplazada. Informe nacional del desplazamiento forzado en Colombia. Bogotá, CNMH – UARIV.

Charmandari, E. & Kino, T. (2010). Chrousos syndrome: a seminal report, a phylogenetic enigma and the clinical implications of glucocorticoid signaling changes. *Eur J Clin Invest*. 10: 932-942.

Chrousos, G., & Gold, P. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. *JAMA* 267:1244–1252

Clark, S., Harrison, J., Paul, C. & Frommer, M. (1994). High sensitivity mapping of methylated cytosines. *Nucleic Acids Res*. 15: 2990-2997.

Conradt, E., Lester, B., Appleton, A., Armstrong, D. & Marsit, C. (2013). The roles of DNA methylation of NR3C1 and 11beta-HSD2 and exposure to maternal mood disorder in utero on newborn neurobehavior. *Epigenetics*. 8: 1321-1329.

Consultoría para los Derechos Humanos y el Desplazamiento. (2013). El desplazamiento forzado y la imperiosa necesidad de la paz. Informe desplazamiento. 2013. CODHES. Bogotá, Colombia.

Consultoría para los Derechos Humanos y el Desplazamiento. (2018). Informe de situación humanitaria en Colombia en el primer semestre de 2018. CODHES. Bogotá, Colombia.

Corregidor, A., Polonio López, B., & Hernández Pajares, M. (2010). Usabilidad, seguridad y accesibilidad: Elementos clave para optimizar el entorno de las personas mayores. *TOG (A Coruña)*, 7(3).

Dammann, G., Teschler, S., Haag, T., Altmüller, F., Tuzek, F. & Dammann, R. (2011). Increased DNA methylation of neuropsychiatric genes occurs in borderline personality disorder. *Epigenetics*. 6: 1454–1462.

Daskalakis, N. & Yehuda, R. (2014). Site-specific methylation changes in the glucocorticoid receptor exon 1F promoter in relation to life adversity: systematic review of contributing factors. *Frontiers in Neuroscience*. 8: 369

Dawson, G. & Ashman, S (2000) On the origin of a vulnerability to depression: the influence of the early social environment on the development of psychobiological systems related to risk for affect disorder. *The Minnesota Symposia on Child Psychology*. Vol 31.

De Kloet, E., Joels, M. & Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci.* 6:463–75.

Decreto 4800. Por el cual se reglamenta la Ley [1448](#) de 2011 y se dictan otras disposiciones. Procedimientos de atención, asistencia y reparación integral para las víctimas del conflicto armado. Diciembre 20 de 2011.

Derijk, R., Schaaf, M., Turner, G., Datson, N., Vreugdenhil, E., Cidlowski, J. et al. (2001). A human glucocorticoid receptor gene variant that increases the stability of the glucocorticoid receptor beta-isoform mRNA is associated with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 11:2383–2388.

Directriz para la atención diferencial de los niños, niñas y adolescentes víctimas de desplazamiento. UNHCR. ACNUR. Bienestar Familiar. Colombia. Agosto de 2010.

Dunn, W. (2014). Sensory Profile 2. PsychCorp. Pearson. Estados Unidos.

Eckhardt, F., Lewin, J., Cortese, R., Rakyán, V., Attwood, J., Burger, M., Beck, S. (2006). DNA methylation profiling of human chromosomes 6, 20 and 22. *Nat Genet.* 38(12), 1378-1385. doi: 10.1038/ng1909

Erskine, H., Ferrari, A., Polanczyk, G., Moffitt, T., Murray, C., Vos, T., et al. (2014). The global burden of conduct disorder and attention-deficit/hyperactivity disorder in 2010. *J Child Psychol Psychiatry.* Apr,55(4):328-36.

Eulalio, A., Huntzinger, E., & Izaurralde, E. (2008). Getting to the Root of miRNA-Mediated Gene Silencing. *Cell.* 132(1), 9-14. doi: 10.1016/j.cell.2007.12.024

Fazel, M., Wheeler, J., & Danesh, J. (2005). Prevalence of serious mental disorder in 7000 refugees resettled in western countries: a systematic review. *The Lancet.* 365(9467), 1309-1314. doi: 10.1016/s0140-6736(05)61027-6

Feil, R. & Fraga, M. (2011). Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nat.Rev. Genet.* 13: 97-109.

Geng, G. & Vedeckis, W. (2004). Steroid-responsive sequences in the human glucocorticoid receptor gene 1A promoter. *Molecular Endocrinology.* 912–924.

Goldstein, D. (1995). Stress, catecholamines, and cardiovascular disease. New York: Oxford University Press

Guerrero Duque, D. F., Gutiérrez Gómez, J. A., Jurado Albarracín, A. A., & Mogollón Vasquez, L. M. (2017). Bateria de juegos : riendo aprendo habilidades sociales para la convivencia de los niños y niñas del Conjunto Villa Karen II un aporte desde trabajo social. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/trabajo_social/13

Herman, J., Patel, P., Akil, H. & Watson, S. (1989). Localization and regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor messenger RNAs in the hippocampal formation of the rat. *Molecular Endocrinology.* 1886–1894

Hernández, H. (2015). *Estudio de patrones genómicos de metilación de ADN en enfermedad de Alzheimer orientado hacia neuronas piramidales corticales y su concordancia con leucocitos de sangre periférica.* Tesis de doctorado. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

Hernández, H., Tse, M., Pang, S., Arboleda, H. & Forero, D. (2013). Optimizing methodologies for PCR-based DNA methylation analysis. *Biotechniques.* 4: 181-197.

HGNC. (2007). HUGO Gen Nomenclature Committee. Retrieved 19 November, 2016, from http://www.genenames.org/cgi-bin/hcop?species_a=9606&species_b=all&ortholog=all&column=symbol&Search=Search&query=NR3C1

Hompes, T., Izzi, B., Gellens, E., Morreels, M., Fieuws, S., Pexsters, A. et al. (2013). Investigating the influence of maternal cortisol and emotional state during pregnancy on the DNA methylation status of the glucocorticoid receptor gene (NR3C1) promoter region in cord blood. *J. Psychiatr. Res.* 47, 880-891.

Huang, P., Chandra, V. & Rastinejad, F. (2010). Structural Overview of the Nuclear Receptor Superfamily: Insight into Physiology and Therapeutics. *Annu Rev Physiol.* 72: 247-272.

Jones, P. A. (2012). Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat. Rev. Genet.* 13, 484-492.

Klengel, T., Pape, J., Binder, E. & Mehta, D. (2014). The role of DNA methylation in stress-related psychiatric disorders. *Neuropharmacology* 80, 115-132.

Lara, C., Fayyad, J., de Graaf, R., Kessler, R., Aguilar-Gaxiola, S., Angermeyer, M., et al. (2009). Childhood predictors of adult attention-deficit/hyperactivity disorder: results from the World Health Organization World Mental Health Survey Initiative. *Biol Psychiatry.* Jan 1,65(1):46-54

Law, M., Cooper, B., Strong, S., Stewart, D., Rigby, P. & Letts, L. (1996) Person- Environment-occupation model: A transactive approach to occupational performance. *Canadian Journal of Occupational Therapy.* 63: 9-23.

Letts, L., Law, M., Rigby, P., Cooper, B., Stewart, D. & Strong, S. (1994). Person-environment assessments in occupational therapy. *Am J Occup Ther.* 48 (7): 608-18.

