



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

## MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**ASOCIACIÓN ENTRE VITAMINA D Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN  
POBLACIÓN INFANTIL EXPUESTA A FLÚOR Y ARSÉNICO A TRAVÉS DEL AGUA  
DE CONSUMO EN UNA COMUNIDAD RURAL DE SAN LUIS POTOSÍ**

PRESENTA:

**L.N. LUIS ANDRÉS CAMPILLO CORTÉS**

**DIRECTOR DE TESIS:**

DR. JOSÉ DE JESÚS MEJÍA SAAVEDRA

**ASESORES:**

DRA. ANA CRISTINA CUBILLAS TEJEDA

DR. JUAN CARLOS GARCÍA LÓPEZ

**24 DE AGOSTO DE 2018**

## **CRÉDITOS INSTITUCIONALES**

**PROYECTO REALIZADO EN:**

**EL CENTRO DE INVESTIGACIÓN APLICADA EN AMBIENTE Y SALUD, CIACYT-  
FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**CON FINANCIAMIENTO DE:**

**FONDO SECTORIAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD Y  
SEGURIDAD SOCIAL, CONACYT**

**A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:**

**EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A TRAVÉS DE LA DETERMINACIÓN DE  
VARIANTES POLIMÓRFICAS ASOCIADAS A LA EXPOSICIÓN DE FLÚOR EN  
POBLACIÓN INFANTIL EXPUESTA A HIDROFLUORÓISIS ENDÉMICA  
(CONACYT-SALUD, CLAVE 234310)**

**AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS**

**Becario No. 605865**

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO ATRAVÉS  
DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD (PNPC)**

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	8
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	11
<b>ANTECEDENTES</b> .....	12
<b>MARCO CONCEPTUAL</b> .....	13
TEJIDO ÓSEO .....	13
Desarrollo del tejido óseo: Modelado y remodelado .....	14
NUTRICIÓN .....	14
Fósforo.....	15
Calcio.....	15
Vitamina D .....	16
RIÑÓN Y BIOMARCADORES RENALES.....	17
CONTAMINANTES AMBIENTALES .....	18
Flúor.....	18
Metabolismo de fluoruro .....	19
Arsénico.....	20
Metabolismo de arsénico .....	21
<b>ZONA DE ESTUDIO</b> .....	22
<b>PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	23
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	23
<b>PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN</b> .....	25
<b>OBJETIVOS</b> .....	25
Objetivo General .....	25
Objetivos específicos .....	25
<b>HIPÓTESIS</b> .....	26

<b>PARÁMETROS EVALUADOS</b> .....	26
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	28
Diseño del estudio.....	28
Universo del trabajo .....	28
Criterios de selección.....	28
Tipo de muestreo .....	29
Tamaño de muestra.....	29
Procedimiento del estudio.....	29
<b>CONSIDERACIONES ÉTICAS</b> .....	36
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	36
<b>RESULTADOS</b> .....	38
<b>DISCUSIÓN</b> .....	51
<b>CONCLUSIONES</b> .....	61
<b>SUGERENCIAS</b> .....	62
<b>REFERENCIAS</b> .....	63
<b>ANEXOS</b> .....	77

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Categorización porcentual de 25 hidroxivitamina D en población infantil	38
Figura 2. Categorización porcentual de 1,25 dihidroxivitamina D en población infantil.....	39
Figura 3. Categorización porcentual de diagnóstico nutricio en población infantil.	40
Figura 4. Concentraciones de 25 hidroxivitamina D de acuerdo al diagnóstico nutricio en población infantil .....	41
Figura 5. Regresión lineal entre 25 hidroxivitamina D con IMC.....	42
Figura 6. Regresión lineal entre 1, 25 dihidroxivitamina D con edad.....	42

Figura 7. Distribución porcentual de flúor en orina en población infantil .....	43
Figura 8. Distribución porcentual de arsénico en orina en población infantil.....	43
Figura 9. Regresión lineal entre NGAL (ng/mgCr) con F en orina.....	45
Figura 10. Regresión lineal entre NGAL (ng/mgCr) con As en orina.....	45
Figura 11. Distribución porcentual de calcio en orina en población infantil .....	48
Figura 12. Distribución porcentual de fosfato en orina en población infantil.....	49
Figura 13. Regresión lineal entre densidad mineral ósea lumbar con fosfato en orina .....	50

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Asociación entre densidad mineral ósea y vitamina D .....	40
Tabla 2. Asociación entre mediciones antropométricas y edad con vitamina D ....	41
Tabla 3. Caracterización de biomarcadores renales .....	44
Tabla 4. Asociación entre biomarcadores tempranos de lesión renal con F y As en orina .....	44
Tabla 5. Modelos de regresión lineal multivariante para biomarcadores renales con F y As en orina .....	46
Tabla 6. Asociación entre biomarcadores renales e indicadores antropométricos y edad .....	47
Tabla 7. Modelo de regresión lineal multivariante para biomarcadores renales con IMC y edad.....	47
Tabla 8. Categorización de fosfato en orina en población infantil (Micción aislada) .....	49
Tabla 9. Asociación entre calcio urinario, fosfato urinario y 1,25 dihidroxivitamina D con F y As en orina .....	50
Tabla 10. Asociación entre calcio urinario y fosfato urinario con densidad mineral ósea .....	50

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP) y a su responsable el M.C Juan Manuel Vargas Morales y sus colaboradores el M.S.P Armando, la Maestra Patricia y la Maestra Brenda por permitirnos y ayudarnos en todo momento para la realización de los estudios bioquímicos del presente; asimismo agradezco a los laboratorios IKTAN y De La Cruz por ser colaboradores directos del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas y haber realizado los estudios de la enzima GGT y Vitamina D, respectivamente.

Agradezco al Dr. Rogelio Flores Ramírez, por brindarnos su apoyo para la cuantificación de las enzimas KIM-1, NGAL y CysC, y además apoyarme en el análisis estadístico de los datos; asimismo agradezco al Laboratorio del Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS) de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT) por permitirnos sus instalaciones para la cuantificación de flúor y arsénico.

Agradezco a mi director de tesis el Dr. José de Jesús Mejía Saavedra por brindarme la confianza y permitirme realizar un proyecto el cual me dio oportunidad de proponer, asimismo por todas las facilidades tanto académicas como económicas para poder llevar a cabo la realización de éste.

Agradezco a mis asesores la Dra. Ana Cristina Cubillas Tejeda y al Dr. Juan Carlos García López por haber estado presente en todo momento para cualquier duda y revisión de la tesis, y cuyas retroalimentaciones constantes permitieron la finalización de ésta en tiempo y forma. Agradezco al profesor Rafa director de la telesecundaria por brindarnos su apoyo en todo momento y facilitarnos el uso de las instalaciones.

Agradezco a toda mi familia por brindarme siempre su apoyo y darme ánimos para finalizar el posgrado de manera satisfactoria.

## RESUMEN

**Antecedentes:** La nutrición es un factor importante pero sobre todo modificable en el desarrollo de la masa ósea. Los seres humanos requerimos cierta cantidad de nutrientes esenciales, como la vitamina D, el calcio y el fósforo para el desarrollo correcto del hueso. Sin vitamina D el cuerpo es incapaz de absorber adecuadamente el calcio y fósforo proveniente de la dieta. Estudios recientes han demostrado elevada prevalencia de insuficiencia y deficiencia de vitamina D a nivel mundial. El riñón es el sitio principal donde se sintetiza la forma activa de la vitamina D, un daño renal puede repercutir en la síntesis de esta. Aunado a esto México es un país con un alto grado de exposición a flúor y arsénico a través del agua de consumo, elementos a los cuales se les ha relacionado con daño renal, disminución en las habilidades cognitivas, fluorosis dental y esquelética, hipertensión arterial, entre muchos otros.

**Objetivo:** Analizar la asociación entre vitamina D y densidad mineral ósea en población infantil expuesta a altas concentraciones de flúor y arsénico a través del agua de consumo en La Reforma, Salinas de Hidalgo, S.L.P.

**Metodología:** Se realizó un estudio transversal con 49 individuos de entre 7 y 14 años de edad pertenecientes a la Reforma y se evaluaron concentraciones séricas de 25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D, y niveles en orina de biomarcadores tempranos de lesión renal (GGT, KIM-1, CysC y NGAL), calcio, fosfato, creatina, flúor y arsénico.

**Resultados:** El 42.86% de la población presentó insuficiencia de vitamina D, mientras el 2.04% presentó deficiencia moderada. Niveles de 1,25 dihidroxivitamina D se encontraron normales en el 95.92% y elevados en el 4.02% de la población. Niveles de 25 hidroxivitamina y 1,25 dihidroxivitamina se encontraron asociados con densidad mineral ósea ( $p < 0.05$ ). Se encontró una asociación significativa inversa entre 25 hidroxivitamina D con IMC ( $r = -0.28$ ,  $p < 0.05$ ). Concentraciones de flúor y arsénico en orina se encontraron por encima

del IBE en el 94% y 33% de la población, respectivamente. Se observó una asociación significativa negativa entre NGAL con flúor y arsénico, mas no con otros biomarcadores tempranos de daño renal. Concentraciones de fosfato en orina se encontraron elevados en más del 50% de la población, y éste se encontró asociado con flúor ( $r=0.39$ ,  $p<0.01$ ) y densidad mineral ósea lumbar ( $r=-0.35$ ,  $p<0.05$ ) de manera significativa.

**Conclusión:** La densidad mineral ósea se encontró asociada a niveles de vitamina D en población infantil expuesta a flúor y arsénico a través del agua de consumo.

**Palabras Clave:** Vitamina D, Densidad Mineral Ósea. Flúor, Arsénico, Biomarcadores Renales.

## **ABSTRACT**

**Background:** Nutrition is an important and modifiable factor in the development of bone mass. Humans require some essential nutrients, such as vitamin D, calcium and phosphorus for the proper development of the bone. Without vitamin D the body is unable to adequately absorb calcium and phosphorus from the diet. Recent evidence has shown high prevalence of vitamin D insufficiency and deficiency worldwide. The kidney is the main site where the active form of vitamin D is synthesized; kidney damage can affect the synthesis of this. In addition to this, Mexico is a country with a high degree of exposure to fluoride and arsenic through drinking water, toxic elements which have been related to kidney damage, decreased cognitive abilities, dental and skeletal fluorosis, hypertension, among many others.

**Objective:** To analyze the association between vitamin D and bone mineral density in children exposed to high levels of fluoride and arsenic through drinking water in La Reforma, Salinas de Hidalgo, S.L.P.

**Methods:** A cross sectional study of 49 individuals between 7 and 14 years old was conducted in La Reforma. Serum concentrations of 25 hydroxyvitamin D and 1,25 dihydroxyvitamin D as well as urine levels of early biomarkers of kidney injury (GGT, KIM-1, CysC and NGAL), calcium, phosphate, creatinine, fluoride and arsenic were evaluated.

**Results:** 42.6% of the subjects had insufficiency of 25 hydroxyvitamin D and 2.04% moderate deficiency. Levels of 1,25 dihydroxyvitamin D were found normal in the 95.92% of the subjects and elevated in the 4.02%. Levels of 25 hydroxyvitamin D and 1,25 dihydroxyvitamin D were significantly associated with bone mineral density ( $p < 0.05$ ). A significant inverse association was found between 25 hydroxyvitamin D with BMI ( $r = -0.28$ ,  $p < 0.05$ ). Concentrations of fluoride and arsenic in urine were found above the BEI in 94% and 33% of the subjects, respectively. A negative association between NGAL with fluoride and arsenic was observed. Phosphate levels were found increased in above the half percent in the subjects, and was significantly associated with fluoride ( $r = 0.39$ ,  $p < 0.01$ ) and lumbar bone mineral density ( $r = -0.35$ ,  $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Bone mineral density is associated with vitamin D levels in children exposed to fluoride and arsenic through drinking water.

**Key Words:** Vitamin D, Bone Mineral Density, Fluoride, Arsenic, Renal Biomarkers

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la masa ósea ocurre de manera principal durante la infancia y la adolescencia, y su correcta consecución hasta la edad adulta depende de múltiples factores, entre los que destacan la nutrición como uno de los más importantes. La ingesta adecuada de nutrientes como el calcio, el fósforo y la vitamina D es esencial para el desarrollo estructural y funcional del hueso, siendo la vitamina D la reguladora de los dos primeros (Suárez Cortina et al., 2011).

En la actualidad, existe una gran prevalencia de insuficiencia de vitamina D en población infantil alrededor del mundo, en México la prevalencia de insuficiencia y deficiencia de vitamina D en niños de 6 a 12 años de edad es del 18% y 10% respectivamente (Flores et al., 2006)

A la insuficiencia y deficiencia de vitamina D se le ha asociado con efectos adversos para la salud, como raquitismo, osteomalacia, sarcopenia, retardo de crecimiento, hipocalcemia, enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, cáncer (colón, próstata, pecho), enfermedades infecciosas y autoinmunes, entre otros (Ariganjoye, 2017).

Entre las principales causas que pueden provocar una deficiencia de vitamina D se encuentra una ingesta o síntesis inadecuada de esta (Holick, 2007); un daño a nivel renal, sitio principal donde se genera la forma activa de la vitamina D, puede repercutir en la síntesis correcta de vitamina D y disminuirla progresivamente (Dusso, 2011).

Aunado a esto, en México cerca del 75% de la población es suministrada con agua subterránea, la cual suele encontrarse altamente contaminada con flúor y arsénico (Armienta & Segovia, 2008), la exposición aguda o crónica a éstos elementos puede resultar perjudicial para el riñón (Santoyo-Sanchez, del Carmen Silva-Lucero, Arreola-Mendoza, & Barbier, 2013; Weidemann, Weaver, & Fadrowski, 2016).

La exposición a contaminantes ambientales en etapas tempranas de la vida no solamente se encuentra asociada con enfermedades durante la niñez, sino puede tener efectos irreversibles para la salud durante la adultez (Barker, 2004).

## **ANTECEDENTES**

El presente estudio continúa con la línea de investigación la cual se ha venido trabajando por Mejía y colaboradores (2015) en la población de La Reforma, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí.

De acuerdo al contexto de que en México se han reportado concentraciones superiores al límite permisible establecido por la NOM-127-SSA1-1994 (SSA, 2002) en aguas subterráneas de flúor (1.5 mg/L) en los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Estado de México, Guanajuato, Jalisco, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas; y de arsénico (0.025 mg/L) en Coahuila, Chihuahua, Durango, Hidalgo y San Luis Potosí (Vega, 2002); y la exposición crónica a fluoruro se ha asociado a fluorosis dental, fluorosis esquelética, fluorosis esquelética y efectos adversos en tejidos blandos (hígado, riñón, cerebro, entre otros) (ATSDR, 2003); mientras que se ha encontrado evidencia que la exposición crónica a arsénico tiene efectos adversos en la piel, vejiga, riñón, hígado, pulmones, cerebro, entre muchos otros (ATSDR, 2016), se procedió a caracterizar los niveles de flúor y arsénico en el agua suministrada de La Reforma.

Se registró la presencia de un alto grado de exposición a flúor (4.3 mg/L) y arsénico (0.0499 mg/L) a través del agua de consumo (Jarquín-Yáñez et al., 2015), los niveles encontrados sobrepasaron los límites permisibles establecidos (flúor, 1.5 mg/L; arsénico, 0.025 mg/L) por la NOM-127-SSA1-1994 (SSA, 2002)

Por consiguiente a que la población infantil tiene mayor vulnerabilidad a los riesgos ambientales debido a que sus órganos y sistemas aún se encuentran inmaduros (OMS, 2006) se procedió a trabajar con esta población. Dentro de los principales hallazgos reportados en la población de estudio, que consistió de niños

y niñas entre 6 a 15 años de edad, se encontró capacidad intelectual disminuida; así como prevalencia de 100% de fluorosis dental y presencia del polimorfismo rs 412777 en el gen COL1A2 relacionado con la fluorosis dental (Jarquín-Yáñez & Mejía-Saavedra, 2017).

A raíz de los resultados obtenidos que indicaban un elevado grado de exposición a flúor a través del agua de consumo y 100% de prevalencia de fluorosis dental, se procedió a evaluar cantidad de masa ósea en la población, esperando a que esta se encontrará elevada debido a que el flúor se caracteriza por incrementar la densidad mineral ósea. Los resultados reportaron lo contrario a lo esperado, se encontró incidencia de densidad mineral ósea por debajo de lo esperado para la edad en el 30.83% de la población en zona lumbar y el 10.83% en cadera.

Estos resultados llevaron al planteamiento del problema si es que la densidad mineral ósea se encuentra asociada a niveles de vitamina D en población infantil expuesta a flúor y arsénico a través del agua de consumo, tema que prosigue con la línea de investigación para la determinación de una posible explicación sobre la masa ósea disminuida en un porcentaje de la población.

## **MARCO CONCEPTUAL**

### **TEJIDO ÓSEO**

El hueso está compuesto de un 70% de minerales y un 30% de componentes orgánicos. La hidroxiapatita, que consiste principalmente en calcio y fósforo, representa el 95% del contenido mineral; mientras que la matriz, que es predominantemente colágeno tipo I, constituye el 98% del componente orgánico, (Cimaz & Ward, 2016). La hidroxiapatita le confiere al hueso su dureza característica, mientras el colágeno le provee determinada elasticidad (García & Reyes, 2006). Al contenido total de minerales (hidroxiapatita) que contiene cierto volumen de hueso se le denomina Densidad Mineral Ósea (DMO) (NIH, s/f; Yeste, Del Río, Gussinyé, & Carrascosa, 1997).

## **Desarrollo del tejido óseo: Modelado y remodelado**

El hueso se encuentra en un recambio continuo, en el cual participan principalmente dos tipos de células, los osteoblastos y los osteoclastos. Los primeros son responsables de la formación ósea mientras que los segundos se encargan de la resorción (Van der Sluis, 2001 & Mundy, 1999 citado en Hernández C., et al., 2003).

El remodelado óseo es el proceso por el cual el esqueleto es renovado en una misma superficie ósea, a través del reemplazo de hueso viejo y dañado (resorción) por tejido sano y nuevo (formación) (Cimaz & Ward, 2016). El remodelado se encuentra relacionado con la maduración ósea y el mantenimiento del esqueleto (Roberts, Huja, & Roberts, 2004). Durante la infancia y la adolescencia los valores de formación ósea son mayores que los de resorción, situación la cual permite el aumento de la masa esquelética y su alcance máximo; este proceso suele continuar hasta llegar a la tercera década de vida, etapa en la cual la resorción de hueso supera su formación, provocando una pérdida progresiva de masa ósea (Bachrach, 2001; LAFITA, 2003; Yeste et al., 1997).

El modelado óseo es el proceso por el cual el sistema esquelético es esculpido. Este suceso se presenta durante la niñez y la adolescencia, y permite el desarrollo (en tamaño y forma) y el correcto posicionamiento de los huesos (Cimaz & Ward, 2016; Roberts et al., 2004; US Department of Health and Human Services, 2004).

Durante la infancia y la adolescencia, una densidad mineral ósea disminuida interferirá con el desarrollo y crecimiento correcto del hueso, lo cual imposibilitará el máximo alcance de masa ósea e incrementará el riesgo de presentar osteoporosis en edad adulta (Carrié Fässler & Bonjour, 1995)

## **NUTRICIÓN**

La nutrición es un factor importante y modificable en el desarrollo y mantenimiento de la masa ósea. Los humanos requieren una ingesta adecuada de

nutrientes esenciales para el desarrollo y mantenimiento del hueso, entre estos nutrientes se encuentra el fósforo, el calcio y la vitamina D (Ilich & Kerstetter, 2000; Lanou, Berkow, & Barnard, 2005; Suárez Cortina et al., 2011).

### **Fósforo**

El fósforo es uno de los componentes principales de la hidroxapatita del hueso. Dentro del cuerpo humano se encuentra ligado a oxígeno formando un compuesto llamado fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Cerca del 85% del fosfato en el cuerpo se encuentra en dientes y huesos (Penido & Alon, 2012). Los niveles de fosfato en sangre dependerán de su absorción intestinal, su retención en riñón y su equilibrio extracelular con el hueso o líquidos intracelulares. La 1,25 dihidroxivitamina D favorecerá el incremento de niveles de fosfato al mejorar la absorción intestinal de éste. En riñón, el fosfato es filtrado libremente a través del glomérulo y aproximadamente el 80-90% de éste es reabsorbido por el túbulo proximal (Fukumoto, 2014).

### **Calcio**

El calcio es un elemento fundamental para la estructura del hueso. La ingesta, la rotación y las tasas de absorción y excreción del calcio determinarán la disponibilidad de éste para el crecimiento y desarrollo óseo. Durante la infancia y la adolescencia, la necesidad de calcio y la tasa de absorción son mayores que en otras edades (Peacock, 1991 citado en Lanou et al., 2005). El calcio puede ser obtenido a través de la dieta, y su correcta absorción requiere de la 1,25 dihidroxivitamina D. El almacén del calcio ocurre en el tejido óseo y una deficiente ingesta dietética de este elemento provocará la movilización de las reservas de calcio en el hueso para mantener los niveles sanguíneos normales, disminuyendo así la densidad mineral ósea (Holick, 2003).

