



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES  
CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL



## **TESIS DOCTORAL**

RELACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOBIÓTICOS AMBIENTALES  
SOBRE EL PATRÓN DE EXPRESIÓN GÉNICA EN EL  
DESARROLLO RENAL EN NEONATOS

### **Tesis que presenta**

MIB. Leslie Paola Zúñiga Macías

### **para obtener el grado de**

Doctora en Ciencias Biológicas

### **Tutores de tesis**

Dr. Francisco Javier Avelar González  
Dr. José Manuel Arreola Guerra

### **Comité tutorial**

Dra. Alma Lilián Guerrero Barrera

**Aguascalientes, Ags., 01 de junio de 2026**

## Autorizaciones

CARTA DE VOTO APROBATORIO

**MTRO. GUILLERMO DOMÍNGUEZ AGUILAR**  
 DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como **DIRECTOR** designado de la estudiante **LESLIE PAOLA ZÚÑIGA MACÍAS** con ID 163210 quien realizó la tesis titulada: **RELACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOBIÓTICOS AMBIENTALES SOBRE EL PATRÓN DE EXPRESIÓN GÉNICA EN EL DESARROLLO RENAL EN NEONATOS**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en la fracción IX del Artículo 43 del Reglamento General de Posgrados, doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que *ella* pueda continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
 "Se Lumen Proferre"  
 Aguascalientes, Ags., a 14 de mayo de 2026.

  
**DR. FRANCISCO JAVIER AVELAR GONZÁLEZ**  
 Director de Tesis

c.c.p.- Interesado  
 c.c.p.- Coordinación del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.  
 Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión Integral.  
 Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-07  
 Actualización: 02  
 Emisión: 13/08/25

CARTA DE VOTO APROBATORIO

**MTRO. GUILLERMO DOMÍNGUEZ AGUILAR**  
 DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

**PRESENTE**

Por medio del presente como **CODIRECTOR** designado de la estudiante **LESLIE PAOLA ZÚÑIGA MACÍAS** con ID 163210 quien realizó *la tesis* titulada: **RELACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOBIÓTICOS AMBIENTALES SOBRE EL PATRÓN DE EXPRESIÓN GÉNICA EN EL DESARROLLO RENAL EN NEONATOS**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en la fracción IX del Artículo 43 del Reglamento General de Posgrados, doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que *ella* pueda continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**"Se Lumen Proferre"**  
 Aguascalientes, Ags., a 14 de mayo de 2026.



**DR. JOSÉ MANUEL ARREOLA GUERRA**  
 Codirector de Tesis

c.c.p.- Interesado  
 c.c.p.- Coordinación del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.  
 Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión Integral.  
 Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-07  
 Actualización: 02  
 Emisión: 13/08/25

CARTA DE VOTO APROBATORIO

**MTRO. GUILLERMO DOMÍNGUEZ AGUILAR**  
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

**PRESENTE**

Por medio del presente como **ASESORA** designado de la estudiante **LESLIE PAOLA ZÚÑIGA MACÍAS** con ID 163210 quien realizó la tesis titulada: **RELACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOBIÓTICOS AMBIENTALES SOBRE EL PATRÓN DE EXPRESIÓN GÉNICA EN EL DESARROLLO RENAL EN NEONATOS**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en la fracción IX del Artículo 43 del Reglamento General de Posgrados, doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que *ella* pueda continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 14 de mayo de 2026.