Lewin, J., Schmitt, A., Adorjan, P., Hildmann, T. & Piepenbrock, C. (2004). Quantitative DNA methylation analysis based on four-dye trace data from direct sequencing of PCR amplicates. *Bioinformatics.* 20:3005-3012.

Ley 949 de 2005. Por la cual se dictan normas para el ejercicio de la profesión de terapia ocupacional en Colombia, y se establece el Código de Ética Profesional y el Régimen Disciplinario correspondiente. 17 de marzo de 2005. D.O. 45853.

Ley 1448 de 2011. Por la cual se dictan medidas de atención, asistencia y reparación integral a las víctimas del conflicto armado interno y se dictan otras disposiciones. 10 de junio de 2011. D.O. 48096.

Londoño, N., Sicachá, M., & González, J. (2011). Posibles manifestaciones del trastorno por estrés postraumático en adultos desplazados por el conflicto armado del asentamiento "Acacias Bajo" en Armenia - Quindío. *Sinapsis* 3 (3), 172- 185.

Lopez, A. (2011). Posttraumatic stress disorder and occupational performance: Building resilience and fostering occupational adaptation. IOS Press. Work 38. 33-38. DOI 10.3233/WOR-2011-1102

Lu, N., Wardell, S., Burnstein, K., Defranco, D., Fuller, P., Giguere, V., Hochberg, R., McKay, L., Renoir, J., Weigei, N., Wilson, E., McDonnell, D. & Cidlowski, J. (2006). International union of pharmacology. LXV. The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily:

Glucocorticoid, Mineralocorticoid, Progesterone, and Androgen receptors. *Pharmacol Rev.* 58: 782-797.

Lupien, S., McEwen, B., Gunnar, M. & Heim, C. (2009). Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behavior and cognition. *Nature Reviews Neuroscience*, 10, 434–445.

Maccari, S. & Morley-Fletcher, S. (2007) Effects of prenatal restraint stress on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis and related behavioral and neurobiological alterations. *Psychoneuroendocrinology*.32.

Maldonado, L. (2002) Niñez, ser social y desplazamiento forzado. En Bello, M., Cardinal, E. y Arias, F. (Ed.), Efectos psicosociales y culturales del desplazamiento. (pp. 137 - 162). Fundación dos mundos.

Martín-Blanco, A., Ferrer, M., Soler, J., Salazar, J., Vega, D., & Andión, O. et al. (2014). Association between methylation of the glucocorticoid receptor gene, childhood maltreatment, and clinical severity in borderline personality disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 57, 34-40. doi: 10.1016/j.jpsychires.2014.06.011

McGowan, P., Sasaki, A., D'Alessio, C., Dymov, S., Labonte, L., Szyf, M., et al. (2009). Epigenetic regulation of the glucocorticoid receptor in human brain associates with childhood abuse. *Nat Neurosci.* 12, 342-348.

Medina, C. (2010). FARC-EP Y ELN. Una historia política comparada (1958-2006). Tesis de doctorado. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá- Colombia. Consultado el 29 de agosto de 2016. Disponible en: <http://www.bdigital.unal.edu.co/3556/1/469029.2010.pdf>

Melas, P., Wei, Y., Wong, C., Sjöholm, L., Aberg, E., Molino, J. et al. (2013). Genetic and epigenetic associations of MAOA and NR3C1 with depression and childhood adversities. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 16:1513-1528.

Méndez (2015). Parámetros de evaluación de habilidades psicosociales de niños(as) en condiciones de vulnerabilidad. Universidad Nacional de Colombia.

Mercado (2010). Los entornos y contextos dentro del proceso de valoración, evaluación e intervención en terapia ocupacional. *TOG (A Coruña)*. 7(11).

Ministerio de Defensa Nacional. Desplazamiento forzado. Consultado el 28 de agosto de 2016, disponible: https://www.mindefensa.gov.co/irj/go/km/docs/Mindefensa/Documentos/descargas/Documentos_Descargables/espanol/Desplazamiento%20Forzado.pdf

Ministerio de Educación Nacional (2014). Sistema Nacional de Indicadores Educativos para los Niveles de Preescolar, Básica y Media en Colombia. Colombia

Ministerio de Salud de Colombia (2015). Encuesta Nacional de Salud Mental 2015. Colombia.

Montrull, B. (2002). *Estudios de casos controles*. En: Piédrola Gil G, editor. Medicina Preventiva y Salud Pública. 4ed. Barcelona: Masson. p.111-122.

Murgatroyd, C., Quinn, J., Sharp, H., Pickles, A., & Hill, J. (2015). Effects of prenatal and postnatal depression, and maternal stroking, at the glucocorticoid receptor gene. *Translational Psychiatry*, 5(5), e560-e560. doi: 10.1038/tp.2014.140

Naranjo, G. (2004). Ciudadanía y desplazamiento forzado en Colombia: una relación conflictiva interpretada desde la teoría del reconocimiento. *Estudios Políticos* N° 25. Medellín. Pp. 137-160

NIH US National Library of Medicine. Genetics Home reference. Consultado el 10 junio de 2020, disponible en: <https://ghr.nlm.nih.gov/gene/NR3C1#location>

Noble, K., Houston, S., Brito, N. *et al.* Family income, parental education and brain structure in children and adolescents. *Nat Neurosci* 18, 773–778 (2015). <https://doi.org/10.1038/nn.3983>

Novac, N. & Henzei, T. (2004). Nuclear receptors: Overview and Classification. *Current Drug Targets- Inflammation & Allergy*. 335-346.

Novik, K., Nimmrich, I., Genc, B., Maier, S., Piepenbrock, C., Olek, A., & Beck, S. (2002). Epigenomics: Genome-Wide Study of Methylation Phenomena. *Current Issues in Molecular Biology*. doi: 10.21775/cimb.004.111

Oberlander, T., Weinberg, J., Papsdorf, M., Grünau, R., Misri, S. & Devlin, A. (2008). Prenatal exposure to maternal depression, neonatal methylation of human glucocorticoid receptor gene (NR3C1) and infant cortisol stress responses. *Epigenetics*. 3: 97–106.

OCHA. (2013). Desplazamiento individual. Unidad de Manejo y Análisis de Información Colombia. UMAIC.

Olson, L. J. (2010). A frame of reference to enhance social participation. In P. Kramer & J. Hinojosa (Eds.), *Frames of reference for pediatric occupational therapy* (3rd ed., pp. 306-348). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Pacák K, Palkovits M. (2001). Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses: Implications for Stress- Related Disorders. *Endocrine Reviews*. 22:502-48.

Palma-Gudiel, H., Córdova-Palomera, A., Leza, J., & Fañanás, L. (2015). Glucocorticoid receptor gene (NR3C1) methylation processes as mediators of early adversity in stress-related disorders causality: A critical review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 55, 520-535. doi: 10.1016/j.neubiorev.2015.05.016

Palomino, G. & Valero, Y. (2018). *Desempeño ocupacional y proceso de inclusión educativa de niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado en Colombia*. Tesis de pregrado, Universidad Manuela Beltrán. Bogotá, Colombia.