Estudios previos en población infantil han concluido que una ingesta adecuada de calcio favorecerá el incremento y mantenimiento de la densidad mineral ósea permitiendo alcanzar su máxima adquisición en la adultez (Bonjour

et al., 1997; Chevalley, Rizzoli, Hans, Ferrari, & Bonjour, 2005; Suárez Cortina et al., 2011).

## **Vitamina D**

La vitamina D es una prohormona (molécula precursora de una hormona) y nutriente liposoluble esencial para la absorción de calcio y fósforo en el intestino delgado (Misra, Pacaud, Petryk, & Collett-solberg, 2008). En un estado sin vitamina D, el intestino delgado absorbe no más del 15% del calcio y 60% del fósforo provenientes de la dieta; mientras que en una persona con suficiente vitamina D, el intestino delgado absorbe en promedio el 30% del calcio y 80% del fósforo de la dieta. Durante el crecimiento, la lactancia y el embarazo, la eficiencia de absorción de calcio incrementa hasta un 80% (Holick, 2002).

El ser humano puede obtener la vitamina D en forma de:

- Ergocalciferol (Vitamina D2): Derivado vegetal, producido por la irradiación ultravioleta B (UVB) del ergosterol en plantas, levaduras y hongos. Generalmente es usado para la fortificación de alimentos y puede ser obtenido a través de la dieta.
- Colecalciferol (Vitamina D3): Producto sintetizado en seres humanos y algunos animales a partir del 7-dehidrocolesterol, durante la exposición de la piel a la radiación ultravioleta B (UVB) (Bikle, 2014; Holick, 2003; Misra et al., 2008).

Ambos productos se encuentran biológicamente inactivos y para cumplir con la función de absorción de calcio y fósforo se requieren metabolizar a su forma activa. El proceso inicia con la entrada del ergocalciferol (Vitamina D2) y colecalciferol (Vitamina D3) a circulación sanguínea, donde son transportados hacia el hígado por la proteína de fijación a la vitamina D. En el hígado ambas formas de vitamina D son hidroxiladas por la enzima D-25-hidroxilasa (25-OHase) para formar la 25 hidroxivitamina D (Calcidiol). Una vez formada, la 25 hidroxivitamina D vuelve a la circulación y es transportada hacia los riñones, donde ocurre una segunda hidroxilación por la enzima 1- $\alpha$  hidroxilasa para formar

la 1,25 dihidroxivitamina D (Calcitriol), forma activa de la vitamina D que propicia la absorción de calcio y fósforo proveniente de la dieta en el intestino delgado (Bikle, 2014; Holick, 2003; Misra et al., 2008; Volmer, Mendes, & Stokes, 2015).

Diferentes autores han confirmado que un déficit de vitamina D en etapas tempranas de la vida se encuentra asociado con raquitismo y osteomalacia, y además interferirá con el máximo alcance de masa ósea e incrementará el riesgo de presentar osteoporosis en edad adulta (Carrié Fässler & Bonjour, 1995; Flores et al., 2006; Holick, 2006; Suárez Cortina et al., 2011).

## RIÑÓN Y BIOMARCADORES RENALES

El riñón es el sitio principal donde ocurre la síntesis de 1,25 dihidroxivitamina D, la forma activa de la vitamina D cuya función consiste en la absorción de calcio y fósforo en el intestino delgado. La enzima 1- $\alpha$  hidroxilasa, sintetizada en el túbulo proximal, es la encargada de la conversión de la 25 hidroxivitamina D a 1,25 dihidroxivitamina D (Dusso, 2011). La presencia de un daño renal puede repercutir en la síntesis de la forma activa de la vitamina D (Peña Rodríguez, 2004).

Un daño renal es definido como cualquier anomalía estructural o funcional del riñón, el cual inicialmente no presenta una disminución del volumen de filtración glomerular (VFG) pero progresivamente puede ocurrir esta (NKF, 2002). En etapas tempranas de daño renal puede ocurrir una disminución en la síntesis de la 1,25 dihidroxivitamina D (Lorenzo Sellares & Torregrosa, 2008; Peña Rodríguez, 2004). Conforme el daño renal aumenta la 1,25 dihidroxivitamina D tiende a disminuir progresivamente (Dusso, 2011; Slatopolsky, Brown, & Dusso, 2001).

El diagnóstico de un daño renal agudo suele realizarse mediante mediciones de nitrógeno ureico en sangre (BUN) y creatinina sérica, sin embargo estos biomarcadores no cuentan con la sensibilidad y especificidad necesaria para el diagnóstico de este por dos razones principales:

- Se encuentran afectados por diversos factores renales y no renales que son independientes del daño renal o la función renal.
- Son biomarcadores tardíos que reflejan daño renal hasta que el VFG ha disminuido y no antes (Edelstein, 2008).

Por este motivo distintos autores han concluido que los biomarcadores a utilizar deben ser aquellos los cuales cuenten con la suficiente especificidad y sensibilidad necesaria para detectar daño renal en las primeras etapas y no hasta que el VFG ha disminuido (Edelstein, 2008; Waikar & Bonventre, 2008). La molécula de lesión renal-1 (KIM-1), la cistatina C (CysC), la lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) y la  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa (GGT) son considerados novedosos biomarcadores tempranos de daño renal y pueden ser utilizados para diagnosticar disfunción del túbulo proximal incluso antes de que ocurra una alteración a nivel glomerular (Ambade et al., 2006; Edelstein, 2008; Espinosa-sevilla, Amezcua-macías, Ruiz-palacios, Rodríguez-weber, & Díaz-greene, 2013; Salem, El-Habashy, Saeid, El-Tawil, & Tawfik, 2002; Santoyo-Sanchez et al., 2013; Waikar & Bonventre, 2008).

## CONTAMINANTES AMBIENTALES

### Flúor

El flúor (F) es un elemento reactivo el cual nunca se encuentra en estado libre en la naturaleza, siempre se encuentra combinado con otros elementos formando compuestos llamados fluoruros (ATSDR, 2003; Barbier, Arreola-Mendoza, & Del Razo, 2010). Los fluoruros se encuentran presentes en suelos, rocas y aguas de manera natural en todo el mundo.

Las principales fuentes de exposición de los seres humanos a los fluoruros ocurren a través de la ingesta de agua y alimentos contaminados con estos compuestos, y por el uso de productos dentales con flúor (Everett, 2011). En México se han reportado concentraciones de flúor superiores al límite permisible (1.5 mg/L) por la NOM-127-SSA1-1994 (SSA, 2002) en aguas subterráneas en los

estados de Aguascalientes, Chihuahua, Durango, Estado de México, Guanajuato, Jalisco, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas (Vega, 2002).

La exposición crónica a fluoruro tiene efectos adversos en tejido óseo y tejidos blandos (hígado, riñón, cerebro, entre otros). El hígado y el riñón son los órganos mayormente perjudicados por cantidades excesivas de fluoruro. Dosis altas ingeridas de fluoruro se han asociado a cambios de estructura, función y metabolismo en hígado y riñón (Santoyo-Sanchez et al., 2013; Yang & Liang, 2011). En riñón una exposición aguda o crónica a fluoruro puede inducir a una disfunción tubular significativa, esto debido a que las células epiteliales del túbulo proximal son el principal blanco de los fluoruros en este órgano (Santoyo-Sanchez et al., 2013).

### **Metabolismo de fluoruro**

El flúor es absorbido principalmente a través del tracto gastrointestinal; la absorción de este depende de múltiples factores, entre los que se encuentran la concentración, la solubilidad y el grado de ionización del compuesto. La ingesta simultánea de minerales provenientes de la dieta como el calcio, el magnesio, el aluminio y el boro permite reducir la absorción total del flúor en el organismo (Rivas Gutierrez & Huerta Vega, 2005).

La concentración plasmática de flúor no es regulada por homeostasis, sino se encuentra directamente relacionada con los niveles de ingesta de éste. En áreas de elevada exposición a fluoruro se encuentran variaciones diarias considerables en los niveles plasmáticos de éste (Rivas Gutiérrez & Huerta Vega, 2005).

La tasa de absorción gástrica de flúor es dependiente a niveles de PH en estómago, a mayor acidez mayor será el porcentaje de absorción (Whitford & Pashley, 1984). Una vez en estómago el fluoruro iónico es convertido en ácido fluorhídrico (HF), el cual pasa rápidamente a través de las membranas biológicas por difusión pasiva y se dirige a plasma. El fluoruro no absorbido en estómago se

dirige a intestino delgado donde puede ser absorbido por un proceso de difusión pasiva a través de las microvellosidades de la pared intestinal o excretado a través de las heces fecales. La concentración plasmática máxima de flúor se alcanza en un tiempo menor a una hora, y una vez en plasma se distribuye por todo el organismo. Cerca del 50-70% del fluoruro absorbido es eliminado a través de la orina, sudor, saliva y leche, el fluoruro restante (30-50%) es distribuido hacia tejidos blandos donde existe una mayor irrigación sanguínea (corazón, hígado y riñón) y tejidos calcificados debido a su gran afinidad hacia estos (huesos y dientes) (Ghosh, Mukherjee, Ghosh, & Saha, 2013; Ranjan & Ranjan, 2015; Rivas Gutiérrez & Huerta Vega, 2005; Samuel, Fomon, Ziegler, & Nelson, 1994).

El fluoruro al ser un elemento altamente electronegativo tiende a ser atraído de manera frecuente por iones cargados positivamente como el  $\text{Ca}^{2+}$ . En hueso, una elevada ingesta de flúor provocará que el enlace hidroxil de la hidroxiapatita sea reemplazado en parte por el fluoruro formando así la fluorapatita, un compuesto con mayor estabilidad (Teotia, Teotia, & Singh, 1998). El fluoruro en hueso tiene la capacidad de incrementar la cantidad de masa ósea mediante el estímulo de la actividad de los osteoblastos y osteoclastos, sin embargo el hueso recién formado a partir de esto carecerá de estructura y fuerza normal, volviéndolo más propenso a sufrir fracturas (Everett, 2011).

### **Arsénico**

De acuerdo a la OMS el arsénico (As) es un elemento natural de la corteza terrestre, que pertenece al grupo de los metaloides, esto debido a que posee características tanto de un elemento metálico como de uno no metálico; a pesar de esto se le refiere generalmente como metal (ATSDR, 2007). Se encuentra presente en el agua, aire y tierra, y junto con otros metales como el cobre, cadmio, plomo, mercurio, entre otros, se les denomina metales pesados, ya que presentan un alta densidad y se les considera tóxicos incluso en concentraciones muy bajas (Prieto, González, Román, & Prieto, 2009)

Existen 2 tipos de compuesto de arsénico; orgánico e inorgánico. En su forma inorgánica se le considera muy tóxico y se le ha asociado con daños a largo plazo para la salud (FDA, 2015; OMS, 2016). El arsénico inorgánico se encuentra en el ambiente combinado con oxígeno, cloro y azufre, mientras el arsénico orgánico se encuentra combinado con carbono e hidrógeno (ATSDR, 2007).

Los compuestos inorgánicos y orgánicos de arsénico por lo general se encuentran en forma de polvo color blanco, el cual no se evapora. No suele presentar ningún olor y ni sabor particular; es por esto que comúnmente no se puede saber si el compuesto se encuentra presente en los alimentos, el agua o el aire (ATSDR, 2007).

La principal fuente de exposición de los humanos a arsénico es a través del agua de consumo y de los alimentos, una exposición aguda tiene efectos tóxicos a nivel de túbulo renal, mientras una exposición crónica se encuentra relacionada a una enfermedad crónica renal (Weidemann et al., 2016). De acuerdo a Vega (2002) en México la presencia de arsénico en acuíferos se encuentra por encima del límite permisible (0.025 mg/L, NOM-127-SSA1-1994 (SSA, 2002)) y se registra principalmente en Coahuila, Chihuahua, Durango, Hidalgo y San Luis Potosí.

Así como en Durango, en San Luis Potosí se ha detectado la presencia conjunta de arsénico y flúor en el agua subterránea, esto se atribuye a la composición geológica de los estratos de los acuíferos provenientes de magmas generados por la parcial fusión de la corteza terrestre (Vega, 2002).

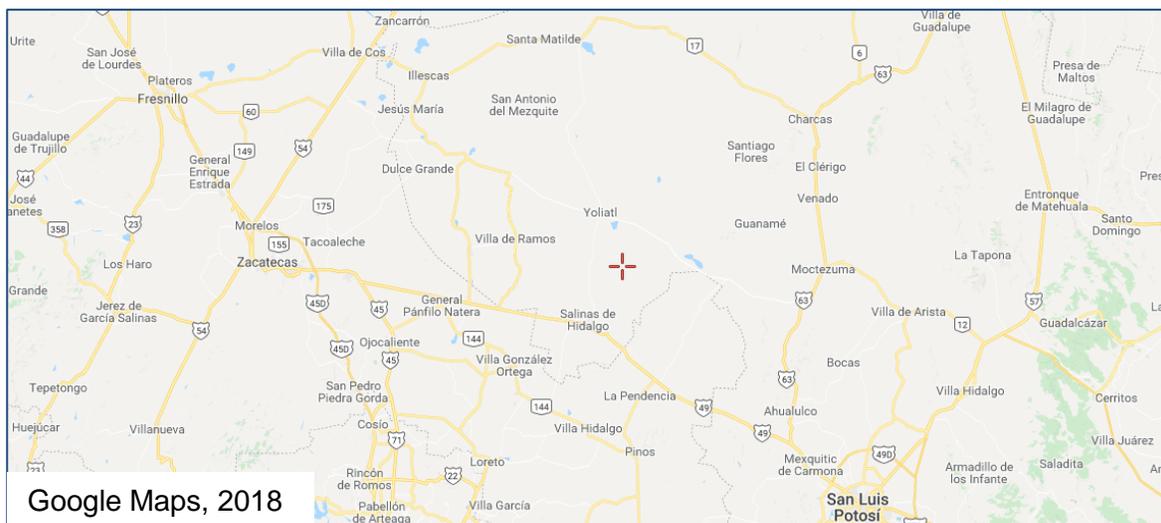
### **Metabolismo de arsénico**

La absorción de arsénico ocurre principalmente a través del tracto gastrointestinal y el sistema respiratorio. Una vez absorbido se dirige a torrente sanguíneo donde es distribuido ampliamente por todo el organismo y se incorpora a globulos blancos, globulos rojos y otras células capaces de reducir arseniato (As V) a arsenito (As III) con ayuda de glutatión (ATSDR, 2009; Winski & Carter, 1995). Una vez ocurrida esta reacción el arsenito es metilado en hígado por medio

de una transferencia enzimática del grupo metilo de la S-adenosilmetionina, dando como resultado los compuestos arseniato de metilo (MMA V) y el arseniato de dimetilo (DMA V), metabolitos que pueden ser excretados con mayor facilidad a través de los riñones. La eficiencia de metilación en los individuos decrece a dosis altas de arsénico (Chung et al., 2002), una vez que el hígado sobrepasa su capacidad de metilación, se incrementa la retención de arsénico en tejidos blandos (ATSDR, 2009). Cerca del 70% de arsénico absorbido es excretado a través de la orina, el porcentaje restante puede ser eliminado a través de heces o sudor, o bien acumulado en tejidos ricos en queratina (cabello, uñas, piel, dientes) (ATSDR, 2009; Vasken Aposhian, Zakharyan, Avram, Sampayo-Reyes, & Wollenberg, 2004).

## ZONA DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en la comunidad de La Reforma perteneciente al municipio de Salinas de Hidalgo en el estado de San Luis Potosí. Las coordenadas geográficas de la comunidad son: longitud 101.3854, latitud 22.4527 y altitud 2040 msnm (SEDESOL, 2010). La población total de la localidad es de 855 personas, 423 mujeres y 432 hombres. El número de niños entre 6 y 11 años de edad es de 136. Existe un total de 170 viviendas particulares habitadas, de las cuales 53 tienen instalaciones sanitarias y 163 acceso a electricidad (CONAPO, 2010; SEDESOL, 2010). El grado de marginación de la comunidad es alto, mientras el grado de rezago social (el cual incluye condiciones de vivienda particular, educación y acceso a servicios de salud) es medio (SEDESOL, 2010).



## **PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

La población de La Reforma presenta un alto grado de exposición a flúor (4.3 mg/L) y arsénico (0.0499 mg/L) a través del agua de consumo (Jarquín-Yáñez et al., 2015), los niveles sobrepasan los límites permisibles establecidos por la NOM-127-SSA1-1994 (SSA, 2002); anteriormente se ha realizado comunicación de riesgos para disminuir el consumo de ésta (Jarquín-Yáñez et al., 2015).

Resultados de estudios previos en la población infantil de la comunidad reportan capacidad intelectual disminuida, prevalencia de 100% de fluorosis dental, presencia del polimorfismo rs 412777 en el gen COL1A2 relacionado con la fluorosis dental e incidencia de densidad mineral ósea por debajo de lo esperado para la edad en el 30.83% de la población en zona lumbar y el 10.83% en cadera, (Jarquín-Yáñez & Mejía-Saavedra, 2017).

## **JUSTIFICACIÓN**

El desarrollo de la masa ósea ocurre de mayor manera durante la infancia y la adolescencia y su correcta consecución hasta la edad adulta depende de múltiples factores, entre los que la nutrición es considerada como uno de los más importantes (Suárez Cortina et al., 2011).

La vitamina D es un nutriente esencial para la absorción de calcio y fósforo en el intestino delgado (Holick, 2007; Misra et al., 2008). De acuerdo con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2006), en México la prevalencia de insuficiencia y deficiencia de vitamina D (25 hidroxivitamina D) en niños de 6 a 12 años de edad es del 18% y 10% respectivamente (Flores et al., 2006). Niveles deficientes de vitamina D pueden ser resultado de una ingesta inadecuada de vitamina D2 o una síntesis cutánea disminuida de vitamina D3 (Holick, 2006). Valores reducidos de vitamina D en población infantil se encuentran asociados con densidad mineral ósea disminuida, y sus enfermedades características, en etapas tempranas y tardías de la vida (Carrié Fässler & Bonjour, 1995; Flores et al., 2006; Holick, 2006).

El riñón es un órgano fundamental para los seres humanos, en este ocurre la síntesis de la forma activa de la vitamina D (Dusso, 2011). Un daño renal puede repercutir en la síntesis de vitamina D y disminuirla progresivamente (Dusso, 2011; Lorenzo Sellares & Torregrosa, 2008; Slatopolsky et al., 2001). Al respecto, se ha demostrado que una exposición aguda o crónica a flúor y arsénico puede resultar perjudicial para el riñón (Santoyo-Sanchez et al., 2013; Weidemann et al., 2016; Yang & Liang, 2011). Aunado a esto los niños son particularmente susceptibles a riesgos ambientales ya que al tener los órganos inmaduros y aún en desarrollo los contaminantes tienden a actuar con mayor toxicidad (OMS, 2006; Torres, Domínguez, Van't Hooft, Díaz-Barriga, & Cubillas-Tejeda, 2010).

En la actualidad no existen estudios a nivel global que establezcan la asociación entre las concentraciones séricas de vitamina D y densidad mineral ósea en población infantil expuesta a flúor y arsénico; además las referencias del uso de biomarcadores tempranos de daño renal en niños son muy limitadas.

Diversos autores han documentado la asociación entre niveles deficientes de vitamina D y densidad mineral ósea (Carrié Fässler & Bonjour, 1995; Flores et al., 2006; Holick, 2006), así como entre niveles elevados de flúor y arsénico con daño renal (Santoyo-Sanchez et al., 2013; Weidemann et al., 2016; Yang & Liang, 2011); mas sin embargo, la evaluación de estas variables se enfoca principalmente en la población adulta y no en la población infantil.

La realización de este estudio permitirá generar bases de conocimiento, las cuales podrán servir como antecedentes de futuras investigaciones o intervenciones dirigidas a acciones preventivas e implementación de un diagnóstico y tratamiento oportuno y temprano para el cuidado y la mejora del estado de salud de los niños en la población de estudio u otras poblaciones con características sociodemográficas similares. Asimismo permitirá conocer la asociación entre la exposición de la población a niveles de flúor y arsénico por

encima de los límites permisibles, así como muchas otras poblaciones en México, respecto a afectaciones óseas y renales. Los resultados del presente permitirán iniciar con la prevención y disminución de riesgos causados por la exposición de contaminantes ambientales, las características sociodemográficas u otras variables asociadas a las alteraciones obtenidas a través de recomendaciones de manera personalizada a la población.

## **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

- ¿La densidad mineral ósea en población infantil se encuentra asociada a valores de 25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D?
- ¿Biomarcadores tempranos de daño renal (molécula de lesión renal-1 (KIM-1), cistatina C (CysC), lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) y  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa (GGT)) se encuentran correlacionados a concentraciones de flúor y arsénico en orina en población infantil?
- ¿Valores de 1,25 dihidroxivitamina D en población infantil se encuentran relacionados a niveles de flúor y arsénico en orina?
- ¿La excreción urinaria de calcio y fosfato se encuentra asociada a niveles de flúor y arsénico en orina?
- ¿La densidad mineral ósea se encuentra correlacionada con calcio y fosfato en orina?