**DRA. ALMA LILIAN GUERRERO BARRERA**  
Asesora de Tesis

c.c.p.- Interesado  
c.c.p.- Coordinación del Programa de Posgrado

## Dictamen de liberación académica



### DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación (dd/mm/aaaa): 02/06/2026

**NOMBRE:** Leslie Paola Zúñiga Macías **ID** 169210

**PROGRAMA:** Doctorado en Ciencias Biológicas **LGAC (del posgrado):** Bioingeniería y Toxicología Ambiental

**MODALIDAD DEL PROYECTO DE GRADO:** Tesis Tradicional (  ) **\*Tesis por artículos científicos** (  ) **\*\*Tesis por Patente** (  ) **Trabajo Práctico** (  )

**TÍTULO:** Relación de la exposición a xenobióticos ambientales sobre el patrón de expresión génica en el desarrollo renal en neonatos

Este estudio aporta evidencia científica sobre cómo la exposición a fluoruro, metales, pesticidas y otros contaminantes ambientales durante etapas tempranas de desarrollo puede influir en mecanismos epigenéticos y afectar la salud renal desde el nacimiento. Esto es especialmente relevante para el estado de Aguascalientes, donde la enfermedad renal crónica representa un problema creciente de salud pública. Los resultados de esta investigación pueden contribuir al diseño de estrategias de prevención, vigilancia ambiental y promoción de la salud materno-infantil. En conjunto esta investigación tiene el potencial de contribuir tanto al avance científico como al bienestar social.

**IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado):**

**INDICAR SEGÚN CORRESPONDA: SI, NO, NA (No Aplica)**

<i>Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:</i>	
<u>SI</u>	El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
<u>SI</u>	La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
<u>SI</u>	Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
<u>SI</u>	Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
<u>SI</u>	Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
<u>SI</u>	El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
<u>SI</u>	Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
<u>NO</u>	Generó transferencia del conocimiento o tecnológica
<u>SI</u>	Cumple con la ética para la investigación (reporte de la herramienta antiplagio)
<i>El egresado cumple con lo siguiente:</i>	
<u>SI</u>	Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Posgrados
<u>SI</u>	Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc.)
<u>SI</u>	Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial
<u>NA</u>	Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario (En caso de que corresponda)
<u>SI</u>	Coincide con el título y objetivo registrado
<u>SI</u>	Tiene congruencia con cuerpos académicos
<u>SI</u>	Tiene el CVU de la SEOHTI actualizado
<u>SI</u>	Tiene el o los artículos aceptados o publicados y cumple con los requisitos institucionales (en caso de que proceda)
<i>**En caso de Tesis por artículos científicos publicados (completar solo si la tesis fue por artículos)</i>	
<input type="checkbox"/>	Aceptación o Publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto según el nivel del programa
<input type="checkbox"/>	El (la) estudiante es el primer autor(a)
<input type="checkbox"/>	El (la) autor(a) de correspondencia es el Director (a) del Núcleo Académico
<input type="checkbox"/>	En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
<input type="checkbox"/>	Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
<i>**En caso de Tesis por Patente</i>	
<input type="checkbox"/>	Cuenta con la evidencia de solicitud de patente en el Departamento de Investigación (anexarla al presente formato)

Con base en estos criterios, se autoriza continuar con los trámites de titulación y programación del examen de grado: Sí  / No

**Elaboró:** FIRMAS  
**\*NOMBRE Y FIRMA DEL (LA) CONSEJERO(A) SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:** Dr. Daniel Cervantes García  
*\* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NA de la LGAC correspondiente distinto al director o miembro del comité tutorial, asignado por el Decan.*  
**NOMBRE Y FIRMA DEL COORDINADOR DE POSGRADO:** Dra. Lucía Isabel Chávez Ortiz  
**Revisó:**  
**NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:** Dra. Iliana Emelina Medina Ramírez  
**Autorizó:**  
**NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:** Mtro. Guillermo Domínguez Arriaga

**Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado**  
 En cumplimiento con el Art. 24 fracción V del Reglamento General de Posgrado, que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: Proponer criterios y mecanismos de selección, permanencia, egreso y titulación de estudiantes para asegurar la eficiencia terminal y la titulación y el Art. 28 fracción IX, atender, asesorar y dar el seguimiento del estudiantado desde su ingreso hasta su titulación.