Papalia, D., Wendkos, S. & Duskin, R. (2009). Psicología del desarrollo. De la infancia a la adolescencia. Undécima edición. McGrawHill. México

Parade, S., Seifer, R., McWilliams, M., Ridout, K, Armstrong, D., Marsit, J. & Tyrka, A. (2016). Methylation of the Glucocorticoid Receptor Gene Promoter in Preschoolers: Links with Internalizing Behavior Problems. *Child Development*.87: 86–97

Pedersen, K., Geng, C. & Vedeckis, W. (2004). Three mechanisms are involved in glucocorticoid receptor autoregulation in a human T-lymphoblast cell line. *Biochemistry*. 10851–10858

Perroud, N., Salzmann, A., Prada, P., Nicastro, R., Hoeppli, M., Furrer, S. *et al.* (2013). Response to psychotherapy in borderline personality disorder and methylation status of the BDNF gene. *Transl. Psqu* 3.

Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (2003). Informe Nacional de Desarrollo Humano para Colombia. *El Conflicto, callejón con salida*. Bogotá: Editorial El Mal pensante

Ramírez, J. (2014). La escala de Goodenough- Harris y su utilidad para la detección de trastornos cognitivos. *Tesis de especialización*. Universidad Nacional de Colombia.

Registro Único de Víctimas (RUV). Red Nacional de Información. Unidad para las Víctimas. Colombia, Consultado el 07 de julio de 2020, disponible en: <http://rni.unidadvictimas.gov.co/RUV>

Resolución 8430 de 1993 [Ministerio de salud]. Por la cual se establecen normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. 4 de octubre de 1993. D.O.

Rice, P. (1997). *Human developmental: a life- span approach*. Second Ed. Prentice- Hall .

Roberts, G., Bellinger, D., & McCormick, M. C. (2006). A Cumulative Risk Factor Model for Early Identification of Academic Difficulties in Premature and Low Birth Weight Infants. *Maternal and Child Health Journal*, 11(2), 161–172. doi:10.1007/s10995-006-0158-z

Rodríguez, J. & García, M. (2010). El papel del receptor de glucocorticoide en el estrés temprano. *Univ. Med Bogotá*. 4: 385-391.

Serrano- Gomez, M. & Correa-Bautista, J. (2015). Propiedades psicométricas del test de competencias motoras Bruininks Oseretsky en versión corta para niños entre 4 y 7 años en Chía y Bogotá, D.C., Colombia. *Rev. Fac. Med.* Vol. 63 No. 4:633-40

Slaikeu, K. (1995) *Intervención en crisis. Manual para práctica e investigación*. México. Manual Moderno. 23 - 24.

Staff, R. T., Murray, A. D., Ahearn, T. S., Mustafa, N., Fox, H. C., & Whalley, L. J. (2012). Childhood socioeconomic status and adult brain size: Childhood socioeconomic status influences adult hippocampal size. *Annals of Neurology*, 71(5), 653–660. doi:10.1002/ana.22631

Strahle, U., Schmidt, A., Kelsey, G., Stewart, A., Cole, T., Schmid, W. & Schutz, G. (1992). At least three promoter's direct expression of the mouse glucocorticoid receptor gene. *PNAS*, 6731–6735.

Steiner, H., Garcia, I. & Matthews, Z. (1997). Posttraumatic Stress Disorder in Incarcerated Juvenile Delinquents. *Journal of The American Academy Of Child & Adolescent Psychiatry*, 36(3), 357-365. doi: 10.1097/00004583-199703000-00014

Sutherland, J. & Costa, M. (2003). Epigenetics and the Environment. *Annals of The New York Academy Of Sciences*, 983(1), 151-160. doi: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb05970.x

Turecki, G. & Meaney, M. (2016). Effects of the social environment and stress on glucocorticoid receptor gene methylation: a systematic review. *Biol. Psychiatry*. 2: 87–96.

Turner, J., Alt, S., Cao, L., Vernocchi S., Trifonova, S., Battello, N., et al. (2010). Transcriptional control of the glucocorticoid receptor: CpG islands, epigenetics and more. *Biochem. Pharmacol.* 80: 1860-1868.

Turner, J. & Muller, C. (2005) Structure of the glucocorticoid receptor (NR3C1) gene 5' untranslated region: identification, and tissue distribution of multiple new human exon 1. *Journal of Molecular Endocrinology*. 35: 283–292

UMAIC. (2016). Proyección de desplazamiento forzado en Colombia para 2016-2018

Unicef. (2006). Convención sobre los derechos del niño. Unicef- Comité español.

Van Eck, M., Berkhof, H., Nicolson, N., & Sulon, J. (1996). The Effects of Perceived Stress, Traits, Mood States, and Stressful Daily Events on Salivary Cortisol. *Psychosomatic Medicine*, 58(5), 447-458. doi: 10.1097/00006842-199609000-00007

Van der Kolk, B. , Perry, J., & Herman, J. (1991). Childhood origins of self-destructive behavior. *The American Journal of Psychiatry*, 148(12), 1665 - 1671. <https://doi.org/10.1176/ajp.148.12.1665>

Van Meerbeke AV, Gutiérrez CT, Reyes RG, Pinilla MI (2008). Prevalencia de trastorno por déficit de atención con hiperactividad en estudiantes de escuelas de Bogotá, Colombia. *Acta Neurol Colomb.*,24(1):6-12.

Van Rossum, E., Koper, J., Van den Beld, A., Uitterlinden, A., Arp, P., Ester, W. Et al. (2003). Identification of the BclI polymorphism in the glucocorticoid receptor gene: association with sensitivity to glucocorticoids in vivo and body mass index. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 5: 585–592.

Van Rossum, E. & Lamberts, S. (2004). Polymorphisms in the glucocorticoid receptor gene and their associations with metabolic parameters and body composition. *Recent Prog Horm Res*. 59: 333-357.

Vukojevic V., Kolassa IT, Fastenrath M., Gschwind L., Spalek K., Milnik A., et al. (2014). Epigenetic modification of the glucocorticoid receptor gene is linked to traumatic memory and post-traumatic stress disorder risk in genocide survivors. *J.Neurosci*. 34.

Weaver, I., Cervoni, N., Champagne, F., D'Alessio, A., Sharma, S., & Seckl, J. et al. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nature Neuroscience*, 7(8), 847-854. doi: 10.1038/nn1276

Wiegersma, P. (1980). *Motorische diagnosesiek*. Lisse: Swets & Zeitlinger.

Williams, H. (1983). *Perceptual and motor development*. New Jersey. Prentice-Hall.

Yehuda, R. & Bierer, M. (2008). Transgenerational transmission of cortisol and PTSD risk. *Prog. Brain Res*. 167: 121-135

Yehuda, R. & Bierer, L. (2009). The relevance of epigenetics to PTSD: implications for the DSM-V. *J. Trauma. Stress* 22, 427–434.

Yehuda, R., Daskalakis, N., Lehrner, A., Desarnaud, F., Bader, H., & Makotkine, I. et al. (2014). Influences of Maternal and Paternal PTSD on Epigenetic Regulation of the Glucocorticoid Receptor Gene in Holocaust Survivor Offspring. *American Journal of Psychiatry*, 171(8), 872-880. doi: 10.1176/appi.ajp.2014.13121571

Zhang, B., Zhou, Y., Lin, N., Lowdon, R., Hong, C., Nagarajan, R. et al. (2013). Functional DNA methylation differences between tissues, cell types, and across individuals discovered using the M&M algorithm. *Genome Res*. 23:1522-1540.