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Analizar la asociación entre vitamina D y densidad mineral ósea en población infantil expuesta a altas concentraciones de flúor y arsénico a través del agua de consumo en La Reforma, Salinas de Hidalgo, S.L.P.

### **Objetivos específicos**

- Cuantificar y analizar las concentraciones de vitamina D (25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D) en población infantil.

- Evaluar la relación entre las concentraciones de vitamina D (25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D) y densidad mineral ósea en población infantil.
- Cuantificar niveles de flúor y arsénico sistémicos a través de la orina en población infantil.
- Caracterizar biomarcadores tempranos de daño renal (molécula de lesión renal-1 (KIM-1), cistatina C (CysC), lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) y  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa (GGT)) y analizar su asociación con concentraciones de flúor y arsénico en orina presentes en la población infantil.
- Cuantificar concentraciones de calcio urinario y fosfato urinario y analizar la asociación entre éstos y la 1,25 dihidroxivitamina D con flúor y arsénico en orina en población infantil.
- Correlacionar calcio y fosfato urinario con densidad mineral ósea en población infantil.

## **HIPÓTESIS**

La densidad mineral ósea se encuentra asociada a niveles de vitamina D en población infantil expuesta a flúor y arsénico a través del agua de consumo.

## **PARÁMETROS EVALUADOS**

Los parámetros bioquímicos evaluados, obtenidos en las muestras de sangre y orina fueron:

- 25 Hidroxivitamina D, evaluada en suero. Refleja la ingesta de vitamina D2 o vitamina D3 y la síntesis cutánea a partir de rayos UVB de vitamina D3 (Institute of Medicine, 1997).
- 1,25 Dihidroxivitamina D, medida en suero. Refleja los valores de vitamina D activa. Es regulada principalmente por el riñón (Kulie, Groff, Redmer, Hounshell, & Schrage, 2009).
- Molécula de Lesión Renal-1 (KIM-1), evaluada en orina. Proteína transmembrana de tipo 1, con un dominio de inmunoglobulina y mucina.

Regulada por el túbulo proximal en riñón, expresada en niveles bajos en un riñón normal. Biomarcador temprano de lesión del túbulo proximal renal (Han, Bailly, Abichandani, Thadhani, & Bonventre, 2002; Ichimura et al., 1998).

- Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT), medida en orina. Enzima presente en células tubulares proximales. Marcador temprano de daño del túbulo proximal en riñón (Ambade et al., 2006). Refleja lesión de las células epiteliales tubulares renales (Xiong et al., 2007). Estudios en población infantil han confirmado que  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa (GGT) tiende a incrementar en niños crónicamente expuestos a más de 2.0 mg/L de fluoruro en agua potable (Liu et al., 2005; Santoyo-Sanchez et al., 2013).
- Cistatina C (CysC), evaluada en orina. Proteína de bajo peso molecular (13 kDa) sintetizada de forma constante por todas las células nucleadas del organismo. Es filtrada libremente por el glomérulo, y en su mayoría reabsorbida y catabolizada por el túbulo proximal. Su concentración en orina es muy baja en ausencia de trastorno tubular (M<sup>a</sup> Fraga Rodríguez, Huertes Díaz, & Creu Sant Pau Barcelona, 2014; Westhuyzen, 2006a).
- Lipocalina Asociada con la Gelatinasa de Neutrófilos (NGAL), cuantificada en orina. Proteína perteneciente a la familia de las lipocalinas. Se expresa en niveles muy bajos en diversos tejidos humanos y es liberada rápidamente por neutrófilos y células tubulares renales en presencia de lesión a nivel tubular (Tomczak, Wasilewska, & Milewski, 2013).
- Calcio, evaluado en orina. Valores en orina dependerán de diversos factores, como la dieta, la edad, el metabolismo fosfocalcico, la absorción intestinal, la acción de la PTH, entre otros. Además, niveles elevados de fluoruro tienden a disminuir la reabsorción de éste en riñón provocando de tal manera su excreción (M<sup>a</sup> Fraga Rodríguez et al., 2014; Santoyo-Sanchez et al., 2013).
- Fosfato, cuantificado en orina. La eliminación urinaria de fosfato dependerá de factores como la dieta, la acción de la PTH, entre otros. Concentraciones urinarias elevadas de fosfato se encuentran asociadas a una exposición

elevada a flúor (M<sup>a</sup> Fraga Rodríguez et al., 2014; Santoyo-Sanchez et al., 2013).

- Flúor, evaluado en orina. Refleja concentraciones de flúor sistémicas y exposición directa a este elemento. Las células epiteliales del túbulo proximal son el principal blanco de fluoruro en riñón (Del Carmen, Javier, & Aline, 2016; Santoyo-Sanchez et al., 2013).
- Arsénico, cuantificado en orina. La determinación de arsénico en orina permite detectar exposición reciente al contaminante, mientras la determinación de arsénico en pelo y uñas indica una exposición prolongada al contaminante (6-12 meses) (ATSDR, 2007). Las mitocondrias de las células epiteliales del túbulo proximal son el principal blanco del arsénico en riñón, una exposición frecuente a este contaminante provocará la apoptosis de éstas al afectar su respiración celular (M A Peraza, Carter, & Gandolfi, 2003; Marjorie A. Peraza, Cromey, Carolus, Carter, & Gandolfi, 2006) .

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Diseño del estudio**

El diseño del estudio fue de tipo analítico con motivo de que se revisaron cada uno de los elementos y posteriormente se analizó la asociación existente; y de carácter transversal, debido a que se estudiaron las variables de manera simultánea en un corte de tiempo específico (Monroy Torres, 2011).

### **Universo del trabajo**

La población del estudio estuvo conformada por un total de 110 individuos de entre 7 y 14 años de edad residentes de la comunidad de La Reforma con estudios previos de densitometría ósea.

### **Criterios de selección**

- a) Criterios de inclusión:** Radicar en La Reforma, contar con estudios previos de densitometría ósea (realizados con anterioridad por el equipo de trabajo) y tanto padres de familia como participantes haber aceptado el

ingreso al estudio y firmado la carta de consentimiento informado y asentimiento (Anexos).

**b) Criterios de exclusión:** Consumo de suplementos vitamínicos en el último año y/o presencia de alguna enfermedad crónica o metabólica.

**c) Criterios de eliminación:** Personas que decidieron no continuar con el proyecto.

### **Tipo de muestreo**

El tipo de muestreo utilizado fue no probabilístico de casos consecutivos. Esto debido a que el muestreo de casos consecutivos o por conveniencia es una muestra de voluntarios que se utiliza si el investigador necesita que los posibles sujetos del estudio se presenten por sí mismos (Monroy Torres, 2011).

### **Tamaño de muestra**

El tamaño final de la muestra quedó establecido con 49 individuos (25 niños y 24 niñas) de entre 7 y 14 años de edad residentes de la comunidad de La Reforma, San Luis Potosí, quienes acordaron ingresar al estudio de manera voluntaria y cumplían con los criterios de selección. Para validar que el tamaño de muestra de voluntarios de la población de estudio se considerara representativo se utilizó la fórmula  $n = [(Z \alpha/2) \times \sigma/E]^2$ , donde  $Z \alpha=1.95$ ,  $\sigma = 1.09$ , y  $E = 0.3$  (Steel & Torrie, 1960).

### **Procedimiento del estudio**

La investigación tuvo una duración de 12 meses. Previo al inicio del estudio se realizó una reunión con los padres y niños pertenecientes a la comunidad de La Reforma donde se dio a conocer el proyecto a implementar, en esta se especificó el proceso, los riesgos y beneficios que tendrían con su participación. Asimismo, se expuso que toda la información obtenida sería de tipo confidencial y podría ser solicitada en cualquier momento por los participantes, quienes además podrían abandonar el estudio en cualquier caso si es que consideraran pertinente.

Concluida la junta se solicitó a los padres e hijos interesados en participar en el estudio firmaran una carta de consentimiento informado y asentimiento. Un

total de 49 individuos (25 niños y 24 niñas) de entre 7 y 14 años de edad residentes de la comunidad de La Reforma, quienes cumplían con los criterios de selección, acordaron ingresar al estudio de manera voluntaria.

- **Reunión informativa y entrega de recipientes para muestras.**

Posteriormente se realizó una junta informativa con los participantes del estudio en la cual se explicó el procedimiento de la toma de muestra a detalle y se estableció una fecha, hora y lugar determinado para la realización de esta; en esta reunión se les mencionó los tipos de muestras requeridos (sangre y orina) y se les explicó los medios para su obtención. Para la toma de muestra de orina se les brindó a los participantes, una semana previa a la fecha establecida, recipientes adecuados (BD-Vacutainer Urinalysis cup kit, Mod. 364946) para la recolección de la primera orina del día acordado de la toma de muestra.

- **Toma de muestras**

El día establecido de la toma de muestra, asistieron un total de 49 participantes con edades de entre 7 y 14 años (25 niños y 24 niñas), acompañados de sus padres de familia. En el registro, los participantes hicieron entrega de su muestra de orina; la toma de muestra de sangre fue realizada por personal capacitado en el área, el cual se encargó de extraer de 6 a 7 ml de sangre de cada uno de los individuos en Tubos Rojos BD-Vacutainer (6-7ml) con activador de coagulación (Mod. 368175). Una vez obtenida la muestra, se dejó coagular el tubo rojo por 30 minutos (sin invertir) para evitar formación de fibrina. Al finalizar la toma de muestra de sangre se les entregó a los participantes un refrigerio.

- **Procesamiento de muestras en campo**

Para mantener la estabilidad de las muestras sanguíneas se realizó centrifugación en campo de los Tubos Rojos BD-Vacutainer (6-7ml) con activador de coagulación (Mod. 368175) por 10 minutos a 3000 rpm; posteriormente con el suero centrifugado del tubo rojo de cada uno de los participantes se realizaron dos

alícuotas de 1.5 ml destinadas para determinación de vitamina D. Las muestras se almacenaron en hieleras con congelantes de 2 a 8°C para su conservación durante el transporte.

Con la muestra de orina recolectada en el BD-Vacutainer Urinalysis cup kit (Mod. 364946) de cada uno de los participantes se realizó una transferencia al vacío de orina a un tubo con preservador (clorhexidina, etilparabeno y propionato sódico) para determinación de GGT, y tres alícuotas en un tubo sin preservador, la primera para determinación de calcio, fosfato y creatinina, la segunda para determinación KIM-1, CysC y NGAL y la tercera para cuantificación de flúor y arsénico. Las muestras de orina se almacenaron en hieleras con congelantes de 2 a 8°C para su conservación durante el transporte.

Las muestras de sangre y orina (a excepción de dos alícuotas de orina sin preservador) fueron transportadas para su cuantificación al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), donde se almacenaron de 2 a 8°C para su conservación hasta el procesamiento. Las dos alícuotas restantes de orina se almacenaron en el Laboratorio del Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS) de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT), para posteriormente realizar el análisis de KIM-1, CysC, NGAL, flúor y arsénico. La alícuota destinada para la cuantificación de KIM-1, CysC y NGAL se almacenó a -80°C hasta su procesamiento, mientras que la alícuota destinada para determinación de flúor y arsénico requirió procesamiento inmediato.

- **Procesamiento de muestras en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP**

#### **Cuantificación de Calcio, Fosfato, Creatinina y GGT**

Los tubos con muestras de orina (tubo con preservador y tubo sin preservador) se centrifugaron entre 1500 a 2000 rpm durante 6 minutos.

Posteriormente se formaron tres alícuotas de orina de 1.5 ml en tubos Eppendorf por participante, dos con las muestras de orina del tubo sin preservador y una con las muestras de orina de tubo con preservador. Las alícuotas obtenidas de los tubos de orina con preservador se almacenaron de 2 a 8°C y posteriormente se enviaron en una caja para microtubos con tapa, en hieleras con congelantes a un laboratorio de referencia para el procesamiento de la enzima GGT. A partir de las dos alícuotas obtenidas de los tubos de orina sin preservador se formaron cubetillas a distintas diluciones para la obtención de calcio, fosfato y creatinina (calcio 1/2.5, fosfato 1/10 y creatinina 1/10). Una vez formada las diluciones se procedió a realizar el análisis de estas en el Analizador Químico BS-300 (Mindray), el cual reportó resultados los cuales fueron transcritos a una base de datos.

La determinación de calcio se realizó mediante un método colorimétrico con arsenazo III (ácido 1,8 – dihidroxi - 3,6 – disulfo - 2,7 – naftaleno - bis (azo) - dibenzenarsónico). El calcio, al estar en un medio neutro, reacciona con el arsenazo III formando un complejo de color azul. La intensidad del color será directamente proporcional con la cantidad de calcio presente en la muestra. El límite de detección y linealidad del calcio es de 0.026 mg/dl y 32 mg/dl respectivamente (SPINREACT, 2015)

La cuantificación de fosfato se llevó a cabo mediante espectrofotometría con molibdato amónico. Al encontrarse en un medio ácido, el fosfato inorgánico presente en la muestra, reacciona con el molibdato amónico originando un complejo de color amarillo el cual se cuantifica por espectrofotometría. La intensidad del color será directamente proporcional con la cantidad de fosfato inorgánico en la muestra. El límite de detección del fósforo es de 0.13 mg/dl, mientras el de linealidad es 20 mg/dl (BioSystems, 2006b)

La determinación de creatinina se realizó mediante la reacción de Jaffé, en la cual la creatinina reacciona con el picrato en medio alcalino originando un complejo coloreado rojizo. Durante la reacción es medida la velocidad de

formación del producto en periodos iniciales cortos, lo cual evitará la interferencia con otros compuestos. El límite de detección y linealidad de la creatinina es de 0.03 mg/dl y 0.20 mg/dl respectivamente (BioSystems, 2006a).

### **Cuantificación de GGT**

La actividad de la enzima GGT en orina fue determinada mediante un método cinético usando L-Gamma-Glutamil-3-Carboxi-4-Nitroanilida como sustrato y Glicilglicina como reactivo. La GGT cataliza la transferencia de un grupo gamma-glutamilo del sustrato al reactivo Glicilglicina, dando como resultado la formación del Ácido 5-amino-2-nitrobenzoico, la velocidad de síntesis de este producto (cuantificado fotométricamente) es proporcional a la concentración de GGT en la muestra. El límite de detección de la enzima GGT es de 0.000 U/L, mientras el de linealidad es 375 U/L (SPINREACT, 2016) .

### **Cuantificación de 25 Hidroxivitamina D y 1,25 Dihidroxivitamina D**

Las muestras de suero se almacenaron de 2 a 8°C para su conservación hasta el procesamiento. Las dos alícuotas realizadas, por paciente, destinadas para el análisis de 25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D fueron trasladadas a un solo tubo Eppendorf de 1.5 ml, los cuales se almacenaron en cajas para microtubos con tapa para su posterior envío en frío (2 a 8°C) a un laboratorio de referencia de la ciudad de México, donde se realizó el análisis de la vitamina D.

El análisis de la 25 hidroxivitamina D se realizó por medio del LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay (REF 310600) el cual es un inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA) utilizado para la determinación cuantitativa de 25 hidroxivitamina D y de otros metabolitos hidroxilados de la vitamina D en suero o plasma. El límite de detección y de linealidad de la prueba es de 4 ng/ml y 150 ng/ml respectivamente (DiaSorin, 2012).

La determinación de 1, 25 dihidroxivitamina D se llevó a cabo mediante el LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D Assay (REF 310980) el cual tiene como principio un inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA). El límite de detección y linealidad de la prueba de la 1,25 dihidroxivitamina D es de 5 pg/ml y 200 pg/ml respectivamente (DiaSorin, 2014).

- **Procesamiento de muestras en el Laboratorio del Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS)**

### **Cuantificación de Flúor**

Las muestras de orina destinadas para la cuantificación de flúor y arsénico se almacenaron y procesaron una vez en el Laboratorio del Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS) de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT). 4 ml de la alícuota de orina sin preservador se utilizaron para la cuantificación de flúor, mientras la orina restante del frasco esterilizado donde se recolectaron las muestras de cada uno de los participantes se utilizó para determinar la densidad de esta mediante un densitómetro de la marca ATAGO (HAND-HELD REFRACTOMETER). A la alícuota de orina se le añadió 0.03 g de EDTA como agente quelante para mantener la estabilidad de flúor y se invirtió de 8 a 10 veces, posteriormente se almaceno a 4°C hasta su procesamiento. La cuantificación de flúor se realizó mediante el método potenciométrico con electrodo ión selectivo establecido por el Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH, 1994).

Las muestras de orina previamente adicionadas con EDTA y almacenadas en refrigeración a 4°C se colocaron a temperatura ambiente, una vez alcanzada está se comenzó el procesamiento. Para la cuantificación de flúor se requirió de TISAB-I (solución tampón que ajusta la fuerza iónica total del medio en donde se sumergen los electrodos ión-selectivos), TISAB-II (solución utilizada para determinar la concentración total de fluoruro usando un electrodo sensible a iones

fluoruro de barniz dental) y Fluoruro de Sodio (NaF). Se realizó una curva de calibración de 1 a 100 ppm con el uso de soluciones patrón, formadas con distintas concentraciones de agua destilada y NaF con TISAB-II en proporción 1:1. A cada muestra de orina se le añadió TISAB-I en proporción 1:1, y se invirtió de 2 a 3 veces hasta su dilución. Una vez diluidos los compuestos, se introdujo en cada muestra un electrodo ión-selectivo del analizador HI 4222 (marca HANNA) para la cuantificación de flúor, la cual se determinó mediante interpolación del potencial en la curva de calibración. Se utilizó el material de referencia estándar (2671<sup>a</sup>) “*Fluoride in freeze-dried urine*”, del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST), para la validación del método. Los valores obtenidos de flúor se ajustaron por la densidad previamente obtenida.

### **Cuantificación de Arsénico**

Los 4 ml restantes de la alícuota de orina sin preservador se utilizaron para la cuantificación de arsénico. La determinación de arsénico se realizó mediante una espectrofotometría de absorción atómica con un espectrómetro Perkin Elmer Analyst 100. Para control de calidad se hizo uso del material de referencia (2670<sup>a</sup>) “*Toxic elements in freeze-dried urine*” del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST). Los valores se ajustaron por la densidad previamente determinada con el densitómetro de la marca ATAGO (HAND-HELD REFRACTOMETER).

### **Cuantificación de KIM-1, CysC y NGAL**

La alícuota destinada para la cuantificación de KIM-1, CysC y NGAL se transportó en hieleras con congelantes a un laboratorio de referencia donde se realizó su análisis. El procesamiento de las muestras de orina destinadas para la cuantificación de biomarcadores renales se llevó a cabo mediante el Kit Human Kidney Biomarker Premixed Magnetic Luminex Performance Assay (R&D SYSTEMS), el cual es un ensayo múltiple basado en cuentas magnéticas para la plataforma Luminex utilizado para la determinación simultánea cuantitativa de múltiples biomarcadores humanos renales en suero, plasma y orina. Las muestras

de orina requirieron centrifugación y dilución a 1/10 para su procesamiento (R&D Systems, s/f).

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente proyecto se sometió a consideración del Honorable Comité Estatal de Ética en Investigación en Salud de San Luis Potosí, S.L.P. De acuerdo a los lineamientos de la Ley General de Salud de México en su Título Quinto, Capítulo Único, referente a la Investigación para la salud en seres humanos, este estudio es catalogado “con riesgo mínimo” ya que se realizaron estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos de diagnóstico o tratamiento rutinarios. Asimismo se tomaron en cuenta las pautas de la Ley de Salud del Estado de San Luis Potosí en su Artículo 84, fracciones I, II y III.

Además se consideraron los estatutos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, donde se indica que: “Para tomar parte en un proyecto de investigación, *los individuos deben ser participantes voluntarios e informados*” (AMM, 2013). Por ello se realizó una previa reunión con ellos y sus padres de familia en la que se brindó información a detalle sobre el estudio a realizar, dando a conocer que toda la información obtenida sería confidencial y podría ser solicitada en cualquier momento; además se expuso que los participantes podrían abandonar el estudio en cualquier momento si es que consideraran pertinente.

El dictamen por consenso del Comité Estatal de Ética en Investigación en Salud en San Luis Potosí resultó favorable, quedando con número de Registro Estatal SLP/008-2017 (Anexos).