Documento de aceptación de artículo

✕ Your Submission JONEPH-D-25-01045R3 - [EMID:6d84155a11d8f56d] < >



em.joneph.0.9a2ad2.8b5a9257@editorialmanager.com en nombre de Journal of Nephrology (JONEPH)<em@editorialm...  
 Para: Usted Mié 18/03/2026 03:16 PM

**Marcado**

You are being carbon copied ("cc:d") on an e-mail "To" "Francisco Javier Avelar González" javier.avelar@edu.uaa.mx  
 CC: "Leslie Paola Zúñiga Macías" leslie.zm@hotmail.com;dra.lesliezm@outlook.com, "Leslie Paola Zúñiga Macías"  
 leslie.zm@hotmail.com;dra.lesliezm@outlook.com, "Alma Lilián Guerrero Barrera" lilian.guerrero@edu.uaa.mx, "Ricardo Daniel  
 Estrada Moreno" dr.ricardo.estrada.moreno@gmail.com, "Liliana Morán Díaz" liliana.moran2495@outlook.com, "José Manuel  
 Arreola Guerra" dr.jmag@gmail.com

Dear Dr. Avelar González,

We are pleased to inform you that your manuscript, "Prenatal Exposure to Environmental Toxicants and Their Association with  
 Alterations in Kidney Development", has been **accepted for publication** in  
 Journal of Nephrology.

For your information - You will receive an email from no-reply@scipris.com when your paper is sent to production, which is your  
 invitation to sign up for an account with SciPris, Oxford University Press' author portal hosted by Aptara, if you do not already hold

✕ Decision on your submission CJASN-2025-002120R3 to Clinical Journal of the American Society of Nephrology - [EMID:0c50aa7ed08ac0d5] < >



em.cjasn.0.9b5f11.0111ab7d@editorialmanager.com en nombre de Clinical Journal of the American Society of Nephrology  
 Para: Usted Mar 12/05/2026 10:27 AM

You are being carbon copied ("cc:d") on an e-mail "To" "José Manuel Arreola-Guerra" dr.jmag@gmail.com  
 CC: scough@asn-online.org, crhee@mednet.ucla.edu, snigwekar@mgh.harvard.edu, broshanr@ucdavis.edu, "Leslie P. Zúñiga-  
 Macías" leslie.zm@hotmail.com, "Adriana Becerra-Cervera" abecerra@inmegen.edu.mx, "Rafael Velázquez-Cruz"  
 rvelazquez@inmegen.gob.mx, "Alberto Hidalgo-Bravo" dr\_genetica@yahoo.com, "Alma L. Guerrero-Barrera"  
 lilian.guerrero@edu.uaa.mx, "Tania V. López-Pérez" tperez@inmegen.edu.mx, "Karina M. Gress-Montiel" gress.mn@hotmail.com,  
 "Jaime López-Valdez" jasad16@yahoo.com.mx, "Sergio A. Ramos-Pérez" ginecosergioramos@gmail.com, "Francisco J. Avelar-  
 González" fjavelar@correo.uaa.mx;javier.avelar@edu.uaa.mx

May 12 2026 12:27PM

Dear Dr. José Manuel Arreola-Guerra,

We are pleased to inform you that your manuscript "Placental Methylation Profile in Women Exposed to Fluoride and its Association  
 with Kidney Volume at Birth " has been **accepted for publication** in CJASN.

## Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA), por la formación académica recibida y por brindarme las herramientas necesarias para mi desarrollo profesional. A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), por el apoyo otorgado a través de la beca que hizo posible la realización de este trabajo. Al Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) y al Instituto Nacional de Rehabilitación (INR), por las facilidades brindadas y el apoyo para el desarrollo de este proyecto.

Al Dr. Rafael Velázquez, al Dr. Alberto Hidalgo, a la Dra. Adriana Becerra, a la Dra. Tania López y al Dr. Frank Ortega, por su valiosa asesoría, apoyo técnico y acompañamiento durante mi estancia de investigación.

A mis tutores, el Dr. Javier Avelar y el Dr. José Manuel Arreola, por su dirección, apoyo, compromiso y valioso acompañamiento a lo largo de este trabajo. A la Dra. Alma Lilián Guerrero, por su asesoría, disposición y valiosas contribuciones para la realización de este proyecto.