Zhou, J. & Cidlowski, J. (2005). The human glucocorticoid receptor: one gene, multiple proteins and diverse responses. *Steroids*. 5-7:407.

Zorrilla, S. (1993). *Introducción a la metodología de la investigación* (11 ed.). México, México: Aguilar León y Cal Editores.

Anexo 1: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Perfil de metilación del gen receptor de glucocorticoide NR3C1 en niños de 7 a 11 años víctimas de desplazamiento forzado con trastorno negativista desafiante.

El programa de Maestría en Neurociencias de la Universidad Nacional de Colombia actualmente está realizando una investigación que busca relacionar la exposición a eventos estresantes de tipo violento y la presencia de modificaciones epigenéticas, importantes por su posible impacto sobre trastornos de la conducta y el desempeño de los niños en la escuela.

Si usted autoriza, se va a realizar una evaluación del desempeño ocupacional de su hijo (a), a través de pruebas estandarizadas que miden sus habilidades motoras, visomotoras, psicosociales y cognitivas; además se realizarán algunos análisis genéticos a partir de una muestra de 10cc de sangre periférica las muestras serán procesadas y almacenadas en el Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia.

La información proporcionada se mantendrá en estricta confidencialidad, se asignará un código a la muestra y a la evaluación del desempeño ocupacional de su hijo, manteniendo separados los datos de identificación a los cuales solo tendrá acceso el investigador principal.

En la presentación de resultados de esta investigación no aparecerá ninguno de los datos personales suministrados, los resultados de esta investigación pueden ser publicados en revistas científicas o ser presentados en reuniones científicas y corresponden al análisis de marcas genéticas y asociaciones con el desempeño ocupacional, pero sus datos personales permanecerán en estricta confidencialidad, es decir, su identidad ni la de su hijo será divulgada.

Los riesgos a los que estará expuesto su hijo son mínimos la toma muestra de sangre puede generar dolor leve en el brazo y hematomas pequeños, se tomaran las medidas necesarias para prevenir infecciones y en caso de requerirlo se darán primeros auxilios para una posterior remisión al servicio médico al que se encuentre afiliado. En relación con la evaluación del desempeño ocupacional los riesgos son mínimos como cansancio físico y agotamiento.

Usted no obtendrá beneficio directo por proveer la muestra de material genético de su hijo (a) para este estudio; sin embargo, posterior al análisis de los resultados de la evaluación del desempeño ocupacional usted obtendrá un perfil de desempeño con una algunas estrategias favorecer el desempeño de su hijo (a).

La participación en este estudio, no tiene ningún costo, las pruebas genéticas y de desempeño hacen parte de la investigación. A usted no se le pagara por la participación de su hijo en este estudio. No se le darán a usted resultados individuales de nuestra investigación. Sin embargo, se realizarán seminarios para la socialización de resultados.

Una vez concluya este estudio, se proyecta almacenar el material genético no utilizado para futuras investigaciones, usted puede tomar la decisión sobre la permanencia del material genético en el Instituto, usted podrá señalar cual fue su decisión al final de este formato. Usted puede acceder a que la muestra de su hijo (a) sea almacenada y luego decidir que sea retirada del almacenamiento.

Usted decide sobre la participación su hijo (a) en el estudio, esta participación es de carácter voluntario por lo que no hay sanciones si usted desea no ser parte del mismo. Si usted decide que su hijo (a) participe en este estudio, usted puede decidir abandonarlo en cualquier momento. Si tiene alguna inquietud acerca de este estudio puede dirigirse directamente a la Terapeuta Ocupacional Johana Paola Ríos, estudiante de la Maestría en Neurociencias de la universidad Nacional de Colombia o al Dr. Juan José Yunis L. Docente del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, quien dirige este estudio .

Consentimiento y firma:

Yo _____ identificado con documento de identidad _____ de _____ acepto dar una muestra de sangre y que participe en el desarrollo de pruebas de desempeño ocupacional necesarias para este estudio. Declaro que me ha sido explicado el procedimiento, los fines del estudio, sus posibles riesgos y mis dudas han sido resueltas, entiendo que la participación es voluntaria y que no me serán entregados resultados individuales de este estudio.

He leído el aparte sobre el almacenamiento de la muestra de mi hijo (a) para investigaciones futuras. Elijo que la muestra de material genético de mi hijo (a) ___ SI ___ NO permanezca almacenada para ser usada posteriormente bajo las condiciones descritas.

Firma y Cedula (Representante legal):

Nombre del Niño: _____

Firma: _____

Fecha: _____

Anexo 2: Entrevista inicial.

ENTREVISTA INICIAL. Fecha: _____ Celular: _____

Para una mejor atención de su niño, le agradecemos su colaboración para llenar esta encuesta sobre el niño (a).

Nombre del niño: _____ Edad: _____

Teléfono: _____ Dirección: _____

Lugar de nacimiento: _____

Datos del acudiente.

Nombre: _____ Apellido: _____ Edad: _____

Parentesco: _____ Ocupación: _____

Nivel educativo: Primaria Bachillerato Profesional Postgrado

¿El niño fue víctima de desplazamiento forzado? Si No Fecha de llegada a Bogotá _____
(Si NO fue víctima de desplazamiento, deje este espacio en blanco)

Describa conductas que le generen preocupación en su hijo:

¿Hace cuanto tiempo sucede eso? _____.

Por favor indique de la vida del niño (a):

Del embarazo:

¿Hubo infecciones durante el embarazo? No ___ Si ___

¿Hubo sangrado vaginal durante el embarazo? No ___ Si ___

Si la respuesta fue **SI** responda las próximas tres preguntas.

a. ¿El sangrado fue del primero al tercer mes? No ___ Si ___

b. ¿El sangrado fue del cuarto al sexto mes? No ___ Si ___

c. ¿El sangrado fue del séptimo al noveno mes? No ___ Si ___

Del parto:

¿El nacimiento fue por cesárea? No ___ Si ___

¿Nació el bebé después de tiempo? No ___ Si ___

¿Nació el bebé antes de tiempo? No ___ Si ___

¿Hubo alguna otra complicación en el parto? No ___ Si ___

¿El bebé necesitó incubadora? No ___ Si ___

Por favor escriba. Peso _____ Talla _____ del niño (a) al nacer.

Desarrollo de la motricidad: (se refiere a cuando el bebé se sentó solo, gateo, caminó, corrió, etc.)

En comparación con los hermanos, primos o niños de la misma edad el desarrollo de la motricidad fue:

Menos rápido Igual de rápido Mas rápido

Control de esfínteres:

Por favor escriba a los cuantos años su hijo(a) realizó lo siguiente:

Dejó de orinarse en su ropa en el día: _____

Dejó de orinarse en la cama en la noche: _____

Dejó de "hacerse popó" en los interiores: _____

Lenguaje:

Si el niño(a) habla bien: ¿A qué edad habló **tan claro** como habla ahora? _____ años.

