



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA

**“La relación de los biomarcadores de daño renal y el biomonitoreo
urinario de los elementos potencialmente tóxicos en niños y
adolescentes de la Zona Metropolitana del Valle de México”**

T E S I S

Que presenta

QFB. GABRIELA ARELI BARRAGAN GUERRERO

Para obtener el grado de
Maestra en Ciencias en la especialidad de Toxicología

Directores de tesis:

Dr. Olivier Christophe Barbier
Dra. María de la Luz Del Razo Jiménez

Ciudad de México

JUNIO, 2020

Este trabajo se realizó en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional en el Departamento de Toxicología bajo la dirección de los doctores: Olivier C. Barbier y. María de la Luz Del Razo Jiménez, este trabajo fue financiado por Conacyt con el proyecto 239689 y con la beca de maestría número 863348.



RESUMEN

El término general de elementos potencialmente tóxicos (EPT) incluye a todos aquellos elementos químicos inorgánicos, metales-metaloides que debido a sus características y/o concentración pudieran ser tóxicos o tener la capacidad de provocar efectos adversos en la salud. Las fuentes de exposición a estos EPT son muy variadas, desde los alimentos, el agua, el polvo de la calle, el aire, etc. El interés en el presente estudio está enfocado en población vulnerable como son los niños y jóvenes. Se sabe que algunos EPT considerados nefrotóxicos están presentes en orina de niños residentes de la Ciudad de México. Por lo que este estudio tiene como finalidad conocer la relación entre los EPT, la función [tasa de filtración glomerular estimada (TFGe)] y/o daño renal (biomarcadores de daño renal urinarios: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL), la molécula de daño renal-1 (KIM-1) y Cistatina C (Cis-C) en una población pediátrica aparentemente sana residente de la Zona Metropolitana del Valle de México. Para ello se realizó un estudio piloto de tipo transversal con 215 niños y adolescentes de 7 a 15 años a los cuales se les determinaron las concentraciones urinarias de EPT por medio del análisis multianálisis de ICP-MS, y mediante la técnica de ión selectivo para la cuantificación de fluoruro (F), los biomarcadores de daño renal urinarios mediante la tecnología de Luminex, y la TFGe se evaluó mediante la ecuación de Schwartz para población pediátrica. Utilizando modelos de regresión lineal múltiple robusta se identificó que el Cobre tiene un comportamiento nefrotóxico al relacionarse positivamente con los biomarcadores de daño renal y negativamente con la TFGe, no todos los EPT tienen el mismo comportamiento lineal frente a los biomarcadores de daño renal así que se procedió a realizar análisis ajustados categorizando las concentraciones urinarias de EPT por cuartiles y por regresión logística polinómica donde: elementos como el litio, F, cesio, arsénico total, selenio entre otros tienen una relación negativa menor en los cuartiles de menor concentración mientras que en otros casos la relación es positiva. Respecto a los biomarcadores evaluados NGAL mostró una relación más robusta (mayor explicabilidad) con más EPT respecto a Cis-C y TFGe. Por lo que se requiere contemplar que esta población necesita un seguimiento en cuanto al biomonitorio de los EPT en diferentes fluidos biológicos, las posibles fuentes de exposición a EPT, y la prevalencia de ERC y otras enfermedades crónicas.

ABSTRACT

The general term Potentially Toxic Elements (PTE) includes all those inorganic chemical elements, metals-metalloids that due to their characteristics and / or concentration could be toxic or could cause adverse health effects. The sources of exposure to these PTE are very varied, from food, water, street dust, air, etc. The interest in this study is focused on vulnerable population such as children and youth; Some PTE considered nephrotoxic are present in the urine of children residing in Mexico City. Therefore, this study aims to know the relationship between PTE, function [estimated glomerular filtration rate (eGFR)] and / or kidney damage (urinary kidney damage biomarkers: neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), the kidney injury molecule-1 (KIM-1) and Cystatin C (Cis-C) in an apparently healthy pediatric population residing in the Metropolitan Zone of the Valley of Mexico. A cross-sectional pilot study was carried out with 215 children and adolescents from 7 to 15 years of age whose urinary concentrations of PTE were determined by means of the multi-analyte analysis of ICP-MS, and by means of the selective ion technique for the quantification of fluoride (F⁻), the biomarkers of urinary renal damage using Luminex technology, and eGFR was estimated using the Schwartz equation for pediatric patients. Using robust multiple linear regression models, Cu was found to have a behavior or nephrotoxic when positively related to the biomarkers of renal damage and negatively to the eGFR, not all the PTE have the same linear behavior with the biomarkers of renal damage, so we proceeded to perform adjusted analyzes categorizing urinary PTE per quartiles and also using regression. polytomous logistics where: elements such as lithium, F⁻, cesium, total arsenic, selenium among others have lower negative relation in the lower quartiles, while in other cases the associations are positive. NGAL biomarker was related with more PTE and higher relation comparing with Cis-C and eGFR. We need to consider that this population needs a follow-up regarding the biomonitoring of PTE in different biological fluids, find possible sources of exposure and the prevalence of CKD and other chronic diseases.

AGRADECIMIENTOS

Al *Dios* de Abraham, de Issac y de Jacob.

Al *Cinvestav* y al *CONACYT* por darme la oportunidad de desarrollarme académicamente y los apoyos en becas.

Al *colegio de profesores del departamento de Toxicología*, que de cada profesor aprendí mucho y no sólo en las clases sino en muchos aspectos de mi vida profesional y personal.

A los directores de este trabajo: al *Dr. Olivier Christophe Barbier* por darme la oportunidad de participar en este maravilloso proyecto, por abrirme las puertas en su laboratorio y por proporcionar lo necesario para la medición de los biomarcadores y a la *Dra. Luz María Del Razo Jiménez* por su paciencia, su confianza, admiro su compromiso, es para mí un honor haber trabajado con usted.

Al comité académico conformado por la *Dra. Mara Medeiros* y a su equipo de trabajo en el HIMFG, por compartir no sólo gran parte de este trabajo sino los cursos proporcionados, por hacerme parte de su equipo durante este tiempo, mil gracias; y al *Dr. Cuauhtémoc Arturo Juárez Pérez* y a su equipo de trabajo, por los cursos impartidos, su paciencia en el seguimiento del análisis estadístico y siempre bajo la perspectiva epidemiológica muchas gracias.

A los integrantes del *laboratorio 28*: Mónica Rivera, Soledad, Carmina, Jonathan, Yess; especiales gracias a la *MC Luz del Carmen Sánchez Peña* y *Ángel Barrera Hernández* por su apoyo técnico profesional e incondicional.

A los integrantes del laboratorio 25: A Juanita, a Pame, Esaú, Ana y dentro de esta lista incluyo a la Dra. Mitzi Santoyo por sus sugerencias constructivas y aunque casi parte de este laboratorio a la Dra. Yuliana Parra por su amistad.

A los doctores: *Mónica I. Jiménez* y *Manolo Ortega* por su apoyo en la determinación de los biomarcadores y en el manejo de STATA.

A mi familia por su paciencia y su apoyo.

Este trabajo está dedicado a los niños y jóvenes residentes de la Ciudad de México

Contenido

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	xiii
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Biomarcadores de daño renal temprano	1
1.1.1 Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica en México.....	1
1.1.1 La enfermedad renal crónica y factores de riesgo.....	1
1.1.2 Diagnóstico en pediatría	2
1.1.3 Biomarcadores de daño renal temprano	3
1.2 Elementos potencialmente tóxicos (EPT)	5
1.2.1. Definición de EPT.....	5
1.2.2 La ZMVM y los EPT	7
1.3 La exposición a EPT y la función/ daño renal	9
1.4 Justificación	10
1.5 Hipótesis	11
1.6 Objetivos	11
1.6.1 Objetivo General.....	11
1.6.2 Objetivos particulares	11
2 Métodos	11
2.1 Diseño del Estudio	11
2.1.1 Características generales del estudio base.....	11
2.2 Cuantificación de fluoruro en orina	13
2.2.1 Principio.....	13
2.2.2 Procedimiento.....	14
2.3 Determinación de multielementos por ICP-MS	14
2.3.1 Principio	14
2.3.2 Procedimiento	15
2.4 Determinación de biomarcadores de daño renal	15
2.4.1 Principio.....	15
2.4.2 Procedimiento.....	16

2.5	<i>Determinación de creatinina urinaria y sérica</i>	16
2.5.1	<i>Principio</i>	17
2.5.2	<i>Procedimiento</i>	17
2.6	<i>Cálculo de la TFGe</i>	19
2.7	<i>Análisis estadístico</i>	19
2.7.1	<i>Análisis descriptivo o univariado</i>	19
2.7.2	<i>Análisis exploratorio o bivariado</i>	20
2.7.3	<i>Análisis multivariado</i>	20
3	<i>Resultados</i>	22
3.1	<i>Características generales de la población</i>	22
3.2	<i>Biomonitoreo de EPT en orina de los participantes residentes de la ZMVM24</i>	
3.2.1	<i>Correlación de Spearman y Análisis de Componentes Principales de las concentraciones urinarias de EPT</i>	30
3.3	<i>Valoración de la función y daño renal en la población estudiada</i>	32
3.4	<i>La relación de la exposición a EPT, la TFGe y los biomarcadores de daño renal temprano</i>	38
	<i>Análisis de regresión logística politómica</i>	47
4	<i>Discusión</i>	49
4.1	<i>Biomonitoreo de EPT en orina de los residentes de la ZMVM y las fuentes de exposición</i>	49
4.2	<i>Evaluación clínica, funcional y de daño renal en la población de estudio</i> ...	52
4.3	<i>Evaluación de la relación de la exposición a EPT, la TFGe y los biomarcadores de daño renal temprano</i>	54
5	<i>Conclusiones</i>	61
6	<i>Perspectivas</i>	62
7	<i>Referencias</i>	63
8	<i>Anexo</i>	72

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Mecanismos de toxicidad de los EPT en la célula. Fuente: Tchounwou, 2012</i>	6
<i>Figura 2. Municipios y alcaldías que conforman la ZMVM. Fuente Salinas-Arreortua, 2017</i>	7
<i>Figura 3. Emisión de metales en la CDMX, 2016</i>	8
<i>Figura 4. Diagrama para la determinación de los biomarcadores de daño renal</i>	18
<i>Figura 5. Distribución de los participantes por municipio y alcaldías</i>	22
<i>Figura 6. Porcentaje de muestras que sobrepasan los valores de referencia, BE y/o BEI en la población pediátrica de la ZMVM</i>	26
<i>Figura 7. Gráfico de sedimentación: autovalores y número de componentes</i>	31

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Características generales de la población infantil residente en la ZMVM....</i>	23
<i>Tabla 2. Concentraciones urinarias de EPT en los niños y adolescentes residentes de la ZMVM.....</i>	25
<i>Tabla 3. Comparación de los valores de referencia, BE y BEI de los EPT en orina de la población pediátrica residente de ZMVM</i>	25
<i>Tabla 4. Relación de las concentraciones urinarias de los EPT con las variables sociodemográficas y de exposición. Parte 1</i>	27
<i>Tabla 5. Relación de las concentraciones urinarias de los EPT con las variables sociodemográficas y de exposición. Parte 2</i>	28
<i>Tabla 6. Correlación de Spearman entre las variables sociodemográficas y de consumo de agua, bebidas endulzadas y de carne con las concentraciones urinarias de EPT ($\mu\text{g/L}$) en la población de estudio.</i>	29
<i>Tabla 7. Correlaciones de Spearman entre las concentraciones urinarias de EPT ($\mu\text{g/L}$) cuantificadas en la población pediátrica de la ZMVM.....</i>	31
<i>Tabla 8. Matriz de factores de carga rotados de los CP de las concentraciones urinarias de EPT urinarios ($\mu\text{g/L}$) de la población en estudio.....</i>	32
<i>Tabla 9. Evaluación de las concentraciones de creatinina sérica, tasa de filtración glomerular estimada y los biomarcadores de daño renal urinarios en la población de estudio.....</i>	33
<i>Tabla 10. Comparación de medianas de los niveles de la TFGe y los biomarcadores de daño renal entre las categorías de las variables sociodemográficas, resultados del EGO, antecedentes familiares y del participante.....</i>	34
<i>Tabla 11. Correlación de Spearman entre los biomarcadores de daño renal y algunas variables sociodemográficas, clínicas, información sobre el consumo de agua y bebidas endulzadas de la población de estudio.....</i>	35
<i>Tabla 12. Modelos de regresión lineal múltiple para TFGe y los biomarcadores de daño renal urinarios.....</i>	37
<i>Tabla 13. Correlación de Pearson entre las concentraciones urinarias de EPT y la TFGe, y los biomarcadores de daño renal en la población de estudio.....</i>	39

<i>Tabla 14. Regresión lineal simple de la TFGe, los biomarcadores de daño renal y la concentración urinaria de EPT en la población de estudio.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabla 15. Regresión lineal múltiple robusta de las asociaciones entre los niveles de TFGe (mL/min/1.73m²) y la exposición a EPT.</i>	<i>41</i>
<i>Tabla 16. Regresión lineal múltiple robusta entre los niveles de NGAL (ng/mL) y los EPT en la población de estudio.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabla 17. Regresión lineal múltiple robusta de las asociaciones entre los niveles de Cis-C (ng/mL) y la exposición a EPT.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabla 18. Análisis de regresión lineal múltiple robusta entre las concentraciones de EPT en la orina de los niños en cuartiles y la TFGe (mL/min/1.73m²) en la población de estudio.....</i>	<i>44</i>
<i>Tabla 19. Análisis de regresión lineal múltiple robusta entre las concentraciones de EPT en la orina de los niños en cuartiles (Q) y los niveles de NGAL (ng/mL) en la población de estudio.</i>	<i>45</i>
<i>Tabla 20. Análisis de regresión lineal múltiple robusta entre las concentraciones de EPT en la orina de los niños en cuartiles (Q) y los niveles de Cis-C (ng/mL) en la población de estudio.</i>	<i>46</i>
<i>Tabla 21. Resumen de resultados de los modelos de regresión lineal múltiple robusta y regresión logística polinómica para la TFGe, NGAL y Cis-C en la población de estudio</i>	<i>48</i>
<i>Tabla ANX 1. Antecedentes perinatales y dieta de los participantes</i>	<i>72</i>
<i>Tabla ANX 2. Porcentaje de familiares con enfermedades relacionadas con ERC... ..</i>	<i>72</i>
<i>Tabla ANX 3. Tipo de agua para consumo, hábitos tabáquicos de los padre y exposición ambiental.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla ANX 4. Modelos de regresión lineal múltiple robusta de los niveles de TFGe (mL/min/1.72m²) considerando la normalización de la variable predictora con creatinina y densidad urinaria.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla ANX 5. Modelos de regresión lineal múltiple de las concentraciones urinarias de NGAL (ng/mL) en la población de estudio considerando la dilución mediante el ajuste de la variable predictora con creatinina y densidad urinaria.....</i>	<i>75</i>

Tabla ANX 6. Modelos de regresión lineal múltiple de las concentraciones urinarias de Cis-C (ng/mL) en la población de estudio, considerando la dilución mediante el ajuste de la variable predictora con creatinina y densidad urinaria..... 76

Tabla ANX 7. Modelos de regresión lineal múltiple de las concentraciones de KIM-1 urinario (pg/mL) en la población de estudio considerando la dilución mediante el ajuste con creatinina y la densidad urinaria 76

Tabla ANX 8. Análisis de regresión logística poliatómica de la concentración de NGAL y los EPT urinarios de la población de estudio..... 77

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ACP	Análisis de componentes principales
AINES	Antiinflamatorios No Esteroides
BE	Equivalente de biomonitorio
BEI	Índice biológico de exposición
BUN	Nitrógeno ureico en sangre
CDMX	Ciudad de México
Cis-C	Cistatina-C
CP	Componente principal
sCre	Creatinina sérica
uCre	Creatinina urinaria
DS	Desviación estándar
EPT	Elementos Potencialmente Tóxicos
Edo. Méx.	Estado de México
EGO	Examen General de Orina
ERC	Enfermedad Renal Crónica
GBD	Carga Global de la Enfermedad Global Burden Disease
HIMFG	Hospital Infantil de México Federico Gómez
ICP-MS	Espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente
ITU	Infección(es) en tracto urinario
IMC	Índice de masa corporal
IHME	Instituto para la Métrica en Salud y Evaluación
INSPQ	Instituto Nacional de Salud Pública de Quebec
Kg	Kilogramo
KIM-1	molécula de daño renal-1
NGAL	lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos
LRA	Lesión renal aguda
LD	Límite de detección
mmHg	Milímetros de mercurio
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
ppm	Partes por millón
PROGRESS	Programación de Investigación en Obesidad, Crecimiento, Medio Ambiente y Estresores Sociales
ROS	Especies reactivas de oxígeno
TFG	Tasa de Filtración Glomerular
TFGe	Tasa de Filtración Glomerular estimada
TISAB II	Búfer de ajuste (Total Ionic Strength Adjustment Buffer)
VR	Valor de referencia
ZMVM	Zona Metropolitana del Valle de México

Lista de iones y elementos con sus símbolos utilizados

Nombre	Símbolo
Aluminio	Al
Arsénico	As
Arsénico Total	AsT
Bario	Ba
Berilio	Be
Boro	B
Cadmio	Cd
Cesio	Cs
Cobalto	Co
Cobre	Cu
Cromo	Cr
Estaño	Sn
Fluoruro	F ⁻
Fósforo	P
Hierro	Fe
Litio	Li
Manganeso	Mn
Mercurio	Hg
Molibdeno	Mo
Níquel	N
Plata	Ag
Platino	Pt
Plomo	Pb
Selenio	Se
Talio	Tl
Titanio	Ti
Torio	Th
Uranio	U
Vanadio	V
Wolframio	W
Yodo	I
Zinc	Zn

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Biomarcadores de daño renal temprano

1.1.1 Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica en México

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud pública que, de acuerdo con su evaluación en el 2013, afecta al 10% de la población a nivel mundial. En el 2017, la prevalencia en América Latina es del 12% ocupando el octavo lugar como causa de muerte (Bello et al., 2017). En México, es la décima causa de muerte en hombres y la novena en mujeres según el INEGI, 2017. Además, es la segunda causa de muerte prematura hasta el 2017, seguida de la cardiopatía isquémica. Aunque es limitada la información epidemiológica de la ERC en población pediátrica, la carga global de la enfermedad (GBD, por sus siglas en inglés) evaluada por el Instituto de Métricas y Evaluación de la Salud (IHME por sus siglas en inglés), clasifica a la ERC y la diabetes, ambas, como la quinta causa de mortalidad en México en niños entre 5 a 14 años en ambos sexos (IHME, 2017). La ERC afecta a individuos jóvenes de sectores económicos bajos y se ha convertido en un importante contribuyente a la carga de la enfermedad renal en el país.

1.1.1 La enfermedad renal crónica y factores de riesgo

La ERC se define como la disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG) menor a 60 mL/min/1.73m² por un periodo mayor a 3 meses, y / o alteraciones histológicas, albuminuria-proteinuria, alteraciones del sedimento urinario o alteraciones en pruebas de imagen (KDIGO, 2013). Esta definición es utilizada para definir ERC en adultos principalmente, sin embargo, las guía KDIGO a partir del 2012 sugiere que el sistema de clasificación de ERC también tiene aplicación en la población infantil.

Dentro de los principales contribuyentes a la carga global de la ERC, la diabetes (tipo 1 y tipo 2), hipertensión y obesidad son los factores de riesgo tradicionales en adultos. Sin embargo, en población infantil las primeras causas de insuficiencia renal son las malformaciones congénitas (displasia, hipoplasia, malformaciones urinarias) y las glomerulopatías (Medeiros-Domingo & Muñoz-Arizpe, 2011; Becherucci et al., 2016). Los factores de riesgo no tradicionales, de manera general, se encuentran las

exposiciones a nefrotóxicos por ejemplo: medicamentos (antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos (AINES), medios de contraste yodados y antineoplásicos), y remedios alternativos (medicina tradicional); los factores fetales (peso bajo al nacer y prematuridad) y maternas (preclamsia y/o eclampsia), antecedentes familiares con ERC, enfermedades diarreicas, las infecciones en el tracto urinario e infecciones sistémicas, las exposiciones a contaminantes ambientales y ocupacionales, temperatura y antecedentes de lesión renal aguda (LRA). Además, se incluyen factores de riesgo sociales y el estilo de vida como la dieta deficiente, la pobreza y el consumo de tabaco. Por la gravedad y el impacto de la enfermedad renal, se considera que las poblaciones o individuos en riesgo deben someterse a exámenes de detección y tratamiento temprano para prevenir el inicio y/o retrasar la progresión de las nefropatías (Lunyera et al., 2016; Luyckx et al., 2017).

1.1.2 Diagnóstico en pediatría

Los niños con ERC presentan una variedad de síntomas que incluyen enuresis, falta de crecimiento, estatura baja, letargo y palidez. El inicio puede ser silencioso y progresivo con síntomas que se desarrollarán con el tiempo. Para ello se realizan diversas evaluaciones como: la evaluación clínica donde se incluye el historial clínico, examen clínico con una evaluación general considerando el crecimiento, la nutrición, el estado de hidratación, dolor, evaluación de vías respiratorias, pulso, presión arterial, además de considerar el estado de ánimo y comportamiento del niño, etc. Dentro de la evaluación clínica también se realiza el examen general de orina (EGO) (Avner et al., 2016).

Debido a que el riñón puede lesionarse por diferentes mecanismos, es necesaria la evaluación de laboratorio e investigación para determinar el tipo de lesión y el grado de esta. Además, para ayudar con el diagnóstico, se sugiere dar un seguimiento de la terapia (Avner et al., 2016). Por lo general, el estudio de laboratorio se ajusta al concepto de biomarcador. Un biomarcador es un parámetro de cambio estructural, bioquímico, fisiológico o genético que indica la presencia, gravedad o progreso de una enfermedad (Schiffel & Lang, 2012).

Los biomarcadores clásicos en la evaluación de laboratorio son: tasa de filtración glomerular (TFG) como indicador de la función renal. La TFG puede evaluarse directamente en plasma después de la administración de un agente exógeno (iohexol o inulina). Debido a que la medición es onerosa e invasiva, las ecuaciones para determinar la TFG estimada (TFGe) son parte de la atención clínica de rutina y sustituyen a la TFG medida en los estudios de investigación. Las ecuaciones para obtener la TFGe dependen del marcador sérico como las concentraciones de cistatina C (Cis-C), creatinina sérica (sCre), nitrógeno ureico en sangre (BUN) u de otros factores como la estatura (Ng et al., 2017).

- Proteinuria como medida de lesión renal.
- Microalbuminuria
- Excreción de moléculas como: sodio, potasio, cloruro, calcio, fosfato, magnesio, glucosa, etc.

1.1.3 Biomarcadores de daño renal temprano

La evaluación de la función renal se realiza comúnmente utilizando la sCre para la TFGe, el BUN y el EGO. Sin embargo, estos marcadores son subóptimos para detectar la LRA y las enfermedades renales tempranamente, debido a que los niveles no reflejan la TFG debido a una serie de influencias renales (en la estimación con marcadores como sCre) y no renales (factores sociodemográficos). Por lo que, la relación temporal entre los cambios en sCre y la TFG dificulta la capacidad de estimar con precisión el momento y gravedad después de la lesión (Ferguson et al., 2008; Avner et al., 2016).