A Ricardo Estrada, Liliana Morán y Daniel Reyes, por su apoyo incondicional, compromiso y valiosa colaboración, fundamentales para la realización de este trabajo. A Flor Ramírez, Adriana Moreno, Fabiola Galindo, Eduardo Cuellar, Laura Yamamoto y Oscar Flores por su apoyo, generosidad al compartir sus conocimientos y por su acompañamiento durante el desarrollo de este trabajo.

A Claudia, Ingrid, Diana, Osvaldo y Magda, por su amistad, apoyo y por acompañarme a lo largo de esta etapa. A Sandra, por su cercanía, constante acompañamiento y amistad durante todo este proceso. A Bizuelo, Ascel y Chris, por su amistad, compañía y por los momentos compartidos durante esta etapa del doctorado.

A mi familia, por ser mi mayor apoyo y fortaleza en todo momento. A mi madre, Patricia, por su amor constante, apoyo incondicional y motivación que me impulsa cada día; a mi padre Joel, por su ejemplo, cariño y respaldo inquebrantable; a mi hermana Jessica, por su guía, consejos firmes y por siempre animarme a seguir adelante; y a mi sobrina, Patito, por llenar mis días de alegría y entusiasmo. Gracias a todos por estar a mi lado y acompañarme en cada paso de este camino.

## Dedicatoria

A mis padres, Patricia y Joel,

a quienes amo profundamente y que siempre me han apoyado con todo su corazón.

Gracias por estar presentes en cada paso y por alentarme a seguir adelante.

A mi hermana, Jessica,

a quien amo y admiro como ejemplo en mi vida. Gracias por insistir siempre en que no me rinda y por impulsarme a seguir adelante.

A mi sobrina, Patito,

a quien amo con todo mi corazón y que es mi mayor fuente de felicidad. Gracias por llenar mis días de alegría mientras persigo mis sueños.

## índice general

Índice de tablas.....	4
Índice de figuras .....	5
Acrónimos.....	6
Resumen .....	12
Abstract.....	13
1. Introducción .....	14
2. Marco teórico .....	15
2.1 Desarrollo renal y nefrogénesis .....	15
2.2 Número de nefronas y alteraciones del desarrollo renal .....	17
2.3 Enfermedad renal crónica.....	19
2.4 Xenobióticos y salud humana.....	24
2.4.1 Xenobióticos ambientales y enfermedad renal crónica .....	25
2.4.2 Metales, metaloides y pesticidas.....	26
2.4.3 Fluoruro .....	27
2.4.4 Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D).....	27
2.4.5 Metomilo .....	28
2.5 Epigenética.....	28
2.5.1 Metilación del ADN .....	29
2.5.2 Perfil de metilación del ADN y expresión génica .....	30
2.5.3 Expresión génica y enfermedad renal crónica .....	31
2.6 Herramientas de análisis molecular.....	32
2.6.1 Microarreglos de metilación del ADN .....	33
2.6.2 PCR para la validación de genes candidatos.....	34
2.7 Líquido amniótico, amniocitos y placenta .....	35
2.8 Estudios previos.....	37
3. Planteamiento del problema .....	39
4. Justificación .....	40
5. Objetivos .....	41
5.1 Objetivo general .....	41
5.2 Objetivos específicos.....	41