Si el niño **aun no habla claro**, conteste las siguientes preguntas:

¿Todavía no habla nada? No ___ Si ___

¿Hay sitios donde no habla nada? No ___ Si ___
¿Tiene su hijo problemas de pronunciación? No ___ Si ___
¿Tiene su hijo problemas de pronunciación? No ___ Si ___

Antecedentes médicos:

¿Tiene o ha tenido su hijo problemas de salud? No ___ Si ___ Cuales: _____
¿Ha tenido fracturas o accidentes? No ___ Si ___ Cual: _____
¿Es su hijo alérgico a algo? No ___ Si ___ Cual: _____
¿Le han formulado medicación? No ___ Si ___ Cual: _____
¿Le han realizado alguna cirugía? No ___ Si ___ Cual: _____

Desarrollo social:

Es muy tímido con otros niños No ___ Si ___ Es muy tímido con los adultos No ___ Si ___
Otros niños le rechazan No ___ Si ___ Pelea con otros niños No ___ Si ___
Discute con los adultos No ___ Si ___ Se rebela a la autoridad No ___ Si ___
Escriba el nombre de sus mejores amigos: _____

Sobre el estudio:

¿A que edad comenzó su hijo la guardería? _____
¿A que edad comenzó su hijo el preescolar? _____
¿A que edad comenzó su hijo la primaria? _____
¿En que curso esta ahora? _____
¿Donde estudia ahora? _____
¿Ha perdido años su hijo? No ___ Si ___ ¿Ha cambiado de colegio? No ___ Si ___
¿Lo han suspendido del colegio? No ___ Si ___ ¿Lo han expulsado? No ___ Si ___
¿Falta mucho al colegio? No ___ Si ___ ¿Tiene dificultades de lectura? No ___ Si ___
¿Tiene dificultades de escritura? No ___ Si ___ ¿Tiene dificultades en matemáticas? No ___ Si ___
¿Se niega a hacer tareas? No ___ Si ___ ¿Presta adecuada atención en clase? No ___ Si ___
¿Se escapa de clase? No ___ Si ___

Disciplina en el hogar:

Formas de premio ante buenas conductas: _____
Formas de castigo o sanción: _____
Quien en la casa es mas flexible: _____ Quien mas severo: _____
Hay desacuerdos entre los padres para el castigo: Siempre ___ A veces ___ Casi nunca ___ Nunca ___
¿Hay otras personas que intervienen en la disciplina? No ___ Si ___ ¿Quienes? _____
Cosas buenas que hace el niño: _____

Por favor escriba sobre la familia del niño, tanto materna como paterna

Familiares:

¿Alguien de la familia tiene alguna enfermedad? No ___ Si ___ ¿Quien? _____ ¿Cuál? _____
¿Alguien de la familia ha tenido depresiones, crisis de nervios o problemas mentales? No ___ Si ___
¿Quien? _____ ¿Cuál? _____
¿Alguien consume o ha consumido drogas ilícitas, tiene o ha tenido problemas por beber alcohol? No ___ Si ___
¿Quien? _____ ¿Cuál? _____
¿Recuerda si hay alguien de la familia que tenga dificultades parecidas a las que tiene su niño No ___ Si ___
¿Quien? _____ ¿Qué le sucede? _____

Anexo 3: Protocolo QIAamp DNA Mini Blood Kit (51104- Qiagen)

Puntos importantes antes de comenzar

- Todas las etapas de centrifugación se realizan a temperatura ambiente (15-25 ° C).
- 200 µl de sangre total, producen 3-12 µg de ADN. Se recomienda la preparación de la capa leucocitaria si se requiere un rendimiento mayor.

Antes de comenzar

- Equilibrar las muestras a temperatura ambiente (15-25°C).
- Calentar un baño de agua o un bloque de calefacción a 56°C para usarlo en el paso 4.
- Equilibrar el Buffer AE o el agua destilada a temperatura ambiente para la elución en el paso 11.
- Asegúrese de que el Buffer AW1, Buffer AW2 y la Proteasa QUIAGEN se hayan preparado de acuerdo con las instrucciones.
- Si se ha formado un precipitado en el Buffer AL, disuelva incubando a 56°C.

Procedimiento

1. Pipetee 20 µl de Proteasa de QIAGEN (o proteinasa K) en el fondo de un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml.
2. Añada 200 µl de muestra al tubo de microcentrífuga. Utilice hasta 200 µl de sangre entera, plasma, suero, capa leucocitaria o fluidos corporales, o hasta 5×10^6 linfocitos en 200 µl de PBS (Phosphate-buffered saline).

Si el volumen de la muestra es inferior a 200 µl, añada el volumen apropiado de PBS. Las columnas spin QIAamp Mini co-purifican ARN y ADN cuando ambos están presentes en la muestra. El ARN puede inhibir algunas reacciones enzimáticas posteriores, pero no la PCR. Si se requiere ADN genómico libre de ARN, se añaden 4 µl de una RNasa A (100 mg / ml) a la muestra antes de añadir el Buffer AL.

Nota: Es posible añadir la Proteasa de QIAGEN (o proteinasa K) a muestras que ya han sido dispensadas en tubos de microcentrífuga. En este caso, es importante asegurar una mezcla adecuada después de añadir la enzima.

3. Añada 200 µl de Buffer AL a la muestra. Mezclar por vórtex durante 15 s.

Para asegurar una lisis eficaz, es esencial que la muestra y el Buffer AL se mezclen a fondo para dar una solución homogénea.

Si el volumen de la muestra es superior a 200 µl, aumente la cantidad de Proteasa de QIAGEN (o proteinasa K) y de Buffer AL proporcionalmente; por ejemplo, una muestra de 400 µl requerirá 40 µl de Proteasa de QIAGEN (o proteinasa K) y 400 µl de Buffer AL. Si se requieren volúmenes de muestra mayores de 400 µl, se recomienda el uso de QIAamp DNA Blood Mini o Maxi Kits; Estos pueden procesar hasta 2 ml o hasta 10 ml

de muestra, respectivamente.

Nota: No añada Proteasa de QIAGEN o proteinase K directamente al Buffer AL.

4. Incube a 56 ° C durante 10 min.

El rendimiento de ADN alcanza un máximo después de la lisis de 10 minutos a 56°C. Los tiempos de incubación más largos no tienen efecto sobre el rendimiento o la calidad del ADN purificado.

5. Centrifugue brevemente el tubo de microcentrífuga de 1,5 ml para retirar las gotas del interior de la tapa.
6. Añada 200 µl de etanol (96-100%) a la muestra, y mezclar de nuevo usando vortex durante 15 s. Después de mezclar, centrifugar brevemente el tubo de microcentrífuga de 1,5 ml para retirar las gotas de la tapa.

Nota: Si el volumen de la muestra es mayor de 200 µl, aumente la cantidad de etanol proporcionalmente; por ejemplo, una muestra de 400 µl requerirá 400 µl de etanol.

7. Aplique cuidadosamente la mezcla del paso 6 a la columna spin QIAamp Mini (en un tubo colector de 2 ml) sin mojar el borde. Cierre la tapa y centrifugue a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min. Coloque la columna spin QIAamp Mini en un tubo colector limpio de 2 ml (suministrado) y deseche el tubo que contiene el filtrado.

Cierre cada columna de centrifugado para evitar la formación de aerosoles durante la centrifugación. La centrifugación se realiza a 6000 x g (8000 rpm) para reducir el ruido. La centrifugación a toda velocidad no afectará el rendimiento o la pureza del ADN. Si el lisado no ha pasado completamente a través de la columna después de la centrifugación, centrifugar nuevamente a mayor velocidad hasta que la columna spin QIAamp Mini esté vacía.

Nota: Cuando se prepara ADN de la capa leucocitaria o linfocitos, se recomienda la centrifugación a toda velocidad para evitar la obstrucción.