El monitoreo de la función renal en la ERC requiere biomarcadores que proporcionen mediciones rápidas y fiables, no invasivas, sensibles y específicas que se correlacionen con la patología del tejido renal, para ello, durante las últimas décadas se ha buscado determinar en proteínas urinarias y séricas, biomarcadores de daño renal, como la lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL), la molécula de lesión renal-1 (KIM-1) y la Cis-C (Wasung, et al., 2015). Estos biomarcadores se identificaron originalmente como marcadores de la LRA pero también se han asociado tanto con el inicio y la progresión de la ERC (Park et al., 2017). NGAL (en inglés

neutrophil gelatinase-associated lipocalin) es una proteína de 25 kDa, se sintetiza durante la maduración de los granulocitos en la médula ósea, también puede inducirse en células epiteliales en procesos inflamatorios, infecciosos y cáncer (Ferguson et al., 2008; Mussap et al., 2014). El biomarcador NGAL es un predictor independiente de la progresión de la ERC en paciente con enfermedad moderada (Bostan et al., 2018), NGAL se libera de las células tubulares lesionadas en la etapa temprana de la LRA. Además, en el sistema inmune innato ejerce un efecto bacteriostático en las Gram (-) en pacientes con infecciones en el tracto urinario (ITU) a través de la quelación de hierro (Forster et al., 2017).

El biomarcador Cis-C es un inhibidor extracelular de las proteasas de cisteína de 13KDa surge en todas las células nucleadas y no se une a proteínas plasmáticas. Es filtrada por el glomérulo y reabsorbida en el túbulo proximal por el receptor endocítico megalina (Kaseda, 2007). En sujetos sanos, el túbulo proximal no secreta Cis-C en la orina por lo que niveles elevados en orina reflejan disfunción tubular (Ferguson et al., 2008).

KIM-1 es una proteína de membrana de tipo 1, se expresa en niveles insignificantes en el tejido renal normal, pero se induce masivamente en células epiteliales del túbulo proximal desdiferenciadas en enfermedades renales proteinúricas, tóxicas e isquémicas, su presencia en la orina es altamente específica para la lesión renal, se ha demostrado que es mucho más sensible que BUN y sCre como marcador de lesiones renales (Bonventre, 2009). Estudios realizados por Zhao y cols. en el 2011, sugieren que la detección de la expresión de KIM-1 también podría ser una herramienta útil para identificar la lesión glomerular. En otro estudio realizado por De Silva y cols. en el 2016 realizaron un estudio de tipo transversal donde observaron que en agricultores aparentemente sanos a pesar de los niveles normales de albúmina/creatinina (<30 mg/g), sCre y TFGe normales mostraron concentraciones elevadas de KIM-1 y NGAL comparado con grupos control o de una región no endémica.

Entonces, los biomarcadores de daño renal NGAL, Cis-C y KIM-1 son útiles para la detección inicial y la progresión de la LRA y la ERC, para la evaluación de la función

renal se estima la TFGe mediante fórmulas, donde sCre y Cis-C sérica son los marcadores de diagnóstico más utilizados en la rutina clínica.

Dentro de los factores de riesgo para ERC se encuentran aquellos que no son tradicionales, como la exposición a nefrotóxicos ambientales como los metales pesados y otros elementos tal es el caso de los elementos potencialmente tóxicos.

1.2 Elementos potencialmente tóxicos (EPT)

1.2.1. Definición de EPT

El término de EPT incluye a todos aquellos elementos (metales pesados, metaloides u oligoelementos) que debido a sus características fisicoquímicas y/o cantidades tienen capacidad de ser tóxicos a los seres vivos (Bautista-Zúñiga, 1999). Esta definición es interdisciplinaria ya que puede ser aplicada en geología, geoquímica humana, nutrición, agricultura, geomedicina, toxicología, entre otras. La OMS, clasifica como EPT a los elementos traza que pueden tener alguna función esencial, pero que a niveles altos hacen manifiesta la toxicidad dentro de los cuales se encuentran: el manganeso (Mg), cobre (Cu), hierro (Fe), etc. (WHO,1996).

Los EPT se distribuyen ampliamente en el agua, los sedimentos, rocas, suelo, en material particulado y en el polvo urbano. Los EPT son omnipresentes y suelen encontrarse en concentraciones elevadas en algunas zonas debido a una variedad de actividades antropogénicas relacionadas con la industrialización y urbanización (Claus et al., 2014; Zhao et al., 2016); y en el suelo a partir de las fuentes naturales como los incendios forestales, subsuelos o la actividad volcánica (Cachada et al., 2013). La distribución de los EPT está influenciada por la naturaleza de los elementos originales (metales/metaloides), el clima y su movilidad relativa dependiendo de los parámetros del suelo, el pH, etc (Al-Khashman, 2004), lo anterior en lo que respecta a contaminantes ambientales. Existe una exposición aparente a largo plazo de elementos tóxicos y esenciales que se producen naturalmente en las fuentes de agua y alimentos (Godebo et al., 2019). Además, otra fuente de exposición a metales es la incorporación de estos como aditivos en los productos de cuidado personal que les confieren propiedades deseadas a los productos (Personal Care Product Council, 2017).

Los efectos tóxicos de la exposición a los EPT en humanos pueden ocurrir con síntomas agudos, subagudos, subcrónicos y crónicos confiriendo efectos o daños a la salud como cáncer de pulmón, lesiones proliferativas, fracturas óseas, fallo renal (ERC o LRA) e hipertensión (Bini & Bech ,2014). Sin embargo, la toxicidad de los EPT depende de varios factores como la dosis, las vías de exposición, las especies químicas del elemento, y otros factores relacionados con la población como la edad, el sexo, la carga genética y el estado nutricional de las personas expuestas. Los mecanismos de toxicidad de los EPT están relacionados con la interacción con componentes celulares, algunas enzimas involucradas en el metabolismo, y en la reparación de daño. También, se ha encontrado que los iones metálicos interactúan con proteínas nucleares y el ADN produciendo cambios conformacionales que pueden conducir en la modulación del ciclo celular, carcinogénesis y apoptosis. Otro de los mecanismos es la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y estrés oxidante. Sin embargo, se sabe que cada metal/ metaloide tiene características únicas y propiedades fisicoquímicas que confieren a sus mecanismos toxicológicos específicos (Tchounwou et al., 2012).

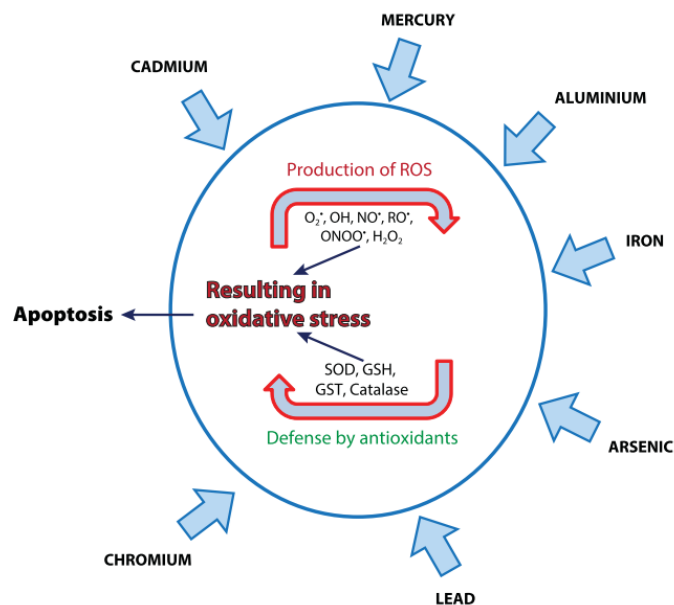


Figura 1. Mecanismos de toxicidad de los EPT en la célula. Fuente: Tchounwou,2012

Los EPT pueden transferirse fácilmente al cuerpo humano a través de la ingestión de polvo o agua, contacto dérmico e inhalado especialmente para los niños que se ven expuestos más fácilmente a EPT en el polvo urbano que los adultos debido a sus

actividades frecuentes de mano a boca durante el juego (Zhao et al., 2016). Los EPT son una preocupación particular para la salud de los niños, debido a la relativamente probabilidad alta de exposición y la capacidad de los metales para causar individualmente efectos adversos en el desarrollo, neurológicos entre otros (Claus et al., 2014).

En los últimos años diversos estudios han resaltado la problemática de exposición a EPT en la zona centro-norte de la República Mexicana principalmente en regiones mineras como en los estados de San Luis Potosí, Guanajuato, Sonora, y otros estados donde la problemática de exposición se centra en el agua de uso y consumo humano extraídas de aguas subterráneas como Chihuahua, Zacatecas, Durango, San Luis Potosí, Jalisco, Coahuila, Baja California Sur e Hidalgo (Ortiz-Pérez, 2019). Sin embargo, la problemática se extiende a las grandes ciudades urbanas como Mérida, Yucatán, (Arcega-Cabrera et al., 2018) y las metrópolis como la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) donde los problemas de contaminación del aire ocurren a partir de los años ochenta (Camacho-García & Flamand, 2008).

1.2.2 La ZMVM y los EPT

La ZMVM es la tercera metrópolis de mayor tamaño según la OCDE es el centro económico, financiero, político y cultural de México. Abarca 7,866 km², comprende las alcaldías de la Ciudad de México (CDMX), 59 municipios del Estado de México (Edo. Méx.) y un municipio del estado de Hidalgo (INEGI, 2017).



Figura 2. Municipios y alcaldías que conforman la ZMVM. Fuente Salinas-Arreortua, 2017

En el Valle de México se encuentran muchas regiones con declive demográfico o empobrecidos y respecto a la calidad de aire es una de las zonas en las que, con mayor frecuencia, se reportan altas concentraciones de material particulado, metales pesados, compuestos orgánicos, microbiológicos, etc., rebasando los límites superiores de la normatividad (OCDE, 2015; INECC & SEMARNAT, 2017; INEGI, 2017). Dentro de los componentes químicos principales en el material particulado (PM₁₀) se encuentran varios elementos con características metálicas que son potencialmente tóxicas (Chirino et al., 2015). Durante el 2016 se emitieron más de 58 mil kilogramos (Kg) de metales como se muestra en la figura 3, entre los más abundantes el bario (Ba) que se da por la combustión de gas natural en los sectores comercial y residencial; el fósforo que proviene de la resuspensión de polvos en las vialidades y en materiales de construcción; el plomo (Pb) se genera en su mayoría por la elaboración de piezas metálicas en el sector industrial. En cuanto al Edo. Méx. y Tizayuca se estima que se emiten 95 y 5 toneladas al año respectivamente (SEDEMA, 2016).

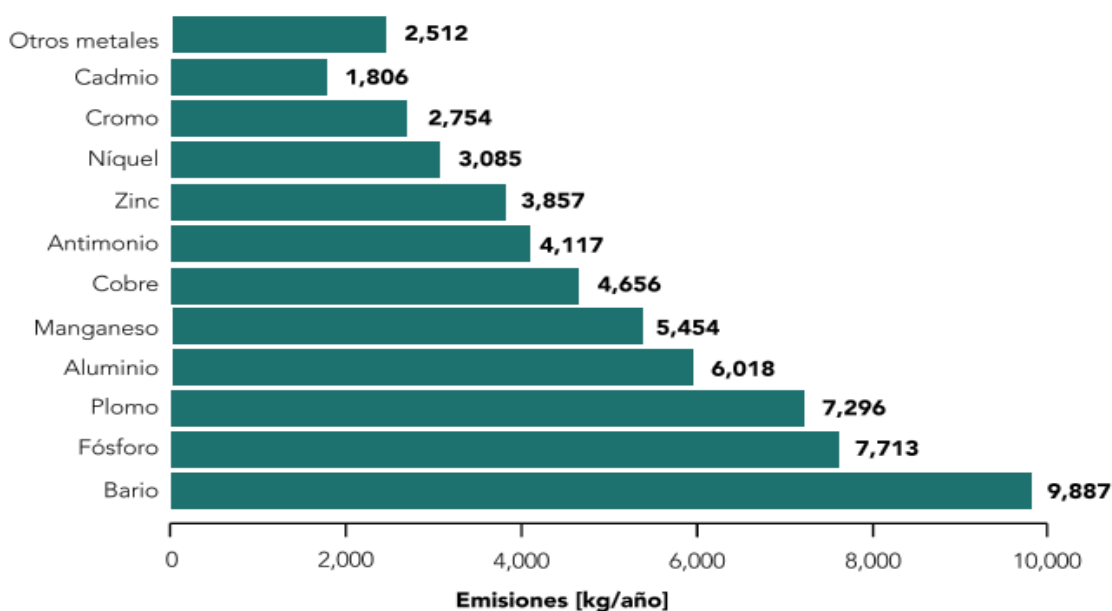


Figura 3. Emisión de metales en la CDMX, 2016

Respecto al suelo superficial en la ZMVM, estudios como el de Morton-Bermea y cols. en el 2009, que evaluaron la acumulación de metales en el suelo de la CDMX, identificaron: cromo (Cr), cobre (Cu), níquel (Ni), plomo (Pb), vanadio (V) y zinc (Zn) concluyendo que las emisiones de los vehículos pueden ser la principal fuente de

contaminación urbana de Pb. Además, otras fábricas, pequeñas o grandes, son posibles fuentes de contaminación del suelo (Cr, Cu y Zn) como los desechos de la empresa Cromatos de México, Edo. Méx. (Morton-Bermea et al., 2010).

Otra fuente de exposición de EPT a la población de la ZMVM es el agua para uso y consumo humano, y en el 2016 la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) en los reportes anuales, menciona que la calidad del agua es aceptable en más del 80% de las alcaldías siendo que en algunas alcaldías superan los límites de los parámetros conforme a la NOM-127-SSA-2000. Sin embargo, un estudio reciente presenta las áreas de la CDMX con mayor vulnerabilidad en relación con la calidad del agua: Iztapalapa, Tláhuac, Xochimilco y Coyoacán (Macías-García & Mazari-Hiriart, 2018).

En un estudio de cohorte realizado en la CDMX se determinaron metales en orina entre madres y niños de 8 a 14 años, los elementos cuantificados fueron: arsénico total (AsT), Ba, cadmio (Cd), cobalto (Co), Pb, Mn, molibdeno (Mo), Ni y Zn. El objetivo de este estudio fue asociar las concentraciones urinarias de los metales, que reflejan exposiciones recientes, con productos de cuidado personal al cual están expuestos frecuentemente. No se encontraron correlaciones importantes entre las concentraciones de los metales maternos e infantiles y el uso de productos de cuidado personal. Lo cual sugiere que pueden existir otras fuentes de exposición para la evaluación del riesgo con la salud infantil de este grupo (Lewis et al., 2018).

1.3 La exposición a EPT y la función/ daño renal

En un estudio de cohorte realizado por el grupo de Hawkesworth en el 2012, se evaluó el impacto de la exposición a As, ingerido en agua potable; y a Cd, en arroz como fuente de alimento, sobre la presión arterial en mujeres embarazadas y la función renal en niños en una región de Bangladesh. Los autores demostraron, en un análisis ajustado por creatinina, una asociación inversa entre la exposición crónica a As urinario (uAs) y la TFG en los niños y asociación positiva con la presión sistólica de las mujeres embarazadas. No encontraron asociación con el Cd urinario (uCd) y la presión arterial al inicio del embarazo.

Existen estudios en México que demuestran la relación entre algunos EPT y los biomarcadores de daño renal, tal es el caso de un estudio realizado por Jiménez-Córdova et al., 2018 donde se evaluó la concentración urinaria de biomarcadores de

daño renal en una exposición adulta expuesta a F en agua potable y el efecto de la co-exposición a niveles bajos de As y se encontró una relación positiva entre los niveles urinarios de F y los biomarcadores albúmina, Cis-C, KIM-1 y osteopontina. Otro estudio realizado por el mismo equipo en 2019 pero con población infantil, relacionó la concentración de F urinario con algunos biomarcadores de daño vascular y renal en 374 niños escolares. Mediante modelos de regresión lineal múltiple, los autores encontraron una asociación positiva con la TFGe, y una asociación negativa con Cis-C urinaria, el biomarcador KIM-1 con asociación positiva pero no significativa, por lo que concluyen que no fue relacionada la exposición de F en los niños de estudio, con la lesión renal.

Uno de los estudios recientes en niños mexicanos (entre 5-12 años) se realizó en el estado de San Luis Potosí, donde se asociaron las concentraciones de biomarcadores con la exposición a As, Cd, Cr, F y Pb en muestras de orina. El resultado de este estudio identificó que la exposición mayor de As y Cr se encontró relacionado a la concentración de KIM-1 (Cárdenas-González et al., 2016).

1.4 Justificación

La ERC es un problema de salud pública que afecta al 10% de la población a nivel mundial. Su prevalencia en América Latina es del 12%, siendo en México la quinta causa de muerte en niños de 5-14 años.

Los EPT se encuentran distribuidos en la ZMVM en diversas fuentes principalmente en el aire, polvo superficial o de la calle, en el agua y algunos alimentos. Donde la población infantil se encuentra expuesta y conforme a los antecedentes se encuentran identificados en la orina de población pediátrica. Sin embargo, se desconoce la relación de los EPT con la función y el daño renal en esta población.

Por ello, es importante determinar si la exposición a EPT tiene relación con los niveles de biomarcadores de daño renal en muestras de orina de niños que viven en la ZMVM. Además, este estudio podría contribuir a un diagnóstico temprano y una atención oportuna de ERC, y otras enfermedades crónicas relacionadas con la exposición a EPT.

1.5 Hipótesis

Las concentraciones urinarias de biomarcadores de daño renal (KIM-1, NGAL y Cistatina C) se relacionarán con las concentraciones urinarias de algunos elementos potencialmente tóxicos en un grupo de niños y adolescentes residentes de la ZMVM.

1.6 Objetivos

1.6.1 Objetivo General

Evaluar la relación entre las concentraciones urinarias de los EPT y los biomarcadores de daño renal en niños y adolescentes residentes de la ZMVM.

1.6.2 Objetivos particulares

1. Determinar en orina:

- Concentraciones de EPT mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS).
- Concentraciones de fluoruro por el método de ión selectivo.
- Concentraciones de KIM-1, NGAL y Cistatina C por análisis multianálisis con microesferas Luminex.

2. Determinar la TFGe calculada mediante creatinina sérica.

3. Establecer la relación entre las concentraciones urinarias de EPT, la TFGe y los biomarcadores de daño renal.

2 Métodos

2.1 Diseño del Estudio

2.1.1 Características generales del estudio base

Durante el estudio base, se obtuvieron muestras de 649 participantes pediátricos a partir de un muestreo que fue realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) por el equipo de la Unidad de Investigación y Diagnóstico en Nefrología y Metabolismo Óseo, dirigido por la Dra. Mara Medeiros. El muestreo fue realizado desde junio del 2017 hasta noviembre del 2018. El objetivo principal de este estudio fue determinar los valores de referencia de la presión arterial de 24 horas

mediante la monitorización ambulatoria en niños y adolescentes mexicanos de 5 a 20 años. El estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación y Ética del Hospital Infantil de México y tiene consentimiento informado por parte de todos los tutores de los participantes y asentimiento informado por parte de los participantes.

2.1.1.1 Criterios de inclusión y exclusión para el estudio del proyecto

Del estudio antes mencionado se incluyeron a todos los participantes cuya edad que al momento de la evaluación tenían entre los 7 a 15 años, que se encontraran cursando primaria y secundaria, residentes en la ZMVM, aparentemente sanos. Los criterios de exclusión para este estudio fueron: niños y adolescentes que se encontraran diagnosticados con ERC, infecciones urinarias, o alguna otra nefropatía, diabetes, hipertensión o cáncer, que se encontraran en tratamiento con algún medicamento como antibióticos, AINES o antineoplásicos. Además, se excluyeron a aquellos participantes de los cuales las muestras de orina o suero fuera insuficiente para el análisis.

El muestreo fue por conveniencia en el cual el número de participantes cumpliendo con estos criterios fue de 215 niños y adolescentes.

2.1.1.2 Cuestionario

Se realizó una entrevista con los padres o tutores y con los niños y/o adolescentes, basada en un cuestionario que constó de apartados que incluían los datos personales del participante y de sus padres, datos sociodemográficos, factores de exposición y hábitos alimenticios.

2.1.1.3 Información clínica

Se realizaron evaluaciones físicas a los participantes con la finalidad de obtener algunos datos antropométricos como: estatura, peso, índice de masa corporal (IMC), etc. Además de que se evaluó la presión arterial y el EGO. Todas las evaluaciones se realizaron por personal capacitado del HIMFG.

2.1.1.4 Obtención y almacenamiento de las muestras

Las muestras de orina se recolectaron en recipientes estériles, las muestras fueron separadas en alícuotas de 1.2 mL y fueron transportadas en hielo a 4°C para posteriormente ser conservadas a -70°C en la Unidad de Investigación y Diagnóstico en Nefrología del HIMFG y posteriormente en el Departamento de Toxicología del CINVESTAV-Zacatenco, bajo las mismas condiciones.

2.2 Cuantificación de fluoruro en orina

La cuantificación fluoruro en orina, se realizó con el método del ión-selectivo a fluoruro.

2.2.1 Principio

El método de ión-selectivo es una técnica potenciométrica que se basa en medir potenciales eléctricos de disoluciones para posteriormente relacionar la señal (mV) con la concentración del analito por interpolación en un gráfico de calibración. La selectividad de este método está en su capacidad para responder sólo al ión-analito objetivo en presencia de otros iones. Para ello el electrodo selectivo a F contiene una membrana de LaF_3 (fluoruro de lantano) monocristalina dopada con EuF_2 (fluoruro de europio). Esta membrana es permeable a los iones de F, los cuales generan una diferencia del potencial al estar en contacto con dos disoluciones de concentración diferente de F. A pesar de la excelente selectividad del electrodo de F, algunos iones como Al^{3+} , Fe^{3+} , Be^{2+} , puede causar algunos errores de manera indirecta al formar complejos con el F en solución para ello se utiliza una solución amortiguadora de ajuste, TISAB II (Total Ionic Strength Buffer), para favorecer la presencia del ión F como especie predominante a pH de 5, y además contiene ácido acético, cloruro de sodio, ácido 1,2-ciclohexanodiaminotetraacético y agua, que permite mantener la fuerza iónica constante, donde los iones Al^{3+} y Fe^{3+} presentes en la muestra se encuentren fuertemente complejados por los aniones 1,2-ciclohexanodiaminatetraacetato de manera que pueda ser determinado el F libre (Harris, 2010; Mikhelson et al., 2013).

2.2.2 Procedimiento

Las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente, y homogenizadas por 5 min previamente. En tubos de polietileno se mezclan con 250 μ L TISAB II y 250 μ L de orina, en cada muestra se sumerge el electrodo selectivo a F (Orion 9609BNWP, Thermo Fischer Scientific Inc., USA) durante 3 min, registrando el potencial eléctrico. La concentración de F en la muestra se determinó por interpolación del potencial en una gráfica de calibración.

Como control de calidad se utilizó material de referencia de orina con concentración conocida de F (PC-U-F1510) obtenida del Instituto Nacional de Salud Pública de Quebec (INSPQ). Evaluando exactitud de 104.9% y la precisión de las muestras se obtuvo un coeficiente de variación (CV) de 1.43%.

2.3 Determinación de multielementos por ICP-MS

La capacidad analítica para determinar multielementos por ICP-MS (Espectrometría de Masas con Plasma Acoplado Inductivamente) permite obtener el perfil de los EPT en las muestras de orina. ICP-MS es una técnica analítica multielemento usando la espectrometría de masas de los iones generados en un plasma acoplado inductivamente que se puede medir desde ng/L a mg/L.

2.3.1 Principio

El fundamento de la técnica ICP-MS consiste en la separación y posterior determinación de los iones presentes en una muestra en función de su masa atómica. La muestra se nebuliza primero y posteriormente es sometida a alta temperatura mediante un plasma que tiene un perfil de temperatura de 5,700°C a 9,700°C. Con ello se consigue romper los enlaces químicos de los átomos presentes en la muestra y ionizarlos. Estos iones son sometidos a campos electromagnéticos que provocan la separación de estos en función de la relación masa/carga. Así, los distintos iones llegan al detector separados para ser cuantificados.