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se hizo uso de los paquetes estadísticos SPSS Statistics versión 25 (IBM) y MetaboAnalyst versión 4.0 para el análisis de datos. Se realizó un ajuste

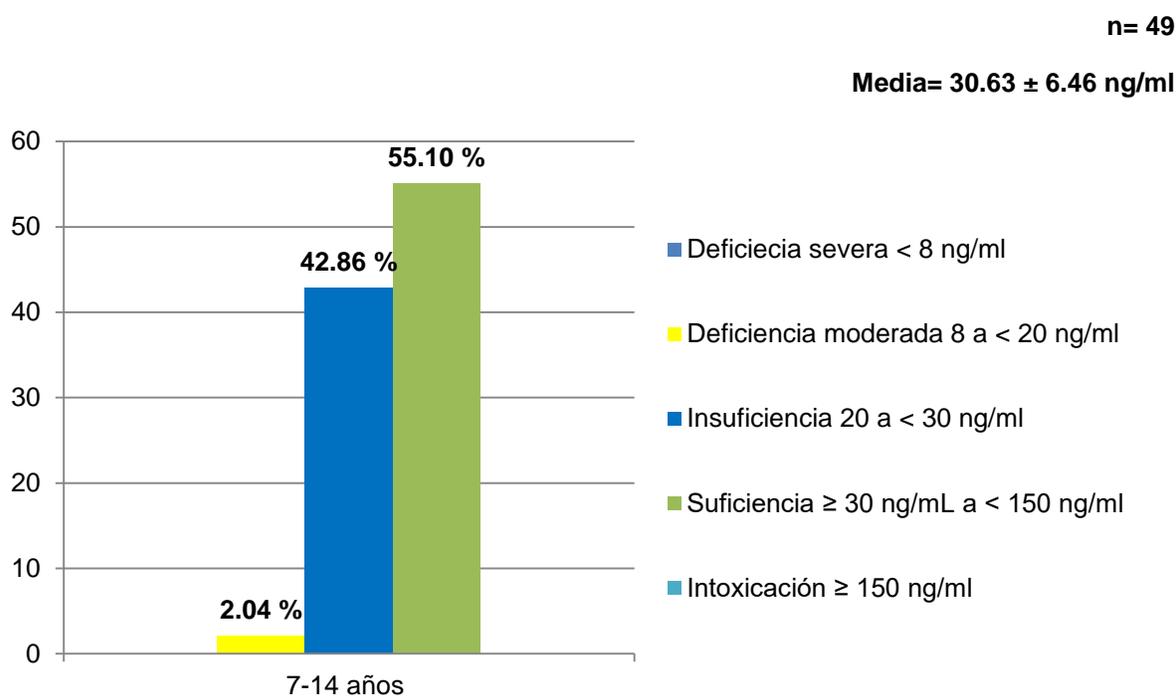
estadístico de los datos, de acuerdo a su uso, en alguna de las siguientes categorías:

- Transformación de los datos por logaritmo generalizado, permitió hacer las características individuales de los datos más comparables entre sí, reduciendo las diferencias entre valores grandes y pequeños
- Normalización de las muestras por sumatoria, permitió ajustar diferencias entre cada una de las muestras.
- Ajuste de los datos mediante auto-escalado, las variables se centran respecto a su media y se dividen por cada una de sus desviaciones estándar (medida de dispersión de datos). El centrado se enfoca en las diferencias y no en las similitudes de los datos. Los métodos de escala son enfoques de pretratamiento de datos que dividen cada variable por un factor, el factor de escala. Su objetivo es ajustar las diferencias entre las variables mediante la conversión de los datos en diferencias en la concentración relativa al factor de escala (Van den Berg, Hoefsloot, Westerhuis, Smilde, & van der Werf, 2006).

Se hizo uso de datos de densidad mineral ósea previamente obtenidos en la población por Mejía, et al. (2017) y paramétricos recolectados por Bravo, et al. (2018) para el análisis de datos. Se presentan medias y desviaciones estándar de las variables evaluadas, así como prevalencias de variables con puntos de cortes sugeridos. Se realizó un análisis bivariado entre cada una de las variables y se evaluó la asociación existente entre estas mediante pruebas paramétricas (Pearson) y no paramétricas (Spearman) de acuerdo a la distribución de los datos; así mismo se realizó un ajuste estadístico de las variables para la generación de modelos de regresión multivariados. Se hizo uso de la prueba T de Student para la comparación de medias estadísticas. Se consideró un valor estadísticamente significativo para cada una de las pruebas de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

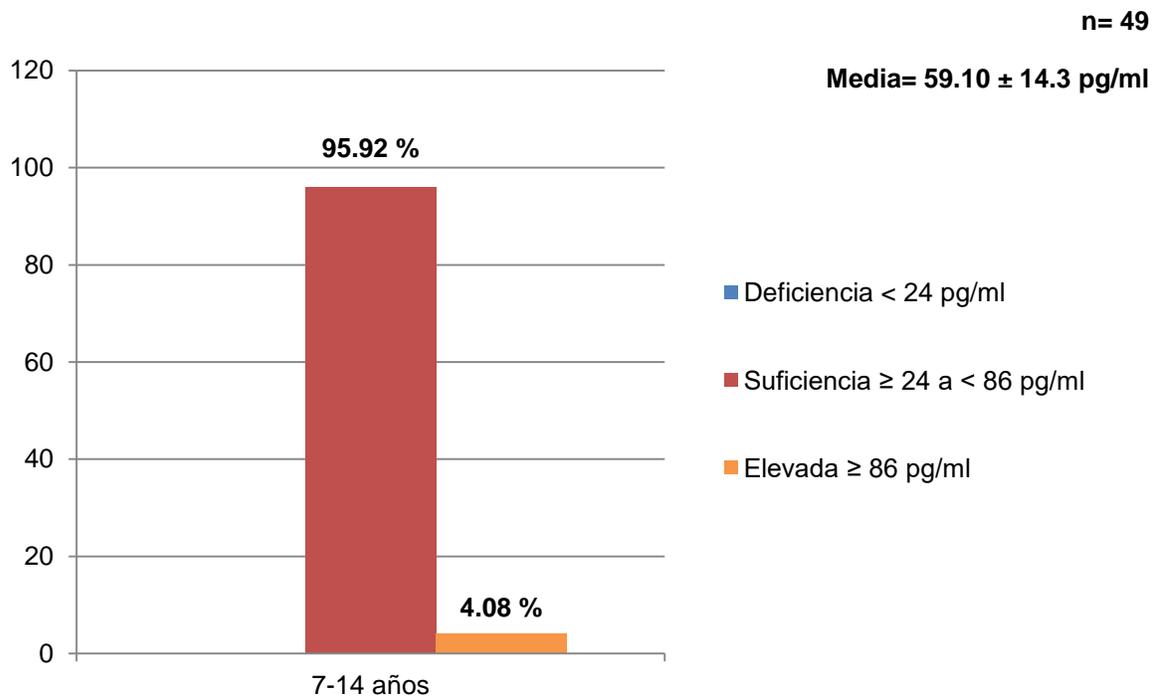
La población del estudio quedo conformada por un total de 49 participantes (51% niños y 49% niñas) de entre 7 a 14 años de edad. De acuerdo a los resultados obtenidos, con puntos de corte clínicos sugeridos por la Endocrine Society y Heaney & Holick (2008), el 42.86% de la población presentó insuficiencia de 25 hidroxivitamina D, el 2.04% deficiencia moderada y el 55.1% suficiencia (Figura 1). La media de la 25 hidroxivitamina D fue de  $30.63 \pm 6.46$  ng/ml, con un IC95% de 28.77-32.48 ng/ml.



**Figura 1. Categorización porcentual de 25 hidroxivitamina D en población infantil**

Endocrine Society; Heaney & Holick, 2008. Puntos de corte clínicos usados en población infantil mexicana (Elizondo Montemayor et al., 2010; Flores et al., 2006)

El 95.92% de la población presentó suficiencia de 1,25 dihidroxivitamina, mientras el 4.08% restante presento valores elevados de ésta (Figura 2). Las concentraciones promedio de 1,25 dihidroxivitamina en la población fueron de  $59.10 \pm 14.3$  pg/ml, con un IC95% de 54.98-63.23 pg/ml.



**Figura 2. Categorización porcentual de 1,25 dihidroxivitamina D en población infantil**

Puntos de corte clínicos para menores de 16 años (Mayo Clinic, 2018)

Con motivo de que la vitamina D es un elemento esencial para el mantenimiento y desarrollo de la masa ósea, se evaluó la asociación que existía entre estos (Tabla 1). El resultado fue que concentraciones de 25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D se encontraron correlacionadas positivamente con densidad mineral ósea en zona lumbar y en cadera en la población ( $p < 0.05$ ). La correlación con mayor significancia estadística se dio entre la 25 hidroxivitamina D y la DMO en cadera ( $p < 0.01$ ).

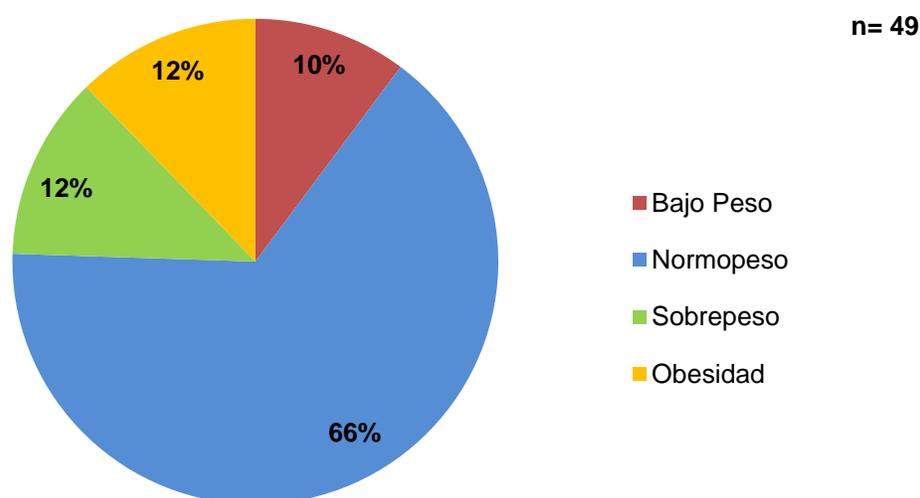
De acuerdo al coeficiente de determinación ( $r^2$ ) el 10.2% ( $p < 0.05$ ) de la DMO lumbar y el 25% ( $p < 0.01$ ) de la DMO en cadera son explicados por la 25 hidroxivitamina D; mientras el 7.8% ( $p < 0.05$ ) de la DMO lumbar y el 10.8% ( $p < 0.05$ ) de la DMO en cadera son explicados por la 1,25 hidroxivitamina D.

**Tabla 1. Asociación entre densidad mineral ósea y vitamina D**

	DMO Lumbar (g/cm <sup>3</sup> )	DMO Cadera (g/cm <sup>3</sup> )
	r	r
25 hidroxivitamina D (ng/ml)	<b>0.32*</b>	<b>0.50**</b>
1,25 dihidroxivitamina D (pg/ml)	<b>0.28*</b>	<b>0.33*</b>

\* Significancia estadística  $p < 0.05$ ; \*\* Significancia estadística  $P < 0.01$

A pesar de no ser uno de los objetivos específicos se hizo uso de los parámetros nutricios (peso, talla, IMC) obtenidos por Bravo et al. (2018) en esta población para caracterizar el estado nutricional de los participantes y analizar la asociación entre éstos con los niveles de vitamina D (25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D). De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis se observó una prevalencia del 10% de bajo peso, 12% de sobrepeso y 12% de obesidad en la población, el 66% restante presentó normopeso (figura 3).

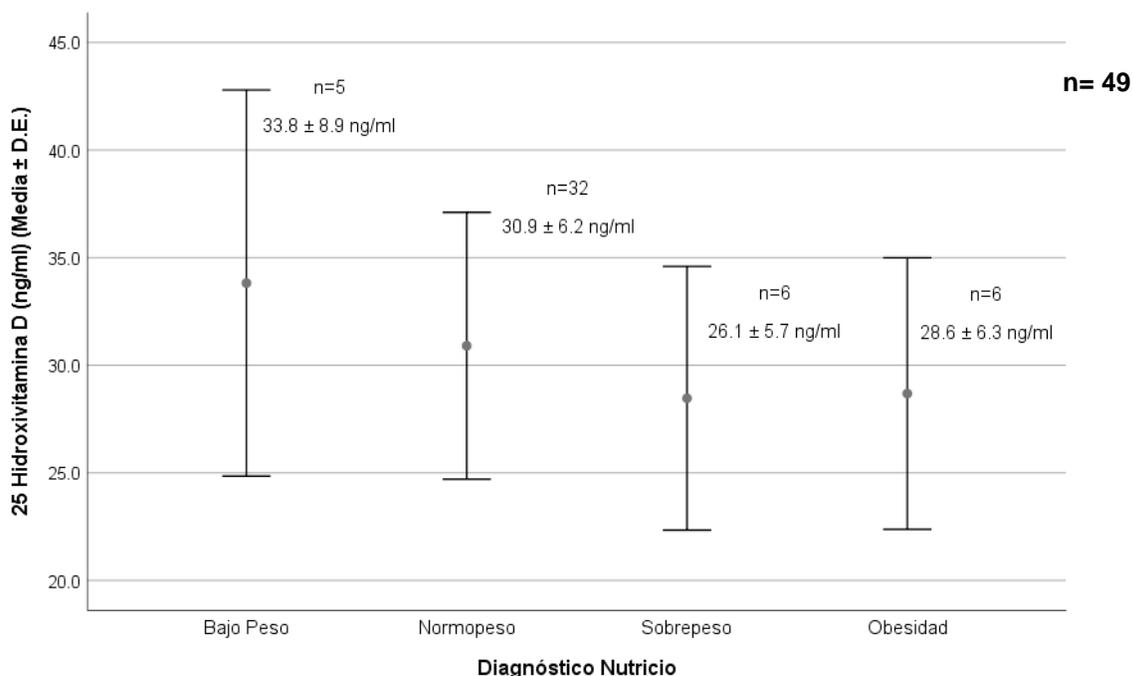


**Figura 3. Categorización porcentual de diagnóstico nutricional en población infantil**

Puntos de corte en base a las tablas de crecimiento de la OMS

De acuerdo a una prueba T de Student realizada, no se encontró diferencia significativa respecto a las medias de las concentraciones de 25 hidroxivitamina D

acorde al diagnóstico nutricio (Bajo Peso, Normopeso, Sobrepeso y Obesidad) de la población, no obstante se observó una tendencia negativa de 25 hidroxivitamina D conforme el IMC incrementaba (Figura 4).



**Figura 4. Concentraciones de 25 hidroxivitamina D de acuerdo al diagnóstico nutricio en población infantil**

Conforme a esto se encontró una asociación negativa entre el índice de masa corporal (IMC) y la 25 hidroxivitamina D ( $r=-0.28$ ,  $p=0.04$ ), además de una correlación positiva entre la edad y la 1,25 dihidroxivitamina D ( $r=0.30$ ,  $p=0.03$ ) (Tabla 2).±

**Tabla 2. Asociación entre mediciones antropométricas y edad con vitamina D**

	25 Hidroxivitamina D (ng/ml)	1,25 Dihidroxivitamina D (pg/ml)
	r	r
Peso (Kg)	-0.26	0.15
Talla (cm)	-0.17	0.23
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	<b>-0.28*</b>	0.02
Edad (años)	-0.18	<b>0.30*</b>

\* Significancia estadística  $p<0.05$ ; \*\*Significancia estadística  $P<0.01$

Acorde al coeficiente de regresión B por cada unidad que incremente el IMC disminuirá 0.36 unidades la 25 hidroxivitamina D ( $p < 0.05$ ) (Figura 5); mientras que por cada unidad que incremente la edad aumentará 0.39 unidades la 1,25 dihidroxivitamina D ( $p < 0.05$ ) (Figura 6).

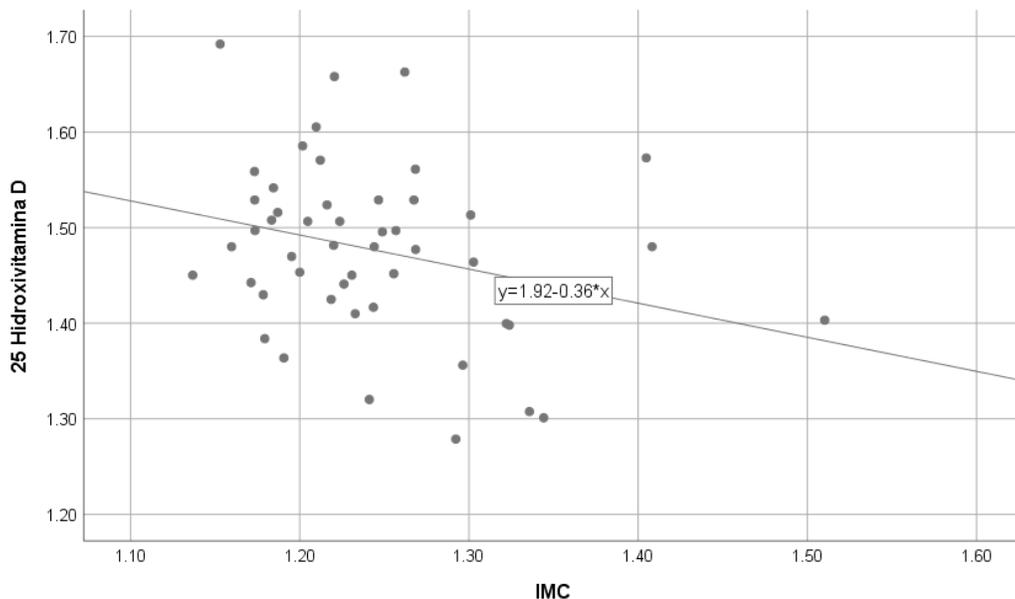


Figura 5. Regresión lineal entre 25 hidroxivitamina D con IMC; **Coef. B= -0.36**

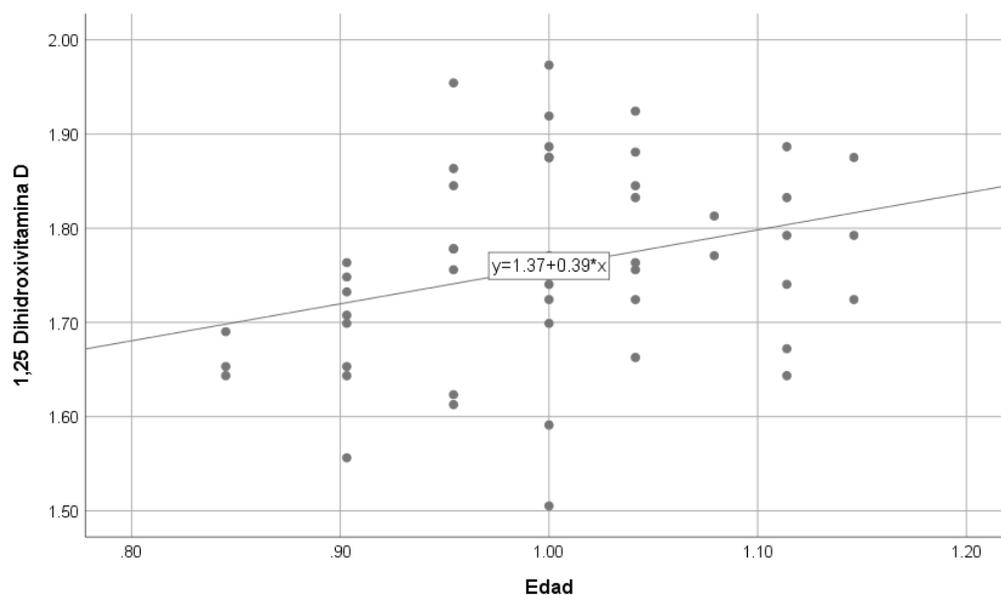
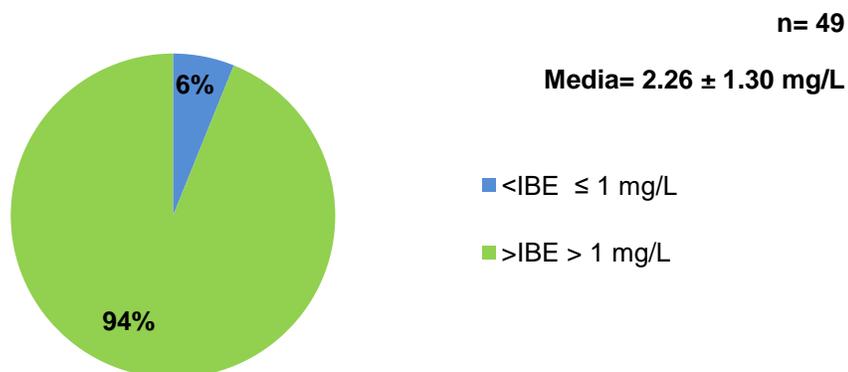


Figura 6. Regresión lineal entre 1, 25 dihidroxivitamina D con edad; **Coef. B= 0.39**

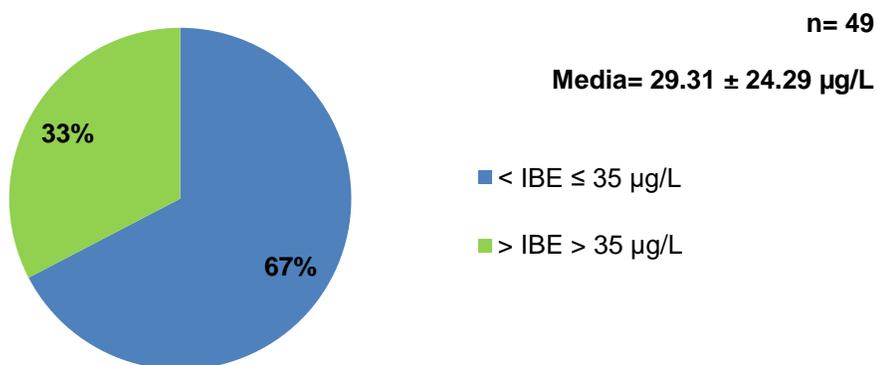
Debido a que la población de estudio presenta una elevada exposición a flúor y arsénico a través del agua de consumo, se evaluaron niveles de éstos en orina. El 93.88% de la población presentó concentraciones de flúor en orina por encima del Índice Biológico de Exposición (IBE) de acuerdo a lo establecido por la OMS (Figura 7). La población presento una media de flúor de  $2.26 \pm 1.30$  mg/L con un IC95% de 1.88-2.63 mg/L.