6. Hipótesis.....	42
6.1 Hipótesis de investigación (H1).....	42
6.2 Hipótesis nula (H0).....	42
7. Materiales y métodos.....	42
7.1 Criterios de selección.....	42
7.1.1 Criterios de inclusión.....	42
7.1.2 Criterios de exclusión.....	43
7.1.3 Criterios de eliminación.....	43
7.2 Variables.....	43
7.2.1 Variables dependientes.....	43
7.2.2 Variables independientes.....	43
7.2.3 Variables intervinientes.....	43
7.3 Operacionalización de variables.....	44
7.4 Recolección de la Información.....	51
7.5 Recolección y procesamiento de muestras biológicas.....	51
7.5.1 Recolección de muestras biológicas.....	51
7.5.2 Procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas.....	52
7.6 Cuantificación de xenobióticos ambientales.....	53
7.6.1 Determinación de fluoruro.....	54
7.6.2 Determinación de metales y metaloides.....	54
7.6.3 Determinación de pesticidas.....	54
7.7 Evaluación de la función renal.....	55
7.8 Evaluación del volumen renal neonatal.....	55
7.9 Análisis epigenético.....	55
7.9.1 Extracción de ADN genómico placentario.....	55
7.9.2 Evaluación de calidad e integridad del ADN placentario.....	56
7.9.3 Análisis de metilación del ADN por microarreglos.....	56
7.9.4 Evaluación de expresión génica.....	57
7.9.5 Análisis bioinformático.....	57
7.10 Análisis estadístico.....	58
8. Consideraciones éticas.....	59
8.1 Riesgo de la investigación.....	59

8.2 Confidencialidad.....	59
9. Recursos para el estudio.....	60
9.1 Recursos humanos.....	60
9.2 Recursos materiales.....	60
9.3 Recursos financieros.....	60
10. Cronograma de actividades.....	61
11. Resultados.....	62
11.1 Selección y asignación de los grupos de estudio.....	62
11.2 Exposición a xenobióticos ambientales.....	63
11.3 Dimensiones renales al nacimiento.....	65
11.4 Características de la población de estudio.....	66
11.4.1 Características sociodemográficas.....	66
11.4.2 Antecedentes clínicos y hábitos maternos.....	67
11.4.3 Antecedentes heredofamiliares.....	68
11.4.4 Características del embarazo y del recién nacido.....	69
11.4.5 Entorno familiar y exposición ambiental.....	70
11.5 Perfil de metilación del ADN placentario.....	73
11.5.1 Control de calidad y desempeño de los microarreglos.....	73
11.5.2 Análisis de componentes principales.....	73
11.5.3 Sitios CpG diferencialmente metilados.....	77
11.5.4 Genes diferencialmente metilados.....	79
11.5.5 Análisis de vías y enriquecimiento funcional.....	84
11.6. Análisis de expresión génica en amniocitos.....	85
11.6.1 Evaluación de la calidad y pureza del ARN.....	85
11.6.2 Evaluación de la expresión génica mediante PCR punto final.....	86
12. Discusión.....	88
13. Conclusión.....	92
Glosario.....	93
Referencias bibliográficas.....	102
Anexos.....	123

## Índice de tablas

Tabla 1. Estudios previos .....	37
Tabla 2. Definición operacional de las variables.....	44
Tabla 3. Xenobióticos ambientales cuantificados en las muestras biológicas .....	53
Tabla 4. Niveles de metales, metaloides y pesticidas .....	64
Tabla 5. Dimensiones renales reportadas.....	65
Tabla 6. Características generales y sociodemográficas de la madre.....	67
Tabla 7. Comorbilidades de la madre .....	68
Tabla 8. Antecedentes heredofamiliares del recién nacido. ....	68
Tabla 9. Características generales del embarazo y del recién nacido. ....	69
Tabla 10. Factores de riesgo ambientales y familiares.....	71
Tabla 11. Exposición a metales, metaloides y pesticidas.....	72
Tabla 12. Genes diferencialmente metilados .....	82
Tabla 13. Concentraciones de ARN de muestras de amniocitos .....	85