2.3.2 Procedimiento

La preparación de la muestra se realiza por dilución 1:10 en ácido nítrico al 0.017% y para la cuantificación se establece una gráfica de calibración que consta de un stock a 100 ng/L conformado por 4 estándares y 8 diluciones seriadas de 1:10 preparadas en ácido nítrico diluido al 0.016%. Como control de calidad para la verificación del sistema se introduce una solución *setup* donde se demuestra que cumpla con las condiciones del fabricante y, además se utiliza un patrón de referencia de concentraciones certificadas de los multielementos a evaluar en orina obtenidas del INSPQ (QM-U-Q1806, QM-U-Q1805, QM-U-Q1804, QM-U-Q1813, QM-U-Q1814, QM-U-Q1815). Las muestras diluidas se colocan en tubos de propileno de 15 ml para iniciar la determinación en el ICP-MS NeXion 300D bajo el procedimiento de código LISTO-MET-PRO-TEC-016 del Laboratorio de Investigación y Servicios en Toxicología (LISTO) que se encuentra acreditado por la Entidad Mexicana de Acreditación, A.C. (INV-0007-013/19).

2.4 Determinación de biomarcadores de daño renal

Para la determinación multianalitos de biomarcadores de daño renal en orina se utilizó el sistema de microesferas de tecnología Luminex® con el kit de base biomarcadores de riñón humano de *R&D systems*, este sistema permite detectar y cuantificar simultáneamente múltiples biomarcadores en muestras complejas.

2.4.1 Principio

El sistema Luminex® se basa en la combinación de un inmunoensayo (ELISA) y la detección por un sistema de imagen CCD (charge-coupled device). Para el inmunoensayo se añaden microesferas codificadas por fluorocromos que previamente fueron recubiertas con anticuerpos específicos del biomarcador de interés. Una vez que el analito de interés es capturado por las microesferas, se emplea un segundo anticuerpo específico biotinilado y Streptavidina-PE (SE-PE, una molécula reportera) formando un sándwich antígeno-anticuerpo. Las microesferas son detectadas en un instrumento basado en el flujo de doble láser como MAGPIX® de Luminex donde un magneto captura las microesferas en una monocapa y dos diodos emiten espectros

diferentes, uno para excitar al colorante interno de las microesferas, y otro, que excita a la molécula reportera. El equipo toma la imagen con el sistema CDD y el resultado del bioensayo se basa en la identificación de la fluorescencia emitida por cada microesfera, así como la cuantificación de la fluorescencia emitida por la molécula reportera.

2.4.2 Procedimiento

Previamente se descongelaron las muestras de orina y se centrifugaron a 3,000 rpm por 10 min a 4°C. Se realizó una dilución 1:3 de la muestra de orina con una solución calibradora diluida y en algunas muestras sin diluir. Para la preparación de las microesferas, se centrifugó el vial de coctel de microesferas por 30 segundos a 100xg (3,000 rpm), se diluyó el coctel de microesferas usando una solución denominada como diluyente de microesferas. Las concentraciones para el gráfico de calibración se prepararon por duplicado a partir de una solución stock y con diluciones seriadas del estándar de cada biomarcador. Se colocaron 100 µL de la dilución de microesferas a cada pozo de la placa, estándares y muestras diluidas en los pozos correspondientes y se incubaron por 3 horas a temperatura ambiente en un micro-agitador. Posteriormente, se lavó 3 veces la placa con búfer de lavado utilizando un magneto como fijador de la placa, se adicionó 50 µL de anticuerpo biotinilado en cada pozo, cubriendo con un sellador se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación constante. Se lavó nuevamente la placa, adicionando 50 µL de SE-PE, antes de sellar e incubar por 30 min. Se realizaron lavados con búfer de ensayo. Finalmente, se llevó la placa al MAGPIX® (Luminex Corporation, US) para la cuantificación de cada biomarcador en la muestra de orina a partir de la intensidad media de fluorescencia emitida por la molécula reportera utilizando un gráfico de calibración de cada biomarcador. El resumen de este procedimiento se encuentra reflejado en la figura 4.

2.5 Determinación de creatinina urinaria y sérica

Se determinó la concentración de creatinina urinaria en las muestras con la finalidad de ajustar las concentraciones de los EPT y los biomarcadores para la evaluación renal. Para ello se realizó por el método basado en la reacción de Jaffe tradicional. La sCre se determinó con la finalidad de calcular la TFGe con la ecuación de Schwartz.

2.5.1 Principio

La creatinina en solución alcalina reacciona con el ácido pícrico para formar un complejo coloreado naranja-rojizo, picrato de creatinina que se evalúa a 500 nm en un espectrofotómetro.

2.5.2 Procedimiento

Creatinina urinaria

Las muestras de orina previamente descongeladas se centrifugaron a 300 rpm a 4°C durante 10 minutos para eliminar las partículas interferentes y con el sobrenadante se realizaron diluciones 1:50 con agua desionizada. Se mezcló 50µL de la dilución con 450 µL de una mezcla de reactivo 1 (ácido pícrico) y 2 (hidróxido de sodio, NaOH) del kit en un tubo de polipropileno; posteriormente se obtuvo la absorbancia en el espectrofotómetro Microlab 300 ® (Merck, Alemania). Se llevó a cabo la cuantificación de la concentración en base a una gráfica de calibración.

Con fines comparativos y para normalizar la concentración de los EPT en la orina y los biomarcadores se utilizó la siguiente fórmula:

$$XuCre = \frac{Xi}{uCr}$$

XuCre: EPT o biomarcador urinario corregido por creatinina
Xi: EPT o biomarcador urinario
uCre: Creatinina urinaria expresada en g/L

Creatinina sérica

Las muestras de suero fueron descongeladas a temperatura ambiente. Se mezcló 50µL de muestra con 450µL de una mezcla de reactivo 1 (ácido pícrico) y 2 (hidróxido de sodio, NaOH) del kit en un tubo de polipropileno; posteriormente se obtuvo la absorbancia y concentración en base a una gráfica de calibración.

Para el control de calidad se evaluó con una solución control con concentración conocida de creatinina para evaluar la exactitud de la determinación y además se evaluó la concentración cada 15 lecturas para evaluar la precisión de la determinación. La exactitud obtenida fue de 95 - 105% y la precisión expresada como CV fue menor a 5% para ambas determinaciones.

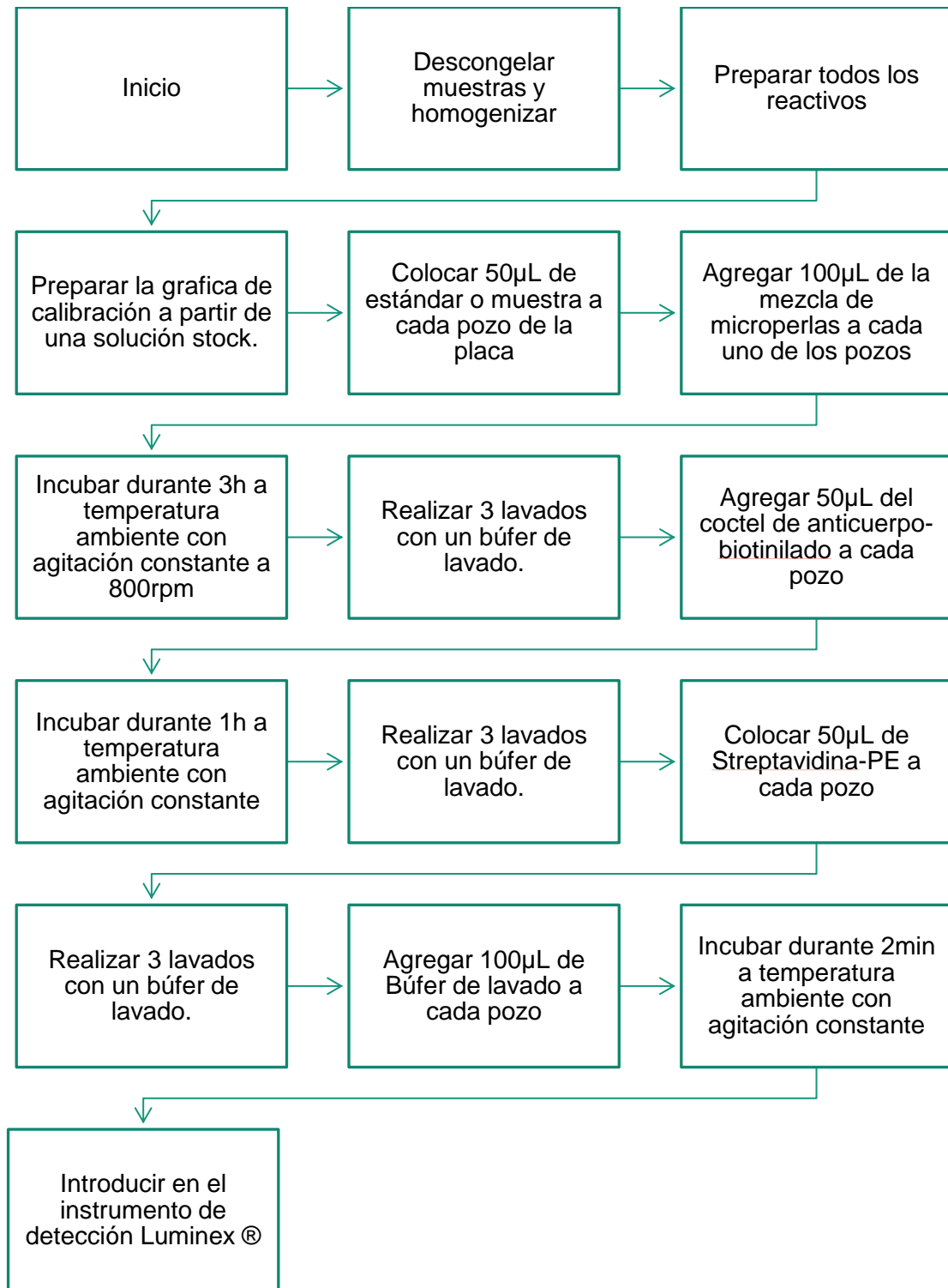


Figura 4. Diagrama para la determinación de los biomarcadores de daño renal

2.6 Cálculo de la TFGe

Ecuación de Schwartz Bedside

Esta ecuación está recomendada para la determinación de TFGe en niños de 1 a 16 años (Schwartz et al., 2009).

$$\text{TFGe} = 41.3 * \frac{\text{Estatura (m)}}{\text{Creatinina Sérica} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right)}$$

Donde: 41.3 es una constante de proporcionalidad

Esta ecuación se utiliza cuando las concentraciones de creatinina sérica se determinan a través del método de Jaffe. Entre los niños, adolescentes y jóvenes adultos, los valores de TFGe <75 mL/min*1.73m² se consideran anormales, y aquellos <60 mL/min*1.73m² reflejan la ERC (Phadke et al., 2014; Pottel et al., 2015).

2.7 Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos del cuestionario, las determinaciones de los biomarcadores (KIM-1, NGAL y Cis-C) y las concentraciones de los EPT se generó una base de datos para posterior evaluación de variables con base al análisis univariado, bivariado y multivariado, así como la aplicación de las pruebas de validez del método estadístico mismos que fueron evaluados con el paquete estadístico: STATA versión 14.0 (Stata Corp, College Station, Texas).

2.7.1 Análisis descriptivo o univariado

Se realizó una revisión preliminar de los datos y el análisis univariado que es una forma simple de análisis estadístico que involucra el análisis de solamente una variable al mismo tiempo, usado para corroborar la calidad de la captura, identificación de datos inconsistentes, el comportamiento de las variables utilizando gráficos tipo histograma, de bigote, etc. En el caso de las variables continuas se utilizó la media, mediana, percentiles, valores máximos y mínimos y las medidas de dispersión. Para las variables categóricas se incluyen las frecuencias y /o porcentajes.

2.7.2 Análisis exploratorio o bivariado

Es el análisis entre dos variables con el propósito de determinar si existe relación entre ellas. El análisis bivariado consta de diferentes pruebas para encontrar la relación entre dos variables y la elección de la prueba estadística depende de las características que debe cumplir la variable, la escala de su medición, su distribución y su papel (independiente y dependiente).

2.7.3 Análisis multivariado

El análisis multivariado comprende una serie de técnicas aplicadas al análisis de datos que estudia, representa e interpreta los datos que resultan de observar más de una variable estadística sobre una muestra de individuos. Además, permiten relacionar variables predictoras y la respuesta mediante modelos de regresión.

2.7.3.1 Regresión lineal

Las técnicas de regresión lineal son útiles con miras a la predicción, es decir, es una herramienta para el análisis estadístico entre las asociaciones de estimadores.

La regresión lineal simple: Puede emplearse para analizar la relación entre dos variables tanto continuas como categóricas, nos permite predecir o estimar el valor de una respuesta que corresponde a un valor dado de una variable explicativa.

La extensión del modelo de regresión lineal simple a una situación multivariada se basa en el modelo de regresión lineal múltiple. Estos modelos son empleados para los ajustes cuando la variable dependiente es continua, aunque también es considerada para variables explicativas que pueden ser continuas o politómicas, o una mezcla de ambas.

2.7.3.2 Análisis de regresión logística politómica

Cuando se busca estimar asociaciones, pero la variable respuesta es de tipo dicotómica, entre diferentes grupos de exposición, y /o para evaluar el efecto de cualquier variable numérica se recurre al método de regresión logística. La extensión del modelo de regresión logística se le denomina regresión logística multivariable.

En el modelo de regresión logística, en el caso de un resultado nominal con más de dos categorías se le denomina *regresión logística multinomial* o *regresión logística*

politómica. Las variables independientes pueden ser tanto continuas como categóricas. Este modelo se utiliza para modelar resultados nominales u ordinales en las cuales las probabilidades de registro de los resultados se modelan como una combinación lineal de las variables predictoras.

2.7.3.3 Análisis de componentes principales (ACP)

El objetivo principal del análisis del análisis de componentes principales (ACP) es reducir la dimensión de las observaciones. La forma más simple de reducir la dimensión es tomar solo un elemento del vector observado y descartar todos los demás (Härdle & Simar et al.,2012). Para conocer las posibles fuentes de emisión de los EPT se realizó el análisis de componentes principales.

Tabla 1. Características generales de la población infantil residente en la ZMVM

a) Características sociodemográficas		n	%
Sexo		215	
Masculino		97	45.1
Femenino		118	54.9
Residencia		215	
CDMX		138	64.8
Edo. México y Tizayuca		75	35.2
Edad n, mediana [RIQ]		215	12 [9-14]
Niños		74	34.4
Adolescentes		141	65.6
b) Valores antropométricos y clínicos		n	%
IMC n, mediana [RIQ]		213	19.4 [16.6-22.6]
Delgados		5	2.3
Normal		132	62.3
Sobrepeso		54	25.5
Obesidad		21	9.9
Tensión arterial		215	
Normal		211	98.14
Elevada		4	1.9
z-score-estatura n, mediana [RIQ]		212	-0.31 [-0.96-0.42]
Retardo en crecimiento		8	3.77
Normal		204	96.23
c) Examen General de Orina		n	%
pH (mediana [RIQ])		5	5-6
Densidad mediana [RIQ]		1.023	1.018-1.026
Presencia de Proteínas		36	16
trazas		27	11.8
Proteinuria leve (1+)		6	2.8
Proteinuria moderada (2 +)		3	1.4
Presencia de Eritrocitos		20	9.3
Presencia de Leucocitos		80	37.4

RIQ: Rango intercuartil [25%-75%], IMC: índice de masa corporal

En los resultados del EGO en la orina se registra que el 4.2% presentó proteinuria (leve a moderada); en el 9.35% hay presencia de eritrocitos en la orina considerando el mayor porcentaje en niñas y el 10% en niños y el 37.4% con presencia de leucocitos. Sin embargo, los valores de pH y densidad se encuentran dentro del rango normal,

esto indica que el pH más bajo con una dieta alta en proteínas y la densidad se observa la ingestión de líquidos o deshidratación (Phadke et al.,2014; Avner et al., 2016).

También se consideraron otras características como: la exposición ambiental, los antecedentes familiares de enfermedades relacionadas con ERC, el tipo de consumo de agua, el tabaquismo en los padres, esta información se encuentra en las tablas de anexos ANX 1-3.

3.2 Biomonitorio de EPT en orina de los participantes residentes de la ZMVM

3.2.1 Concentraciones urinarias de EPT

Se cuantificaron 32 elementos mediante el método de ICP-MS, encontrando 25 elementos por arriba del límite de detección (LD) y los otros siete considerados, se encontraron por debajo del LD: berilio (Be), plata (Ag), torio (Th), uranio (U), platino (Pt), mercurio (Hg), y talio (Tl). Además, los elementos titanio Ti, V y Cr no satisficieron los controles de calidad, debido a que se requiere otro tipo de tratamiento en las muestras para su determinación. La tabla 2 resume los elementos que se encontraron por arriba del 25% del LD, fueron F, Li, Boro (B), Mo, Yodo (I), Cesio (Cs), Zn, selenio (Se), Al, arsénico total (AsT), Cu, Ba, Pb, Ni, estaño (Sn), Co y Mn. Cabe mencionar que elementos como: antimonio, bismuto, cadmio, wolframio y telurio se encontraron solamente en pocas muestras de orina (menor al 1.5%).

Existen procedimientos matemáticos para poder generar un valor a los datos que se encuentran por debajo del LD que evidentemente no es cero, es un valor desconocido entre cero y el LD y se le denomina valor imputado (US EPA,2006). Se aplicaron los métodos propuestos por la EPA para poder imputar las concentraciones menores al LD. Sin embargo, sólo se pudo imputar para aluminio, AsT, plomo y cobalto debido a la varianza de los datos del resto de los elementos. Con los datos ya establecidos, se comparó con los valores de referencia (VR) en población pediátrica obtenidos de los Institutos de Salud Pública de Canadá, EUA, Alemania e Italia; equivalente de biomonitorio (BE), y el índice biológico de exposición (BEI) y se encuentra reflejado en la tabla 3 y la figura 6.

Tabla 2. Concentraciones urinarias de EPT en los niños y adolescentes residentes de la ZMVM

Elemento	%> LD	n	Media (DE)	Mediana	RIQ
Fluoruro*	100	215	0.80 (0.41)	0.69	0.5-1.0
Litio	100	215	124.99 (99.94)	96.55	66.32- 149.15
Boro	100	215	1,753.22 (1,223.13)	1,390.0	958.29- 2,062.53
Molibdeno	100.00	215	65.57(48.47)	53.46	34.17-76.95
Yodo	100.00	215	400.08(597.39)	308.75	219.33-467.73
Cesio	100.00	215	9.00(3.60)	8.49	6.72-10.67
Zinc	99.54	213	496.58(315.51)	425.82	275.28-604.31
Selenio	99.08	214	87.08(41.87)	79.89	63.31-103.61
Aluminio	96.8	208	23.17(15.42)	22.349	11.19- 29.01
Arsénico total	93.12	203	22.19(17.13)	19.09	11.73-28.11
Cobre	80.73	176	17.65(42.57)	12.46	8.18-17.43
Bario	76.15	166	3.75(8.34)	2.18	3.84-1.34
Plomo	72.94	159	4.94(3.28)	3.76	2.48-6.34
Níquel	69.72	152	6.58(7.16)	4.22	2.30-7.82
Estaño	56.42	123	5.34(5.38)	2.94	1.77-6.31
Cobalto	47.25	103	2.00(1.71)	1.56	0.79-2.34
Manganeso	25.23	55	5.94 (30.84)	1.087	0.83-1.56

%>LD porcentaje que se encuentra por arriba del límite de detección; DE desviación estándar; RIQ rango intercuartil [25%-75%].

Las concentraciones están expresadas en µg/L con excepción del fluoruro * expresado en mg/L

Tabla 3. Comparación de los valores de referencia, BE y BEI de los EPT en orina de la población pediátrica residente de ZMVM

Elemento	Valor de referencia (VR)	Referencia	Mediana	RIQ
Boro	1,380 µg/L	BE	1,389.8	958.2-2,062.5
Plomo	1.3 µg/L	VR ₁	3.04	0.084-5.34
Aluminio	15 µg/L	VR ₂	22.04	9.5- 28.6
Litio	73µg/g de creatinina	VR ₃	83.95	56.6- 119.7
Arsénico total	15 µg/L	BE	20.40	12.4-27.3
Selenio	90 µg/L	BE	79.32	63.2-103.8
Yodo	470 µg/g de creatinina	BE	261.53	218.1-471.8
Cesio	12 µg/L	VR ₁	8.44	6.7-10.7
Zinc	564 µg/g de creatinina	BE	353.80	250.4 - 497.0
Fluoruro	1.2 mg/L	BE	0.69	0.5-1.0
Cobre	25 µg/L	VR ₁	12.45	8.2- 17.4
Molibdeno	200 µg/L	BE	52.12	34.16- 76.4
Bario	1,280 µg/g	BE	1.93	0.98-3.6
Cobalto	15 µg/L	BEI	1.65	1.6-2.3

VR₁ Canadian Health Measures Survey & National Health and Nutrition Examination Survey (CHMS & NHANES); VR₂ Human Biomonitoring Commission, German; VR₃ Instituto Salud Pública Roma, Italia; RIQ rango intercuartil [25%-75%].

Las medianas de las concentraciones urinarias de Pb, Cs, Ba, Co y Cu se encontraron por debajo de 15 µg/L, mientras que elementos como AsT, Al, Mo, Se y Li oscilaron entre 20 y 85 µg/L mientras que B y F tuvieron las concentraciones más altas 0.69 y 1.39mg/L, respectivamente. Para el caso de I y Zn expresados en µg/g de creatinina fue de 250 y 355, respectivamente. Cabe resaltar que EPT como el AsT, Pb, Al, Li y B fueron mayores en más del 50% de los participantes a la concentración de referencia, equivalente de biomonitoreo y/o Índice biológico de exposición (figura 6). En la figura se observan barras color azul reflejan el porcentaje de los participantes que sobrepasan el VR, de manera contraria, las barras rosas representan el porcentaje que se encuentra por dentro del VR, BE y/o BEI.