**Figura 7. Distribución porcentual de flúor en orina en población infantil**

Índice Biológico de Exposición sugerido por la OMS

De acuerdo a valores establecidos por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), el 32.65% de la población presento niveles por encima del IBE de arsénico en orina con una media de  $29.31 \pm 24.29$  µg/L y un IC95% de 22.33-36.29 µg/L (Figura 8).



**Figura 8. Distribución porcentual de arsénico en orina en población infantil**

IBE sugerido por Belson, Schier, Patel, & CDC (2005)

Con motivo de que el flúor y arsénico son considerados nefrotóxicos se hizo uso de novedosos biomarcadores tempranos de lesión renal, los cuales fueron caracterizados en la población (Tabla 3); posteriormente se analizó la asociación existente entre los biomarcadores renales con los contaminantes ambientales presentes.

**Tabla 3. Caracterización de biomarcadores renales**

Biomarcador Renal	Media ± D.E.	IC 95%	Percentil 25	Percentil 75
GGT (U/mmolCr)	9.96 ± 6.38	8.13-11.80	5.48	14.05
NGAL (ng/ml)	1.02 ± 1.81	0.50-1.55	0.18	0.91
NGAL (ng/mgCr)	1.55 ± 1.70	1.06-2.04	0.44	1.96
KIM-1 (pg/ml)	127.46 ± 245.23	57.02-197.90	68.8	68.8
KIM-1 (ng/mgCr)	0.22 ± 0.28	0.14-0.30	0.08	0.28
CyC (mg/L)	0.017 ± 0.014	0.013-0.022	0.007	0.02

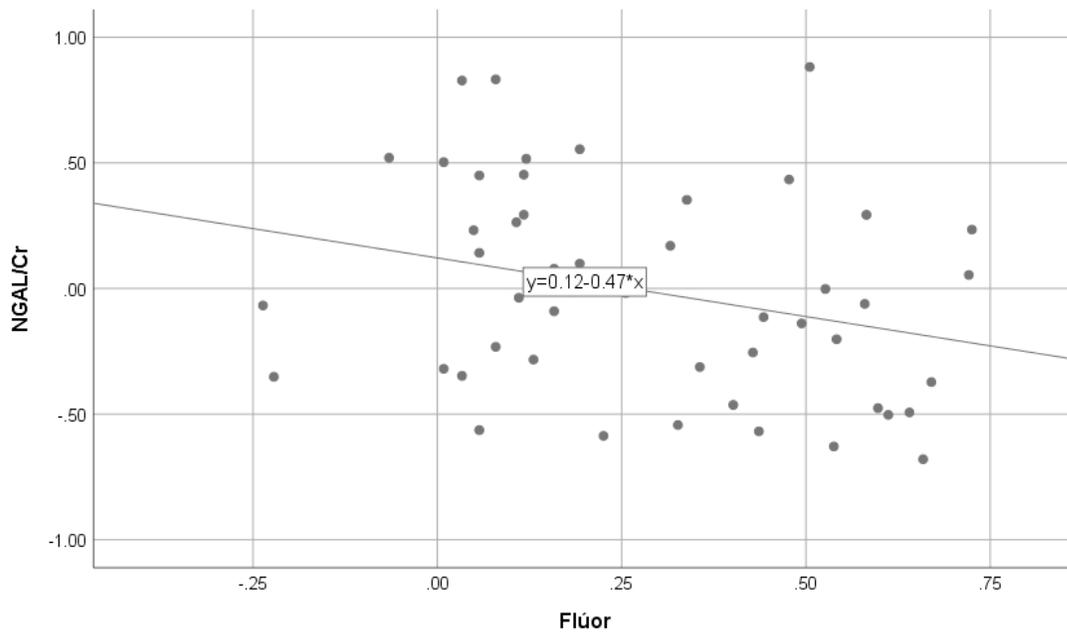
Se observó una asociación negativa entre los niveles de NGAL con flúor y arsénico ( $r=-0.297$ ,  $p=0.03$ ;  $r=-0.294$ ,  $p=0.04$ , respectivamente); en cuanto a los otros biomarcadores renales no se encontró una asociación significativa con flúor y arsénico (Tabla 4).

**Tabla 4. Asociación entre biomarcadores tempranos de lesión renal con F y As en orina**

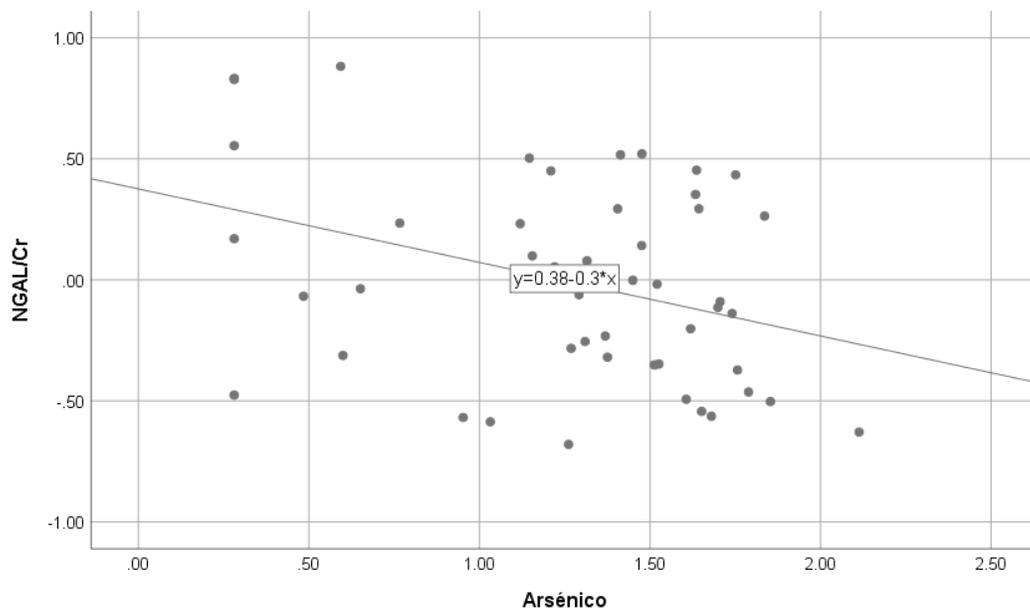
	GGT (U/mmolCr)	KIM-1 (ng/mgCr)	CyC (mg/mgCr)	NGAL (ng/mgCr)	KIM-1 (pg/ml)	CyC (mg/L)	NGAL (ng/ml)
	r	r	r	r	r	r	r
Flúor (mg/L)	-0.15	-0.07	0.13	<b>-0.297*</b>	-0.08	0.16	-0.18
Arsénico (mg/L)	0.10	-0.16	0.006	<b>-0.294*</b>	-0.20	-0.02	-0.27

\* Significancia estadística  $p<0.05$ ; \*\*Significancia estadística  $P<0.01$

De acuerdo al coeficiente de regresión B por cada unidad que incremente el flúor y arsénico en orina disminuirá 0.47 y 0.3 unidades, respectivamente, concentraciones de NGAL ajustadas por creatinina ( $p<0.05$ ) (Figura 9 y Figura 10).



**Figura 9. Regresión lineal entre NGAL (ng/mgCr) con F en orina; Coef. B = -0.47**



**Figura 10. Regresión lineal entre NGAL (ng/mgCr) con As en orina; Coef. B = -0.3**

Además de las asociaciones bivariadas realizadas entre los biomarcadores tempranos de daño renal con flúor y arsénico de manera independiente, se generaron modelos de regresión lineal multivariada para cada uno de los

biomarcadores renales ajustado por flúor y arsénico de manera conjunta, para observar si existieran efectos de éstos ligados. Se observó una correlación significativa entre NGAL (ng/mgCr) con flúor y arsénico ( $r^2$  ajustado=0.09,  $p=0.04$ ) de manera conjunta, sin embargo es importante remarcar que previamente se encontró colinealidad entre estas variables de manera independiente (Tabla 5).

**Tabla 5. Modelos de regresión lineal multivariante para biomarcadores renales con F y As en orina**

Variable Dependiente	Modelo	Variables Independientes	Coficiente No Estandarizado	Coficiente Estandarizado	r	$r^2$	$r^2$ Ajustado	p
GGT (U/mmolCr)	1	Flúor Arsénico	-0.14 0.08	-0.11 0.11	0.14	0.02	-0.020	0.59
KIM-1 (ng/mgCr)	2	Flúor Arsénico	-0.11 -0.12	-0.08 -0.15	0.18	0.03	-0.008	0.44
CyC (mg/mgCr)	3	Flúor Arsénico	0.21 0.01	0.15 0.01	0.15	0.02	-0.018	0.57
NGAL (ng/mgCr)	4	Flúor Arsénico	-0.36 -0.23	-0.23 -0.24	0.36	<b>0.12</b>	<b>0.091</b>	<b>0.04</b>
KIM-1 (pg/ml)	5	Flúor Arsénico	0.18 0.11	-0.04 -0.24	0.25	0.06	0.022	0.22
CyC (mg/l)	6	Flúor Arsénico	0.27 -0.04	0.18 -0.05	0.18	0.03	-0.007	0.44
NGAL (ng/ml)	7	Flúor Arsénico	-0.299 -0.295	-0.16 -0.27	0.37	0.11	0.075	0.06

Significancia estadística  $p < 0.05$

Se usaron datos antropométricos recolectados por Bravo et al. (2018) para evaluar la asociación entre estos con los biomarcadores renales estudiados. Se observó una asociación significativa entre NGAL (ng/ml) con peso ( $r=0.36$ ,  $p=0.01$ )

y edad ( $r=0.36$ ,  $p=0.009$ ), así como entre NGAL ajustado por creatinina (ng/mgCr) con peso ( $r=0.30$ ,  $p=0.03$ ), IMC ( $r=0.30$ ,  $p=0.03$ ) y edad ( $r=0.29$ ,  $p=0.03$ ).

**Tabla 6. Asociación entre biomarcadores renales e indicadores antropométricos y edad**

	GGT (U/mmolCr)	KIM-1 (ng/mgCr)	CyC (mg/mgCr)	NGAL (ng/mgCr)	KIM-1 (pg/ml)	CyC (mg/L)	NGAL (ng/ml)
	r	r	r	r	r	r	r
Peso (Kg)	-0.11	-0.14	-0.21	<b>0.30*</b>	0.01	-0.14	<b>0.36*</b>
Talla (cm)	-0.13	-0.19	-0.16	0.19	-0.01	-0.08	0.25
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	-0.06	-0.09	-0.18	<b>0.30*</b>	0.02	0.16	0.24
Edad (Años)	-0.11	-0.21	-0.16	<b>0.29*</b>	-0.02	-0.08	<b>0.36**</b>

\* Significancia estadística  $p<0.05$ ; \*\*Significancia estadística  $P<0.01$

Se generaron modelos de regresión lineal multivariados para cada biomarcador renal ajustado por IMC y edad; se observó una asociación positiva entre NGAL (ng/mgCr) y NGAL (ng/ml) con respecto a las variables predictoras IMC y edad ( $r^2$  ajustado=0.10,  $p=0.02$ ;  $r^2$  ajustado=0.02,  $p=0.01$ , respectivamente).

**Tabla 7. Modelo de regresión lineal multivariante para biomarcadores renales con IMC y edad**

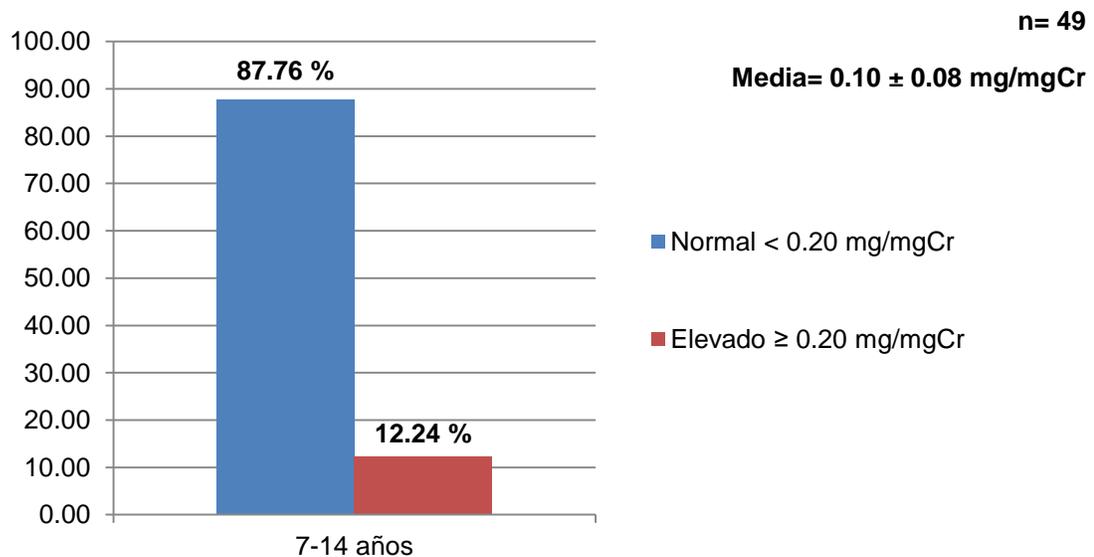
Variable Dependiente	Modelo	Variables Independientes	Coefficiente No Estandarizado	Coefficiente Estandarizado	r	r <sup>2</sup>	r <sup>2</sup> Ajustado	p
GGT (U/mmolCr)	1	IMC	-0.02	-0.005	0.11	0.01	-0.03	0.74
		EDAD	-0.41	-0.10				
KIM-1 (ng/mgCr)	2	IMC	0.28	0.05	0.22	0.04	0.007	0.31
		EDAD	-1.009	-0.24				
CyC (mg/mgCr)	3	IMC	-1.28	-0.26	0.32	0.10	0.06	0.08
		EDAD	-0.42	-0.10				
NGAL (ng/mgCr)	4	IMC	1.14	0.26	<b>0.37</b>	<b>0.14</b>	<b>0.10</b>	<b>0.02</b>
		EDAD	0.83	0.17				

KIM-1 (pg/ml)	5	IMC	0.61	0.13	0.14	0.02	-0.02	0.62
		EDAD	-0.55	-0.14				
CyC (mg/l)	6	IMC	-0.94	-0.18	0.18	0.03	-0.009	0.45
		EDAD	0.02	0.006				
NGAL (ng/ml)	7	IMC	1.74	0.28	<b>0.44</b>	<b>0.19</b>	<b>0.16</b>	<b>0.01</b>
		EDAD	1.29	0.23				

Significancia estadística  $p < 0.05$

Una vez caracterizados los biomarcadores de lesión renal y debido de que el flúor y arsénico repercuten negativamente de manera directa en el riñón donde ocurre principalmente la síntesis de la 1,25 dihidroxivitamina D y la reabsorción de calcio y fosfato, se caracterizaron estas variables y se analizó su asociación.

De acuerdo a puntos de corte sugeridos por Ma Fraga Rodríguez et al. (2014) en población infantil el 87.76% de la población presentó concentraciones normales de calcio en orina mientras el 12.24% presentó hipercalcemia (Figura 11). Niveles de calcio urinario en la población presentaron un IC95% de 0.085-0.13mg/mgCr y una media de  $0.108 \pm 0.081$  mg/mgCr.



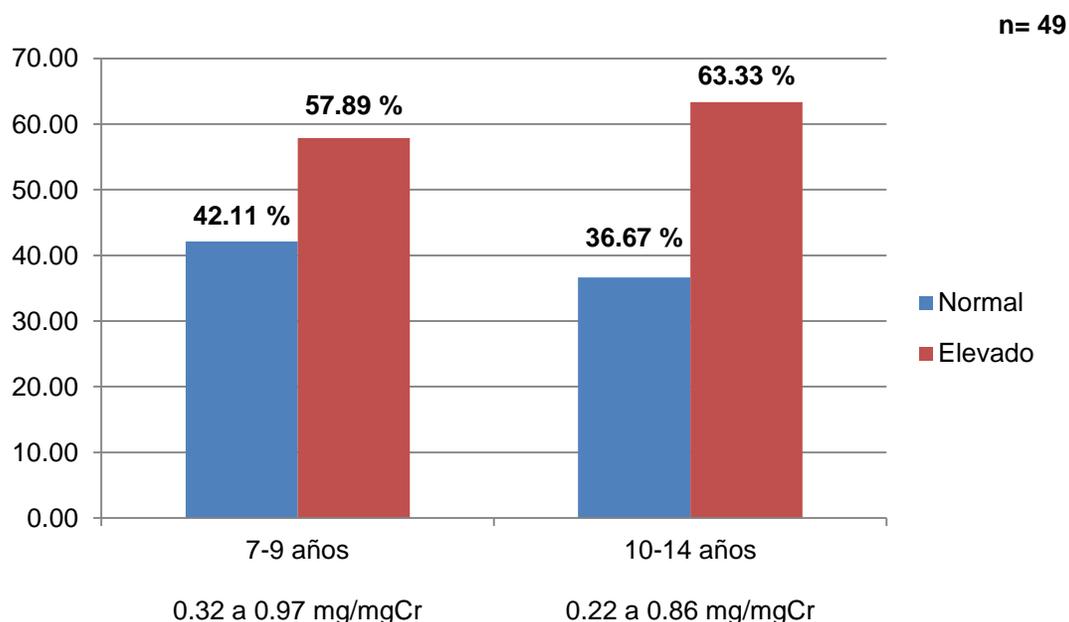
**Figura 11. Distribución porcentual de calcio en orina en población infantil**

Puntos de corte clínico para población infantil >4 años de edad (M<sup>a</sup> Fraga Rodríguez et al., 2014)

Respecto a los valores de fosfato urinario, los puntos de corte clínico para población infantil son categorizados de acuerdo a rangos de edades, y haciendo referencia a éstos el 57.89% y el 63.33% de los individuos de entre 7 a 9 años y 10 a 14 años de edad, respectivamente, presentaron concentraciones elevadas de éste (Tabla 8 y Figura 12). Fosfato en orina para toda la población resulto con una media de  $1.08 \pm 0.60$  mg/mgCr y un IC95% de 0.90-1.25 mg/mgCr.

**Tabla 8. Categorización de fosfato en orina en población infantil (Micción aislada)**

Edad	PO4:Cr	Normal	Elevado	Media $\pm$ D.E.
7-9 años	0.32 a 0.97	42.11 %	57.89 %	$1.23 \pm 0.69$
10-14 años	0.22 a 0.86	36.67 %	63.33 %	$0.99 \pm 0.53$



**Figura 12. Distribución porcentual de fosfato en orina en población infantil**

Puntos de corte clínico para población infantil (M<sup>a</sup> Fraga Rodríguez et al., 2014)

Se observó una correlación positiva entre fosfato urinario y flúor ( $r=0.39$ ,  $p=0.005$ ), más sin embargo no se encontró correlación entre 1,25 dihidroxivitamina D y calcio urinario con flúor. En cuanto al arsénico no se encontró asociación significativa con ninguno de éstos (Tabla 9).

**Tabla 9. Asociación entre calcio urinario, fosfato urinario y 1,25 dihidroxivitamina D con F y As en orina**

	Calcio (mgCa/mgCr)	Fosfato (mg/mgCr)	1,25 Dihidroxivitamina D (pg/ml)
	r	r	r
Flúor (mg/L)	0.25	<b>0.39**</b>	-0.18
Arsénico (mg/L)	0.20	0.02	0.01

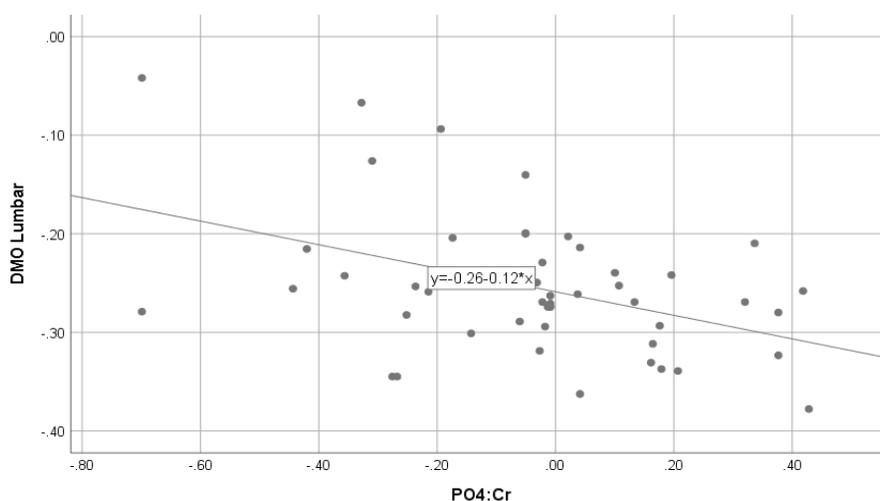
\* Significancia estadística  $p < 0.05$ ; \*\*Significancia estadística  $P < 0.01$

Con motivo de que el calcio y el fosfato son los principales componentes de la hidroxiapatita en hueso, se evaluó la asociación que existía entre estos y la densidad mineral ósea en zona lumbar y cadera, en esta evaluación se encontró que existe una correlación negativa entre el fosfato en orina y la densidad mineral ósea a nivel lumbar ( $r = -0.35$ ,  $p = 0.01$ ) (Tabla 10).