## Índice de figuras

Figura 1. Desarrollo renal .....	17
Figura 2. Variantes genéticas asociadas al tamaño renal en humanos .....	19
Figura 3. Clasificación KDIGO de ERC.....	20
Figura 4. Mapa de calor de la ERC de causas inespecíficas en el mundo .....	22
Figura 5. Incidencia de ERCT.....	22
Figura 6. Prevalencia de ERCT .....	23
Figura 7. Etiologías ERC en el estado de Aguascalientes .....	24
Figura 8. Proceso de metilación del ADN .....	29
Figura 9. Origen embrionario común del líquido amniótico, amniocitos y placenta. ....	36
Figura 10. Recolección de la información y muestras .....	52
Figura 11. Control de calidad del total de muestras de ADN total placentario.....	56
Figura 12. Metodología del uso de microarreglos.....	57
Figura 13. Volumen renal total ajustado a área de superficie corporal total .....	62
Figura 14. Flujograma de recolección muestras .....	63
Figura 15. Determinación de dimensiones renales del recién nacido .....	66
Figura 16. Datos homogéneos de los 32 microarreglos de metilación del ADN.....	73
Figura 17. PCA no escalado.....	74
Figura 18. PCA de la comparación entre los grupos BVR vs. CTRL.....	75
Figura 19. PCA de la comparación entre los grupos BVR/NF vs. CTRL/NF.....	75
Figura 20. PCA de la comparación entre los grupos BVR/F vs. CTRL/F.....	76
Figura 21. PCA de la comparación entre los grupos BVR/F vs. CTRL/NF.....	76
Figura 22. Gráfico de volcán de la comparación de BVR vs. CTRL.....	77
Figura 23. Gráfico de volcán de la comparación de BVR/NF vs. CTRL/NF.....	78
Figura 24. Gráfico de volcán de la comparación de BVR/F vs. CTRL/F .....	78
Figura 25. Gráfico de volcán de la comparación de BVR/F vs. CTRL/NF .....	79
Figura 26. Diagrama de Venn de DMG según volumen renal.....	80
Figura 27. Diagrama de Venn de DMG según exposición a fluoruro .....	80
Figura 28. Diagrama de Venn de integración de comparaciones estratificadas.....	81
Figura 29. Red de interacción de los genes diferencialmente compartidos.....	84
Figura 30. PCR punto final de GAPDH y RET de amniocitos .....	87
Figura 31. PCR punto final de PAX2 y OSR1 de amniocitos .....	87