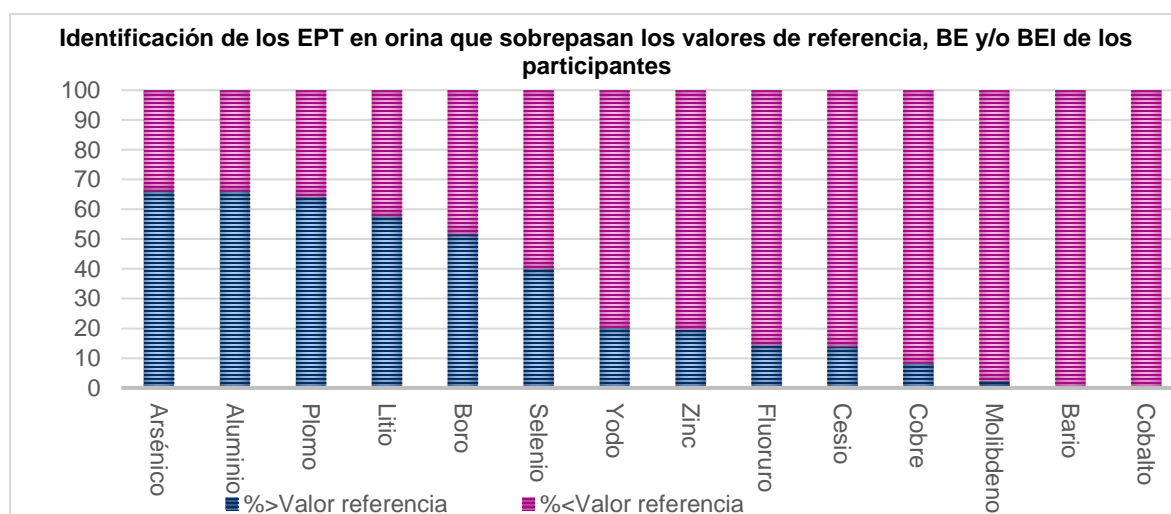


Figura 6. Porcentaje de muestras que sobrepasan los valores de referencia, BE y/o BEI en la población pediátrica de la ZMVM

3.2.2. Evaluación de posibles fuentes de exposición a EPT

Debido a que en este estudio no se recolectaron muestras de agua de consumo y de uso de los participantes, ni se cuenta con la información suficiente para poder relacionar los niveles de exposición de EPT en agua. Tampoco se tiene información de muestras de aire, polvo de la calle o suelo; las concentraciones urinarias determinadas reflejan la exposición reciente a todas las fuentes posibles. Se realizaron análisis exploratorios con las características antropométricas, y algunas variables que pudieran estar relacionadas con las fuentes de exposición a EPT que se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 4 Relación de las concentraciones urinarias de los EPT con las variables sociodemográficas y de exposición. Parte 1

Variables		n	Al, µg/L		Pb, µg/L		Li, µg/L		B, µg/L		I, µg/L	
			Mediana	p	Mediana	p	Mediana	p	Mediana	p	Mediana	p
Sexo	masculino	97	22.59	0.13	3.18	0.78	102.59	0.35	1447.35	0.68	308.25	0.79
	femenino	118	21.01		2.88		89.88		1358.57		309.47	
Edad	niños	74	23.42	0.24	2.47	0.26	104.15	0.76	1520.74	0.09	365.35	0.07
	adolescentes	140	21.75		3.18		90.43		1290.37		289.34	
Residencia	CDMX	138	22.02	0.80	2.21	<0.01	96.55	0.64	1596.77	0.01	317.11	0.56
	Edo. Méx. y Tizayuca	74	22.23		3.93		93.59		1251.69		297.66	
Uso de Insecticida	si	108	21.83	0.71	2.51	0.16	100.18	0.94	1498.11	0.25	299.83	0.58
	no	106	22.63		3.42		87.83		1296.75		313.16	
Cocinar en trastos de barro vidriado	si	46	21.94	0.81	3.76	<0.01	110.50	0.39	1475.62	0.65	314.73	0.35
	no	168	22.11		2.39		92.01		1356.97		306.62	
Vivir cerca de un río	si	22	23.92	0.14	3.46	0.24	132.71	0.08	1308.23	0.44	334.46	0.63
	no	192	21.83		2.88		88.40		1402.95		306.11	
Vivir cerca de una fábrica	si	20	26.57	0.03	4.61	0.03	131.13	0.21	1363.29	0.96	246.53	0.33
	no	193	21.78		2.87		92.01		1388.76		312.20	
Agua de beber	embotellada	191	21.88	0.05	2.97	0.98	99.71	0.52	1470.50	0.03	309.47	0.68
	llave	16	28.82		2.91		79.93		1054.50		312.53	
Z score de estatura	retraso crecimiento	8	22.00	0.93	3.72	0.22	102.29	0.80	935.61	0.07	339.82	0.80
	normal	204	22.13		2.87		93.62		1438.19		301.90	

La prueba estadística aplicada fue U de Mann Whitney

Tabla 5 Relación de las concentraciones urinarias de los EPT con las variables sociodemográficas y de exposición. Parte 2

Variables		Se, µg/L			Zn, µg/L		Mo. µg/L		Co, µg/L	
		n	Mediana	p	Mediana	p	Mediana	p	Mediana	p
Sexo	masculino	95	84.81	0.25	385.74	0.25	57.59	0.11	2.34	0.07
	femenino	118	76.61		436.50		50.10		2.34	
Edad	niños	72	88.43	0.03	386.17	0.31	54.20	0.49	2.34	0.17
	adolescentes	141	75.94		427.77		51.96		2.34	
Residencia	CDMX	136	85.41	0.56	418.34	0.67	54.30	0.25	2.34	0.40
	Edo. Méx. y Tizayuca	75	76.29		401.37		50.61		2.34	
Uso de Insecticida	si	107	79.31	0.89	425.82	0.63	54.50	0.47	2.34	0.22
	no	106	80.01		386.17		50.45		2.34	
Cocinar en trastos de barro vidriado	si	47	75.25	0.79	429.39	0.81	51.81	0.86	2.34	0.06
	no	166	83.55		406.99		53.46		2.34	
Vivir cerca de un río	si	22	84.05	0.54	513.70	0.17	52.50	0.88	2.34	0.79
	no	192	79.32		408.84		52.10		2.34	
Vivir cerca de una fábrica	si	19	91.47	0.71	379.28	0.63	43.50	0.10	2.34	0.98
	no	193	79.32		427.77		53.90		2.34	
Agua de beber	embotellada	191	80.85	0.27	427.77	0.04	54.29	0.04	2.34	0.99
	llave	16	70.83		258.24		38.362		2.34	
Z score de estatura	retraso crecimiento	8	70.63	0.19	315.62	0.31	50.32	0.82	2.34	0.67
	normal	202	80.85		410.85		52.10		2.34	

La prueba estadística aplicada fue U de Mann Whitney

Tabla 6 Correlación de Spearman entre las variables sociodemográficas y de consumo de agua, bebidas endulzadas y de carne con las concentraciones urinarias de EPT ($\mu\text{g/L}$) en la población de estudio.

Variables	F ^a	Li	B	Mo	I	Cs	Zn	Se	Al	Pb
Edad, años	-0.045	-0.018	0.184*	-0.074	-0.164*	-0.078	0.019	-0.101	-0.052	0.137*
Número de vasos de agua/ diarios	-0.055	0.031	0.010	0.062	-0.009	-0.131#	0.039	0.026	0.121#	0.076
Número de bebidas endulzadas /diario	0.156#	0.136	0.117	-0.022	0.081	0.031	0.123	0.097	0.077	-0.107
Número de veces que consume carne/semanal	-0.055	-0.087	0.036	0.135*	-0.072	-0.041	-0.053	0.090	0.134#	-0.227*
Estatura, m	-0.064	0.069	-0.078	0.008	-0.086	-0.055	0.091	-0.061	0.030	0.064
Z score de estatura	0.001	0.123#	0.172*	0.085	0.087	0.005	0.091	0.057	-0.019	-0.054
Peso Kg	-0.094	0.074	-0.084	-0.051	-0.061	-0.099	0.110	-0.035	-0.046	0.104
IMC Kg/m ²	-0.105	0.046	-0.044	-0.056	0.034	-0.095	0.104	0.002	-0.035	0.087
Percentil IMC	-0.061	0.070	0.091	0.017	0.144*	-0.041	0.131#	0.059	-0.008	0.0853
Z score de IMC	-0.086	0.080	0.075	-0.010	0.148*	-0.051	0.132#	0.089	-0.009	0.062
Tensión arterial sistólica, mmHg	-0.100	0.113	0.001	-0.034	-0.077	-0.011	0.055	0.020	0.030	0.060
Percentil de tensión arterial sistólica	-0.064	0.102	0.087	0.000	-0.029	0.054	-0.000	0.116#	0.084	0.013
Tensión arterial diastólica mmHg	-0.072	0.095	0.079	0.008	-0.018	0.041	0.006	0.112	0.083	0.012
Percentil de tensión arterial diastólica	-0.074	0.008	-0.009	-0.098	-0.013	0.028	-0.021	0.051	0.060	0.049

IMC: Índice de Masa Corporal; *p<0.05; # p<0.1, ^a concentración urinaria en mg/L

En las tablas 4 y 5 observamos diferencias significativas ($p < 0.05$) y marginalmente significativas ($p < 0.1$) en: la edad de la población, elementos como Se, I y B las concentraciones son mayores en los niños respecto a los adolescentes ($p < 0.05$), por el contrario, las concentraciones del Pb en los adolescentes ($p < 0.05$); realizando correlación de Spearman (tabla 6) con el z-score de la estatura el B y Li presentan una relación positiva ($p < 0.05$ y $p < 0.1$) y el percentil de la tensión arterial sistólica el Se tiene una relación positiva marginalmente significativa ($p < 0.1$). Con relación a las variables relacionadas a fuentes de exposición como el que utilicen trastos de barro vidriado para cocinar con los niveles de Pb ($p < 0.05$) y de Co ($p < 0.1$); el que vivan cerca de un río, que generalmente son canales de aguas negras con el Litio ($p < 0.1$), vivir cerca de una fábrica con Pb y Al ($p < 0.05$), también el tipo de agua de bebida ya sea embotellada o de la llave, tanto B, Zn y Mo las concentraciones son mayores en agua embotellada respecto a los que toman agua de la llave ($p < 0.05$) y el Al que en oposición es mayor en los que toman agua de la llave, el estado de residencia, el Pb se encuentra la mediana es mayor en el Edo. México comparado con la CDMX ($p < 0.05$) y el B que se encuentran en mayor concentración en la CDMX ($p < 0.05$); también se correlacionó con el número de vasos de agua que toman los participantes donde el Al presenta una relación positiva marginalmente ($p < 0.1$) y el Cs una relación negativa ($p < 0.01$), el F se correlacionó positivamente con el número de vasos de agua endulzada que ingieran los participantes. EPT como Ba, AsT y Cu no mostraron diferencias significativas al comparar las medianas y en la correlación de Spearman.

3.2.1 Correlación de Spearman y Análisis de Componentes Principales de las concentraciones urinarias de EPT

Para determinar la posible relación entre los EPT en orina, se realizó la correlación de Spearman mostrada en la tabla 7, los elementos que presentaron correlaciones positivas donde sobresalen las siguientes: Li-B, I-B, Cs-B, I-Cs; las correlaciones negativas fueron más débiles pero significativas como las de Pb-B, B-Co y I-Co.

Tabla 7. Correlaciones de Spearman entre las concentraciones urinarias de EPT ($\mu\text{g/L}$) cuantificadas en la población pediátrica de la ZMVM

	AsT	Al	Pb	Li	B	Se	I	Zn	F ^a	Cs	Cu	Mo	Ba
Al	0.00	1											
Pb	0.15	0.31*	1										
Li	0.26*	0.18*	0.22*	1									
B	0.12	0.13	-0.17*	0.58*	1								
Se	0.12	0.17*	0.01	0.36*	0.38*	1							
I	0.22*	0.02	-0.15	0.47*	0.56*	0.31*	1						
Zn	0.12	0.16	0.06	0.49*	0.49*	0.34*	0.40*	1					
F ^a	0.19*	0.01	0.11	0.48*	0.42*	0.12	0.33*	0.37*	1				
Cs	0.20*	0.04	0.01	0.49*	0.51*	0.43*	0.50*	0.40*	0.42*	1			
Cu	0.13	0.13	0.34*	0.41*	0.33*	0.23*	0.16	0.42*	0.22*	0.30*	1		
Mo	0.22*	0.21*	-0.01	0.41*	0.49*	0.31*	0.39*	0.43*	0.43*	0.39*	0.19*	1	
Ba	0.21*	0.35*	0.24*	0.27*	0.26*	0.24*	0.17*	0.32*	0.12	0.20*	0.28*	0.06	1
Co	0.09	0.14	0.27*	-0.05	-0.20*	-0.09	-0.18*	-0.01	0.02	0.03	0.21*	-0.08	0.1

^a concentración urinaria en mg/L; * $p < 0.05$

A partir de los resultados obtenidos en la correlación de Spearman de la tabla 7 se procedió a realizar el ACP con la finalidad de simplificar o combinar las variables correlacionadas para facilitar su relación a posibles fuentes de exposición.

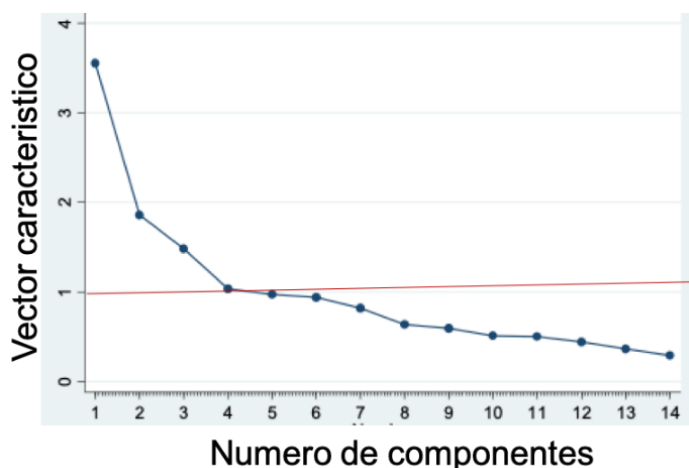


Figura 7. Gráfico de sedimentación: autovalores y número de componentes

Mediante el gráfico de sedimentación (figura 7) se observa que existen cuatro componentes principales (CP) con el criterio del autovalor mayor a uno. La tabla 8 representa los factores de carga el criterio para establecer un CP es que el factor se encuentre > 0.5 , el CP 1 está conformado por F, L, B, Cs y AsT; el CP 2 por Al, Se, Zn y Mo; el CP 3 se encontró Pb y Co; el CP 4 por Cu y Ba.

Tabla 8. Matriz de factores de carga rotados de los CP de las concentraciones urinarias de EPT urinarios ($\mu\text{g/L}$) de la población en estudio

EPT	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4
Fluoruro	0.7273	0.0595	0.152	-0.1667
Litio	0.5536	0.419	0.0566	0.0899
Boro	0.6807	0.2363	-0.2781	0.2547
Cesio	0.6523	0.2743	-0.0468	0.0875
Cobalto	0.1129	-0.0263	0.814	-0.0401
Cobre	0.2232	0.0258	0.3046	0.6555
Plomo	-0.0555	0.0793	0.8008	0.2037
Arsénico total	0.6469	-0.1472	0.1876	-0.0438
Aluminio	-0.1769	0.7316	0.3033	0.1648
Selenio	0.1564	0.6949	-0.2517	0.1383
Zinc	0.4229	0.5741	0.095	0.1388
Bario	-0.075	0.096	-0.0007	0.7793
Molibdeno	0.3338	0.7172	-0.0609	-0.1643
Yodo	0.248	0.1787	-0.257	0.095

CP Componente principal; ^a concentración urinaria en mg/L

Resumiendo, 14 elementos cuantificados fueron mayores al límite de detección del método y al ser comparados con las concentraciones de referencia (VR, BE y/o BE), al menos 50% de las muestras de orina sobrepasaron las concentraciones de referencia de elementos como AsT, Al, Pb, Li y B y que además tienen relación con las características antropométricas de los participantes y con variables que posiblemente son las fuentes de exposición, exceptuando AsT, Ba y Cu que no presentó relación o la comparación no fue significativa con estas variables.

Una vez identificados los biomarcadores de exposición a través de la concentración urinaria de los EPT, es necesaria la información clínica en cuanto al EGO, la función y el daño renal.

3.3 Valoración de la función y daño renal en la población estudiada

En cuanto a la evaluación de la función y daño renal se presentan en la tabla 9 las medianas, rango Inter cuartil, mínimos y máximos de las concentraciones de sCre, TFGe, y los biomarcadores de daño renal temprano.

Tabla 9. Evaluación de las concentraciones de creatinina sérica, tasa de filtración glomerular estimada y los biomarcadores de daño renal urinarios en la población de estudio

Biomarcadores	n	Mediana	RIQ	min	máx
Creatinina sérica [mg/dL]	215	0.77	0.69-0.87	0.52	1.33
<i>edad 6-11 [años]</i>	97	0.72	0.64-0.79	0.53	1.09
<i>Masculino 12-15 [años]</i>	50	0.90	0.78-0.99	0.62	1.33
<i>Femenino 12-15 [años]</i>	68	0.79	0.72-0.85	0.52	1.02
TFGe mL/min/1.73m²	212	79.2	71.2-88.0	50.4	118.5
<i>Masculino</i>	95	74.7	68.1-85.4	50.4	100.7
<i>Femenino</i>	117	82.2	74.3-90.0	52.0	118.5
KIM-1 [pg/mL]	27	159.3	73.4-237.2	0.18	1,365.0
KIM-1 [pg/mg uCre]	27	99.3	53.0-193.1	0.95	610.1
Cis-C [ng/mL]	215	2.0	0.91-5.75	0.06	62.5
<i>Masculino</i>	97	1.84	0.67-5.71	0.06	62.5
<i>Femenino</i>	118	2.06	0.97-5.75	0.06	33.38
Cis-C [ng/mg uCre]	215	1.8	0.65-5.80	0.04	50.1
NGAL [ng/mL]	198	1.17	0.53-3.10	0.01	138.5
<i>Masculino</i>	87	0.87	0.26-1.59	0.01	10.6
<i>Femenino</i>	111	1.64	0.80-4.71	0.10	138.5
NGAL [ng/mg uCre]	198	1.22	0.47-2.66	0.04	64.3
<i>Masculino</i>	87	0.70	0.25-1.80	0.04	8.84
<i>Femenino</i>	111	2.01	0.62-4.86	0.06	64.3

RIQ: rango intercuartil [25%-75%]; min: valor mínimo; máx: valor máximo

La mediana de la concentración urinaria de sCre fue de 0.77mg/dL. No obstante, los valores de referencia (VR) se encuentran agrupados por edad y sexo de acuerdo con los manuales de pediatría Phadke et al. (2014) y Avner et al. (2016) para menores de 12 años los VR son de 0.5-0.7mg/dL, en nuestra población son 41 participantes entre niñas y niños se encuentra dentro del VR, del género masculino 48 participantes tienen la concentración normal de sCre (0.52-1.2 mg/dL), y del género femenino 59 participantes se encuentra dentro d 0.52-0.90mg/dL, esto significa que el 68% de la población del estudio presentó concentraciones de sCre normales.

Tabla 10 Comparación de medianas de los niveles de la TFGe y los biomarcadores de daño renal entre las categorías de las variables sociodemográficas, resultados del EGO, antecedentes familiares y del participante.

Variables		TFGe (mL/min/1.73m ²)			NGAL (ng/mL)			Cis- C (ng/mL)			KIM-1 (pg/mL)		
		n	Mediana	p	n	Mediana	p	n	Mediana	p	n	Mediana	p
Sexo	masculino	95	74.68	0.00	87	0.87	0.00	97	1.85	0.48	14	97.80	0.03
	femenino	117	82.17		111	1.64		118	2.07		13	198.90	
Edad	niños	72	75.13	0.02	68	0.69	0.00	74	1.90	0.41	8	72.14	0.11
	adolescentes	140	80.82		130	1.64		141	2.05		19	185.86	
Proteínas del EGO	ausencia	176	77.96	0.18	163	0.93	0.00	179	1.64	0.03	22	158.02	0.19
	presencia	35	83.31		4	4.06		35	4.52		5	286.52	
	sin proteinuria	202	78.45		188	1.06		205	1.82		25	158.85	
Proteinuria	con proteinuria	9	85.94	0.06	9	6.95	0.00	9	7.97	0.01	5	236.19	0.35
Eritrocitos EGO	ausencia	191	77.95	0.02	178	1.03	0.00	194	2.04	0.80	25	185.52	0.27
	presencia	20	89.03		19	2.52		20	1.48		5	78.21	
Leucocitos EGO	ausencia	132	77.61	0.30	124	1.01	0.01	134	1.58	0.04	16	144.52	0.28
	presencia	79	80.21		73	1.54		80	2.65		11	185.52	
Z- score de estatura	retraso crecimiento	8	67.58	0.00	8	1.25	0.71	8	1.83	0.57	2	245.80	---
	normal	204	80.39		187	1.17		204	2.04		25	159.26	
Antecedentes familiares con diabetes	si	122	76.42	0.26	110	1.34	0.48	59	2.06	0.35	14	192.37	0.97
	no	58	79.56		57	1.02		123	2.09		8	171.35	
Antecedentes familiares con hipertensión*	ninguno	68	80.14	0.36	70	1.02	0.79	71	1.64	0.38	13	157.18	---
	uno	128	80.39		115	1.17		128	2.04		13	159.26	
	dos	16	75.29		13	1.39		16	3.43		1	286.52	
Antecedentes familiares con ERC	si	18	75.17	0.29	15	2.34	0.25	18	2.13	0.80	2	413.83	---
	no	194	79.79		183	1.11		197	2.03		25	158.84	
Prematuro	si	12	76.16	0.36	11	0.38	0.20	12	1.07	0.09	0	ND	---
	no	202	80.21		186	1.17		202	2.06		27	159.26	
Bajo peso al nacer	si	18	76.64	0.56	18	0.87	0.16	20	1.26	0.12	1	0.19	---
	No	192	79.79		178	1.17		193	2.07		26	172.3	

La prueba aplicada es U-Mann-Whitney para *p<0.05 se probó con K. Wallis; ND no se detectó; --- no fue posible realizar la prueba estadística

Tabla 11 Correlación de Spearman entre los biomarcadores de daño renal y algunas variables sociodemográficas, clínicas, información sobre el consumo de agua y bebidas endulzadas de la población de estudio.

Variables	TFGe (mL/min/1.73m ²)		NGAL (ng/mL)		Cis- C (ng/mL)		KIM-1 (pg/mL)	
	p	rho	p	rho	p	rho	p	rho
Edad(años)	0.92	-0.0073	<0.05	0.2945	0.49	0.0477	0.13	0.2979
Estatura (m)	<0.1	0.1134	<0.05	0.2118	0.74	0.0234	0.33	0.1938
Z score de estatura	<0.05	0.2508	0.13	-0.1076	0.28	-0.0741	0.82	-0.0454
Peso (Kg)	0.13	0.1049	<0.05	0.1808	0.45	-0.0521	0.31	0.2013
IMC (Kg/m ²)	0.86	0.1280	0.26	0.0805	<0.05	-0.1444	0.47	0.1444
Percentil de IMC	0.74	0.0233	<0.1	-0.1205	<0.05	-0.1643	0.70	-0.0771
Z score de IMC	0.73	0.0242	0.17	-0.0977	<0.05	-0.1833	0.67	-0.0858
Tensión arterial sistólica(mmHg)	0.84	0.0141	<0.05	0.149	0.68	0.0288	0.52	0.1306
Percentil de tensión arterial sistólica	0.06	-0.1312	0.63	-0.0346	0.79	-0.0185	0.83	-0.0426
Tensión arterial diastólica(mmHg)	0.13	-0.1040	0.81	-0.0170	0.64	-0.0323	0.63	-0.0968
Percentil de tensión arterial diastólica	0.83	-0.0151	0.22	0.0885	0.98	-0.0023	0.60	-0.1049
Número de vasos de agua/diarios	0.62	-0.0343	0.26	-0.0798	0.21	-0.0850	0.77	0.0600
Número de bebidas endulzadas /diario	0.45	0.0662	0.70	0.0341	0.55	0.0520	0.26	0.3006
Número de veces que consume carne/semanal	<0.05	-0.2115	0.23	-0.0867	0.33	0.0682	0.94	-0.0143
pH urinario EGO	0.28	0.0744	0.57	0.0406	<0.05	0.2725	0.35	-0.1865
Densidad urinaria EGO	<0.05	-0.1548	0.11	-0.1132	0.73	0.0235	0.45	-0.1525
Eritrocitos EGO	<0.05	0.1535	<0.05	0.2282	0.82	-0.0160	0.27	-0.2205
Leucocitos EGO	0.31	0.0711	<0.05	0.237	<0.05	0.1459	0.18	0.2673
Creatinina Urinaria (g/L)	<0.05	-0.1437	0.27	0.0785	0.63	0.0334	0.47	0.1438
Creatinina sérica (mg/dL)	<0.05	-0.7802	0.78	0.0196	0.38	-0.0605	0.23	0.2393
NGAL (ng/mL)	<0.1	0.1213	---	---	---	---	---	---
Cis-C (ng/mL)	0.33	0.0676	<0.05	0.3602	---	---	---	---
KIM-1 (pg/mL)	0.39	-0.1707	<0.05	0.5350	0.15	0.2855	---	---

De acuerdo con la tabla 10 y 11, se presenta el análisis bivariado y las correlaciones correspondientes a la TFGe, los biomarcadores de daño renal y algunas variables. La mediana de la TFGe fue de 79.2 mL/min/1.73m², el 39% presentó una TFGe menor a la recomendada para la población infantil (<75 mL/min/1.73m²) y el 5.6% se encontró <60 mL/min/1.73m², acorde con la guía KDIGO. Los menores de 11 años presentaron una TFGe menor a la de los adolescentes, 75.1 mL/min/1.73m² y 80.8 mL/min*1.73m² ($p=0.015$), respectivamente. Respecto al sexo, del sexo femenino presentaron una TFGe mayor 82.2 *versus* 74.7 mL/min*1.73m² a la de los del sexo masculino ($p=0.002$). La TFGe se correlacionó positivamente con el z-score de estatura ($r=0.25$, $p<0.05$), NGAL ($r=0.1213$, $p<0.1$) y variables como el percentil de la tensión arterial sistólica y el número de veces que se consume carne a la semana se correlacionaron negativamente ($r=-0.1312$, $p<0.1$ y $r=-0.2115$, $p<0.05$).