8. Abra con cuidado la columna spin QIAamp Mini y añada 500 µl de Buffer AW1 sin mojar el borde. Cierre la tapa y centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min. Coloque la columna spin QIAamp Mini en un tubo colector limpio de 2 ml (suministrado) y deseche el tubo colector que contiene el filtrado.

Nota: No es necesario aumentar el volumen del Buffer AW1 si el volumen de la muestra original es mayor de 200 µl.

9. Abra cuidadosamente la columna spin QIAamp Mini y añada 500 µl de Buffer AW2 sin mojar el borde. Cierre la tapa y centrifugue a toda velocidad (20.000 x g; 14.000 rpm) durante 3 min.
10. Recomendado: Coloque la columna spin QIAamp Mini en un nuevo tubo colector de 2 ml (no suministrado) y deseche el tubo colector antiguo con el filtrado. Centrifugar a velocidad máxima durante 1 min.

Este paso ayuda a eliminar la posibilidad de una posible acumulación de Buffer AW2.

11. Coloque la columna spin QIAamp Mini en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml limpio (no suministrado) y deseche el tubo colector que contiene el filtrado. Abra cuidadosamente la columna spin Mini y añada 200 µl de Buffer AE o agua destilada. Incube a temperatura ambiente (15-25°C) durante 1 minuto, y luego centrifugue a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min.

Incubar la columna spin QIAamp Mini cargada con Buffer AE o agua durante 5 minutos a temperatura ambiente antes de la centrifugación generalmente aumenta el rendimiento de ADN.

Una segunda etapa de elución con otros 200 µl de Buffer AE aumentará los rendimientos hasta en un 15%.

No se deben eluir volúmenes de más de 200 µl en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml porque la columna spin entrará en contacto con el eluido, dando lugar a una posible formación de aerosol durante la centrifugación.

La elución con volúmenes de menos de 200 µl aumenta la concentración final de ADN en el eluido significativamente, pero reduce ligeramente el rendimiento total de ADN. Para muestras que contienen menos de 1 µg de ADN, se recomienda la elución en 50 µl de Buffer AE o agua. Eluir con 2 x 100 µl en lugar de 1 x 200 µl no aumenta la eficiencia de la elución.

Para el almacenamiento a largo plazo de ADN, eluir en Buffer AE y se almacenar a -30 a -15 ° C, ya que el ADN almacenado en el agua está sujeto a hidrólisis ácida.

Una muestra de 200 µl de sangre humana completa (aproximadamente 5×10^6 leucocitos/ml) típicamente produce 6 µg de ADN en 200 µl de agua (30 ng / µl) con una relación A_{260} / A_{280} de 1,7-1,9.

Web del producto: <https://www.qiagen.com/ch/resources/resourcedetail?id=62a200d6-faf4-469b-b50f-2b59cf738962&lang=en>

Anexo 4: Protocolo *EZ DNA Methylation-Direct Kit* (D5021-Zymmo-Research).

Preparación del reactivo de conversión CT (CT Conversion Reagent):

1. Adicione 790 µl de M-Solubilization Buffer y 300 µl de M-Dilution Buffer a un tubo de Reactivo de Conversión CT (CT Conversion Reagent).
2. Mezcle a temperatura ambiente dando vortex frecuente durante 10 minutos.
3. Adicione 160 µl de M-Reaction Buffer y mezcle con vortex por 1 minuto.

El reactivo de Conversión CT debe ser usado inmediatamente después de la preparación. Si no se usa inmediatamente, la solución del reactivo de conversión CT puede ser almacenada hasta un mes a -20°C. La solución del reactivo de conversión CT almacenado debe ser calentada a 37°C, luego mezclado con vortex antes de su uso.

Conversión del DNA con bisulfito

1. Cuantifique el DNA extraído. La muestra de DNA para convertir con bisulfito debe tener una concentración de 400 ng en 20 µl, para llegar a esta concentración el DNA puede ser mezclado con agua libre de nucleasas.
2. Añada hasta 20 µl de ADN a 130 µl de solución de Reactivo de Conversión CT en un tubo de PCR. Mezcle la muestra y luego centrifugue brevemente para asegurarse que no haya gotas en la tapa o en las paredes del tubo.
3. Ponga los tubos de PCR en un termociclador que tenga un rango de volumen de la muestra de 100 µl (SureCycle 8800- Agilent Thecnologies) y realice los siguientes pasos:
 1. 98°C durante 8 minutos
 2. 64°C durante 3,5 horas
 3. 4°C hasta 20 horas

Se recomienda realizar las columnas inmediatamente

4. Adicione 600 µl de M-Binding Buffer en la columna Zymo-Spin™ IC y ponga la columna en un tubo recolector.
5. Ponga la muestra del paso 3 en la columna Zymo-Spin™ IC que contiene el MBinding Buffer. Cierre la tapa y mezcle invirtiendo la columna varias veces.
6. Centrifugue a máxima velocidad ($\geq 10,000 \times g$) por 30 segundos. Descarte el sobrenadante.
7. Adicione 100 µl de M-Wash Buffer a la columna. Centrifugue a máxima velocidad por 30 segundos.
8. Adicione 200 µl de M-Desulfonation Buffer a la columna y deje a temperatura ambiente (20°C -30°C) por 20 minutos. Después de la incubación, centrifugue a máxima velocidad

por 30 segundos.

9. Adicione 200 μ l de M-Wash Buffer a la columna. Centrifugue a máxima velocidad por 30 segundos. Adicione otros 200 μ l de M-Wash Buffer y centrifugue a máxima velocidad por 40 segundos.

10. Ponga la columna en un tubo de 1.5 ml de microcentrífuga. Adicione 16.5 μ l de M-Elution Buffer directamente a la matriz de la columna. Centrifugue a máxima velocidad por 30 segundos para eluir el DNA convertido.

El ADN está listo para el análisis inmediato o puede almacenarse a -20°C o por debajo para su uso posterior. Para almacenamiento a largo plazo, almacenar a -70°C o por debajo. Se recomienda el uso de 1-4 μ l de ADN eluido para cada PCR, sin embargo, se puede utilizar hasta 10 μ l si es necesario. El volumen de elución puede ser >10 μ l dependiendo de las necesidades de sus experimentos, pero pequeños volúmenes de elución producirán un ADN más concentrado.

Web del producto:

https://files.zymoresearch.com/protocols/_d5020_d5021_ez_dna_methylation-direct_kit.pdf

Anexo 5: Información del producto *Thermo Scientific DreamTaq DNA Polymerase (EP 0701- Thermo Scientific)*.

DreamTaq DNA Polymerase utiliza la misma configuración de reacción y condiciones de ciclo que la Taq polimerasa convencional. La enzima se suministra con un Buffer DreamTaq optimizado, que incluye MgCl₂ 20 mM.

Almacenamiento: -20°C.

Características:

- Amplificación robusta con optimización mínima.
- Altos rendimientos de productos de PCR.
- Mayor sensibilidad en comparación con la Taq Polymerase convencional
- Amplificación de targets largos de hasta 6 kb de DNA genómico y hasta 20 kb de ADN viral.
- Incorpora nucleótidos modificados

Concentración: 5 U/μL

Características de storage buffer:

20mM Tris-HCl (pH 8.0), 1mM DTT, 0.1 mM EDTA, 100mM KCl, 0.5% (v/v) Nonidet P40, 0.5% (v/v) Tween 20 y 50% (v/v) de glicerol.