**Tabla 10. Asociación entre calcio urinario y fosfato urinario con densidad mineral ósea**

	DMO Lumbar	DMO Cadera
	r	r
Calcio (mgCa/mgCr)	-0.13	-0.19
Fosfato (mg/mgCr)	<b>-0.35*</b>	-0.22

\* Significancia estadística  $p < 0.05$ ; \*\*Significancia estadística  $P < 0.01$



**Figura 13. Regresión lineal entre DMO lumbar con fosfato en orina; Coef. B = -0.12**

Acorde al coeficiente de regresión B por cada unidad que incremente el fosfato urinario ajustado por creatinina disminuirá 0.12 unidades la DMO en zona lumbar ( $p < 0.05$ ) (Figura 13).

A pesar de no ser uno de los objetivos específicos y debido a que con anterioridad Yáñez & Mejía (2018) no habían encontrado asociación entre concentraciones de flúor urinarias con densidad mineral ósea en el universo de trabajo, se evaluó la asociación en la muestra de estudio entre los niveles de flúor y arsénico en orina con densidad mineral ósea lumbar y en cadera, más sin embargo no se encontraron correlaciones significativas entre éstos ( $p > 0.05$ ).

## **DISCUSIÓN**

La nutrición es un factor importante y modificable en el desarrollo y mantenimiento de la masa ósea. Se estima que la densidad mineral ósea puede ser modificable por la dieta y el ejercicio hasta en un 20%. El calcio, el fósforo y la vitamina D son elementos esenciales para el desarrollo estructural y funcional del hueso, el incremento y el mantenimiento de la densidad mineral ósea dependerá en gran parte de la disponibilidad de estos nutrientes en circulación sistémica (DeBoer et al., 2015; Suárez Cortina et al., 2011).

El regular el metabolismo de calcio y fósforo no es la única función de la vitamina D en el organismo, además participa en muchas otras funciones en éste, como en la regulación de la presión arterial y sistema inmune, la síntesis de insulina, el desarrollo neuronal, la apoptosis, la angiogénesis, la proliferación y diferenciación celular, entre muchas otras (Flores et al., 2006; Holick, 2007).

Cerca del 90% de la vitamina D se obtiene mediante la exposición a la radiación UVB, mientras el 10% restante generalmente es proveniente de la dieta (Holick, 2007). La deficiencia de vitamina D puede ser consecuencia principalmente de un consumo inadecuado de esta o una deficiente exposición solar (Holick, 2007; Molina, 2013). Sin embargo existen otros factores de riesgo

que pueden provocar una insuficiencia de vitamina D en el organismo, tales como cantidad de melanina en piel, el uso protectores solares (factor de protección UV>15), una excesiva exposición solar, las estaciones de invierno, la latitud geográfica, la desnutrición, la obesidad, una exclusiva lactancia materna después de los 6 meses de edad (leche materna contiene bajos niveles de vitamina D), una malabsorción intestinal, la presencia de una daño renal, entre otros (Holick, 2007).

Un déficit de vitamina D en etapas tempranas de la vida interferirá con el máximo alcance de masa ósea e incrementará el riesgo de presentar raquitismo y osteomalacia durante la niñez, y osteoporosis en edad adulta (Carrié Fässler & Bonjour, 1995; Holick, 2006; Suárez Cortina et al., 2011)

La deficiencia de vitamina D es un problema actual de salud pública a nivel mundial, en México de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) la prevalencia de insuficiencia de 25 hidroxivitamina D en niños de 6 a 12 años es del 18%, mientras que la prevalencia de deficiencia es del 10% (Flores et al., 2006). La prevalencia de insuficiencia en la población de estudio (42.86%) resultó ser mayor que aquella reportada por la ENSANUT (2006), mientras que la prevalencia de deficiencia en la población (2.04%) resultó ser menor que las previamente encontradas.

En otro estudio en población infantil mexicana (198 niños de 6 a 12 años de edad, Monterrey) realizado por Elizondo Montemayor et al. (2010), se reportó una mayor prevalencia de insuficiencia (62.1%) y deficiencia (20.1%) de 25 hidroxivitamina D que la encontrada en el presente estudio.

En motivo de que resultados de estudios previos en la población infantil del estudio indicaban prevalencia de densidad mineral ósea por debajo de lo esperado para la edad (Jarquín-Yáñez & Mejía-Saavedra, 2017) y de que la vitamina D participa directamente en el metabolismo fosfocalcico del hueso, se evaluó la asociación que existía entre ambas variables.

La 25 hidroxivitamina D y la 1,25 dihidroxivitamina D se encontraron correlacionadas positivamente con la densidad mineral ósea en zona lumbar y en cadera en la población ( $p < 0.05$ ); resultado similar a lo reportado por Bischoff-Ferrari et al. (2006) que establece que la 25 hidroxivitamina D se encuentra asociada directamente con la densidad mineral ósea en personas de distintas razas ( $p < 0.05$ ); por Fu et al. (2016) que encontró correlación positiva significativa entre niños de 0 a 7 años de edad con densidad mineral ósea ( $p < 0.001$ ) y un coeficiente de determinación significativo ( $r^2 = 0.14$ ,  $p < 0.001$ ); por Deng et al. (2015) que encontró asociación entre éstas variables en mujeres postmenopáusicas ( $r = 0.18$ ,  $p < 0.05$ ) y por Sohn, Chang, & Yang (2017), que encontró correlación entre la vitamina D con la masa ósea en niños de 5 a 20 años con síndrome de intestino irritable ( $r = 0.23$ ,  $p = 0.02$ ).

La densidad mineral ósea por debajo de lo esperado en la población de estudio pudiera ser debido a la insuficiencia de 25 hidroxivitamina D hallada en el presente, ya que de acuerdo a lo reportado en el estudio a mayor 25 hidroxivitamina D mayor será la densidad mineral ósea ( $p < 0.05$ ), esto posiblemente debido a que como menciona Holick (2007) y Misra et al. (2008), en un estado de suficiencia de 25 hidroxivitamina D la absorción de calcio y fósforo, provenientes de la dieta, en intestino delgado incrementará hasta un 30% y 80% respectivamente, a diferencia de estado sin 25 hidroxivitamina D donde apenas se absorberá el 15% del calcio y 60% del fósforo, a pesar de que exista una ingesta adecuada de éstos en la dieta.

A diferencia de la 25 hidroxivitamina D, los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D se encontraron dentro y por encima de los puntos de corte clínicos normales para la edad. Esto probablemente debido a que como mencionan Misra et al. (2008), Holick (2009), Juppner & Kronenberg (2003) y Molina (2013) concentraciones séricas disminuidas tanto de 25 hidroxivitamina D por debajo de los 30 ng/mL (insuficiencia y deficiencia) estimularán la síntesis de la hormona paratiroidea (PTH), hormona secretada por la glándula paratiroides que se

encargará de regular el metabolismo del calcio y fósforo principalmente, incrementando la producción renal de 1,25 dihidroxivitamina D al aumentar la actividad de la 1- $\alpha$  hidroxilasa en riñón, y en conjunto con esta a mayor grado, provocarán la movilización de las reservas de calcio y fósforo del hueso para el mantenimiento de éstos en circulación, provocando así una disminución en la densidad mineral ósea. De acuerdo a Bowden, Robinson, Carr, & Mahan, (2008), la 25 hidroxivitamina D se encuentra inversamente correlacionada con la PTH ( $P < 0.05$ ).

La PTH y la 1,25 dihidroxivitamina D también se encargarán de regular la reabsorción renal de calcio filtrado a nivel tubular, incrementándola cuando exista un déficit de éste en circulación (Molina, 2013). Por el contrario, niveles elevados de fosfato en sangre estimularán la secreción de la PTH, que para regular niveles de fosfato séricos disminuirá su reabsorción a través del túbulo proximal en riñón incrementando su excreción, provocando de esta manera una disminución de la densidad mineral ósea (Lanzano et al., 2011). Concentraciones elevadas de PTH a largo plazo provocarán una pérdida simultánea de calcio y fósforo en hueso, lo cual disminuirá la masa ósea e incrementará el riesgo de presentar fracturas en un futuro (Mayo Clinic, 2017).

Con respecto a que la obesidad es uno de los diversos factores de riesgo que pueden provocar insuficiencia de vitamina D en circulación, en el presente estudio se caracterizó el estado nutricional de los participantes y se contrastó la diferencia entre las concentraciones de 25 hidroxivitamina D respecto al diagnóstico nutricional de la población, posteriormente se evaluó la asociación que tenía el IMC con la 25 hidroxivitamina,

A diferencia de Elizondo Montemayor et al. (2010) no se encontró diferencia significativa entre las concentraciones de 25 hidroxivitamina D acorde al diagnóstico nutricional de la población, más si se observó una tendencia negativa de 25 hidroxivitamina D conforme el IMC incrementaba, es importante remarcar que

en el estudio de Elizondo et al. (2010) se categorizó el estado nutricional en obesos y no obesos, mientras que en el presente se categorizó en bajo peso, normopeso, sobrepeso y obesidad.

No obstante así como la asociación inversa entre concentraciones de 25 hidroxivitamina D con IMC reportada ( $r=-0.31$ ,  $p<0.001$ ) por Elizondo Montemayor et al. (2010), en éste se encontró una correlación negativa entre la 25 hidroxivitamina D y el IMC ( $r=-0.28$ ;  $p<0.05$ ), indicando que a mayor IMC, menor será la cantidad de 25 hidroxivitamina D en circulación.

Éstos resultados pueden ser debido a que como reportan Alemzadeh et al. (2008), Holick (2003), Rovner et al. (2008), Smotkin Tangorra et al. (2007) y Wortsman et al. (2000) de que al momento de ingerir vitamina D a través de la dieta en forma de ergocalciferol o colecalciferol u obtenerla a partir de la síntesis cutánea mediante la radiación UVB como colecalciferol esta se almacenará en el interior de la grasa corporal, debido a su gran afinidad hacia esta, disminuyendo así su biodisponibilidad para ser metabolizada a su forma activa.

En relación a esto, la población de estudio al encontrarse en una zona con un alto grado de exposición a elementos nefrotóxicos como flúor (4.3 mg/L) y arsénico (0.0499 mg/L) a través del agua de consumo, el riesgo de presentar un daño a nivel tubular renal se incrementará, estado que podría repercutir en la síntesis de la forma activa de la vitamina D.

En el presente estudio los niveles de flúor (Media, 2.26 mg/L) y arsénico (Media, 29.31  $\mu\text{g/L}$ ) en orina se encontraron por encima del IBE en el 93.88% y 32.65% de la población infantil, respectivamente. En comparación a esto, Cárdenas et al. (2016) reportaron en una población de 83 niños (6 a 12 años de edad) de Villa de Reyes, San Luis Potosí expuesta a contaminantes ambientales, entre ellos flúor (2.47 mg/L) y arsénico (0.01 mg/L) concentraciones medias

superiores de arsénico urinario (45 µg/L) y ligeramente inferiores de flúor urinario (2.18 mg/L) respecto a la población del presente estudio.

Niveles de éstos elementos en orina por encima del IBE podrían deberse, a que de acuerdo a lo reportado por (Bravo & Mejía, 2018) la mayor parte de la población continúa ingiriendo agua de la llave o cocinando con esta, principales fuentes de exposición a estos tóxicos.

De acuerdo a Peña Rodriguez (2004) en etapas tempranas de daño renal puede ocurrir una disminución en la síntesis de la 1,25 dihidroxivitamina D; y conforme el daño aumente esta disminuirá progresivamente (Dusso, 2011).

Este es uno de los primeros estudios que tiene como objetivo caracterizar valores de novedosos biomarcadores tempranos de daño renal en población infantil expuesta a flúor y arsénico. Los resultados obtenidos podrán ser de utilidad para establecer guías con propósitos de diagnóstico en poblaciones con características similares.

El uso de estos biomarcadores tempranos de daño renal pretende proveer información útil para determinar una lesión a nivel tubular proximal renal, que frecuentemente precede a cambios funcionales en riñón, comúnmente detectados por creatinina sérica (Chen & Koyner, 2015).

Con un gran número de mitocondrias y debido a que existe una elevada actividad metabólica y absorción activa por parte de las células tubulares, el túbulo proximal es sumamente vulnerable a lesiones hipóxicas, obstructivas, isquémicas, oxidativas y metabólicas, que con el tiempo provocan muerte celular y la generación de glomérulos atubulares. Una lesión prolongada a nivel tubular provocará que la enfermedad renal progrese e induzca a una lesión renal aguda y posteriormente a una enfermedad renal crónica (Chevalier, 2016; Weidemann et al., 2016); además se ha demostrado que las células epiteliales del túbulo

proximal son el principal blanco del flúor y arsénico en riñón (Marjorie A. Peraza et al., 2006; Santoyo-Sanchez et al., 2013).

La expresión de KIM-1 en un riñón sano es casi imperceptible, al momento de una lesión en riñón los niveles de esta incrementan en grandes cantidades en la membrana apical del túbulo renal, región donde el túbulo es mayormente afectado. Los niveles elevados persisten en las células epiteliales hasta que la célula se ha recuperado por completo (Bonventre, 2009)

De acuerdo a los resultados obtenidos, concentraciones de KIM-1 (IC95%, 57.02-197.90 pg/mL) resultaron ser menores que aquellas reportadas por Cárdenas-González et al. (2016) en población infantil (6 a 12 años de edad) de Villa de Reyes, San Luis Potosí expuesta a contaminantes ambientales (IC95%, 216.79-428.06 pg/mL); así como en población infantil sana evaluada por Bennett, Nehus, Haffner, Ma, & Devarajan (2015) (IQR, 226-703 pg/mL).

Asimismo los valores de KIM-1 obtenidos, ajustados por creatinina urinaria (IC95%, 0.14-0.30 ng/mgCr; IQR, 0.08-0.28 ng/mgCr), resultaron ser menores que aquellas reportados por McWilliam et al. (2014) en población infantil sana en Estados Unidos y Reino Unido (IC95%, 0.16 a 0.20 y 0.37-0.50 ng/mgCr, respectivamente), y por Tomczak et al. (2013) en un grupo control de adolescentes sanos de 11 a 18 años de edad (IQR, 0.46-1.14 ng/mgCr).

En presencia de daño tubular, los neutrófilos y las células tubulares renales estimularán rápidamente la liberación de NGAL en el sitio lesionado. La lesión del epitelio del túbulo proximal alterará la reabsorción de NGAL, provocando de esta manera un incremento en su excreción urinaria (Seijas, Baccino, Nin, & Lorente, 2014; Tomczak et al., 2013).

Las concentraciones de NGAL analizadas en la población, resultaron ser menores (IC95%, 0.50-1.55 ng/ml; IC95%, 1.06-2.04 ng/mgCr; IQR, 0.44-1.93

ng/mgCr) que aquellas encontradas en población infantil sana por Bennett et al. (2015) (IQR, 2.8-17 ng/ml), así como por McWilliam et al. (2014) en Estados Unidos y Reino Unido (IC95%, 2.8-17 y 2.5-12.8 ng/mL; 6.80-9.86 y 8.76-13.11 ng/mgCr respectivamente), y similares a aquellas reportadas por Tomczak et al. (2013) en adolescentes sanos (IQR, 0.63-2.58 ng/mgCr).

Además se observaron niveles menores de NGAL en niños y niñas (IC95%, 0.31-1.53 y 1.48-2.93 ng/mgCr, respectivamente) que aquellos encontrados por Cárdenas González et al. (2016) (IC95%, niños 1.71-4.62 ng/mgCr y niñas de 23.70-85.40 ng/mgCr) en población infantil expuesta a tóxicos ambientales.

El incremento de GGT en orina refleja directamente lesión de las células tubulares epiteliales o su abscisión y pérdida del borde de cepillo del túbulo proximal (Arhima, Gulati, & Sharma, 2004). A pesar de esto, los resultados obtenidos en el estudio (Media,  $9.96 \pm 6.38$  e IC95%, 8.13-11.80 U/mmolCr) resultaron ser menores que aquellos reportados por Xiong, et al. (2007) en una población de niños de 6 a 12 años de edad de China (Media,  $24.81 \pm 4.34$  U/mmolCr) expuesta a concentraciones similares de flúor en agua (4.51 mg/L) que a la del presente estudio (4.3 mg/L).

La cistatina C al ser una molécula que es comúnmente catabolizada y reabsorbida casi en su totalidad en el túbulo proximal renal, es poco frecuente observarla en orina en ausencia de un trastorno tubular (Westhuyzen, 2006b). De acuerdo a Conti et al. (2006) concentraciones de cistatina C son significativamente mayores en pacientes con lesión tubular que aquellos con lesión glomerular o controles normales.

En el presente estudio se encontraron concentraciones en orina de cistatina C (Media  $\pm$  D.E,  $0.017 \pm 0.014$  mg/L; IQR, 0.007-0.02 mg/L) por debajo de las sugeridas por Filler et al. (2004) como óptimas en adultos de 0.033 a 0.29 mg/L;

así como de aquellas observadas por Jiménez Córdova et al. (2018) en población adulta mexicana expuesta a flúor y arsénico (Media  $\pm$  D.E,  $0.20 \pm 0.18$  mg/L; Rango 0.013-1.6 mg/L).

Con respecto a esto, se analizó la asociación existente entre los biomarcadores tempranos de daño renal con los contaminantes ambientales nefrotóxicos presentes, y se encontró una asociación negativa entre NGAL (ng/mgCr) con flúor y arsénico ( $r=-0.297$  y  $r=-0.294$ , respectivamente) estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ), esto pudiera deberse al tiempo de liberación de NGAL y al pico máximo y tiempo de excreción del flúor y arsénico. O asimismo, a que ante una lesión a nivel tubular renal la NGAL será liberada tanto por neutrófilos como por células tubulares, y al ser las células epiteliales del túbulo proximal el principal blanco de flúor y arsénico en riñón, una exposición elevada a éstos contaminantes posiblemente podrían repercutir en la liberación de NGAL a través de las células tubulares, por lo que las concentraciones de NGAL resultarían menores conforme los niveles de flúor y arsénico incrementen.

En motivo de que indicadores antropométricos y la edad pudieran tener un efecto importante sobre los biomarcadores renales, se analizó la correlación entre estos y se encontró una asociación estadísticamente significativa entre NGAL libre así como ajustado por creatinina con IMC y edad ( $p < 0.05$ ).

Una vez analizada la asociación entre biomarcadores renales y contaminantes ambientales, se procedió a caracterizar niveles de calcio y fosfato en orina y evaluar su correlación con concentraciones de flúor y arsénico; esto en consideración a que de acuerdo Santoyo Sánchez et al. (2013), una ingesta elevada a flúor, debido a su gran afinidad hacia tejidos óseos, podrá provocar la redistribución de calcio y fosfato del hueso hacia circulación sanguínea, y asimismo disminuir la reabsorción de calcio y fosfato por el túbulo proximal incrementando así su excreción urinaria. Éste suceso repercutiría en las concentraciones plasmáticas de calcio y fosfato.

Además el arsénico, al tener propiedades fisicoquímicas similares al fosfato, en forma de arseniato podría sustituir al fosfato en muchas reacciones bioquímicas. Al igual que el fosfato, el arseniato es capaz de formar enlaces éster con grupos hidroxil, sin embargo a diferencia de los enlaces formados con la apatita, estos enlaces se caracterizan por poseer poca estabilidad (Dixon, 1996). Referente a esto, existen poca investigación sobre la explicación de cómo interactúa el arsénico directamente con la masa ósea; sin embargo, respecto a esto Akbal, et al. (2014) en un estudio en adultos observó en su grupo expuesto a arsénico una asociación negativa respecto a su grupo control ( $p < 0.001$ ) entre niveles de exposición a arsénico con densidad mineral ósea.

En el presente estudio se encontró que más del 50% de los participantes presentaron niveles elevados de fosfato en orina, mientras el 12.2% de presentó concentraciones elevadas de calcio urinario. Además de los factores de riesgo provocados por flúor y arsénico, niveles de calcio y fosfato en orina dependerán asimismo de otros factores, como la dieta, la edad, el metabolismo fosfocalcico, la absorción intestinal, la acción de la PTH, entre otros (M<sup>a</sup> Fraga Rodríguez et al., 2014).