Desafortunadamente, únicamente se cuantificó KIM-1 en orina en el 12.6% de la población, debido a que con la dilución original de la muestra (1:5) que fue adecuada para la cuantificación multianalito de los otros biomarcadores renales diluyó la concentración urinaria de KIM-1 y no fue posible su detección, todas las muestras urinarias diluidas 1:5 presentaron concentraciones de KIM-1 menores al LD. Al repetir la cuantificación en solamente 27 muestras de orina sin diluir se logró la cuantificación siendo la mediana de 159.3 pg/mL. Además, en 17 participantes a los que se cuantificó KIM-1 se identificó la TFGe menor a 75 mL/min/1.73m². A pesar del limitado número de muestras con cuantificación de KIM-1 ($n=27$) se observó una mayor concentración en los participantes del sexo femenino (198.9 *versus* 97.8 pg/mL, $p<0.05$), se correlacionó positivamente con la concentración urinaria de NGAL ($r=0.5350$, $p<0.05$). La concentración urinaria de Cis-C presentó una mediana de 2.0 ng/mL, sin diferencias significativas en la edad y el sexo, más aún en los niveles más altos se encuentran en los niños con proteinuria 8.0 ng/mL frente 1.8 ng/mL con los que no ($p<0.05$), los niños con presencia de leucocitos en orina 2.7 *versus* 1.58 ng/ml respecto a la edad, el sexo y ausencia de leucocitos. Las correlaciones positivas se presentaron con el pH en la orina ($r=0.25$, $p<0.05$) y NGAL ($r=0.36$, $p<0.05$), las correlaciones negativas IMC, el z-score y percentil del IMC ($p<0.05$).

La concentración urinaria de NGAL, se cuantificó en el 92% de los participantes con una mediana de 1.17 ng/mL, y fue comparado con el VR (McWilliam et al., 2014) utilizando los valores en mg/uCre el promedio por sexo 7-16 años en ambos casos el 1% sobrepasa el VR en mujeres de 44.7ng/ mg uCre y en los hombres el VR es de 5.3 ng/mg uCre. NGAL estuvo influenciado por el sexo, siendo mayor en las mujeres (1.64 vs 1.17ng/ml, $p<0.05$); en los adolescentes frente a los niños ($p<0.05$); aquellos que tienen proteinuria el nivel de NGAL es seis veces mayor respecto a los que no tienen proteinuria ($p<0.05$); la presencia de eritrocitos en la orina ($p<0.05$) frente a la ausencia; la presencia de leucocitos en la orina ($p<0.05$) frente a la ausencia. Las correlaciones fueron positivas con la edad, el peso (Kg) de los participantes ($r=0.18$, $p<0.05$) no siendo significativa con el IMC o la estatura, también se correlacionó con la tensión arterial sistólica ($r=0.15$, $p<0.05$).

Para conocer la magnitud de la explicación de la variabilidad de la TFGe y los biomarcadores, con relación a las variables predictoras, se realizó un análisis multivariado con regresión lineal múltiple presentado en la tabla 12.

Tabla 12. Modelos de regresión lineal múltiple para TFGe y los biomarcadores de daño renal urinarios

Biomarcador	Variable predictiva	β	p
TFGe Bedside Schwartz (mL/min/1.73m ²) n=206 R ² =0.196	Sexo (femenino)	5.7	0.001
	Edad (adolescentes)	6.0	0.001
	z-score estatura	3.5	<0.001
	Número de veces que consumen carnes rojas a la semana	-1.2	0.014
	IMC	-0.6	0.010
NGAL (ng/mL) n= 197 R ² =0.194	Presencia de leucocitos	5.6	0.007
	Trazas (proteínas)	11.0	<0.001
	Proteinuria	24.3	<0.001
Cis-C (ng/mL) n= 211 R ² =0.061	z-score-IMC	-1.1	0.027
	Presencia de proteínas	4.1	0.015
	pH urinario	2.6	0.016
KIM-1 (pg/mL) n= 27 R ² =0.094	Sexo (femenino)	187.5	0.066

β Diferencia de cambio promedio de los biomarcadores por variación unitaria de la variable independiente

En el modelo de la TFGe observamos que el ser del sexo femenino incrementa en promedio, 5.7 mL/min/1.73m² respecto a los del sexo masculino, en los adolescentes incrementa 6.0 mL/min/1.73m² versus niños, por cada unidad del z-score de la estatura

incrementa en promedio 3.5 mL/min/1.73m², por cada unidad del número de veces que consumen carnes rojas a la semana disminuye en promedio -1.2 mL/min/1.73m², y la TFGe es, en promedio 0.6 mL/min/1.73m² menor por cada unidad en el IMC, este modelo explicó 19.4% de la variabilidad de la TFGe. Para NGAL, la presencia de leucocitos en orina aumenta en promedio 5.6 ng/mL respecto a la ausencia, y la presencia de trazas de proteínas en orina aumenta 11.0 ng/mL respecto a los que presentan negativo y los que presentan proteinuria aumenta 24.3ng/mL respecto a los que tienen trazas, el modelo explica el 19.4% de la variabilidad de las concentraciones de NGAL.

Las variables para el modelo de Cis-C fueron z-score del IMC, la presencia de proteínas y el pH urinario con un 6.1% de explicación en la variabilidad de las concentraciones de Cis-C donde Cis -C disminuye en promedio 1.1 ng/mL por cada unidad de cambio en el z-score del IMC, la presencia de proteínas aumenta 4.1ng/mL de Cis-C respecto a la ausencia de proteínas y Cis-C aumenta 2.6 por cada unidad de cambio en el pH. Acerca de KIM-1, aunque la n es muy pequeña para conocer la magnitud de las variables relacionadas de KIM-1 para ello realizamos un modelo de regresión lineal simple, mostrado en la tabla 12 donde el sexo femenino explica el 9.4% el incremento de KIM-1 en 187.5 pg/mL respecto al sexo masculino.

3.4 La relación de la exposición a EPT, la TFGe y los biomarcadores de daño renal temprano

3.4.1 Correlación y regresión lineal simple de los biomarcadores

En cuanto al análisis exploratorio las correlaciones entre los biomarcadores de daño renal, la TFGe y los EPT son mostrados en la tabla 13, para la TFGe mostró una correlación positiva con la concentración de AsT ($p<0.1$), y las correlaciones negativas con el Cu y Se ($p<0.1$). Con los biomarcadores de daño presentaron correlaciones positivas significativas: NGAL con Cs; Cis-C con Cu y KIM-1 con Cu cabe puntualizar que en el caso de la correlación con KIM-1 la n es pequeña (n=27).

Tabla 13 Correlación de Pearson entre las concentraciones urinarias de EPT y la TFGe, y los biomarcadores de daño renal en la población de estudio

EPT	TFGe mL/min/1.73m ²	NGAL ng/mL	Cis-C ng/mL	KIM-1 pg/mL
	rho _p	rho _p	rho _p	rho _p
Fluoruro mg/L	0.054	-0.077	0.087	0.182
Litio µg/L	0.095	-0.089	-0.053	0.016
Boro µg/L	0.044	-0.070	-0.003	-0.068
Cesio µg/L	-0.080	0.152*	0.041	0.189
Cobalto µg/L	-0.047	0.062	-0.053	0.022
Cobre µg/L	-0.133#	0.070	0.181*	0.864*
Plomo µg/L	0.077	-0.064	-0.072	-0.002
Arsénico total µg/L	0.123#	0.011	-0.030	-0.154
Aluminio µg/L	-0.032	0.027	-0.029	-0.055
Selenio µg/L	-0.128#	-0.063	-0.077	-0.077
Zinc µg/L	0.070	0.084	-0.092	-0.206
Bario µg/L	0.033	-0.015	-0.045	-0.042
Molibdeno µg/L	0.041	0.082	-0.013	-0.121
Yodo µg/L	-0.063	0.001	-0.027	-0.207

rho_p coeficiente de correlación de Pearson; p<0.05*; p<0.1#

Para conocer la magnitud de la relación entre los EPT urinarios y los biomarcadores de daño renal se utilizó regresión lineal simple (tabla 14) en la cual se observa que la relación es similar a la presentada en la tabla 13. Así por cada aumento de 1µg/L de Cu disminuye en promedio 0.037 mL/min/1.73m² (p<0.1) la TFGe y aumenta Cis-C en promedio 0.041 ng/mL (p<0.05); para la concentración urinaria de AsT, por cada aumento de 1µg/L, aumenta la TFGe en promedio 0.090 mL/min/1.73m² (p<0.1). Para Se por cada aumento de 1µg/L en la orina, disminuye en promedio -0.037 mL/min/1.73m² (p<0.1) la TFGe. Se observó una relación positiva entre las concentraciones de NGAL y el Cs, por cada aumento de 1 µg/L de NGAL aumenta en promedio 0.629 ng/mLde Cs.

Tabla 14 Regresión lineal simple de la TFGe, los biomarcadores de daño renal y la concentración urinaria de EPT en la población de estudio.

EPT/CP	TFGe mL/min/1.73m ²	NGAL ng/mL	Cis-C ng/mL
	β	β	β
Fluoruro mg/L	1.610	-2.890	1.980
Litio µg/L	0.011	0.013	-0.005
Boro µg/L	-0.002	-0.001	-0.002'
Cesio µg/L	-0.270	0.629*	0.100
Cobalto µg/L	-0.480	0.774	-0.420
Cobre µg/L	-0.037#	0.250	0.041*
Plomo µg/L	0.250	0.250	-0.182
Arsénico total µg/L	0.090#	0.010	-0.017
Aluminio µg/L	-0.025	0.026	-0.017
Selenio µg/L	-0.037#	-0.022	0.017
Zinc µg/L	0.003	0.003	-0.003
Bario µg/L	0.045	-0.131	-0.041
Molibdeno µg/L	0.010	0.025	-0.002
Yodo µg/L	-0.001	0.002'	-0.042'

β: Diferencia promedio de los niveles en la TFGe, las concentraciones urinarias de los biomarcadores renales por cada unidad de EPT en la orina; β' Diferencia promedio de los niveles en la TFGe, las concentraciones urinarias de los biomarcadores renales por cada 100 unidades de EPT en la orina; p<0.05*; p<0.1#

3.4.2 Regresión Lineal Múltiple de los Biomarcadores

En el análisis previo, los EPT Cu, AsT, Se y Cs se relacionan con los biomarcadores de daño renal y la TFGe como indicador de la función renal. Sin embargo, para evaluar que su relación no se deba al azar se tiene que considerar las variables confusoras y modificadoras del efecto que son plausibles y aquellas que están consideradas en los modelos para la población de estudio. En la tabla 15, se muestran los modelos con mayor explicabilidad y con mayor significancia estadística. Los modelos para la TFGe y los EPT con asociaciones negativas fueron Se y Cu. El modelo que presento mayor explicabilidad ($R^2=0.16$) fue con la exposición a Se, donde el incremento de 1µg/L disminuye en promedio -0.04 mL/min/1.73m², considerando al sexo femenino aumenta 5.78 mL/min/1.73m², ser adolescente aumentó en promedio 4.79 mL/min/1.73m², y por cada unidad que aumenta el z-score de estatura aumenta la TFGe en 3.18 mL/min/1.73m².

El modelo para Cu considera las mismas variables predictoras, y por cada 1µg/L disminuye en promedio -0.04 mL/min/1.73m²; ser adolescente incrementa en promedio

4.21 mL/min/1.73m², y por cada unidad que aumenta el z-score de estatura aumenta la TFGe en 2.45 mL/min/1.73m², el sexo femenino aumenta 4.62 mL/min/1.73m² respecto al masculino, este modelo explicó el 12.1%. Conforme a la proporción de la variabilidad que se explica por el modelo se consideró al AsT, I y el Li que, aunque la β es positiva, es significativa para los modelos con la TFGe en la población de estudio. Además del análisis previo donde no se ajustaron las concentraciones urinarias de los biomarcadores, también se realizaron los modelos ajustando la concentración de los biomarcadores con la concentración de creatinina urinaria y con la densidad de la orina obtenida del EGO (anexo, tablas ANX 4, 5 y 6).

Tabla 15. Regresión lineal múltiple robusta de las asociaciones entre los niveles de TFGe (mL/min/1.73m²) y la exposición a EPT.

Variable predictora	n	β	P	R ² (%)
Selenio (µg/L)		-0.04	0.032	
sexo (femenino)	210	5.78	<0.001	16.2
edad (adolescentes)		4.79	0.006	
z-score de estatura		3.18	<0.001	
Arsénico total (µg/L)		0.08	0.10	
sexo (femenino)	212	5.73	<0.001	14.8
edad (adolescentes)		4.80	0.006	
z-score estatura		2.84	<0.001	
Yodo (µg/L)		0.008	0.008	
sexo (femenino)	206	6.514	<0.001	13.3
número de veces de consumo de carne		-1.056	0.038	
Cobre (µg/L)		-0.04	<0.001	
sexo (femenino)	170	4.62	0.012	12.1
edad (adolescentes)		4.21	0.040	
z-score estatura		2.45	0.001	
Litio (µg/L)		0.01	0.075	
sexo (femenino)	212	6.06	<0.001	10.5
edad (adolescentes)		3.89	0.03	

β: Diferencia promedio de los niveles en la TFGe por cada unidad de EPT en la orina

Las variables predictoras para el modelo de regresión lineal múltiple robusta, por presentar heterocedasticidad, con el biomarcador NGAL son: proteinuria, la presencia de leucocitos y/o el sexo reflejadas en la tabla 16. El modelo que presenta mayor proporción de la variabilidad explicada por el modelo es con la concentración urinaria

de Cu (16.64%) donde el aumento de 1µg/L aumenta en promedio 0.02 ng/mL de NGAL considerando la presencia de proteínas que aumenta en promedio 5.56 ng/mL de NGAL y la presencia leucocitos en la orina aumenta en promedio 14.10 ng/mL.

El modelo con la concentración urinaria de Li disminuye en promedio -0.01 ng/mL de NGAL por cada µg/L de Li ($p<0.1$). Los participantes con proteinuria aumentan 22.98 ng/mL y con leucocitos en orina 6.77ng/mL el modelo presenta 15.28% de la variabilidad de las concentraciones de NGAL explicadas por las variables en el modelo. De manera similar, la concentración urinaria de NGAL disminuye -0.07ng/mL por cada 100 µg/L de B en la orina ($p<0.05$); la concentración de NGAL aumentó considerando la presencia de leucocitos y proteínas en la orina.

En el caso de Se es el modelo que presenta una disminución de NGAL -0.02 ng/mL marginalmente significativo pero que la consideramos con la presencia de leucocitos en orina que aumenta NGAL 5.76 ng/mL respecto a los que tienen ausencia de leucocitos y se considera el sexo femenino que aumenta 4.44 ng/mL de NGAL respecto al masculino.

Tabla 16, Regresión lineal múltiple robusta entre los niveles de NGAL (ng/mL) y los EPT en la población de estudio.

Variable predictora	N	β	p	R ² (%)
Litio µg/L		-0.01	0.064	
con proteinuria	197	22.98	0.085	15.28
con leucocitos		6.77	0.011	
Boro µg/L		-0.07	0.036	
con leucocitos	197	7.005	0.011	14.94
con proteínas		22.577	0.091	
Cobre µg/L		0.02	<0.001	
con proteínas	159	5.56	0.037	16.64
con leucocitos		14.10	0.015	
Selenio µg/L		-0.02	0.097	
con leucocitos	195	5.76	0.025	7.18
sexo (femenino)		4.44	0.001	

β : Diferencia promedio de los niveles de NGAL por cada unidad de EPT en la orina; β' Diferencia promedio de las concentraciones urinarias de NGAL por cada 100 unidades de Boro en la orina.

Para el biomarcador Cis-C sólo obtuvimos dos modelos (tabla 17) uno con asociación positiva con la concentración de Cu donde cada 1µg/L aumenta en promedio 0.04 ng/mL de Cis-C en orina, considerando variables predictoras como el z-score del IMC

que por cada unidad disminuye -1.09 ng/mL de Cis-C, el tener proteinuria aumenta 3.65 ng/mL de Cis-C respecto a los sin proteinuria y el pH por cada unidad aumenta 3.18 ng/mL de Cis-C en la orina, el 10.77% de la variabilidad de los niveles de Cis-C es explicado por las variables incluidas en el modelo.

El otro modelo presentó una asociación negativa, donde cada 1µg/L de Zn disminuye -.004ng/mL de Cis-C ($p<0.1$), considerando el Z-score del IMC que por cada unidad disminuye -1.087ng/mL de Cis-C y también la presencia de proteínas aumenta 4.22 ng/mL respecto a los casos sin proteinuria, el modelo presentó una R^2 de 0.0507 de variabilidad en las concentraciones de Cis-C explicadas por las variables incluidas.

Tabla 17. Regresión lineal múltiple robusta de las asociaciones entre los niveles de Cis-C (ng/mL) y la exposición a EPT.

Variable predictorora	n	β	p	R^2 (%)
Cobre µg/L	169	0.04	<0.001	10.77
Z-score-IMC		-1.09	0.068	
Proteinuria		3.65	0.065	
pH		3.18	0.047	
Zinc µg/L	210	-0.004	0.062	5.07
Z-score-IMC		-1.087	0.026	
con proteínas		4.224	0.013	

β : Diferencia promedio de los niveles de Cis-C por cada unidad de EPT en la orina.

Los modelos presentados son considerando de manera continua las variables predictoras y las variables de efecto, sin embargo, se observan relaciones considerando que el comportamiento es lineal y no es posible conocer los gradientes de concentración a las cuales podría estar sugiriendo alguna relación, entonces las preguntas son ¿Habrán diferencias en la relación estadística si consideramos los cuartiles de las concentraciones urinarias de los EPT? ¿Los EPT solo presentan relaciones con el modelo de regresión lineal? Los resultados que continuación se presentan son el análisis de regresión lineal múltiple con los cuartiles (Q) de los EPT, la TFGe (tabla 18) y los biomarcadores de daño renal NGAL (tabla 19), y Cis-C (tabla 20).

Tabla 18. Análisis de regresión lineal múltiple robusta entre las concentraciones de EPT en la orina de los niños en cuartiles y la TFG_e (mL/min/1.73m²) en la población de estudio.

EPT	μg/L	Modelo 1		Modelo 2	
		Sin ajustar		Ajustado sexo, adolescencia/niñez, z-score-estatura	
		β	p	β	P
Li	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-3.35	0.16	-4.31	0.05
	Q3	-0.12	0.96	-0.14	0.95
	Q4	0.92	0.93	-0.53	0.81
I	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	0.55	0.80	0.90	0.66
	Q3	2.72	0.28	3.30	0.14
	Q4	3.57	0.14	4.09	0.08
Cs	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-3.90	0.10	-3.64	0.10
	Q3	-7.53	0.00	-5.73	0.02
	Q4	-4.18	0.07	-3.65	0.10
Zn	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	1.58	0.52	0.66	0.77
	Q3	3.08	0.19	2.64	0.22
	Q4	3.63	0.14	1.53	0.52
AsT	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-2.86	0.25	-1.46	0.54
	Q3	-1.64	0.94	0.65	0.77
	Q4	1.57	0.51	2.07	0.34
Cu	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-0.95	0.72	-0.84	0.73
	Q3	-1.78	0.52	-2.87	0.28
	Q4	-3.16	0.19	-3.15	0.19
Se	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	1.60	0.46	1.37	0.52
	Q3	0.63	0.79	0.30	0.90
	Q4	-1.73	0.45	-2.76	0.22

En la tabla 18 se muestran las concentraciones urinarias del Li y Cs se relacionaron negativamente en algunos de los cuartiles; para el Li, por cada unidad que incremente en Q2 disminuye 3.35 en promedio la TFG_e comparado con Q1 ajustado por sexo,

adolescencia y el Z-score de estatura. El Cs tanto en el modelo sin ajustar como ajustado por sexo, adolescencia y z-score de estatura presenta una disminución de la TFGe en los Q2, Q3 y Q4 comparado con el percentil de la concentración más baja de Cs siendo significativa $p < 0.05$ en Q3. En cuanto a I presenta una relación positiva (4.09 $p < 0.1$) con la TFGe en el cuartil más alto en el modelo ajustado.

Tabla 19. Análisis de regresión lineal múltiple robusta entre las concentraciones de EPT en la orina de los niños en cuartiles (Q) y los niveles de NGAL (ng/mL) en la población de estudio.

EPT	$\mu\text{g/L}$	Modelo 1		Modelo 2	
		Sin ajustar		Ajustado sexo, presencia de proteínas	
		β	p	β	p
Li	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-1.26	0.79	-0.91	.81
	Q3	-3.83	0.20	-4.57	0.12
	Q4	-4.91	0.09	-4.66	0.08
B	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-0.38	0.91	-1.31	0.67
	Q3	1.16	0.78	-0.93	0.31
	Q4	-2.85	0.32	-3.31	0.24
Se	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-0.11	0.96	-0.06	0.73
	Q3	2.70	0.50	4.46	0.27
	Q4	-3.03	0.04	-2.05	0.18
AsT	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	5.89	0.08	5.42	0.07
	Q3	2.00	0.44	3.07	0.25
	Q4	1.59	0.15	1.20	0.34
Cu	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	2.51	0.20	2.58	0.19
	Q3	1.29	0.25	0.06	0.96
	Q4	6.74	0.13	5.47	0.14

En la tabla 19 es el análisis de regresión lineal múltiple se obtuvo relaciones negativas en los cuartiles más altos (Q4) en el modelo de Li y Se (sin ajustar). En el caso del AsT se presenta una relación positiva a NGAL en el segundo cuartil (Q2) marginalmente significativo $p < 0.1$ comparado con Q1.

Tabla 20. Análisis de regresión lineal múltiple robusta entre las concentraciones de EPT en la orina de los niños en cuartiles (Q) y los niveles de Cis-C (ng/mL) en la población de estudio.

EPT	μg/L	Modelo 1		Modelo 2	
		Sin ajustar		Ajustado z-score-IMC, presencia de proteínas	
		β	p	β	P
F^a	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	2.15	0.15	2.11	0.13
	Q3	2.82	0.07	2.74	0.06
	Q4	3.49	0.07	3.50	0.05
Cs	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	1.75	0.28	2.44	0.08
	Q3	3.28	0.08	4.03	0.03
	Q4	1.55	0.33	1.91	0.17
Zn	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	2.34	0.26	1.88	0.35
	Q3	-1.11	0.52	-1.40	0.42
	Q4	-0.48	0.81	-1.61	0.39
Se	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	-0.05	0.98	0.20	0.92
	Q3	-1.90	0.25	-1.78	0.25
	Q4	-3.07	0.06	-2.40	0.15
AsT	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	4.79	0.01	3.77	0.05
	Q3	1.25	0.39	1.48	0.30
	Q4	0.69	0.57	0.67	0.58
Cu	Q1	Ref.	-	Ref.	-
	Q2	0.75	0.76	-0.10	0.97
	Q3	-2.42	0.23	-2.52	0.21
	Q4	-1.99	0.38	-2.14	0.36

^a Concentración urinaria en mg/L

En la Tabla 20 son los resultados del análisis de regresión para el biomarcador de Cis-C en el cual se observa una relación positiva en el caso de F⁻ tanto en los cuartiles Q3 y Q4 en los modelos sin ajustar y con el modelo ajustado por de z-score del IMC y la presencia de proteínas. También se presenta relación positiva con el Cs que en ambos modelos se presentan la diferencia promedio en las concentraciones urinarias de Cis-C por unidad de cambio en los cuartiles es significativo solo en los Q2 y Q3 comparado con Q1. La relación que presenta AsT es positiva en Q2 vs Q1 y significativa a diferencia del resto de los cuartiles que a medida que aumentan los cuartiles disminuye β .