10X DreamTaq Buffer

DreamTaq Buffer es una formulación patentada que contiene KCl y (NH₄)₂ SO₄ en una proporción optimizada para un rendimiento sólido de la DreamTaq DNA Polymerase en aplicaciones de PCR. DreamTaq Buffer también incluye MgCl₂ a una concentración de 20 mM.

Preparación de la master-mix

10X Dream Taq Buffer	5 μL
dNTPs 2 mM	5 μL
Forward primer 10 μM	0.1-1.0 μL
Reverse primer 10 μM	0.1-1.0 μL
DreamTaq DNA Polymerase	1.25 UL
DNA convertido con bisulfito	10 pg- 1 μL
Agua libre de nuclenas	Completar 50 μL
Volumen total	50 μL

10X DreamTaq Buffer contiene 20 mM de MgCl₂, que es óptimo para la mayoría de las aplicaciones. Si se requiere una optimización adicional, se pueden agregar 25 mM de MgCl₂ a la Master mix. en consecuencia. El volumen de agua debe reducirse.

Condiciones sugeridas para la PCR:

Paso	Temperatura °C	Tiempo	Ciclos
Denaturación inicial	95°C	1-3 min	1
Denaturación	95° C	30 seg	25-40
Hibridación	Tm-5	30 seg	
Extensión	72°C	60 seg	
Extensión final	72°C	5-15 min	1
Hold	4°C	> 4 min	

Nota: Agregue de 1 minuto al tiempo de extensión por cada kb adicional 1min/kb. Haga los ajustes necesarios a la temperatura si es necesario.

Web del producto: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/EP0701#/EP0701>

Anexo 6: Protocolo de purificación *Etanol-Acetato de amonio.*

Todos los reactivos utilizados para la purificación deben estar fríos, se recomienda mantenerlos en hielo.

1. En un tubo Eppendorf de 1.5 ml adicione 4 μ l de Acetato de Amonio (NH₄Ac) 5M ph 7,4 a 17 μ l de producto de PCR.
2. Adicionar 40 μ l de etanol al 100% frío.
3. Centrifugue por 20 minutos a máxima velocidad ($\geq 10,000$ x g) en la centrifuga a 4°C.
4. Descarte el sobrenadante cuidadosamente.
5. Adicione 200 μ l de etanol al 75% frío.
6. Centrifugue por 5 minutos a máxima velocidad ($\geq 10,000$ x g) en la centrifuga a 4°C.
7. Descarte el sobrenadante cuidadosamente.
8. Repita los pasos 5 al 7.
9. Deje secar.
10. Resuspenda en 20 μ l de agua y guarde a 4°C.
11. Compruebe los resultados de la purificación realizando un gel de agarosa al 1.5%. Ponga 3 μ l del purificado y observe que las inespecificidades y/o los dímeros de primers hayan desaparecido.

Anexo 8: Resultados de asociación entre porcentaje de metilación en posiciones específicas y desempeño ocupacional.

Posición		Prueba	Regresión lineal simple			
			Intercepto	Pendiente	Valor P	R cuadrado
80	VMI	VMI	3,2	0,1	0,97	0,0
80		VISUAL	2,9	-0,9	0,65	0,0
80	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,6	1,7	0,23	0,0
80		STRENGTH AND AGILITY	2,7	2,5	0,15	0,1
80		BODY COORDINATION	3,2	0,5	0,74	0,0
80		MANUAL COORDINARION	2,2	3,6	0,04	0,1
80		FINE MANUAL CONTROL	2,7	-0,5	0,85	0,0
80	SP	AUDITIVO	3,2	-0,6	0,82	0,0
80		VISUAL	2,9	-0,9	0,65	0,0
80		TACTIL	3,8	0,9	0,73	0,0
80		MOVIMIENTO	4,0	-4,2	0,15	0,1
80		POSICION.DEL.CUERPO	3,7	-1,3	0,66	0,0
80		SENSORIAL.ORAL	3,8	-3,3	0,23	0,0
80		CONDUCTA	3,5	-2,6	0,35	0,0
80		SOCIAL- EMOCIONAL	3,5	0,0	1,00	0,0
80		ATENCIÓN	3,9	-3,3	0,21	0,0
90	VMI	VMI	3,1	0,5	0,71	0,0
90		VISUAL	2,9	-0,3	0,84	0,0
90	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,5	1,7	0,04	0,1
90		STRENGTH AND AGILITY	2,6	2,1	0,07	0,1
90		BODY COORDINATION	3,0	1,7	0,05	0,1
90		MANUAL COORDINARION	2,3	0,9	0,42	0,0
90		FINE MANUAL CONTROL	2,7	0,0	1,00	0,0
90	SP	AUDITIVO	3,2	-0,5	0,75	0,0
90		VISUAL	2,9	-0,3	0,84	0,0
90		TACTIL	3,8	0,1	0,94	0,0
90		MOVIMIENTO	3,8	-0,3	0,85	0,0
90		POSICION.DEL.CUERPO	3,5	1,5	0,40	0,0
90		SENSORIAL.ORAL	3,6	-0,4	0,83	0,0
90		CONDUCTA	3,4	0,2	0,88	0,0
90		SOCIAL- EMOCIONAL	3,5	-0,1	0,95	0,0
90		ATENCIÓN	3,9	-1,9	0,25	0,0
92	VMI	VMI	3,2	-0,3	0,85	0,0
92		VISUAL	2,9	0,0	0,99	0,0
92	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,6	1,7	0,07	0,1
92		STRENGTH AND AGILITY	2,6	2,8	0,02	0,2
92		BODY COORDINATION	3,0	0,8	0,41	0,0
92		MANUAL COORDINARION	2,3	1,3	0,29	0,0
92		FINE MANUAL CONTROL	2,8	-1,3	0,43	0,0