Con respecto a esto, se observó una asociación positiva significativa entre el fosfato urinario y el flúor en orina ( $r = 0.39$ ,  $p > 0.01$ ), mas no se observó asociación significativa entre arsénico con calcio y fosfato.

Es posible que los niveles elevados de fosfato en orina en el presente estudio puedan deberse o a que al existir insuficiencia de 25 hidroxivitamina D en circulación, la PTH estimulará la síntesis de 1,25 dihidroxivitamina D, la cual en conjunto estimulará la excreción de este a nivel renal (Misra et al., 2008), o bien debido a que la elevada exposición de flúor a través del agua de consumo provoque la movilización de las reservas de este del hueso hacia circulación y se provoque su excreción (Santoyo-Sanchez et al., 2013).

Aunado a esto, y con motivo de que tanto el calcio como el fósforo son los componentes principales de la hidroxiapatita, se evaluó la correlación entre estos y la densidad mineral ósea. La excreción urinaria de fosfato se asoció de manera negativa con la densidad mineral ósea lumbar ( $r=-0.35$ ,  $p<0.05$ ), indicando que a mayor excreción urinaria de fosfato, posiblemente por la redistribución de éste del hueso debido a la elevada exposición a flúor o por la insuficiencia de vitamina D presente en la población, menor será la densidad mineral ósea o viceversa.

Una vez finalizado el estudio, se le entregó a la población los resultados encontrados de manera individual; y en motivo a los hallazgos encontrados se brindó información útil sobre las principales fuentes de vitamina D para el tratamiento y la prevención de deficiencia de ésta, de la misma manera se mencionaron las principales fuentes de calcio y fósforo y se explicó que el consumo de éstas debería realizarse con suficiencia y con moderación, respectivamente. Asimismo, se hizo hincapié y se exhortó nuevamente a la población a disminuir el consumo de agua de la llave y evitar cocinar cualquier tipo de alimentos con esta.

## **CONCLUSIONES**

La vitamina D es un elemento esencial para muchas funciones del organismo, entre ellas el desarrollo y mantenimiento de la masa ósea. Concentraciones sistémicas disminuidas de 25 hidroxivitamina D fueron presentadas por gran parte de la población en el presente estudio; mientras concentraciones de 1,25 dihidroxivitamina D se encontraron normales y elevadas de acuerdo a los puntos de corte clínicos usados.

La 25 hidroxivitamina D y la 1,25 dihidroxivitamina D se encontraron correlacionadas positivamente con la densidad mineral ósea en la población. Asimismo se observó que a mayor IMC menor era la cantidad de 25 hidroxivitamina D y viceversa.

La elevada exposición de flúor y arsénico a través del agua de consumo continúa siendo un problema actual de salud pública para la comunidad, los niveles de flúor y arsénico en orina permanecieron por encima de los niveles permisibles en gran parte de la población. No se observó una asociación significativa relevante respecto a los biomarcadores tempranos de daño renal con flúor y arsénico

A pesar de no haberse observado niveles de biomarcadores tempranos de daño renal por encima de los reportados en previos estudios en población infantil sana, es importante remarcar que la población de estudio al encontrarse expuesta a contaminantes ambientales adversos para la salud (nefrotóxicos, neurotóxicos, entre otros) y en conjunto con las condiciones sociodemográficas presentes se incrementa su vulnerabilidad respecto a otras poblaciones.

Se encontraron concentraciones de fosfato urinario elevadas en más de la mitad de la población. Niveles elevados de flúor en orina se encontraron correlacionados directamente con fosfato urinario, y fosfato se encontró asociado negativamente con densidad mineral ósea en zona lumbar, lo cual indica que el fosfato urinario tiene un papel importante en la densidad mineral ósea en la población.

Pese a que un estudio transversal no es suficiente para establecer causalidad, los resultados obtenidos de éste permitirán trazar el camino a seguir para la comprensión de los hallazgos encontrados.

## **SUGERENCIAS**

Se recomienda analizar la ingesta específica de vitamina D mediante frecuencias de alimentos y recordatorios de consumo para poder descartar o comprobar que el déficit observado en el estudio u otros estudios posteriores similares es debido a un déficit de ingesta de vitamina D (ergocalciferol o colecalciferol) y no a una síntesis inadecuada de ésta.

Asimismo se sugiere evaluar la ingesta de micronutrientes esenciales para el desarrollo y mantenimiento de la masa ósea (calcio y fósforo principalmente), para de esta manera observar si existe alguna deficiencia o exceso de alguno de estos que pudiera repercutir de manera positiva o negativa con la densidad mineral ósea.

Es importante no olvidar la evaluación y cuidado de la población adulta de esta población y otras con características sociodemográficas similares, ya que al llevar expuesta un tiempo aún más prolongado a contaminantes ambientales podría presentar resultados negativos más evidentes que aquellos encontrados en el estudio.

Más estudios son necesarios para caracterizar niveles de biomarcadores renales en población infantil sana y expuesta a contaminantes ambientales, así también para comprender la sinergia que tienen estos con otras variables.

## REFERENCIAS

- Akbal, A., Yilmaz, H., & Tutkun, E. (2014). Arsenic exposure associated with decreased bone mineralization in male. *The Aging Male*, 17(4), 256–258. <https://doi.org/10.3109/13685538.2013.819326>
- Alemzadeh, R., Kichler, J., Babar, G., & Calhoun, M. (2008). Hypovitaminosis D in obese children and adolescents: relationship with adiposity, insulin sensitivity, ethnicity, and season. *Metabolism*, 57(2), 183–191. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2007.08.023>
- Ambade, V., Singh, P., Somani, B. L., Basannar, D., Vivek, N. A., & Scientist, D. (2006). URINARY N-ACETYL BETA GLUCOSAMINIDASE AND GAMMA GLUTAMYL TRANSFERASE AS EARLY MARKERS OF DIABETIC NEPHROPATHY. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 21(212), 142–148. Recuperado a partir de [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3454003/pdf/12291\\_2008\\_Artic](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3454003/pdf/12291_2008_Artic)

le\_BF02912930.pdf

- AMM. (2013). *Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos*.  
<https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
- Arhima, M. H., Gulati, O. P., & Sharma, S. C. (2004). The effect of Pycnogenol on fluoride induced rat kidney lysosomal damage in vitro. *Phytotherapy Research*, 18(3), 244–246. <https://doi.org/10.1002/ptr.1395>
- Ariganjoye, R. (2017). Pediatric Hypovitaminosis D: Molecular Perspectives and Clinical Implications. *Global pediatric health*, 4, 2333794X16685504. <https://doi.org/10.1177/2333794X16685504>
- Armienta, M. A., & Segovia, N. (2008). Arsenic and fluoride in the groundwater of Mexico. *Environmental Geochemistry and Health*, 30(4), 345–353. <https://doi.org/10.1007/s10653-008-9167-8>
- ATSDR. (2003). *FLUORUROS, FLUORURO DE HIDRÓGENO Y FLÚOR*. Recuperado a partir de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts11.pdf](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts11.pdf)
- ATSDR. (2007). *Resumen de Salud Pública Arsénico*.
- ATSDR. (2009). *La toxicidad del arsénico, ¿Cuál es el destino biológico del arsénico en el cuerpo?* Recuperado a partir de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/destino\\_biologico.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/csem/arsenic/destino_biologico.html)
- ATSDR. (2016). *Arsénico (Arsenic)*. Recuperado a partir de [https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts2.html](https://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts2.html)
- Bachrach, L. K. (2001). Acquisition of optimal bone mass in childhood and adolescence The tempo of bone mineral accrual, 12(1), 22–28.
- Barbier, O., Arreola-Mendoza, L., & Del Razo, L. M. (2010). Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 188(2), 319–333. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.07.011>
- Barker, D. J. P. (2004). The developmental origins of adult disease. *Journal of the American College of Nutrition*, 23(6 Suppl), 588S–595S. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15640511>
- Belson, M. G., Schier, J. G., Patel, M. M., & CDC. (2005). Case definitions for chemical poisoning. *MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and*

- mortality weekly report. Recommendations and reports*, 54(RR-1), 1–24.  
Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15660014>
- Bennett, M. R., Nehus, E., Haffner, C., Ma, Q., & Devarajan, P. (2015). Pediatric reference ranges for acute kidney injury biomarkers. *Pediatric Nephrology*, 30(4), 677–685. <https://doi.org/10.1007/s00467-014-2989-y>
- Bikle, D. D. (2014). Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol.*, 21, 319–329. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.12.016>
- BioSystems. (2006a). CREATININA: PICRATO ALCALINO. Recuperado a partir de [http://www.biosimex.com.mx/pdf/insertos\\_dedicados/Quimica clinica/12502 creatinina.pdf](http://www.biosimex.com.mx/pdf/insertos_dedicados/Quimica_clinica/12502_creatinina.pdf)
- BioSystems. (2006b). FÓSFORO: FOSFOMOLIBDATO/UV. Recuperado a partir de [http://www.biosimex.com.mx/pdf/insertos\\_dedicados/Quimica clinica/12508 fosforo.pdf](http://www.biosimex.com.mx/pdf/insertos_dedicados/Quimica_clinica/12508_fosforo.pdf)
- Bischoff-Ferrari, H. A., Giovannucci, E., Willett, W. C., Dietrich, T., & Dawson-Hughes, B. (2006). Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 18–28. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.18>
- Bonjour, J. P., Carrie, A. L., Ferrari, S., Clavien, H., Slosman, D., Theintz, G., & Rizzoli, R. (1997). Calcium-enriched foods and bone mass growth in prepubertal girls: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Investigation*, 99(6), 1287–1294. <https://doi.org/10.1172/JCI119287>
- 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>
- Bowden, S. A., Robinson, R. F., Carr, R., & Mahan, J. D. (2008). Prevalence of vitamin D deficiency and insufficiency in children with osteopenia or osteoporosis referred to a pediatric metabolic bone clinic. *Pediatrics*, 121(6), e1585-90. <https://doi.org/10.1542/peds.2007-2111>
- Bravo, R., & Mejía, J. (2018). *Diseño e implementación de un Programa de Nutrición en población infantil vulnerable a condiciones socio ambientales: El*

*caso de la Reforma, Salinas de Hidalgo, S.L.P.*

- Cárdenas-González, M., Osorio-Yáñez, C., Gaspar-Ramírez, O., Pavković, M., Ochoa-Martínez, A., López-Ventura, D., ... 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>
- Carrié Fässler, A. L., & Bonjour, J. P. (1995). Osteoporosis as a pediatric problem. *Pediatric clinics of North America*, 42(4), 811–24. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7610014>
- Chen, L., & Koyner, J. (2015). Biomarkers in Acute Kidney Injury. *Critical Care Clinics*. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2015.06.002>
- Chevalier, R. L. (2016). The proximal tubule is the primary target of injury and progression of kidney disease: role of the glomerulotubular junction. *American journal of physiology. Renal physiology*, 311(1), F145-61. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00164.2016>
- Chevalley, T., Rizzoli, R., Hans, D., Ferrari, S., & Bonjour, J.-P. (2005). Interaction between Calcium Intake and Menarcheal Age on Bone Mass Gain: An Eight-Year Follow-Up Study from Prepuberty to Postmenarche. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(1), 44–51. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1043>
- Cimaz, R., & Ward, L. (2016). The Impact of Rheumatic Diseases and Their Treatment on Bone Strength Development in Childhood. En *Textbook of PEDIATRIC RHEUMATOLOGY* (pp. 693–702).
- CONAPO. (2010). *Índice de marginación por localidad*. San Luis Potosí.
- Conti, M., Moutereau, S., Zater, M., Lallali, K., Durrbach, A., Manivet, P., ... Loric, S. (2006). Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 44(3), 288–291. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.050>
- DeBoer, M. D., Weber, D. R., Zemel, B. S., Denburg, M. R., Herskovitz, R., Long, J., & Leonard, M. B. (2015). Bone Mineral Accrual Is Associated With Parathyroid Hormone and 1,25-Dihydroxyvitamin D Levels in Children and

- Adolescents. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 100(10), 3814–21. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-1637>
- Del Carmen, A.-D. F., Javier, de la F.-H., & Aline, C.-V. C. (2016). Dental fluorosis, fluoride in urine, and nutritional status in adolescent students living in the rural areas of Guanajuato, Mexico. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 6(6), 517–522. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.195510>
- Deng, W.-M., Wei, Q.-S., Tan, X., Shao, Y., Chen, X.-H., & Sun, W.-S. (2015). Relation of serum 25 hydroxyvitamin D levels to bone mineral density in southern Chinese postmenopausal women: A preliminary study. *The Indian journal of medical research*, 142(4), 430–7. <https://doi.org/10.4103/0971-5916.169206>
- DiaSorin. (2012). LIAISON® 25 OH Vitamin D TOTAL Assay (REF 310600). Recuperado a partir de <https://www.diasorin.com/en/liaisonr-25-oh-vitamin-d-total-assay>
- DiaSorin. (2014). LIAISON® XL 1,25 Dihydroxyvitamin D (REF 310980). Recuperado a partir de <https://www.diasorin.com/en/liaisonr-xl-125-dihydroxyvitamin-d>
- Dixon, H. B. F. (1996). The Biochemical Action of Arsonic Acids Especially As Phosphate Analogues. *Advances in Inorganic Chemistry*, 44, 191–227. [https://doi.org/10.1016/S0898-8838\(08\)60131-2](https://doi.org/10.1016/S0898-8838(08)60131-2)
- Dusso, A. S. (2011). Kidney disease and vitamin D levels: 25-hydroxyvitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, and VDR activation. *Kidney international supplements*, 1(4), 136–141. <https://doi.org/10.1038/kisup.2011.30>
- Edelstein, C. L. (2008). Biomarkers of acute kidney injury. *Advances in chronic kidney disease*, 15(3), 222–34. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2008.04.003>
- Elizondo Montemayor, L., Ugalde Casas, P. A., Serrano González, M., Cuello García, C. A., & Borbolla Escoboza, J. R. (2010). Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentration, Life Factors and Obesity in Mexican Children. *Obesity*, 18(9), 1805–1811. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.448>
- Espinosa-sevilla, A., Amezcua-macías, A. I., Ruiz-palacios, P. C., Rodríguez-

- weber, F., & Díaz-greene, E. (2013). Nuevos marcadores de lesión renal aguda en el enfermo grave. *Med Int Mex*, 29(5), 513–517.
- Everett, E. T. (2011). Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. *Journal of dental research*, 90(5), 552–60. <https://doi.org/10.1177/0022034510384626>
- Filler, G., Bfkenkamp, A., Hofmann, W., Le Bricon, T., Martínez-Brú, C., & Grubb, A. (2004). Cystatin C as a marker of GFR—history, indications, and future research. *CLINICAL BIOCHEMISTRY*. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2004.09.025>
- Flores, M., Barquera, S., Sánchez, L. M., Lozada, A., Macías, N., & Díaz, E. (2006). *Concentraciones séricas de vitamina D en niños mexicanos. Resultados de la ENSANUT 2006*. Recuperado a partir de [https://www.insp.mx/images/stories/Centros/cinys/Docs/Vitamina\\_D\\_en\\_nios\\_INSP\\_2011.pdf](https://www.insp.mx/images/stories/Centros/cinys/Docs/Vitamina_D_en_nios_INSP_2011.pdf)
- Fu, Y., Hu, Y., Qin, Z., Zhao, Y., Yang, Z., Li, Y., ... Qin, R. (2016). Association of serum 25-hydroxyvitamin D status with bone mineral density in 0-7 year old children. *Oncotarget*, 7(49), 80811–80819. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13097>
- Fukumoto, S. (2014). Phosphate metabolism and vitamin D. *BoneKEy Reports*, 3. <https://doi.org/10.1038/bonekey.2013.231>
- García, M., & Reyes, J. (2006). LA HIDROXIAPATITA, SU IMPORTANCIA EN LOS TEJIDOS MINERALIZADOS Y SU APLICACIÓN BIOMÉDICA. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 9(2), 90–95. Recuperado a partir de <http://www.redalyc.org/pdf/432/43211937005.pdf>
- Ghosh, A., Mukherjee, K., Ghosh, S. K., & Saha, B. (2013). Sources and toxicity of fluoride in the environment. *Research on Chemical Intermediates*, 39(7), 2881–2915. <https://doi.org/10.1007/s11164-012-0841-1>
- 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>

- Hernández C., M. I., Talesnik G., E., García B., C., & Reyes G., M. L. (2003). Enfrentamiento clínico de la osteoporosis en el niño. *Revista chilena de pediatría*, 74(6), 568–577. <https://doi.org/10.4067/S0370-41062003000600002>
- Holick, M. F. (2002). Sunlight and vitamin D. *Journal of General Internal Medicine*, 17(9), 733–735. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1497.2002.20731.x>
- Holick, M. F. (2003). Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 362–371.
- Holick, M. F. (2006). High Prevalence of Vitamin D Inadequacy and Implications for Health. *Mayo Clinic Proceedings*, 81(3), 353–373. <https://doi.org/10.4065/81.3.353>
- Holick, M. F. (2007). Vitamin D Deficiency. *THE NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE*. Recuperado a partir de <http://www.beauty-review.nl/wp-content/uploads/2015/04/Vitamin-D-deficiency.pdf>
- Ichimura, T., Bonventre, J. V., Bailly, V., Wei, H., Hession, C. A., Cate, R. L., & Sanicola, M. (1998). Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *The Journal of biological chemistry*, 273(7), 4135–42. <https://doi.org/10.1074/JBC.273.7.4135>
- Ilich, J. Z., & Kerstetter, J. E. (2000). Nutrition in bone health revisited: a story beyond calcium. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(6), 715–37. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11194525>
- Institute of Medicine. (1997). *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington, DC: National Academies Press (US). <https://doi.org/10.17226/5776>
- Jarquín-Yáñez, L., Jesús Mejía-Saavedra, J., Molina-Frechero, N., Gaona, E., Rocha-Amador, D. O., López-Guzmán, O. D., & Bologna-Molina, R. (2015). Association between urine fluoride and dental fluorosis as a toxicity factor in a rural community in the state of San Luis Potosi. *TheScientificWorldJournal*, 2015, 647184. <https://doi.org/10.1155/2015/647184>
- Jarquín-Yáñez, L., & Mejía-Saavedra, J. (2017). *Densidad Mineral Ósea en la*

*Reforma, Salinas de Hidalgo*. San Luis Potosí.

- Jiménez-Córdova, M. I., Cárdenas-González, M., Aguilar-Madrid, G., Sanchez-Peña, L. C., Barrera-Hernández, Á., Domínguez-Guerrero, I. A., ... 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>
- Kulie, T., Groff, A., Redmer, J., Hounshell, J., & Schrage, S. (2009). Vitamin D: an evidence-based review. *Journal of the American Board of Family Medicine: JABFM*, 22(6), 698–706. <https://doi.org/10.3122/jabfm.2009.06.090037>
- LAFITA, J. (2003). Fisiología y fisiopatología ósea. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 26, 7–17. Recuperado a partir de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272003000600002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000600002)
- Lanou, A. J., Berkow, S. E., & Barnard, N. D. (2005). Calcium, dairy products, and bone health in children and young adults: a reevaluation of the evidence. *Pediatrics*, 115(3), 736–743. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-0548>
- Lanzano, L., Lei, T., Okamura, K., Giral, H., Caldas, Y., Masihzadeh, O., ... Blaine, J. (2011). Differential modulation of the molecular dynamics of the type IIa and IIc sodium phosphate cotransporters by parathyroid hormone. *American journal of physiology. Cell physiology*, 301(4), C850-61. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00412.2010>
- Liu, J.-L., Xia, T., Yu, Y.-Y., Sun, X.-Z., Zhu, Q., He, W., ... Wang, A. (2005). [The dose-effect relationship of water fluoride levels and renal damage in children]. *Wei sheng yan jiu = Journal of hygiene research*, 34(3), 287–8. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16111031>
- Lorenzo Sellares, V., & Torregrosa, V. (2008). [Changes in mineral metabolism in stage 3, 4, and 5 chronic kidney disease (not on dialysis)]. *Nefrología: publicación oficial de la Sociedad Española Nefrología*, 28 Suppl 3, 67–78. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19018742>
- M<sup>a</sup> Fraga Rodríguez, G., Huertes Díaz, B., & Creu Sant Pau Barcelona, S. (2014).