Análisis de regresión logística politómica

Para modelar mediante regresión logística politómica la TFGe y las concentraciones de los biomarcadores de daño renal de la población en estudio se dividieron en cuartiles y se asociaron con los cuartiles utilizados en la regresión lineal múltiple robusta, sin embargo las asociaciones para TFG y para Cis-C se presentaron inconsistencias en algunos cuartiles, y además la explicabilidad del modelo ajustado es menor comparada con los modelos para NGAL por lo que solo se presenta los resultados de NGAL y una tabla resumen comparativa de los modelos utilizados para relacionar la TFGe y los biomarcadores de daño renal. Con fines prácticos se describirá los resultados que representan significancia de las tablas en la sección de anexos (tabla ANX 8) del biomarcador NGAL donde se presenta el modelo ajustado con las razones de probabilidad (OR) y los intervalos de confianza [IC al 95%] y el modelo ajustado con los posibles factores de confusión. Se observaron asociaciones negativas principalmente con F-, Cu, Se, Mo, Li, Cs y AsT y positiva para Ba. En este último se observó una asociación positiva en el Q3 de NGAL con un OR 1.68 [1.06-2.66] comparado con el Q1 de NGAL y el primer cuartil de las concentraciones del EPT (Q de Ref); en el caso de las asociaciones negativas presentadas en F- se observaron en Q2 con 0.56 [0.39-0.83] y Q3 con 0.72 [0.49-1.05]; para Cu en Q3 con 0.57(0.36-0.91) y Q4 0.64 [0.41-1.00]; para Se presento un OR en Q3 0.53 [0.36-0.79] y Q4 0.56[0.37-0.85]; Mo únicamente en Q3 0.58 [0.39-0.86]; Li en Q3 0.66 [0.46-0.96] y Q4 con 0.66 [0.43-0.99]; para Cs en Q3 0.66 [0.43-0.97]; y AsT en Q2 0.66 [0.48-0.96] y Q3 con 0.64[0.44-0.94] comparado con Q de Ref. en el modelo ajustado.

A continuación, presentamos una tabla (tabla 21) que resume los resultados de los modelos presentados, el tipo de relación para la TFGe y los biomarcadores de daño renal.

Tabla 21 Resumen de resultados de los modelos de regresión lineal múltiple robusta y regresión logística politómica para la TFGe, NGAL y Cis-C en la población de estudio.

Modelos	TFGe		NGAL		Cis C	
	Relación Positiva	Relación Negativa	Relación Positiva	Relación Negativa	Relación Positiva	Relación Negativa
Regresión lineal múltiple robusta	AsT, I, Li	Se y Cu	Cu	Li, B y Se	Cu	Zn
Regresión lineal múltiple robusta EPT en cuartiles^a	I en Q4	Li en Q2, Cs en todos los cuartiles	AsT en Q2	Li en Q4	F- en Q3 y Q4, Cs en Q2 y Q3	-
Regresión logística politómica^b	Li en Q2, Cs en Q2 y Q4	AsT en Q4, I en Q4	Ba en Q4,	F- en Q2 y Q3, Li Q3 y Q4, Cs en Q3, AsT en Q2 y Q3, Se en Q3 y Q4 y Mo en Q3	Al en Q3	Cu en todos los cuartiles, AsT en Q3, Se en Q4

Nota: Los resultados mostrados en esta tabla corresponden a los modelos considerando los factores de confusión respectivo a cada biomarcador.

^a Los resultados de estos modelos corresponden al comparativo con el primer cuartil (resultado base Q1).

^b Los resultados de la regresión logística politómica fueron comparados considerando que Q4 es el peor de los casos, es decir, para TFGe son los que tienen la TFGe más baja, para los biomarcadores son las concentraciones urinarias son las más altas.

4 Discusión

4.1 Biomonitorio de EPT en orina de los residentes de la ZMVM y las fuentes de exposición

El biomonitorio en población pediátrica en matrices biológicas, como la orina, ha demostrado ser una herramienta útil para evaluar la exposición a diferentes elementos químicos como los EPT porque no es invasiva, dependiendo de la toxicocinética y biodisponibilidad del EPT refleja exposiciones recientes, permite monitorear los niveles en diferentes tiempos, además de poder comparar magnitudes de exposición con población pediátrica de diferentes regiones (Lewis et al., 2018; Godebo et al., 2019). Las concentraciones urinarias de EPT en el presente estudio, en general, son similares a las reportadas para As, Al, Ba, Cd, Co, Mn, Mo, Ni, Pb y Zn en niños de la CDMX (Lewis et al. 2018). Mientras que para el Co y el Cd las concentraciones fueron más bajas, solo fue posible cuantificar concentraciones en el 48 y 1.5% de las muestras, respectivamente. En relación con las concentraciones urinarias de F, también son similares a las reportadas en una cohorte de niños entre 6-12 años de la CDMX (0.82 vs 0.86 mg/L) en el estudio de Bashash et al. (2017).

En una cohorte realizada por PROGRESS en mujeres embarazadas y población infantil (etapa perinatal y niños de 4 a 6 años) residentes de la CDMX encontraron múltiple metales esenciales y no esenciales en sangre, que adicionalmente con lo reportado por Lewis et al., 2018 en orina, se reporta Cr, Se y Cs (Liu et al., 2018; Kupsco et al., 2019).

Para el caso de las concentraciones urinarias de Li y B no identificamos algún estudio en población infantil que nos sirva de referencia, hasta donde sabemos este estudio piloto es el primero en reportar concentraciones urinarias de Li y B en infantes de México.

Si comparamos la excreción urinaria de EPT en las diferentes regiones del país encontramos, por ejemplo, en Taxco, Guerrero que es una región minera donde Moreno et al. (2011) reporta los niveles urinarios promedio de Ba, Co, Mn y Zn son mucho más altos que los encontrados en nuestro estudio, en niños de 6 a 11 años. En San Luis Potosí, en niños de 5 a 12 años residentes en una zona de actividad minera e industrial

se encontró AsT y F en mayor concentración respecto a nuestro estudio (Cárdenas-González et al., 2016). Entonces la exposición a EPT entre los niños y adolescentes que viven en zonas mineras o industrializadas es en general mayor comparada con las zonas urbanizadas como la ZMVM, pero mayor que la población de referencia (EE. UU, Canadá, etc).

El AsT es el EPT urinario que tiene mayor porcentaje que sobrepasa los valores de BE en nuestra población, sin embargo, hay que tomar en cuenta que la evaluación urinaria de AsT por ICP-MS, no discrimina la fuente de exposición de arsenicales considerados no tóxicos, como los identificados en alimentos de origen marino como el atún, sardina, pescados y mariscos. Debido a que no contamos con información sobre el consumo de alimentos del mar que podrían sobreestimar la cantidad de arsénico considerado tóxico; para descartar la contribución de éstos arsenicales no tóxicos se requiere evaluar las concentraciones del arsénico inorgánico y sus metabolitos, por lo que es recomendable, realizar la especiación de arsenicales en aquellas muestras que presentan concentraciones mayores a la concentración BE (15 µg/L), que en este estudio corresponde al 65% de los participantes.

Limón-Pacheco et al. (2018) sugiere que los niños acumulan menos arsénico debido a la actividad de su metabolismo y en relación con el sexo, los niños presentan concentraciones más altas de arsénico en la orina y menos capacidad de metilar arsénico inorgánico que las niñas. Sin embargo, en el análisis bivariado no se encontró diferencias significativas con sexo o edad o correlaciones con parámetros antropométricos, tampoco contamos con información sobre el consumo de mariscos que podrían sobreestimar la cantidad de arsénico considerado de toxicidad por lo que para estudios posteriores se sugiere la discriminación del arsénico inorgánico y sus metabolitos del proveniente de la dieta de origen marino.

El Al es el segundo elemento que sobrepasa el VR para población ocupacionalmente no expuesta, que presenta diferencias significativas entre aquellos que ingieren agua de la llave y con el número de vasos de agua, que viven cerca de una fábrica, y que se correlaciona positivamente con el Pb y Ba esto es explicado por las posibles fuentes de exposición como son los pozos o mantos acuíferos que abastecen a la CDMX y las emisiones al ambiente; se ha reportado que los valores de Al exceden los parámetros

establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 en el 30% de los pozos de abastecimiento, es decir, se encuentra como remanente en el agua que se envía a la ZMVM y de acuerdo con los reportes anuales es el cuarto metal que se emite al ambiente anualmente (Salcedo, 2015; SEDEMA, 2016; Macías-García & Mazari-Hiriart, 2018). En el caso del Pb, nuestro estudio tiene la limitante de no contar con muestras de sangre total para la determinación de Pb que es el biomarcador más aceptado para evaluar su exposición. No obstante, se ha reconocido que la concentración de orina es aproximadamente el 10% en la sangre total en población adulta (Barbosa et al., 2005). En el presente estudio la mediana y el RIQ de la concentración urinaria fue de 3.04 (0.084-5.34) $\mu\text{g/L}$ o su equivalente [0.304 (0.008-0.534) $\mu\text{g/dL}$], considerando la extrapolación que se ha sugerido entre las concentraciones de sangre y orina, podríamos asumir que la mediana y el RIQ de concentración urinaria podría representar una mediana y RIQ de concentración en sangre de 3.04 (0.08-5.34) $\mu\text{g/dL}$. En cuanto a las fuentes de exposición a Pb, las variables relacionadas con la residencia, por ejemplo, vivir en el Edo. Méx. presentan mayor concentración de Pb urinario. Además, las concentraciones de Pb fueron mayores en los adolescentes, así como vivir cerca de una fábrica, utilizar trastos de barro vidriado para cocinar y, se encuentra correlacionado con el Co en los participantes de nuestro estudio y concuerda con lo reportado por Pantic et al, (2018) en cohortes continuas (2008-2015) de niños de 1 a 5 años que viven en la CDMX; encontraron que el uso de cerámica vidriada con plomo se asocia con el aumento del 11% de Pb en sangre total. Además, sugieren bajo el modelo propuesto, el Pb en el aire tiene una contribución importante porque se acentúa en los niños de 5 años respecto a los de un año. Conforme al informe de la SEDEMA, 2016 está identificado como el tercer metal pesado que se emite de manera importante al ambiente.

En cuanto al B se encontró que los niños tienen concentraciones más altas respecto a los adolescentes, y en aquellos cuya ingestión de agua es a través del agua embotellada. Además, las concentraciones urinarias de B se correlacionan positivamente con el Li ($\rho=0.58$ $p<0.05$). Estudios como los de Igra et al. (2016) y el de Hjelm et al. (2019) indican que las concentraciones urinarias de Li y B se encontraron inversamente relacionadas con la talla de los bebés y la edad, también mostraron que

las muestras de agua de bebida se correlacionan fuertemente entre el Li y el B, por lo que la fuente de exposición de nuestro estudio posiblemente sea el agua de bebida.

4.2 Evaluación clínica, funcional y de daño renal en la población de estudio

Si bien es cierto que nuestro estudio no tiene por objetivo general la prevalencia de ERC pero sí es importante tener un panorama general de la valoración clínica en cuanto al EGO, la tensión arterial, y otros factores de riesgo que están relacionados con la ERC debido a que el estudio es transversal, es sólo una fotografía tanto de información clínica, y la proporcionada por los padres y en algunos casos por los participantes, además se contempló a población aparentemente sana que como criterio de exclusión contempla aquellos niños con diagnóstico previo y enfermedades relacionadas con ERC; para poder asociar la TFGe, y los biomarcadores de daño renal urinarios a factores ambientales químicos como son los resultados del biomonitoreo de EPT urinarios.

En cuanto a la evaluación clínica Medeiros y cols. en el 2015 realizaron un estudio tamiz con 45 niños aparentemente sanos menores de 18 años y con antecedentes familiares en terapia de reemplazo atendidos en el HIMFG, encontrando el 24% de los niños con alteraciones urinarias (microalbuminuria, hematuria y leucocituria) y con ERC conforme a las guías KDOQI en los estadios 2 entre 89-60mL/min/1.73m², el 63%. La TFGe fue calculada con la ecuación de Schwartz tradicional y respecto a esta, la TFGe de los 45 niños fue de 90 mL/min/1.73m², para los niños con alteraciones urinarias y ERC fue de 82 mL/min/1.73m². Esto significa que la mediana de TFGe en nuestra población fue menor (79 vs 82 mL/min/1.73m²) en los niños con alteraciones urinarias; en el presente estudio la media de la concentración de sCre sobrepasa el 15% de lo ya reportado lo que podría sugerir que el método de cálculo de la TFGe y el método analítico en la determinación de creatinina podría estar influyendo. Sin embargo, llama la atención que tanto para los niños de este estudio y los realizados en el tamiz, el z-score de la estatura sea significativamente menor en aquellos que tienen la TFGe menor. La TFG disminuye por tres razones: La pérdida del número de nefronas por algún insulto al tejido renal; por la disminución de la TFG de cada nefrona sin descenso del número total de unidades funcionales; y la tercera es la combinación

de las anteriores, el número de pérdida de nefronas y la disminución de la TFG en las nefronas. Una de las variables que están relacionadas con la TFGe es el sexo, el sexo femenino presenta una mayor TFGe comparada con el sexo masculino (82.17 vs 74.69 mL/min/1.73m²).

En el caso de los biomarcadores de daño renal temprano urinarios como KIM-1, existen pocos antecedentes en población infantil mexicana como los de Jiménez-Córdova et al. (2019) donde reportó una media geométrica de 179 pg/mL en 227 niños, similar a nuestros resultados, aunque la muestra fue pequeña, 12.52% de los participantes. Por otra parte, en el estudio de Cárdenas-González et al. (2016) evaluando a niños de una zona rural de San Luis Potosí, la media geométrica de la concentración urinaria de KIM-1 fue de 304.6 pg/mL, dos veces más que la obtenida en nuestro estudio. KIM-1 es un biomarcador temprano de la lesión tubular proximal, ya que se excreta en la orina durante las primeras 12h de la lesión. KIM-1 se expresa en situaciones de fibrosis renal, inflamación tubular, expansión de la matriz mesangial, hipertrofia glomerular y estrés oxidante. En voluntarios sanos la concentración de KIM-1 es muy baja (Han et al., 2012).

Para el biomarcador Cis-C urinario la mediana obtenida en el presente estudio es 20 veces menor que lo reportado en niños expuestos a fluoruro (Jiménez-Córdova et al, 2019), y 6 veces menor en niños expuestos a ambientes de trabajo con disolventes, presumiblemente expuestos a benceno (Pérez-Herrera et al., 2019). En los niños de 6 a 12 años de un área rural en Ticul, Yucatán que habitan en hogares no expuestos a benceno se reporta una mediana de 7.5 ng/mL que también es mayor a la mediana obtenida en el presente estudio (2 ng/mL).

La Cis-C se filtra libremente en el glomérulo, es reabsorbida y catabolizada por las células epiteliales tubulares proximales, generalmente, las concentraciones de Cis-C en orina son muy bajas, a menos que exista un daño a nivel tubular (den-Bakker et al., 2018). Pese a que las concentraciones de Cis-C comparadas con la población infantil mexicana son más bajas respecto al estudio de Jiménez-Córdova et al., (2019), las variables que se relacionaron mediante el análisis bivariado y el modelo que explica la magnitud del cambio en los niveles de Cis-C coinciden con la presencia de proteínas; donde se ha reportado que la proteinuria en un rango nefrótico conduce a la saturación

de la capacidad de reabsorción de Cis-C y de otras moléculas de bajo peso molecular (Herget-Rosenthal et al., 2007); el pH debido al punto isoeléctrico de Cis-C (Turk & Bode, 1991) y z-score del IMC.

De la misma manera, las concentraciones de NGAL que se presentaron en nuestra población de estudio fueron menores comparado con los estudios de Cárdenas-González et al (2016) y Pérez-Herrera et al. (2019), aunque al igual que en los estudios mencionados las mujeres presentaron mayores concentraciones que los varones. En términos de relación y magnitud, las concentraciones urinarias de NGAL se relacionaron con la presencia de leucocitos en la orina asociada a ITU, las trazas de proteínas y proteinuria. NGAL es un marcador sensible a ITU en los niños y se correlaciona significativamente con pacientes proteinúricos (Nishida et al.,2010).

4.3 Evaluación de la relación de la exposición a EPT, la TFGe y los biomarcadores de daño renal temprano

En general, los biomarcadores de daño renal urinarios de forma comparativa son menores a cualquier otra región de exposición ambientalmente relevante como en las regiones mineras del país, pero no por ello deja de ser importante para su relación con los EPT en este estudio debido a que los elementos cuantificados pueden presentar, por su deficiencia o exceso, efectos en la función o daño renal en la población infantil de la ZMVM.

En el presente estudio se utilizó para las determinaciones, la orina proporcionada por los participantes la primera micción de la mañana, tomando en cuenta la dilución de la orina, el gasto urinario, y otras variaciones interindividuales por lo que se consideró a la creatinina urinaria y la densidad como variables de ajuste y/ o de normalización. En el caso de la TFGe los modelos se realizaron sin normalizar, normalizados con creatinina urinaria y con la densidad y, para los biomarcadores de daño renal sin ajuste, y ajustando con dichas covariables (tablas ANX 4-7). La creatinina urinaria es un subproducto químico generado a partir del metabolismo muscular, que se ha considerado para la corrección de las concentraciones urinarias porque su producción y excreción son relativamente constantes debido a los mecanismos de control homeostáticos, y la excreción de creatinina es principalmente independiente del flujo

de orina. Aunque en niños la concentración de creatinina urinaria aumenta con la edad (Pearson et al.,2009). Estudios como el de Jiménez-Córdova et al. (2019) consideran que el ajuste de la gravedad específica urinaria es una evaluación más apropiada de los biomarcadores de lesión renal de la exposición a EPT. En nuestro estudio, los modelos en general muestran una mejor relación entre los EPT y los biomarcadores de daño renal temprano sin normalizar y/o ajustar, encontrando similitudes con la covariable densidad urinaria a diferencia con los modelos ajustando con uCre que en el modelo muestra relación significativa si lo incorporamos como variable independiente. Cabe mencionar que la densidad urinaria está relacionada con la disminución de la TFGe (Malaki, 2017), por lo que se consideran modelos a discutir aquellos modelos sin incorporar la densidad y/o uCre.

Los modelos aplicados de regresión lineal múltiple robusta nos proporcionan la magnitud del efecto entre los biomarcadores y los EPT urinarios, Además que al realizar el análisis de regresión lineal múltiple mediante cuartiles nos proporcionó información sobre la tendencia de los coeficientes en cada modelo y regresión lineal polinómica permite explorar los factores de riesgo o de protección, analizar interacciones, y que permite elegir alguna de las categorías como referencia (Biesheuvel et al., 2008; Yu et al.,2019).

Independientemente del tipo de modelo y el biomarcador, en general se presentaron ambos tipos de asociaciones positivas y negativas con los siguientes elementos: AsT, Li, Mo, Cu, B, Se, Zn, Cs, F⁻ y Ba.

En general, el tipo de relación presentada en los modelos (tabla 21) es consistente: los modelos de regresión lineal múltiple robusta para la TFGe y las concentraciones de EPT urinarias presentan una relación positiva son con AsT, I y Li; para AsT y I es respaldada por la relación protectora presentada en Q4 en los modelos lineal y no lineal categorizada por cuartiles. En el caso de Li, no es muy claro, aparentemente presenta inconsistencia en el resultado puesto que en el modelo lineal presenta una relación positiva, un comportamiento de hiperfiltración, sin embargo, en los modelos por cuartiles (lineal y logístico) el Li presenta relación de riesgo en el Q2 vs Q1, aunque la tendencia de los coeficientes β es positiva ($\rho=0.62$, no significativa) y las relaciones en el resto de los Q tiende a ser protectora. La relación negativa bajo el

análisis de regresión lineal múltiple robusta es con el Cu y Se negativa ($p < 0.05$); en los modelos que se encuentran categorizados por cuartiles, aunque los coeficientes se presentan relaciones negativas no son significativos, y de la misma manera, aunque presentan relaciones de riesgo dejan de ser significativas. Aunque para el Cs (tabla ANX 4) se encuentre relacionado de manera no significativa, la asociación mejoró categorizada por cuartiles considerando los modelos lineal y no lineal ajustados.

En modelo regresión lineal múltiple robusta para NGAL la relación es negativa con los EPT como Li, B, y Se ($p < 0.1$). Siendo positiva la relación con Cu ($p < 0.05$). La relación es consistente para Li puesto que mediante la regresión lineal múltiple la relación en el biomarcador NGAL protectora de Q4 vs Q1, y en Se que tiene una asociación negativa en los percentiles más altos comparado con Q1. Donde se presenta la inconsistencia es para AsT dado que no queda clara la asociación si es protectora o de riesgo. Otros elementos que salen a relucir en la asociación negativa es el Mo, F- y Cs, y positiva en el caso de Ba en el Q4 comparado con Q1. NGAL es el biomarcador que se relaciona con porcentaje de explicabilidad mayor que TFGe y Cis-C y que se asocia con más EPT urinarios en nuestro estudio, se ha demostrado que NGAL en orina es un biomarcador temprano de progresión de LRA y ERC tanto en población adulta como en niños (Bolignano et al., 2009).

En el caso de Cis-C es evidente la relación inversa entre Cu y Zn en las cuales Cu muestra una relación positiva ($p < 0.05$), y negativa o protectora en Zn ($p < 0.01$) en el modelo de regresión lineal múltiple robusta. En el análisis de regresión lineal múltiple con los cuartiles se observa que el F- y Cs tienen una relación positiva con Cis-C; además se asocia con Al en el Q3 *versus* Q1, la asociación negativa se presenta con AsT y Se en los Q3 y Q4 respectivamente comparado con Q1. Sin embargo, los modelos por cuartiles (lineal y logístico) para Cis-C también presenta incongruencia al presentar la asociación con Cu que no queda claro si Cu contribuye al aumento del biomarcador o en realidad es la comparación del primer cuartil como base que da como resultado una relación negativa.

Las relaciones presentadas mediante modelos de regresión múltiple son en sentido positivo y negativo a su vez, es interesante que el Cu presente comportamientos como un nefrotóxico en los participantes de este estudio; disminución en promedio de la

TFGe, y aumento en las concentraciones de los biomarcadores de daño renal temprano. El Cu es un elemento esencial de varias metaloenzimas metabólicas, incluidas las oxidasas, el superóxido dismutasa- Cu/Zn (SOD-Cu/Zn). Aunque la deficiencia de Cu es poco frecuente en humanos puede ocurrir como resultado de desnutrición, sobredosis de Mo o Zn. Las manifestaciones clínicas dadas por la deficiencia y/o el aumento de las concentraciones de Cu conllevan a enfermedades como Menkes y Wilson (Klaassen, 2013). En estudios experimentales en rata con exposiciones a sulfato de Cu, el Cu se acumula en el riñón y que además juega un papel importante en la función renal (Yang et al., 2019).

Existen pocos estudios epidemiológicos que investiguen sobre la relación del Cu con la función renal. Sin embargo, estudios como el de Kung et al (2018) realizaron asociaciones en sujetos con diferentes estadios de ERC en Taiwán, sus resultados mostraron que en las etapas más altas de ERC está asociado con mayores concentraciones séricas de fósforo, y Cu y con una disminución de Zn. Lo que sugiere que la disminución de los niveles de Zn, y los niveles elevados de fósforo y Cu aumentan el estrés oxidante y las complicaciones en pacientes con ERC. La TFGe se ha relacionado con enfermedades glomerulares en niños (Gao, et al., 2011). En otro estudio, se encontró asociación en el cuartil más alto con 3.70 [1.92–7.14] veces el riesgo de presentar una TFGe anormal esto en una población adulta, en China (Yang et al., 2019). Aunque también tendríamos que considerar que la exposición a Cu limita el crecimiento bacteriano dentro del tracto urinario, es decir el Cu son modulados para defensa contra ITU (Hyre et al., 2017).