92	SP	AUDITIVO	3,1	0,5	0,80	0,0
92		VISUAL	2,9	0,0	0,99	0,0
92		TACTIL	3,7	0,5	0,78	0,0
92		MOVIMIENTO	3,7	-0,1	0,98	0,0
92		POSICION.DEL.CUERPO	3,5	0,5	0,79	0,0
92		SENSORIAL.ORAL	3,5	1,1	0,56	0,0
92		CONDUCTA	3,4	-1,4	0,39	0,0
92		SOCIAL- EMOCIONAL	3,6	-1,8	0,33	0,0
92		ATENCIÓN	3,8	-1,9	0,26	0,0
108		VMI	VMI	3,1	0,2	0,89
108	VISUAL		2,8	0,6	0,59	0,0
108	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,6	1,3	0,10	0,1
108		STRENGTH AND AGILITY	2,7	1,6	0,13	0,1
108		BODY COORDINATION	3,2	0,6	0,48	0,0
108		MANUAL COORDINARION	2,4	0,8	0,48	0,0
108		FINE MANUAL CONTROL	2,7	-0,4	0,81	0,0
108	SP	AUDITIVO	3,3	-1,1	0,49	0,0
108		VISUAL	2,8	0,6	0,59	0,0
108		TACTIL	3,8	1,4	0,37	0,0
108		MOVIMIENTO	4,0	-3,5	0,03	0,1
108		POSICION.DEL.CUERPO	3,6	-0,2	0,89	0,0
108		SENSORIAL.ORAL	3,8	-3,0	0,06	0,1
108		CONDUCTA	3,4	-0,3	0,84	0,0
108		SOCIAL- EMOCIONAL	3,5	0,6	0,71	0,0
108		ATENCIÓN	4,0	-2,7	0,08	0,1
138	VMI	VMI	2,9	3,9	0,05	0,1
138		VISUAL	2,6	3,8	0,04	0,1
138	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,6	1,7	0,23	0,0
138		STRENGTH AND AGILITY	2,6	3,6	0,05	0,1
138		BODY COORDINATION	3,2	-1,2	0,38	0,0
138		MANUAL COORDINARION	2,4	0,4	0,83	0,0
138		FINE MANUAL CONTROL	2,5	3,0	0,23	0,0
138	SP	AUDITIVO	3,3	-0,9	0,71	0,0
138		VISUAL	2,6	3,8	0,04	0,1
138		TACTIL	4,0	-3,5	0,17	0,0
138		MOVIMIENTO	3,9	-3,5	0,20	0,0
138		POSICION.DEL.CUERPO	3,7	-1,8	0,51	0,0
138		SENSORIAL.ORAL	3,8	-2,7	0,30	0,0
138		CONDUCTA	3,5	-3,6	0,15	0,0
138		SOCIAL- EMOCIONAL	3,8	-4,4	0,12	0,1
138		ATENCIÓN	4,1	-5,7	0,02	0,1
141	VMI	VMI	2,9	4,9	0,01	0,2
141		VISUAL	2,7	4,9	0,01	0,2
141	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,6	1,4	0,33	0,0
141		STRENGTH AND AGILITY	2,7	0,6	0,77	0,0
141		BODY COORDINATION	3,2	-0,3	0,84	0,0
141		MANUAL COORDINARION	2,3	1,0	0,55	0,0

141		FINE MANUAL CONTROL	2,5	4,8	0,05	0,1
141	SP	AUDITIVO	3,2	0,3	0,90	0,0
141		VISUAL	2,7	4,9	0,01	0,2
141		TACTIL	3,8	-0,9	0,73	0,0
141		MOVIMIENTO	3,8	-1,2	0,65	0,0
141		POSICION.DEL.CUERPO	3,7	-1,8	0,49	0,0
141		SENSORIAL.ORAL	3,7	-2,3	0,37	0,0
141		CONDUCTA	3,4	-2,4	0,31	0,0
141		SOCIAL- EMOCIONAL	3,7	-5,6	0,04	0,1
141		ATENCIÓN	3,8	-2,4	0,34	0,0
155		VMI	VMI	3,1	-2,0	0,34
155	VISUAL		2,9	-3,2	0,08	0,1
155	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,7	-0,8	0,56	0,0
155		STRENGTH AND AGILITY	2,9	0,1	0,95	0,0
155		BODY COORDINATION	3,1	0,6	0,67	0,0
155		MANUAL COORDINARION	2,3	1,7	0,32	0,0
155		FINE MANUAL CONTROL	2,6	2,9	0,26	0,0
155	SP	AUDITIVO	3,3	-4,3	0,07	0,1
155		VISUAL	2,9	-3,2	0,08	0,1
155		TACTIL	3,9	-4,1	0,10	0,1
155		MOVIMIENTO	3,8	-2,1	0,45	0,0
155		POSICION.DEL.CUERPO	3,7	-4,7	0,08	0,1
155		SENSORIAL.ORAL	3,6	-0,9	0,72	0,0
155		CONDUCTA	3,4	-3,4	0,17	0,0
155		SOCIAL- EMOCIONAL	3,6	-2,6	0,36	0,0
155		ATENCIÓN	3,8	-3,5	0,17	0,0
165	VMI	VMI	2,8	3,4	0,01	0,2
165		VISUAL	2,6	2,5	0,03	0,1
165	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,6	0,8	0,38	0,0
165		STRENGTH AND AGILITY	2,8	0,4	0,73	0,0
165		BODY COORDINATION	3,2	-0,5	0,58	0,0
165		MANUAL COORDINARION	2,3	0,5	0,70	0,0
165		FINE MANUAL CONTROL	2,4	2,3	0,17	0,1
165	SP	AUDITIVO	3,2	-0,5	0,74	0,0
165		VISUAL	2,6	2,5	0,03	0,1
165		TACTIL	3,8	-0,3	0,86	0,0
165		MOVIMIENTO	3,6	1,2	0,54	0,0
165		POSICION.DEL.CUERPO	3,4	2,0	0,28	0,0
165		SENSORIAL.ORAL	3,8	-1,3	0,47	0,0
165		CONDUCTA	3,4	-1,8	0,28	0,0
165		SOCIAL- EMOCIONAL	3,7	-2,7	0,15	0,1
165		ATENCIÓN	3,8	-1,3	0,45	0,0
169	VMI	VMI	2,7	2,5	0,02	0,2
169		VISUAL	2,5	2,0	0,04	0,1
169	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,6	1,1	0,16	0,1
169		STRENGTH AND AGILITY	2,8	0,4	0,65	0,0
169		BODY COORDINATION	3,3	-1,0	0,21	0,0

169		MANUAL COORDINARION	2,4	-0,1	0,95	0,0	
169		FINE MANUAL CONTROL	2,4	1,6	0,25	0,0	
169	SP	AUDITIVO	3,4	-1,0	0,41	0,0	
169		VISUAL	2,5	2,0	0,04	0,1	
169		TACTIL	3,8	0,1	0,93	0,0	
169		MOVIMIENTO	3,8	-0,9	0,59	0,0	
169		POSICION.DEL.CUERPO	3,6	-0,1	0,96	0,0	
169		SENSORIAL.ORAL	3,9	-1,7	0,26	0,0	
169		CONDUCTA	3,7	-2,8	0,05	0,1	
169		SOCIAL- EMOCIONAL	4,0	-3,1	0,05	0,1	
169		ATENCIÓN	4,2	-3,0	0,04	0,1	
letilación glob		VMI	VMI	2,7	7,1	0,01	0,1
letilación glob			VISUAL	2,5	5,5	0,06	0,1
letilación glob	BOT	TOTAL MOTOR COMPOSITE	2,4	4,2	0,04	0,1	
letilación glob		STRENGTH AND AGILITY	2,6	3,2	0,25	0,0	
letilación glob		BODY COORDINATION	3,3	-2,7	0,22	0,0	
letilación glob		MANUAL COORDINARION	2,4	0,5	0,84	0,0	
letilación glob		FINE MANUAL CONTROL	2,4	4,0	0,28	0,0	
letilación glob	SP	AUDITIVO	3,4	-3,6	0,33	0,0	
letilación glob		VISUAL	2,5	5,5	0,06	0,1	
letilación glob		TACTIL	3,8	-0,3	0,93	0,0	
letilación glob		MOVIMIENTO	3,8	-1,6	0,70	0,0	
letilación glob		POSICION.DEL.CUERPO	3,6	0,7	0,86	0,0	
letilación glob		SENSORIAL.ORAL	4,0	-7,1	0,07	0,1	
letilación glob		CONDUCTA	3,7	-6,1	0,11	0,1	
letilación glob		SOCIAL- EMOCIONAL	3,8	-4,3	0,32	0,0	
letilación glob		ATENCIÓN	4,3	-9,7	0,01	0,1	