## Acrónimos

**2,4-D:** ácido diclorofenoxiacético

**4mC:** 4-metilcitosina

**5mC:** 5-metilcitosina

**6mA:** N6-metiladenina

**A2BP1:** homólogo 1 de FOX1 que se une al ARN

**ACSL5:** miembro 5 de la familia de la acil-CoA sintetasa de cadena larga

**ADAMTS16:** metalopeptidasa ADAM con motivo de trombospondina tipo 1 16

**ADAMTS2:** metaloproteínasa con motivos de trombospondina 2

**ADN:** ácido desoxirribonucleico

**ADNc:** ácido desoxirribonucleico complementario

**ADRB2:** adrenoceptor Beta 2

**AINEs:** antiinflamatorios no esteroideos

**ALAD:** aminolevulinato deshidratasa

**ALDH1A2:** retinaldehído deshidrogenasa 2

**AMPA:** ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico

**ARN:** ácido ribonucleico

**ARNasa:** ribonucleasas

**ARNm:** ácido ribonucleico mensajero

**ARNnc:** ácido ribonucleico no codificante

**AVAD:** años de vida ajustados por discapacidad

**BCOR:** correpresor BCL6

**BMP:** proteína morfogenética ósea

**BMP6:** proteína morfogenética ósea 6

**BMPR1A:** receptor de proteína morfogenética ósea tipo 1A

**BSA:** área de superficie corporal (Body Surface Area)

**BVR:** bajo volumen renal

**CACNA1I:** subunidad alfa 1 I del canal dependiente de voltaje de calcio

**CAKUT:** anomalías congénitas de riñón y tracto urinario

**CALCA:** polipéptido alfa relacionado con la calcitonina

**CASP8:** caspasa 8

**CCL21:** ligando de quimiocina CC Motif 21

**CDH5:** cadherina 5

**CDMX:** Ciudad de México

**CMHC:** concentración de hemoglobina corpuscular media

**COL5A1:** cadena alfa 1 de colágeno tipo V

**COVID-19:** enfermedad por coronavirus

**CpG:** región del ADN rica en dinucleótidos de citosina y guanina

**CREBBP:** lisina acetiltransferasa de unión a CREB

**CTNNB1:** catenina Beta 1

**CTRL:** grupo control

**DE:** desviación estándar

**DECR1:** 2,4-Dienoil-CoA reductasa 1

**DM:** diabetes mellitus

**DMC:** sitios CpG metilados diferencialmente

**DMG:** genes diferencialmente metilados

**DNER:** receptor de EGF similar a Delta/Notch

**DNM2:** dinamina 2

**DNMT1:** ADN-metiltransferasa 1

**DNMT3A:** ADN metiltransferasa 3 alfa

**DNMT3B:** ADN metiltransferasa 3 beta

**DNMTs:** ADN metiltransferasas

**EAC:** enfermedad de las arterias coronarias

**ECA:** enzima convertidora de angiotensina

**EDTA:** ácido etilendiaminotetraacético

**EPA:** protección ambiental de los Estados Unidos

**EPHB1:** receptor EPH B1

**ERC:** enfermedad renal crónica

**ERCd:** enfermedad renal crónica de origen desconocido

**ERCT:** enfermedad renal crónica terminal

**ETS1:** protooncogén ETS 1

**EVC2:** subunidad del complejo ciliar EvC

**EYA1:** EYA transcriptional coactivator and phosphatase 1

**F:** fluoruro / exposición a fluoruro

**FDR:** tasa de falsos descubrimientos (False Discovery Rate)

**FGF:** factor de crecimiento de fibroblastos 2

**FISH:** hibridación fluorescente in situ

**FLT1:** receptor de tirosina quinasa 1 relacionado con Fms

**FOSL1:** subunidad del factor de transcripción AP-1, similar a FOS1

**FXD2:** regulador del transporte de iones que contiene el dominio FXD 2

**GAPDH:** gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa

**GATA4:** proteína de unión a GATA 4

**GBD:** carga mundial de morbilidad (Global Burden of Disease)

**GDNF:** factor neurotrófico derivado de la glía

**GTEx:** portal de expresión genotipo-tisular (Genotype-Tissue Expression)

**HAS:** hipertensión arterial sistémica

**HbA1c:** hemoglobina glicosilada

**HDAC1:** histona desacetilasa 1

**HOXA3:** homeobox A3

**HOXB7:** homeobox B7

**HOXC6:** homeobox C6

**HPLC:** cromatografía líquida de alto rendimiento

**IA:** inteligencia artificial

**IAM:** infarto agudo al miocardio

**ICP-MS:** espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente

**IMC:** índice de masa corporal

**IMSS:** Instituto Mexicano del Seguro Social

**INEGI:** Instituto Nacional de Estadística y Geografía

**INMEGEN:** Instituto Nacional de Medicina Genómica

**INS:** insulina

**ISSEA:** Instituto de Salud del Estado de Aguascalientes

**KDIGO:** Kidney Disease Improving Global Outcomes

**KDR:** receptor del dominio de inserción de la quinasa

**KEGG:** Enciclopedia de Genes y Genomas de Kyoto

**LEPR:** receptor de leptina

**LOAEL:** nivel más bajo de efectos adversos observados

**LXA4:** lipotoxina A4

**MAPK:** quinasa activada por mitógenos

**MED31:** subunidad 31 del complejo mediador

- MEG3:** expresado maternalmente 3