En cuanto a los estudios que reportan relaciones con la TFGe y los metales se encuentran como el de Jin et al., (2018) que en una cohorte del NHANES en el 2003-2012 encontraron que elementos como el Cs y Ba se relacionan con la TFGe con modelos no lineales, mientras que AsT, Co y Mo se asocian linealmente y mediante estos modelos encontraron relaciones positivas en AsT, Ba y Cs urinarios con un media de 9.66 µg/L, 1.05 µg/L, 4.05 µg/L. En población infantil, Cárdenas-González et al., (2016) no encontraron relación significativa entre la la TFGe y concentración de AsT. No obstante, Weidemann et al., (2015) relacionaron la concentración de AsT y la función renal en adolescentes y adultos jóvenes en un estudio transversal de NHANES

(2009-2012), donde la TFG_e aumenta en promedio 4 mL/min/1.73m² por cada µg/L de aumento de As_T en un modelo ajustado. Una posible explicación es que conforme aumentan las concentraciones de As_T refleja una mayor filtración renal, no estamos considerando el término hiperfiltración ni un evento de causalidad reversa, porque podría estar influyendo la exposición de As (orgánico e inorgánico), la concentración urinaria de As_T, factores de nutrición y la capacidad de metilación del As inorgánico (Peters et al., 2014).

Mediante la técnica multielementos por ICP-MS fue posible obtener un perfil de EPT urinarios dentro de los que conocemos nefrotóxicos como el As, Pb, Li y F-. Estudios experimentales en ratas como el de Prozialeck et al. (2016) encontraron que en las primeras etapas de nefrotoxicidad por un nefrotóxico como el Cd están asociadas con alteraciones urinarias (poliuria y proteinuria) y en alteración de las concentraciones de Cu, Se, Zn y Fe en tejido renal. En un estudio poblacional de Skröder et al., (2015) en niños se mostró relación protectora del Se respecto a la exposición a Cd, As y la función renal, cabe mencionar que la media TFG_e fue de 92 mL/min/1.73m² y que las concentraciones urinarias de Se fueron de 13 µg/L, considerado una concentración adecuada en niños de acuerdo con Hays et al., (2014). En el presente estudio la media urinaria de Se fue mayor, de 87 µg/L y en la regresión lineal multivariada categorizada observamos que, aunque existe relación no significativa el coeficiente β presenta correlación negativa, esto significa que posiblemente exista un umbral protector a concentraciones urinarias mayores a 10µg/L establecidas o sugeridas de requerimiento, sugiriendo que a medida que aumenta la concentración de Se presenta un efecto negativo sobre la TFG_e. Sin embargo, en un estudio en animales, de Camargo et al., (2001) demostraron que la administración oral de selenito de sodio previa a la exposición de cisplatino no evita el deterioro de la función renal, pero si protege de la lesión tubular proximal temprana, sin incrementos en la actividad de N-acetil- beta-D-glucosaminidasa (NAG) comparado con el grupo control. En el presente estudio las concentraciones de NGAL y Cis-C presentan asociación negativa con Se independiente del modelo, lo cual representa un factor protector del Se en el daño tubular. Sobre el Se los comentarios que resaltamos son: es un elemento esencial que desempeña un papel importante en la salud animal y humana, sus efectos están

mediados por medio de las selenoproteínas regulando procesos de defensa antioxidante, en la respuesta inmune y en la regulación de la hormona tiroidea. La principal fuente de exposición a Se es la dieta y segundo el polvo o suelo; si bien el Se es un elemento esencial debe ser monitoreado tanto la deficiencia como el exceso de este elemento ya que su margen de seguridad como antioxidante es estrecho (Kieliszek & Bła 2016).

El Li es otro de los elementos que tuvo relación tanto con la TFGe y con NGAL urinario, su exposición está relacionada con tratamientos neurológicos como la depresión y el trastorno bipolar, los tres órganos en los cuales el Li presenta efectos negativos son: la glándula de tiroides, la glándula paratiroidea y los riñones (WHO, 1996; Mehri, 2020). Como discutimos con anterioridad que la posible fuente de exposición sobre el Li es el agua de bebida, pero los estudios de los cuales se conoce la nefrotoxicidad del Li están basados en tratamientos neurológicos y no entorno a una problemática ambiental. La nefrotoxicidad inducida por el Li parece ser una enfermedad lentamente progresiva porque el periodo de latencia promedio desde el inicio hasta de ERC en fase terminal es de 20 años (Davis et al., 2018). La diabetes insípida nefrogénica, identificada por poliuria y/o la disminución de la capacidad de concentración urinaria, está asociada con la exposición de Li. La toxicidad por Li se caracteriza por un aumento de la diuresis de agua y sodio, que puede provocar deshidratación leve, acidosis metabólica (Grünfeld & Rossier, 2009). Otro de los efectos que presenta la exposición crónica a Li es el desarrollo de fibrosis intersticial a mayores concentraciones de Li dentro de la célula (Davis et al., 2018). Rybakowski et al., (2013) evaluó la función y daño renal en pacientes bajo tratamiento con Li asociando la disminución de la TFGe y el aumento en las concentraciones séricas de NGAL presentando una relación significativa. En nuestro estudio necesitamos considerar que la exposición es temprana, aunque dar seguimiento al monitoreo urinario de Li en la población o la búsqueda de las fuentes asociadas a los niveles urinarios, también podríamos considerar las interacciones que tiene el Li con B y I que exacerbaban los efectos Igra et al. (2016).

Sobre el biomarcador Cis-C y su relación con EPT como el F⁻ urinario, se ha observado en estudios en población mexicana como los de Jiménez-Córdova en población adulta (2018) y en población infantil (2019) el biomarcador Cis-C urinario asociación con el F⁻

siendo positiva para la población adulta ($\beta=0.022$ $p<0.001$), y negativa para la población infantil ($\beta=-8.5$ $p<0.043$). Retomando que Cis-C es un biomarcador funcional, que se observa en mayor concentración cuando está presente el daño renal, con cambios en la función glomerular. También en diversos estudios se ha observado que a mayor concentración se asocia con ERC, por lo que la TFGe disminuida podría explicar la orientación de la asociación de este biomarcador.

Fortalezas y Limitaciones

Es el primer estudio piloto que relaciona elementos traza, y de manera particular el interés por los EPT y los biomarcadores de daño renal en población infantil en la ZMVM. Además, que elementos como Li y B no se han reportado para población infantil.

Este estudio permitirá sentar las bases para un estudio más amplio sobre ERC en la ZMVM.

Las limitaciones en nuestro estudio son las inherentes a un estudio epidemiológico de tipo transversal que está restringido a establecer causalidad entre la exposición y el efecto.

Otra de las limitaciones del estudio, consideramos a los residentes de la ZMVM considerando la colonia, y estado bajo cuestionario no se informó sobre el tiempo de residencia en la ZMVM.

No se evaluaron marcadores de daño cardiovascular-renal como albuminuria/creatinina y otros biomarcadores de daño tempranos.

La determinación múltiple de biomarcadores con diferente LD limita la posibilidad de cuantificar biomarcadores como KIM-1 en muestras de infantes y se requiere otro tipo de método de análisis.

El tamaño de muestra fue limitado, y no representa la exposición a EPT en una población de millones de personas de una zona metropolitana grande, y el estudio estuvo orientado a evaluar la hipertensión y no para evaluar la función renal.

5 Conclusiones

- Se cuantificaron 14 EPT en el 75 al 100% de las muestras de orina de los participantes.
- Las concentraciones urinarias de arsénico total, aluminio, plomo, litio y boro sobrepasaron los valores de referencia y de BE, en más del 50% de los participantes. Mientras que las concentraciones urinarias de bario y cobalto se encontraron dentro de los valores de referencia urinarios en todas las muestras.
- En la valoración clínica se encontró que el 4.2% de los participantes presentó proteinuria; en el 9.35% hubo presencia de eritrocitos en la orina considerando el mayor porcentaje en niñas; y la presencia de leucocitos en el 37.4%.
- En el 39% de la población estudiada presentó una TFGe menor a la recomendada para la población infantil ($<75 \text{ ml/min/1.73m}^2$).
- Independientemente del modelo utilizado, el biomarcador NGAL presentó mayor relación con diferentes EPT urinarios, lo que lo hace un buen biomarcador en la población de estudio.
- En la evaluación de los biomarcadores de daño renal temprano: KIM-1 fue cuantificado sólo en el 12% de la población a diferencia de los niveles de NGAL en el 92% y Cis-C en el 100% de la población estudiada lo que sugieren daño tubular.
- Conforme al modelo de regresión lineal múltiple robusta presentados para cada biomarcador y la TFGe, la concentración del Cu urinario sugiere un comportamiento nefrotóxico para la población de estudio.
- Las relaciones observadas entre las concentraciones de EPT y los marcadores de función renal muestran relaciones de menor y de mayor riesgo dependiendo de las concentraciones de los EPT.

6 Perspectivas

- Identificar las posibles fuentes de exposición a EPT con apoyo de monitoreos ambientales o bien con la relación de información más detallada. De igual manera dar seguimiento al biomonitoreo eventual a la población infantil de la ZMVM.
- Realizar la especiación de arsenicales urinarios en los participantes con concentraciones urinarias de AsT mayores a 15 ug/L.
- Incluir otros biomarcadores de función renal en muestras como la microalbuminuria, en la valoración clínica de los niños y adolescentes.
- Considerar la determinación de KIM-1 urinario en muestras sin diluir o el uso de otras alternativas de cuantificación como ELISA, Bio-Rad ® o Bio-Plex ®.
- Considerar otros biomarcadores urinarios y séricos relacionados con transportadores, proteínas de unión a metales.
- Dar seguimiento a la población estudiada ya que la información adquirida de biomarcadores de daño renal temprano y los EPT urinarios permitirá monitorear cambios futuros, considerar en estudios posteriores la relación con la presión arterial, biomarcadores de daño cardiovascular, pulmonar, de metabolismo óseo o aquellos asociados al desarrollo sexual, además de la relación con el estado nutricional y de crecimiento de la población infantil de la ZMVM.

7 Referencias

- Al-Khashman, O. A. (2004). Heavy metal distribution in dust, street dust and soils from the workplace in Karak Industrial Estate, Jordan. *Atmospheric Environment*, 38(39), 6803–6812. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2004.09.011>
- Arcega-Cabrera, F., Fargher, L., Quesadas-Rojas, M., Moo-Puc, R., Ocegüera-Vargas, I., Noreña-Barroso, E., Yáñez-Estrada L., Alvarado J., González L., Pérez-Herrera N., Pérez-Medina, S. (2018). Environmental Exposure of Children to Toxic Trace Elements (Hg, Cr, As) in an Urban Area of Yucatan, Mexico: Water, Blood, and Urine Levels. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(5), 620–626. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2306-8>
- ATSDR. (2010). Toxicological Profile: Boron. *U.S. Department of Health and Human Services*. Obtenido de: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=453&tid=80>
- ATSDR. (2004). Toxicological profile for cobalt. *U.S. Department of Health and Human Services*. Obtenido de: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp33.pdf>
- Avner, E. D., Harmon, W., Niaudet, P., Yoshikawa, N., Emma, F., Goldstein, S. L. (2016). *Pediatric Nephrology*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag
- Barbosa, F., Tanus-Santos, J. E., Gerlach, R. F., Parsons, P. J. (2005). A critical review of biomarkers used for monitoring human exposure to lead: Advantages, limitations, and future needs. *Environmental Health Perspectives*, 113(12), 1669–1674. <https://doi.org/10.1289/ehp.7917>
- Bautista-Zúñiga F. (1999). Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados. *Research Gate*, Yucatán.
- Becherucci, F., Roperto, R. M., Materassi, M., Romagnani, P. (2016). Chronic kidney disease in children. *Clinical kidney journal*, 9(4), 583–591. <http://doi:10.1093/ckj/sfw047>
- Bello AK, L. A. (2017). *Global Kidney Health Atlas: A report by the International Society of Nephrology on the current state of organization and structures for kidney care across the globe*. Brussels, Belgium: International Society of Nephrology. https://www.theisn.org/images/ISN_advocacy/GKHAtlas_Linked_Compressed1.pdf
- Bertram, J., Brand, P., Hartmann, L., Schettgen, T., Kossack, V., Lenz, K., Purrio E., Reisgen U., Kraus, T. (2015). Human biomonitoring of aluminium after a single, controlled manual metal arc inert gas welding process of an aluminium-containing worksheet in nonwelders. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 88(7), 913–923. <https://doi.org/10.1007/s00420-015-1020-7>
- Biesheuvel, C. J., Vergouwe, Y., Steyerberg, E. W., Grobbee, D. E., & Moons, K. G. M. (2008). Polytomous logistic regression analysis could be applied more often in diagnostic research. *Journal of Clinical Epidemiology*, 61(2), 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2007.03.002>
- Bini, C., & Bech, J. (2014). PHEs, Environment and Human Health. In Claudio Bini & J. Bech (Eds.), *Ecotoxicology* (Vol. 18). <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8965-3>

- Bonventre, J. V. (2009). Kidney injury molecule-1 (KIM-1): A urinary biomarker and much more. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 24(11), 3265–3268. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp010>
- Bostan Gayret, Ö., Taşdemir, M., Erol, M., Tekin Nacaroğlu, H., Zengi, O., Yiğit, Ö. (2018). Are there any new reliable markers to detect renal injury in obese children? *Renal Failure*, 40(1), 416–422. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2018.1489284>
- Cachada, A., Días, A. C., Pato, P., Mieiro, C., Rocha-Santos, T., Pereira, M. E., Ferreira da Silva, E., Duarte, A. C. (2013). Major inputs and mobility of potentially toxic elements contamination in urban areas. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(1), 279–294. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2553-9>
- Camargo, S.M.R., Francescato, H.D.C., Lavrador, M.A.S. & Bianchi M. L. (2001). Oral administration of sodium selenite minimizes cisplatin toxicity on proximal tubules of rats. *Biol Trace Elem Res* 83, 251–262 <https://doi.org/10.1385/BTER:83:3:251>
- Cárdenas-González, M., Osorio-Yáñez, C., Gaspar-Ramírez, O., Pavković, M., Ochoa-Martínez, A., López-Ventura D., Medeiros M., Barbier O. C., Pérez-Maldonado I. N., Sabbisetti V. S., Bonventre J. V., Vaidya, V. S. (2016). Environmental exposure to arsenic and chromium in children is associated with kidney injury molecule-1. *Environmental Research*, 150, 653–662. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.06.032>
- Cashin, K., & Oot, L. (2018). *Guide to anthropometry: A Practical Tool for Program Planners, Managers, and Implementers*. Food and Nutrition Technical Assistance III Project (FANTA)/ FHI360.
- Chirino, Y. I., Sánchez-Pérez, Y., Osornio-Vargas, Á. R., Rosas, I., García-Cuellar, C. M. (2015). Sampling and composition of airborne particulate matter (PM10) from two locations of Mexico City. *Data in Brief*, 4, 353–356. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2015.06.017>
- Claus, B., Coull, B. A., Wright, R. O. (2014). Chemical mixtures and children's health, 223–229. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000067>
- Davis, J., Desmond, M., & Berk, M. (2018). Lithium and nephrotoxicity: a literature review of approaches to clinical management and risk stratification. *BMC Nephrology*, 19(305), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-1101-4>
- Dehghani S, Moore F, Keshavarzi B, Hale BA (2017). Health risk implications of potentially toxic metals in street dust and surface soil of Tehran, Iran. *Ecotoxicol Environ Saf*, 136 (2):92-103. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.10.037>
- De Silva, P. M. C. S., Mohammed Abdul, K. S., Eakanayake, E. M. D. V., Jayasinghe, S. S., Jayasumana, C., Asanthi, H. B., Bandulage Asanthi, H., Perera, H. S. D., Tushara Chaminda, G. G., Chandana, E.P.S., Siribaddana, S. H. (2016). Urinary Biomarkers KIM-1 and NGAL for Detection of Chronic Kidney Disease of Uncertain Etiology (CKDu) among Agricultural Communities in Sri Lanka. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(9), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004979>
- Den Bakker, E., Gemke, R. J. B. J., Bökenkamp, A. (2018). Endogenous markers for kidney function in children: a review. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 55(3), 163–183. <https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1427041>

- Ferguson, M. A., Vaidya, V. S., Bonventre, J. V. (2008). Biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury. *Toxicology*, 245(3), 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.12.024>
- Fernández, V. P., San, R., Fernández, M., Estadística, D. De, Ingenierías, O. E. T. S. De, & Universidad, A. (2004). *Regresión logística multinomial*. 000, 323–327
- Flynn, J. T., & Falkner, B. E. (2017). New clinical practice guideline for the management of high blood pressure in children and adolescents. *Hypertension*, 70(4), 683–686. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10050>
- Forster, C. S., Johnson, K., Patel, V., Wax, R., Rodig, N., Barasch, J., Bachur, R., Lee, R. S. (2017). Urinary NGAL deficiency in recurrent urinary tract infections. *Pediatric Nephrology*, 32(6), 1077–1080. <https://doi.org/10.1007/s00467-017-3607-6>
- Gao, L., Yu, F., Wang, J., 2011. Clinical significance of 24-hour urinary zinc and copper in children with glomerular disease. *Med. J. West China* 23, 2423e2425 (in Chinese).
- Godebo, T. R., Paul, C. J., Jeuland, M. A., Tekle-Haimanot, R. (2019). Biomonitoring of metals and trace elements in urine of central Ethiopian populations. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 222(3), 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.12.007>
- Han, W. K., Bailly, V., Abichandani, R., Thadhani, R., Bonventre, J. V. (2002). Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney International*, 62(1), 237–244. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00433.x>
- Härdle, W. K., & Simar, L. (2012). Applied Multivariate Statistical Analysis. In *Multivariate Statistical Analysis*. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-17229-8>
- Harris, D. C. (2010). *Quantitative Chemical Analysis*. New York, USA: W.H. Freeman and Company.
- Hawkesworth, S., Wagatsuma, Y., Kippler, M., Fulford, A. J. C., Arifeen, S. E., Persson, L. A., Moore, S. E., Vahter, M. (2013). Early exposure to toxic metals has a limited effect on blood pressure or kidney function in later childhood, rural Bangladesh. *International Journal of Epidemiology*, 42(1), 176–185. <https://doi.org/10.1093/ije/dys215>
- Hays, S. M., Macey, K., Nong, A., Aylward, L. L. (2014). Biomonitoring Equivalents for selenium. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 70(1), 333–339. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.07.017>
- Hays, S. M., Macey, K., Poddalgoda, D., Lu, M., Nong, A., Aylward, L. L. (2016). Biomonitoring Equivalents for molybdenum. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 77, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.03.004>
- Hyre, A. N., Kavanagh, K., Kock, N. D., Donati, G. L., & Subashchandrabose, S. (2017). Copper is a host effector mobilized to urine during urinary tract infection to impair bacterial colonization. *Infection and Immunity*, 85(3), 1–14. <https://doi.org/10.1128/IAI.01041-16>
- IHME. (Enero de 2017). *Institute for Health Metrics and Evaluation*. Obtenido de Global Burden Disease: <http://ghdx.healthdata.org/>

- INECC, & SEMARNAT. (2017). Informe Nacional de la Calidad del Aire 2016, México. *Coordinación General de Contaminación y Salud Ambiental, Dirección de Investigación Sobre La Calidad Del Aire y Los Contaminantes Climáticos.*, 52(5000), 1–185. Obtenido de: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/236724/Informe_nacional_calidad_del_aire_2015_Final.pdf
- INEGI. (2017). Anuario estadístico y geográfico de la Ciudad de México 2017. *Anuario Estadístico y Geográfico de Los Estados Unidos Mexicanos*, 506. Obtenido de: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264245174-en>
- INEGI Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2018, 31 octubre). *Estadísticas de mortalidad*. [Comunicado de prensa]. <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodemo/DEFUNCIONES2017.pdf>
- Jiménez-Córdova, M. I., Cárdenas-González, M., Aguilar-Madrid, G., Sanchez-Peña, L. C., Barrera-Hernández, Á., Domínguez-Guerrero, I. A., González-Horta, C., Barbier O. C., Del Razo, L. M. (2018). Evaluation of kidney injury biomarkers in an adult Mexican population environmentally exposed to fluoride and low arsenic levels. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 352, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.05.027>
- Jiménez-Córdova, M. I., González-Horta, C., Ayllón-Vergara, J. C., Arreola-Mendoza, L., Aguilar-Madrid, G., Villareal-Vega, E. E., Barrera-Hernández, A., Barbier O. C., Del Razo, L. M. (2019). Evaluation of vascular and kidney injury biomarkers in Mexican children exposed to inorganic fluoride. *Environmental Research*, 169, 220–228. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.028>
- Jin, R., Zhu, X., Shrubsole, M. J., Yu, C., Xia, Z., & Dai, Q. (2018). Associations of renal function with urinary excretion of metals: Evidence from NHANES 2003–2012. *Environment International*, 121(November), 1355–1362. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.11.002>
- Kaseda, R., Iino, N., Hosojima, M., Takeda, T., Hosaka, K., Kobayashi, A., Yamamoto, A., Suzuki, A., Kasai, A., Suzuki, Y., Gejyo, F., K., Saito, A. (2007). Megalin-mediated endocytosis of cystatin C in proximal tubule cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 357(4), 1130–1134. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.04.072>
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes, K. (2013). References. *Kidney International Supplements*, 3(1), 136–150. <https://doi.org/10.1038/kisup.2012.72>
- Klaassen, C. D. (2013). Toxicology. The Basic Science of Poisons. In *Science in China Series D: Earth Sciences* (8a edición). Retrieved from <http://link.springer.com/10.1007/BF02878969>
- Kung, W. J., Shih, C. T., Lee, C. H., Lin, C. C. (2018). The Divalent Elements Changes in Early Stages of Chronic Kidney Disease. *Biological Trace Element Research*, 185(1), 30–35. <https://doi.org/10.1007/s12011-017-1228-3>
- Kupsco, A., Kioumourtoglou, M. A., Just, A. C., Amarasiriwardena, C., Estrada-Gutierrez, G., Cantoral, A., Sanders, A. P., Braun, J. M., Svensson, K., Brennan, K. J. M., Oken, E., Wright, R. O., Baccarelli, A. A., Téllez-Rojo, M. M. (2019). Prenatal metal concentrations and childhood cardiometabolic risk