- EVALUACIÓN BÁSICA DE LA FUNCIÓN RENAL EN PEDIATRÍA. *Asociación Española de Pediatría*, 1, 21–35. Recuperado a partir de [https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/02\\_evaluacion\\_basica\\_fr.pdf](https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/02_evaluacion_basica_fr.pdf)
- Mayo Clinic. (2017). *Hiperparatiroidismo*. Recuperado a partir de <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/hyperparathyroidism/symptoms-causes/syc-20356194>
- Mayo Clinic. (2018). *Clinical: 1,25-Dihydroxyvitamin D, Serum*. Recuperado a partir de <https://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/8822>
- McWilliam, S. J., Antoine, D. J., Sabbiseti, V., Pearce, R. E., Jorgensen, A. L., Lin, Y., ... Pirmohamed, M. (2014). Reference intervals for urinary renal injury biomarkers KIM-1 and NGAL in healthy children. *Biomarkers in medicine*, 8(10), 1189–97. <https://doi.org/10.2217/bmm.14.36>
- Misra, M., Pacaud, D., Petryk, A., & Collett-solberg, P. F. (2008). Deficiencia de vitamina D en los niños y su tratamiento: revisión del conocimiento y las recomendaciones actuales. *Pediatrics*, 66(2), 86–106.
- Molina, P. (2013). Glándula paratiroides y regulación del calcio y fosfato. En McGraw-Hill (Ed.), *Fisiología médica. Un enfoque por aparatos y sistemas* (1ra ed.).
- Monroy Torres, R. (2011). *Guía para el diseño de proyectos de investigación en el área de la salud*. Guanajuato: Campus León.
- NIH. (s/f). *Densidad mineral ósea*. Recuperado a partir de <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario?cdrid=415875>
- NIOSH. (1994). *FLUORIDE in urine: METHOD 8308*. Recuperado a partir de <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/8308.pdf>
- NKF. (2002). *KDOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification*. Recuperado a partir de [http://www2.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines\\_ckd/p4\\_class\\_g1.htm](http://www2.kidney.org/professionals/kdoqi/guidelines_ckd/p4_class_g1.htm)
- OMS. (2006). *Environmental Health Criteria 237. Principles for Evaluating Health Risks in Children Associated with Exposure to Chemicals*. Recuperado a partir

de <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc237.pdf>

- Peña Rodríguez, J. C. (2004). Paracalcitriol comparado con calcitriol en el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario de pacientes en hemodiálisis ¿Son realmente diferentes? *Revista de investigación clínica*, 56(1), 8–10.
- Penido, M. G. M. G., & Alon, U. S. (2012). Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatric Nephrology*, 27(11), 2039–2048. <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2175-z>
- Peraza, M. A., Carter, D. E., & Gandolfi, A. J. (2003). Toxicity and metabolism of subcytotoxic inorganic arsenic in human renal proximal tubule epithelial cells (HK-2). *Cell biology and toxicology*, 19(4), 253–64. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14686617>
- Peraza, M. A., Cromey, D. W., Carolus, B., Carter, D. E., & Gandolfi, A. J. (2006). Morphological and functional alterations in human proximal tubular cell line induced by low level inorganic arsenic: evidence for targeting of mitochondria and initiated apoptosis. *Journal of Applied Toxicology*, 26(4), 356–367. <https://doi.org/10.1002/jat.1149>
- Prieto, J., González, C., Román, A., & Prieto, F. (2009). CONTAMINACIÓN Y FITOTOXICIDAD EN PLANTAS POR METALES PESADOS PROVENIENTES DE SUELOS Y AGUA. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 10(1), 29–44.
- R&D Systems. (s/f). Human Kidney Biomarker Premixed Kit Magnetic Luminex® Performance Assay. Recuperado a partir de <https://resources.rndsystems.com/pdfs/datasheets/fcstm16.pdf>
- Ranjan, R., & Ranjan, A. (2015). Fluoride Kinetics and Metabolism. En *Fluoride Toxicity in Animals*. SpringerBriefs in Animal Sciences. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-17512-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-17512-6_3)
- Rivas Gutierrez, J., & Huerta Vega, L. (2005). Fluorosis dental: metabolismo, distribución y absorción del fluoruro. *Rev Asoc Dental Mex*, 62(6), 225–229.
- Roberts, W. E., Huja, S. S., & Roberts, J. A. (2004). Bone modeling: Biomechanics, molecular mechanisms, and clinical perspectives. *Seminars in Orthodontics*, 10(2), 123–161. <https://doi.org/10.1053/j.sodo.2004.01.003>

- Rovner, A. J., O'Brien, K. O., FR, G., MK, D., MF, H., & TO, C. (2008). Hypovitaminosis D Among Healthy Children in the United States. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 162(6), 513. <https://doi.org/10.1001/archpedi.162.6.513>
- Salem, M. A. K., El-Habashy, S. A., Saeid, O. M., El-Tawil, M. M. K., & Tawfik, P. H. (2002). Urinary excretion of n-acetyl-beta-d-glucosaminidase and retinol binding protein as alternative indicators of nephropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes*, 3(1), 37–41. <https://doi.org/10.1034/j.1399-5448.2002.30107.x>
- Samuel, N. E., Fomon, J., Ziegler, E. E., & Nelson, S. E. (1994). Fluoride Pharmacokinetics in Infancy. *Pediatr Res*, 35, 157–163. Recuperado a partir de <https://www.nature.com/articles/pr199435.pdf?origin=ppub>
- Santoyo-Sanchez, M. P., del Carmen Silva-Lucero, M., Arreola-Mendoza, L., & Barbier, O. C. (2013). Effects of Acute Sodium Fluoride Exposure on Kidney Function, Water Homeostasis, and Renal Handling of Calcium and Inorganic Phosphate. *Biological Trace Element Research*, 152(3), 367–372. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9622-y>
- SEDESOL. (2010). *La Reforma. Información de la localidad*. Recuperado a partir de <http://www.microrregiones.gob.mx/catloc/contenido.aspx?refnac=240250026>
- Seijas, M., Baccino, C., Nin, N., & Lorente, J. A. (2014). Definición y biomarcadores de daño renal agudo: nuevas perspectivas. *Medicina Intensiva*, 38(6), 376–385. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2013.09.001>
- Slatopolsky, E., Brown, A., & Dusso, A. (2001). Role of phosphorus in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 37(1 Suppl 2), S54-7. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11158862>
- Smotkin Tangorra, M., Purushothaman, R., Gupta, A., Nejati, G., Anhalt, H., & Ten, S. (2007). Prevalence of vitamin D insufficiency in obese children and adolescents. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*, 20(7), 817–23. Recuperado a partir de

- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17849744>
- Sohn, J., Chang, E. J., & Yang, H. R. (2017). Vitamin D Status and Bone Mineral Density in Children with Inflammatory Bowel Disease Compared to Those with Functional Abdominal Pain. *Journal of Korean medical science*, 32(6), 961–967. <https://doi.org/10.3346/jkms.2017.32.6.961>
- SPINREACT. (2015). Calcio Arsenazo III. Colorimétrico. Recuperado a partir de [http://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA CLINICA/LIQUIDOS/1001065 Ca A III.pdf](http://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA_CLINICA/LIQUIDOS/1001065_Ca_A_III.pdf)
- SPINREACT. (2016). Determinación cuantitativa de gamma-glutamyl transferasa (GGT). Recuperado a partir de [http://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA CLINICA/LIOFILIZADOS/1001185.86 GGT.pdf](http://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA_CLINICA/LIOFILIZADOS/1001185.86_GGT.pdf)
- SSA. (2002). *Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, “Salud Ambiental, Agua para Uso y Consumo Humano- Límites permisibles de Calidad y Tratamientos a que debe someterse al Agua para su Potabilización”*.
- Steel, R. G., & Torrie, J. H. (1960). *Principles and Procedures of STATICS*. MCGRAW-HILL BOOK COMPANY, INC.
- Suárez Cortina, L., Moreno Villares, J. M., Martínez Suárez, V., Bartrina, J. A., Serra, J. D., Hernández, A. G., ... Pavón Belinchón, P. (2011). Ingesta de calcio y densidad mineral ósea en una población de escolares españoles (estudio CADO). *An Pediatr (Barc)*, 74(1), 3–9. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2010.07.001>
- Teotia, M., Teotia, S. P. S., & Singh, K. P. (1998). Endemic chronic fluoride toxicity and dietary calcium deficiency interaction syndromes of metabolic bone disease and deformities in India: Year 2000. *The Indian Journal of Pediatrics*, 65(3), 371–381. <https://doi.org/10.1007/BF02761130>
- Tomczak, J., Wasilewska, A., & Milewski, R. (2013). Urine NGAL and KIM-1 in children and adolescents with hyperuricemia. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*, 28(9), 1863–9. <https://doi.org/10.1007/s00467-013-2491-y>
- Torres, R., Domínguez, G., Van't Hooft, A., Díaz-Barriga, F., & Cubillas-Tejeda, A.

- (2010). Análisis de la percepción de la exposición a riesgos ambientales para la salud , en dos poblaciones infantiles , mediante la elaboración de dibujos Analysis of the exposure perception to environmental health risks , in two children populations , by means. *Salud Colectiva*, 6(1), 65–81. Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-82652010000100006&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-82652010000100006&script=sci_arttext)
- US Department of Health and Human Services. (2004). Bone health and osteoporosis: a report of the Surgeon General. *US Health and Human Services*, 437. <https://doi.org/10.2165/00002018-200932030-00004>
- Van den Berg, R. A., Hoefsloot, H. C. J., Westerhuis, J. A., Smilde, A. K., & van der Werf, M. J. (2006). Centering, scaling, and transformations: improving the biological information content of metabolomics data. *BMC genomics*, 7, 142. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-142>
- Vasken Aposhian, H., Zakharyan, R. A., Avram, M. D., Sampayo-Reyes, A., & Wollenberg, M. L. (2004). A review of the enzymology of arsenic metabolism and a new potential role of hydrogen peroxide in the detoxication of the trivalent arsenic species. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198(3), 327–335. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2003.10.027>
- Vega, S. (2002). *Riesgo sanitario ambiental por la presencia de arsénico y fluoruros en los acuíferos de México*. México.
- Volmer, D., Mendes, L., & Stokes, C. (2015). ANALYSIS OF VITAMIN D METABOLIC MARKERS BY MASS SPECTROMETRY: CURRENT TECHNIQUES, LIMITATIONS OF THE “GOLD STANDARD” METHOD, AND ANTICIPATED FUTURE DIRECTIONS. *Mass Spectrometry Reviews*, 34, 2–23. <https://doi.org/10.1002/mas.21408>
- Waikar, S. S., & Bonventre, J. V. (2008). Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. *Nephron. Clinical practice*, 109(4), c192-7. <https://doi.org/10.1159/000142928>
- Weidemann, D. K., Weaver, V. M., & Fadrowski, J. J. (2016). Toxic environmental exposures and kidney health in children. *Pediatric Nephrology*, 31(11), 2043–2054. <https://doi.org/10.1007/s00467-015-3222-3>

- Westhuyzen, J. (2006a). Cystatin C: a promising marker and predictor of impaired renal function. *Annals of clinical and laboratory science*, 36(4), 387–94. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17127725>
- Westhuyzen, J. (2006b). Cystatin C: a promising marker and predictor of impaired renal function. *Annals of clinical and laboratory science*, 36(4), 387–94. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17127725>
- Whitford, G. M., & Pashley, D. H. (1984). Fluoride absorption: The influence of gastric acidity. *Calcified Tissue International*, 36(1), 302–307. <https://doi.org/10.1007/BF02405334>
- Winski, S. L., & Carter, D. E. (1995). Interactions of rat red blood cell sulfhydryls with arsenate and arsenite. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 46(3), 379–397. <https://doi.org/10.1080/15287399509532043>
- Wortsman, J., Matsuoka, L. Y., Chen, T. C., Lu, Z., & Holick, M. F. (2000). Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *The American journal of clinical nutrition*, 72(3), 690–3. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10966885>
- Xiong, X., Liu, J., He, W., Xia, T., He, P., Chen, X., ... Wang, A. (2007). Dose–effect relationship between drinking water fluoride levels and damage to liver and kidney functions in children. *Environmental Research*, 103(1), 112–116. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.05.008>
- Yang, K., & Liang, X. (2011). Fluoride in Drinking Water: Effect on Liver and Kidney Function. En *Encyclopedia of Environmental Health* (pp. 769–775). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52272-6.00418-9>
- Yeste, D., Del Río, L., Gussinyé, M., & Carrascosa, A. (1997). Densidad mineral ósea en lactantes y niños (0-4 años) a nivel de columna lumbar. Patrones de normalidad. Recuperado a partir de <https://www.aeped.es/sites/default/files/anales/49-3-5.pdf>

## ANEXOS



### UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

#### Carta de Asentimiento

**Título de proyecto: ASOCIACIÓN ENTRE VITAMINA D Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN POBLACIÓN INFANTIL EXPUESTA A FLÚOR Y ARSÉNICO A TRAVÉS DEL AGUA DE CONSUMO EN UNA COMUNIDAD RURAL DE SAN LUIS POTOSÍ**

Hola mi nombre es José de Jesús Mejía Saavedra y trabajo en la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología perteneciente a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Actualmente la Universidad está realizando un estudio para conocer tus niveles de vitamina D para que estos datos puedan servirnos para monitorear tu salud y en caso de que sea necesario prevenir enfermedades relacionadas a la deficiencia de este nutriente e implementar un tratamiento oportuno.

Tu participación, una vez hayas estado de acuerdo ingresar al estudio, consistiría en acudir a una reunión en la que te citaremos para recolectar una muestra de orina y sangre. Para la muestra de orina será necesario que recolectes la primera orina de la mañana en el recipiente que te brindaremos (llenar el recipiente más de la mitad). Para la toma de sangre será necesario que te presentes en ayunas (no haber consumido alimentos después de las 11:00 pm del día anterior) para la extracción de una muestra de 6 ml (1 cucharadita), este procedimiento será realizado por personal capacitado, es posible que durante el procedimiento de extracción de sangre sientas un poco de dolor en el área y pueda aparecer un moretón. Una vez finalizada la toma de sangre se te brindará un lonche.

Tu participación en el estudio es voluntaria, es decir, aun cuando tus papá o mamá hayan dicho que puedes participar, si tú no quieres hacerlo puedes decir que no. Es tu decisión si participas o no en el estudio. También es importante que sepas que si en un momento dado ya no quieres continuar en el estudio, no habrá ningún problema, o si no quieres responder a alguna pregunta en particular, tampoco habrá problema.

Toda la información y mediciones que nos proporciones y que realicemos nos ayudarán a brindarte información sobre tu estado nutricional y de salud. Esta información será confidencial, esto quiere decir que solo le daremos los resultados a tus padres y a ti.

Si aceptas participar, te pido que por favor pongas una (✓) en el cuadrado de abajo que dice "Sí quiero participar" y escribe tu nombre.

Si no quieres participar, no pongas ninguna (✓), ni escribas tu nombre.

Sí quiero participar

Nombre: \_\_\_\_\_

Nombre y firma de la persona que obtiene el asentimiento: \_\_\_\_\_

Fecha: a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Observaciones: \_\_\_\_\_



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
Carta de consentimiento Informado

**Título de proyecto: ASOCIACIÓN ENTRE VITAMINA D Y DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN POBLACIÓN INFANTIL EXPUESTA A FLÚOR Y ARSÉNICO A TRAVÉS DEL AGUA DE CONSUMO EN UNA COMUNIDAD RURAL DE SAN LUIS POTOSÍ**

Estimado(a) Señor/Señora:

**Introducción/Objetivo:**

La Universidad Autónoma de San Luis Potosí está realizando un proyecto de investigación el cual tiene como objetivo analizar la asociación entre vitamina D y densidad mineral ósea en población infantil expuesta a contaminantes ambientales para así poder establecer bases de conocimiento, las cuales servirán para intervenciones dirigidas a acciones preventivas e implementación de un tratamiento oportuno para el cuidado y la mejora del estado de salud de la población de estudio. El estudio se realizará en la comunidad de La Reforma, Salinas de Hidalgo.

**Procedimientos:**

Si Usted acepta participar y que hijo(a) participe también en el estudio, ocurrirá lo siguiente:

1. **A usted** le pediremos asista a reuniones informativas en las que daremos a conocer el proyecto a implementar y expliquemos a detalle el procedimiento de este.
2. **A su hijo(a)** se le tomará el peso, estatura y una muestra de orina y sangre. Para la muestra de orina será necesario que se incluyan mínimo 30 mililitros de la primera orina del día. La toma de muestra de sangre será realizada por personal capacitado que extraerá 6 mililitros (1 cucharadita) de sangre.

**Beneficios:** Los beneficios que usted y su hijo obtendrán con su participación en el proyecto serán los siguientes: a) El estudio será gratuito, confidencial y voluntario, b) se brindará información sobre los niveles de vitamina D, flúor, arsénico, calcio, fósforo y biomarcadores de función renal, c) se entregará de manera individualizada un reporte con los resultados obtenidos a lo largo del proyecto, d) se entregará un reporte a la comunidad y presidencia sobre los hallazgos encontrados.

**Confidencialidad:** Toda la información que usted nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted y su hijo(a) quedarán identificados(as) con un número de folio y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrán ser identificados(as) ninguno de los participantes.

**Riesgos Potenciales/Compensación:** Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son bajos. Si alguna de las preguntas le hicieran sentir un poco incomodo(a), a usted y/o a su hijo(a), tiene el derecho de no responderla. La toma de muestra sanguínea será realizada por personal capacitado y para lo cual se utilizará material nuevo y desechable. La toma de muestra podría implicar dolor en el momento y/o un pequeño moretón. El día de la

toma de muestra se contará con médicos capacitados para atender cualquier malestar, daño o situación que presente su hijo derivado de la toma de muestra.

Posterior a la toma de muestra, su hijo recibirá un refrigerio. Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, pero tampoco implicará algún costo para usted.

**Participación Voluntaria/Retiro:** La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento

**Números a Contactar:** Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto, por favor comuníquese con el investigador responsable del proyecto:

José de Jesús Mejía Saavedra al siguiente número de teléfono (444) 8262300 ext. 8461, 8472 de lunes a viernes en un horario de 9:00 a 16:00.

Si usted acepta participar en el estudio y que su hijo participe también, le entregaremos una copia de este documento que le pedimos sea tan amable de firmar.

**Consentimiento del padre/madre o tutor para su participación y la de su hijo(a)**

Su firma indica su aceptación para que Usted y su hijo(a) participen voluntariamente en el presente estudio.

**Nombre del Padre/Madre/Tutor participante:**

**Fecha:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Día / Mes / Año

Firma: \_\_\_\_\_

Relación con el menor participante \_\_\_\_\_

**Nombre completo del menor participante**

\_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

**Nombre Completo del Testigo 1:**

**Fecha:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Día / Mes / Año

Dirección

\_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Relación con el participante \_\_\_\_\_

**Nombre Completo del Testigo 2:**

**Fecha:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Día / Mes / Año

Dirección

\_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Relación con el participante \_\_\_\_\_

**Nombre y firma de la persona que obtiene el consentimiento**

**Fecha:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Día / Mes / Año



SERVICIOS DE SALUD  
DEL ESTADO  
SAN LUIS POTOSÍ



DIRECCIÓN: DE ATENCIÓN MÉDICA  
SUBDIRECCIÓN: DE CALIDAD Y EDUCACIÓN EN SALUD  
DOMICILIO: PROLONG. CALZADA DE GUADALUPE No. 5850  
COL. LOMAS DE LA VIRGEN, C.P. 78380  
NÚMERO DE OFICIO:  
EXPEDIENTE: 16S.2 **Nº 16195**

ASUNTO: Evaluación de protocolo registro estatal  
SLP/008-2018.

San Luis Potosí, S.L.P.,

19 JUN. 2018

DR. ALEJANDRO JAVIER ZERMEÑO GUERRA  
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE MEDICINA  
DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
AV. VENUSTIANO CARRANZA No. 2405  
COL. LQS FILTROS, C.P. 78210  
CIUDAD.

Hago de su conocimiento, que el pasado 24 de mayo del 2018, en sesión ordinaria el Comité Estatal de Ética en Investigación en Salud, se realizó la Evaluación del Protocolo de Investigación:

Asociación entre vitamina D y densidad mineral ósea en población infantil expuesta a flúor y arsénico a través del agua de consumo en una comunidad rural de San Luis Potosí.	Dr. José de Jesús Mejía Saavedra
"Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí"	
<b>REGISTRO ESTATAL</b> SLP/008-2017	

Siendo el dictamen por consenso:

**OPINIÓN TÉCNICA FAVORABLE**

Lo anterior, con fundamento en el TÍTULO QUINTO de la Ley Estatal de Salud, que establece las bases condiciones y normatividad en materia de Investigación para la Salud, y la NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de Proyectos de Investigación para la Salud en Seres Humanos.

En base a la Guía Nacional para la Integración y Funcionamiento de los Comités de Ética en Investigación y el Reglamento Interno del Comité Estatal de Ética en Investigación, Capítulo X, artículo 45, el Investigador titular se obliga como parte de los compromisos adquiridos, a entregar con periodicidad semestral los avances y en su momento el informe final de la Investigación al Comité Estatal de Ética en Investigación en Salud.

Reciba un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
SUFRAGIO EFECTIVO. NO REELECCIÓN  
LA DIRECTORA GENERAL  
  
DRA. MONICA LILIANA RANGEL MARTÍNEZ.

SERVICIOS DE SALUD  
DE SAN LUIS POTOSÍ  
**DESIGNADO**  
19 JUN. 2018  
OFICIALIA DE PARTES

F 73405

JJML/GRJA/GOV

2018 "Año de Manuel José Othón"

AL CONTESTAR ESTE OFICIO CITENSE LOS DATOS  
CONTENIDOS EN EL ANGULO SUPERIOR DERECHO