- using bayesian kernel machine regression to assess mixture and interaction effects. *Epidemiology*, 30(2), 263–273.
<https://doi.org/10.1097/EDE.0000000000000962>
- Lewis, R. C., Meeker, J. D., Basu, N., Gauthier, A. M., Cantoral, A., Mercado-García, A., Peterson, K. E., Téllez-Rojo, M. M., Watkins, D. J. (2018). Urinary metal concentrations among mothers and children in a Mexico City birth cohort study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 221(4), 609–615.
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.04.005>
- Limón-Pacheco, J. H., Jiménez-Córdova, M. I., Cárdenas-González, M., Sánchez Retana, I. M., Gonsebatt, M. E., Del Razo, L. M. (2018). Potential co-exposure to arsenic and fluoride and biomonitoring equivalents for Mexican children. *Annals of Global Health*, 84(2), 257–273.
<https://doi.org/10.29024/aogh.913>
- Liu, S. H., Bobb, J. F., Claus Henn, B., Gennings, C., Schnaas, L., Tellez-Rojo, M., Bellinger, D., Arora, M., Wright, R. O., Coull, B. A. (2018). Bayesian varying coefficient kernel machine regression to assess neurodevelopmental trajectories associated with exposure to complex mixtures. *Statistics in Medicine*, 37(30), 4680–4694. <https://doi.org/10.1002/sim.7947>
- Lunyera, J., Mohottige, D., von Isenburg, M., Jeuland, M., Patel, U. D., & Stanifer, J. W. (2016). CKD of uncertain etiology: A systematic review. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 11(3), 379–385. <https://doi.org/10.2215/CJN.07500715>
- Luyckx, V. A., Tuttle, K. R., Garcia-Garcia, G., Gharbi, M. B., Heerspink, H. J. L., Johnson, D. W., Liu, Z. H., Massy, Z. A., Moe, O., Nelson, R. G., Sola, L., Wheeler D. C., White, S. L. (2017). Reducing major risk factors for chronic kidney disease. *Kidney International Supplements*, 7(2), 71–87.
<https://doi.org/10.1016/j.kisu.2017.07.003>
- Macías-García, C., & Mazari-Hiriart, M. (2018). *Estudio sobre el estado actual de mantos acuíferos, la explotación de pozos, el abasto real y la demanda actual y potencial del líquido en la Ciudad de México*. Retrieved from:
<https://ces.cdmx.gob.mx/storage/app/media/ESTUDIO%20MANTOS%20ACUIFEROS.pdf>
- Malaki M. The cutoff 1st day urine specific gravity in critically ill children (2017): Predictive factor for early abnormal glomerular filtration rate. *Saudi J Kidney Dis Transpl* [serial online] 28:435-436. Available from: <http://www.sjkd.org/text.asp?2017/28/2/435/202782>
- McWilliam, S. J., Antoine, D. J., Sabbisetti, V., Pearce, R. E., Jorgensen, A. L., Lin, Y., Leeder, J. C., Bonventre, J. V., Smyth, R. L., Pirmohamed, M. (2014). Reference intervals for urinary renal injury biomarkers KIM-1 and NGAL in healthy children. *Biomarkers in Medicine*, 8(10), 1189–1197.
<https://doi.org/10.2217/bmm.14.36>
- Medeiros-Domingo, M., & Muñoz Arizpe, R. (2011). Kidney disease in children. A public health problem. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 68(4):259-261.
- Medeiros, M., Andrade Veneros, G. D., Toussaint Martínez de Castro, G., Ortiz Vásquez, L., Hernández Sánchez, A. M., Olvera, N., Obrador Vera, G. T., Velásquez Jones, L. (2015). Prevalencia de enfermedad renal en niños aparentemente sanos con antecedente familiar de terapia de reemplazo

- renal. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*, 72(4), 257–261. <https://doi.org/10.1016/j.bmhmx.2015.07.004>
- Mehri A. (2020). Trace elements in human nutrition (II) – An update. *Int J Prev Med* 11(2), 1-17 <http://www.ijpvmjournal.net/text.asp?2020/11/1/2/275129>
- Mikhelson K.N. (2013) Ion-Selective Electrode Characteristics. In: *Ion-Selective Electrodes. Lecture Notes in Chemistry*, vol 81. Springer, Berlin, Heidelberg
- Moreno, M. E., Acosta-Saavedra, L. C., Meza-Figueroa, D., Vera, E., Cebrian, M. E., Ostrosky-Wegman, P., Calderon-Aranda, E. S. (2010). Biomonitoring of metal in children living in a mine tailings zone in Southern Mexico: A pilot study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213(4), 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2010.03.005>
- Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., González-Hernández, G., Romero, F., Lozano, R., Beramendi-Orosco, L. E. (2009). Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico City. *Journal of Geochemical Exploration*, 101(3), 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2008.07.002>
- Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., Lozano, R., Guzmán-Morales, J., & Martínez, G. (2010). Spatial distribution of heavy metals in topsoils around the industrial facilities of Cromatos de México, Tultitlan Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(5), 520–524. <https://doi.org/10.1007/s00128-010-0124-8>
- Mussap, M., Noto, A., Fanos, V., Van Den Anker, J. N. (2014). Emerging biomarkers and metabolomics for assessing toxic nephropathy and acute kidney injury (AKI) in neonatology. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/602526>
- Nishida, M., Kawakatsu, H., Okumura, Y., Hamaoka, K. (2010). Serum and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels in children with chronic renal diseases. *Pediatrics International*, 52(4), 563–568. <https://doi.org/10.1111/j.1442-200X.2010.03067.x>
- Ng, D. K., Schwartz, G. J., Warady, B. A., Muñoz, A. (2017). Relationships of measured Iohexol GFR and estimated GFR with CKD-related biomarkers in children and adolescents. *Physiology & Behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Ortiz-Pérez, M. D. (2019). Panorama de la calidad de agua de consumo humano en México. En L. M. Del Razo, J. M. Ledón, & M. N. Velasco, *Arsénico y fluoruro en agua: riesgos y perspectivas desde la sociedad civil y la academia en México* (págs. 17-20). México: Secretaría de Gobernación.
- Pantic, I., Tamayo-Ortiz, M., Rosa-Parra, A., Bautista-Arredondo, L., Wright, R. O., Peterson, K. E., Schnaas, L., Rothenberg, S. J., Hu, H., Téllez-Rojo, M. M. (2018). Children's blood lead concentrations from 1988 to 2015 in Mexico City: The contribution of lead in air and traditional lead-glazed ceramics. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(10). <https://doi.org/10.3390/ijerph15102153>
- Phadke, K. D., Goodyer, P., Bitzan, M. (2014). *Manual of Pediatric Nephrology* (Vol. 53). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-12483-9>

- Pearson, M. A., Lu, C., Schmotzer, B. J., Waller, L. A., Riederer, A. M. (2009). Evaluation of physiological measures for correcting variation in urinary output: Implications for assessing environmental chemical exposure in children. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 19(3), 336–342. <https://doi.org/10.1038/jes.2008.48>
- Pérez-Herrera, N., Díaz de León-Martínez, L., Flores-Ramírez, R., Barbier, O., Ortega-Romero, M., May-Euán, F., Saldaña-Villanueva K., Perera-Ríos, J., Pérez-Vázquez, F. J. (2019). Evaluation of Benzene Exposure and Early Biomarkers of Kidney Damage in Children Exposed to Solvents Due to Precarious Work in Ticul, Yucatán, México. *Annals of Global Health*, 85(1), 1–8. <https://doi.org/10.5334/aogh.2482>
- Personal Care Product Council, Washington, DC (2017). Obtenido de: <http://www.cosmeticsinfo.org/>
- Peters, B. A., Hall, M. N., Liu, X., Neugut, Y. D., Pilsner, J. R., Levy, D., Ilievski, V., Slavkovich, V., Islam, T., Factor-Litvak, P., Graziano, J. H. & Gamble, M. V. (2014). Creatinine, arsenic metabolism, and renal function in an arsenic-exposed population in Bangladesh. *PLoS ONE*, 9(12), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113760>
- Poddalgoda, D., Macey, K., Assad, H., Krishnan, K. (2017). Development of biomonitoring equivalents for barium in urine and plasma for interpreting human biomonitoring data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 86, 303–311. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.03.022>
- Poddalgoda, D., Macey, K., Hancock, S. (2019). Derivation of biomonitoring equivalents (BE values) for zinc. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 106, 178–186. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.04.018>
- Pottel, H., Hoste, L., Delanaye, P. (2015). Abnormal glomerular filtration rate in children, adolescents, and young adults PubMed Commons. *Pediatric Nephrology (Berlin, Germany)*, 30(5), 821–828. <https://doi.org/10.1007/s00467-014-3002-5>.
- Prozialeck, W. C., Lamar, P. C., & Edwards, J. R. (2016). Effects of sub-chronic Cd exposure on levels of copper, selenium, zinc, iron and other essential metals in rat renal cortex. *Toxicology Reports*, 3, 740–746. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.09.005>
- Salcedo, A. (2015). La crisis del agua en la Ciudad de México. 1(Conclusiones del foro de consulta educación media superior, Hidalgo 2014), 1–13.
- Salinas-Arreortua, L. A. (2017). Gestión metropolitana en la Zona Metropolitana del Valle de México: Entre la legalidad y la voluntad política. *Papeles de Población*, 23(91), 143–169. <https://doi.org/10.22185/24487147.2017.91.007>
- Samuels, J., & Samuel, J. (2018). New guidelines for hypertension in children and adolescents. *The Journal of Clinical Hypertension*, 20(5), 837–839. <https://doi.org/10.1111/jch.13285>
- Saravanabhavan, G., Werry, K., Walker, M., Haines, D., Malowany, M., Khoury, C. (2017). Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007–2013. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220(2), 189–200. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.10.006>

- Schiffli, H., & Lang, S. M. (2012). Update on Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 16(4), 199–207. <https://doi.org/10.1007/bf03262209>
- Schwartz, G. J., & Work, D. F. (2009). Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 4(11), 1832–1843. <https://doi.org/10.2215/CJN.01640309>
- SEDEMA. (2016). *Inventario de Emisiones de la Ciudad de México 2016 (Reporte)*. Obtenido de www.sedema.cdmx.gob.mx
- Shamah-Levy, T., Ruiz-Matus, C., Rivera-Dommarco, J., Kuri-Morales, P., Cuevas-Nasu, L., Jiménez-Coron, M., Gómez-Acosta, LM Hernández-Ávila, M. (2017). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016*. Obtenido de: https://www.insp.mx/images/stories/2017/Avisos/docs/180315_encuesta_nacional_de_salud_y_nutricion_de_medio_Ca.pdf
- Skröder, H., Hawkesworth, S., Kippler, M., El Arifeen, S., Wagatsuma, Y., Moore, S. E., & Vahter, M. (2015). Kidney function and blood pressure in preschool-aged children exposed to cadmium and arsenic - potential alleviation by selenium. *Environmental Research*, 140, 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.038>
- Suárez, E. L., Pérez, C. M., Nogueras, G. M., & Moreno-Gorrín, C. (2016). Biostatistics in Public Health Using STATA. In *Biostatistics in Public Health Using STATA*. <https://doi.org/10.1201/b19547>
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., Sutton, D. J. (2012). Molecular, clinical and environmental toxicology Volume 3: *Environmental Toxicology. Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, 101, 133–164. <https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4>
- Turk, V., & Bode, W. (1991). The cystatins: Protein inhibitors of cysteine proteinases. *FEBS Letters*, 285(2), 213–219. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(91\)80804-C](https://doi.org/10.1016/0014-5793(91)80804-C)
- US EPA. (2006). *Data quality assessment: Statistical methods for practitioners*. EPA QA/G-9S. (February), 198. Obtenido de: <https://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi/900B0D00.PDF?Dockey=900B0D00.PDF>
- Vanmassenhove, J., Vanholder, R., Nagler, E., Van Biesen, W. (2013). Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: An in-depth review of the literature. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 28(2), 254–273. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs380>
- Yang, F., Yi, X., Guo, J., Xu, S., Xiao, Y., Huang, X., Yuan H., He m., Shen M. & Chen, X. (2019). Association of plasma and urine metals levels with kidney function: A population-based cross-sectional study in China. *Chemosphere*, 226, 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.171>
- Yu, S., Qi, X., Hu, Y., Zheng, W., Wang, Q., & Yao, H. (2019). Overview of multivariate regression model analysis and application. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 53(3), 334–336. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.03.020>
- Wasung, M. E., Chawla, L. S., Madero, M. (2015). Biomarkers of renal function, which and when? *Clinica Chimica Acta*, 438(1), 350–357. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.08.039>

- Weidemann, D., Kuo, C. C., Navas-Acien, A., Abraham, A. G., Weaver, V., & Fadrowski, J. (2015). Association of arsenic with kidney function in adolescents and young adults: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2009-2012. *Environmental Research*, 140, 317–324. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.030>
- WHO World Health Organization (1996). Trace elements in human nutrition and health. *World Health Organization*. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/9241561734_eng
- WHO World Health Organization (2009). AnthroPlus for Personal Computers. Manual: Software for assessing growth of the world's children and adolescents. Geneva, 1–45. Retrieved from <http://www.who.int/growthref/tools/en/>
- WHO World Health Organization. (2014). Health for the World's Adolescents. *World Health Organization*. <https://doi.org/10.1002/eji.1830221131>
- Zhao, X., Zhang, Y., Li, L., Mann, D., Imig, J. D., Emmett, N., Gibbons, G., Jin, L. M. (2011). Glomerular expression of kidney injury molecule-1 and podocytopenia in diabetic glomerulopathy. *American Journal of Nephrology*, 34(3), 268–280. <https://doi.org/10.1159/000330187>
- Zhao, N., Lu, X., & Chao, S. (2016). Risk assessment of potentially toxic elements in smaller than 100- μ m street dust particles from a valley-city in northwestern China. *Environmental Geochemistry and Health*, 38(2), 483–496. <https://doi.org/10.1007/s10653-015-9734-8>

8 Anexo

Tabla ANX 1. Antecedentes perinatales y dieta de los participantes.

Características	n	%
Prematuros		
si	25	11.6
Bajo peso al nacer		
assi	20	9.26
Dieta		
Vasos de agua/diario (mediana, RIQ)	4	(3-7)
Bebidas endulzadas/diario (mediana, RIQ)	1	(1-2)
Carne/semanal (mediana, RIQ)	2	(2-3)
Verdura/semanal (mediana, RIQ)	5	(3-7)

Tabla ANX 2. Porcentaje de familiares con enfermedades relacionadas con ERC.

Variable	n	%
Diabetes		
Padre	15	8.52
Madre	6	3.73
Abuelos	121	66.5
Hipertensión		
Padre	14	8.38
Madre	12	6.28
Abuelos	121	66.5
Enfermedad renal		
Padre	2	1.20
Madre	1	0.63
Abuelos	15	8.24
Cáncer		
Padre	2	1.20
Madre	5	3.09
Abuelos	43	23.6

Tabla ANX 3. Tipo de agua para consumo, hábitos tabáquicos de los padre y exposición ambiental.

Variable	n	%
Agua para cocinar		
Embotellada	158	74.18
De la llave	42	19.72
Agua para tomar		
Embotellada	192	90.14
De la llave	16	7.5
Hábitos tabáquicos de padres		
Padre	52	30.06
Madre	31	19.00
Exposición ambiental		
Insecticida	109	50.7
Trastes de barro vidriado	47	21.8
Viven cerca de fábrica	20	9.3
Viven cerca de un río	22	10.3

Tabla ANX 4. Modelos de regresión lineal múltiple robusta de los niveles de TFGe (mL/min/1.73m²) considerando la normalización de la variable predictora con creatinina y densidad urinaria.

		Sin normalizar			Normalizado con creatinina urinaria			Normalizado con densidad urinaria		
Variable predictora	n	β	p	% R ²	β	p	R ²	β	p	% R ²
Litio, $\mu\text{g/L}$	212	0.01	0.075	10.51	0.04	<0.001	14.24	0.26	0.258	9.78
sexo (femenino)		6.06	<0.001		5.89	<0.001		6.02	<0.001	
edad (adolescentes)		3.89	0.03		5.33	0.004		3.92	0.030	
Arsénico total $\mu\text{g/L}$	212	0.08	0.101	14.84	0.09	0.053	15.27	0.07	0.079	14.74
sexo (femenino)		5.73	<0.001		5.78	<0.001		5.66	0.001	
edad (adolescentes)		4.80	0.006		5.43	0.002		4.61	0.008	
z-score estatura		2.84	<0.001		2.96	<0.001		2.81	<0.001	
Cobre, $\mu\text{g/L}$	170	-0.04	<0.001	12.1	-0.04	0.148	11.1	-0.047	<0.001	11.96
sexo (femenino)		4.62	0.012		4.61	0.013		4.681	0.011	
edad (adolescentes)		4.21	0.040		4.04	0.05		4.144	0.045	
z-score estatura		2.45	0.001		2.50	0.001		2.400	0.002	
Selenio, $\mu\text{g/L}$	210	-0.04	0.032	16.19	0.002	0.904	14.3	-0.004	0.718	14.08
sexo (femenino)		5.78	<0.001		5.779	<0.001		5.920	<0.001	
edad (adolescentes)		4.79	0.006		5.301	0.004		5.142	0.004	
z-score estatura		3.18	<0.001		2.963	<0.001		2.905	<0.001	
Yodo, $\mu\text{g/L}$	206	0.008	0.008	13.26	0.008	0.066	12.66	0.010	0.006	19.94
sexo (femenino)		6.514	<0.001		6.339	<0.001		5.192	0.002	
número de veces de consumo de carne		-1.056	0.038		-1.150	0.022		4.562	0.008	
Cesio, $\mu\text{g/L}$	206	-0.37	0.105	10.32	-0.033	0.872	9.16	0.02	0.671	10.49
z-score estatura		2.74	<0.001		2.660	0.001		2.66	0.001	
número de veces de consumo de carne		-1.71	0.001		-1.69	0.001		-1.69	<0.001	

Tabla ANX 5. Modelos de regresión lineal múltiple de las concentraciones urinarias de NGAL (ng/mL) en la población de estudio considerando la dilución mediante el ajuste de la variable predictora con creatinina y densidad urinaria.

Variable predictora	n	sin ajustar			ajuste con creatinina urinaria			ajuste con densidad urinaria		
		β	p	% R ²	β	p	% R ²	β	p	% R ²
Litio. $\mu\text{g/L}$	197	-0.01	0.064	15.28	-0.03	0.040	21.81	-0.02	0.071	18.01
con proteinuria		22.98	0.085		19.55	0.078		21.98	0.084	
con leucocitos		6.77	0.011		5.90	0.007		7.32	0.012	
ajuste		-	-		6.63	0.068		440.28	0.177	
Fluoruro. mg/L	197	-3.89	0.150	21.76	-8.66	0.077	27.77	-8.74	0.115	25.19
trazas		11.35	0.036		10.85	0.035		11.63	0.028	
proteinuria		24.53	0.062		20.45	0.048		22.77	0.058	
con leucocitos		5.78	0.013		5.34	0.008		6.78	0.016	
ajuste	-	-	-	6.66	0.081	553.62	0.158			
Boro, $\mu\text{g/L}$	197	-0.0007	0.036	14.94	-0.002	0.041	20.13	-0.001	0.071	16.99
Con leucocitos		7.01	0.011		6.53	0.007		7.66	0.013	
proteinuria		22.57	0.091		19.15	0.093		21.39	0.097	
ajuste		-	-		5.68	0.082		368.53	0.2115	
Cobre. $\mu\text{g/L}$	159	0.02	0	16.64	0.009	0.397	21.44	0.01	0.064	18.17
con proteínas		5.56	0.037		5.133	0.033		5.97	0.041	
con leucocitos		14.10	0.015		12.602	0.009		13.83	0.012	
ajuste		-	-		5.415	0.118		308.13	0.257	
Selenio. $\mu\text{g/L}$	195	-0.02	0.097	7.18	-0.06	0.011	16.04	-0.04	0.02	10.73
con leucocitos		5.76	0.025		4.81	0.021		6.30	0.024	
sexo (femenino)		4.44	0.001		5.35	0.003		5.33	0.003	
ajuste		-	-		7.37	0.058		481.84	0.118	

Tabla ANX 6. Modelos de regresión lineal múltiple de las concentraciones urinarias de Cis-C (ng/mL) en la población de estudio, considerando la dilución mediante el ajuste de la variable predictora con creatinina y densidad urinaria.

		sin ajustar			ajuste con creatinina urinaria			ajuste con densidad urinaria		
Variable predictora	n	β	p	% R ²	β	p	% R ²	β	p	%R ²
Fluoruro, mg/L	211	2.4	0.156	4.2	2.2	0.077	4.27	2.1	0.282	4.28
z-score-ime		-1.1	0.013		-1.1	0.035		-1.1	0.013	
proteinuria		3.0	0.151		2.7	0.048		2.8	0.186	
ajuste		-	-		0.4	0.008		49.0	0.669	
Cobre. μ g/L	169	0.04	<0.001	10.77	0.04	<0.001	12.84	0.04	<0.001	12.2
z-score-IMC		-1.09	0.068		-1.12	0.06		-1.09	0.068	
proteinuria		3.65	0.065		2.83	0.189		3.38	0.118	
pH		3.18	0.047		3.89	0.021		3.75	0.037	
ajuste		-	-		2.17	0.026		182.64	0.200	
Zinc. μ g/L	210	-0.004	0.062	5.07	-0.007	0.004	7.15	-0.006	0.005	7.21
z-score-IMC		-1.087	0.026		-1.040	0.031		-1.045	0.03	
con proteínas		4.224	0.013		3.950	0.019		4.342	0.01	
ajuste		-	-		2.701	0.019		266.116	0.017	

Tabla ANX 7. Modelos de regresión lineal múltiple de las concentraciones de KIM-1 urinario (pg/mL) en la población de estudio considerando la dilución mediante el ajuste con creatinina y la densidad urinaria.

		Sin ajustar			Ajuste con creatinina urinaria			Ajuste con densidad urinaria		
Variable predictora	n	β	p	% R ²	β	p	% R ²	β	p	% R ²
Cobre. μ g/L	21	2.03	<0.001	75.80	2.03	<0.001	74.38	2.06	<0.001	74.47
Sexo (femenino)		112.28	0.101		112.70	0.121		102.00	0.217	
Ajuste		-	-		1.57	0.981		-1282.68	0.815	

Tabla ANX 8. Análisis de regresión logística poliatómica de la concentración de NGAL y los EPT urinarios de la población de estudio.

NGAL ng/mL	EPT	Modelo 1 Sin ajustar		Modelo 2 Ajustado sexo, presencia de proteínas	
Q	EPT	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
Q1	Ba	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		1.38(0.92-2.07)	0.114	1.33(0.88-2.02)	0.17
Q3		1.70(1.09-2.65)	0.02	1.68(1.06-2.66)	0.03
Q4		1.12(0.73-1.71)	0.587	1.01(0.62-1.62)	0.97
Q1	F-	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		0.56(0.39-0.80)	0.00	0.56(0.39-0.83)	0.00
Q3		0.70(0.48-1.00)	0.05	0.72(0.49-1.05)	0.09
Q4		0.86(0.60-1.24)	0.45	0.86(0.57-1.29)	0.47
Q1	Li	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		0.92(0.65-1.30)	0.64	0.91(0.63-1.29)	0.59
Q3		0.66(0.46-0.95)	0.03	0.66(0.46-0.96)	0.03
Q4		0.70(0.49-1.01)	0.06	0.66(0.43-0.99)	0.04
Q1	Cs	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		0.89(0.63-1.27)	0.52	0.91(0.63-1.30)	0.60
Q3		0.64(0.45-0.93)	0.02	0.66(0.43-0.97)	0.03
Q4		0.99(0.70-1.41)	0.98	0.99(0.66-1.48)	0.98
Q1	Cu	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		0.95(0.63-1.40)	0.79	0.94(0.63-1.41)	0.78
Q3		0.60(0.39-0.93)	0.03	0.57(0.36-0.91)	0.02
Q4		0.75(0.51-1.11)	0.16	0.64(0.41-1.00)	0.05
Q1	AsT	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		0.66(0.45-0.94)	0.02	0.66(0.48-0.96)	0.03
Q3		0.63(0.43-0.92)	0.02	0.64(0.44-0.94)	0.02
Q4		0.98(0.68-1.40)	0.91	1.03(0.69-1.56)	0.87
Q1	Se	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		0.76(0.53-1.09)	0.15	0.75(0.52-1.09)	0.14
Q3		0.54(0.37-0.80)	0.00	0.53(0.36-0.79)	0.00
Q4		0.56(0.38-0.82)	0.00	0.56(0.37-0.85)	0.01
Q1	Mo	0 (referencia)	-	0 (referencia)	-
Q2		0.76(0.54-1.09)	0.15	0.83(0.58-1.19)	0.32
Q3		0.53(0.37-0.79)	0.00	0.58(0.39-0.86)	0.01
Q4		0.91(0.64-1.31)	0.63	1.00(0.67-1.52)	0.96