- MLLT1:** subunidad del complejo de superelongación MLLT1
- MYLK:** quinasa de la cadena ligera de miosina
- NF:** sin exposición a fluoruro
- NFATC1:** factor nuclear de células T activadas 1
- NNAT:** neuronatina
- NOAEL:** ningún nivel de efecto adverso observado
- NOM:** Norma Oficial Mexicana
- NXN:** nucleorreoxina
- OMS:** Organización Mundial de la Salud
- OSR1:** odd-skipped related transcription factor 1
- PAEP:** proteína endometrial asociada a progestágenos
- PAX2:** paired box 2
- PCA:** análisis de componentes principales
- PCDHA:** protocadherina alfa
- PCDHA1:** protocadherina alfa 1
- PCDHA10:** protocadherina alfa 10
- PCDHA11:** protocadherina alfa 11
- PCDHA12:** protocadherina alfa 12
- PCDHA13:** protocadherina alfa 13
- PCDHA2:** protocadherina alfa 2
- PCDHA3:** protocadherina alfa 3
- PCDHA4:** protocadherina alfa 4
- PCDHA5:** protocadherina alfa 5
- PCDHA6:** protocadherina alfa 6
- PCDHA7:** protocadherina alfa 7
- PCDHA8:** protocadherina alfa 8
- PCDHA9:** protocadherina alfa 9
- PCDHGA:** protocadherina gamma subfamilia A
- PCDHGA1:** protocadherina gamma subfamilia A, 1
- PCDHGA2:** protocadherina gamma subfamilia A, 2
- PCDHGA3:** protocadherina gamma subfamilia A, 3
- PCDHGA4:** protocadherina gamma subfamilia A, 4

**PCDHGA5:** protocadherina gamma subfamilia A, 5  
**PCDHGA6:** protocadherina gamma subfamilia A, 6  
**PCDHGA7:** protocadherina gamma subfamilia A, 7  
**PCDHGA8:** protocadherina gamma subfamilia A, 8  
**PCDHGB:** protocadherina gamma subfamilia B  
**PCDHGB1:** protocadherina gamma subfamilia B, 1  
**PCDHGB2:** protocadherina gamma subfamilia B, 2  
**PCDHGB3:** protocadherina gamma subfamilia B, 3  
**PCDHGB4:** protocadherina gamma subfamilia B, 4  
**PCR:** reacción en cadena de la polimerasa  
**PDE9A:** fosfodiesterasa 9A  
**PI3K-Akt:** fosfatidilinositol-3-quinasa – proteína quinasa B  
**PIK3CG:** subunidad catalítica gamma de fosfatidilinositol-4,5-bifosfato 3-quinasa  
**PRKCA:** proteína quinasa C alfa  
**PXDN:** peroxidasina  
**RET:** protooncogén RET  
**REUDERC:** Registro Estatal Único de Enfermedad Renal Crónica  
**RIQ:** rango intercuartilar  
**ROBO2:** receptor 2 de guía de rotonda  
**ROS:** especies reactivas de oxígeno  
**RT-PCR:** reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa  
**RT-qPCR:** PCR cuantitativa en tiempo real con transcriptasa reversa  
**RUNX1:** factor de transcripción relacionado con Runt 1  
**RUNX2:** factor de transcripción relacionado con Runt 2  
**RYR1:** receptor de rianodina 1  
**SDG:** semana de gestación  
**SEMA4B:** semaforina 4B  
**SeSAME:** análisis paso a paso y sensible de la metilación del ADN con BeadChips  
**SIX2:** SIX Homeobox 2  
**SLC18A2:** familia de portadores de solutos 18 miembros A2  
**SLC20A2:** transportador de 2-oxoglutarato  
**SLC7A11:** familia de portadores de solutos 7 miembros 11  
**SLIT2:** ligando de guía de hendidura 2

**SNC:** sistema nervioso central

**SNCA:** sinucleína alfa

**TBX5:** T-box 5

**TFG:** tasa de filtración glomerular

**TNFSF11:** miembro 11 de la superfamilia TNF

**TNXB:** tenascina XB

**USP9X:** peptidasa 9 específica de ubiquitina ligada al cromosoma X

**USRDS:** sistema de datos renales de Estados Unidos (United States Renal Data System)

**VCM:** volumen corpuscular medio

**VEGF:** factor de crecimiento endotelial vascular

**VIM:** vimentina

**VRT-SC:** volumen renal total ajustado a la superficie corporal

**WNT1:** protooncogén Wnt-1

**WNT11:** miembro de la familia Wnt 11

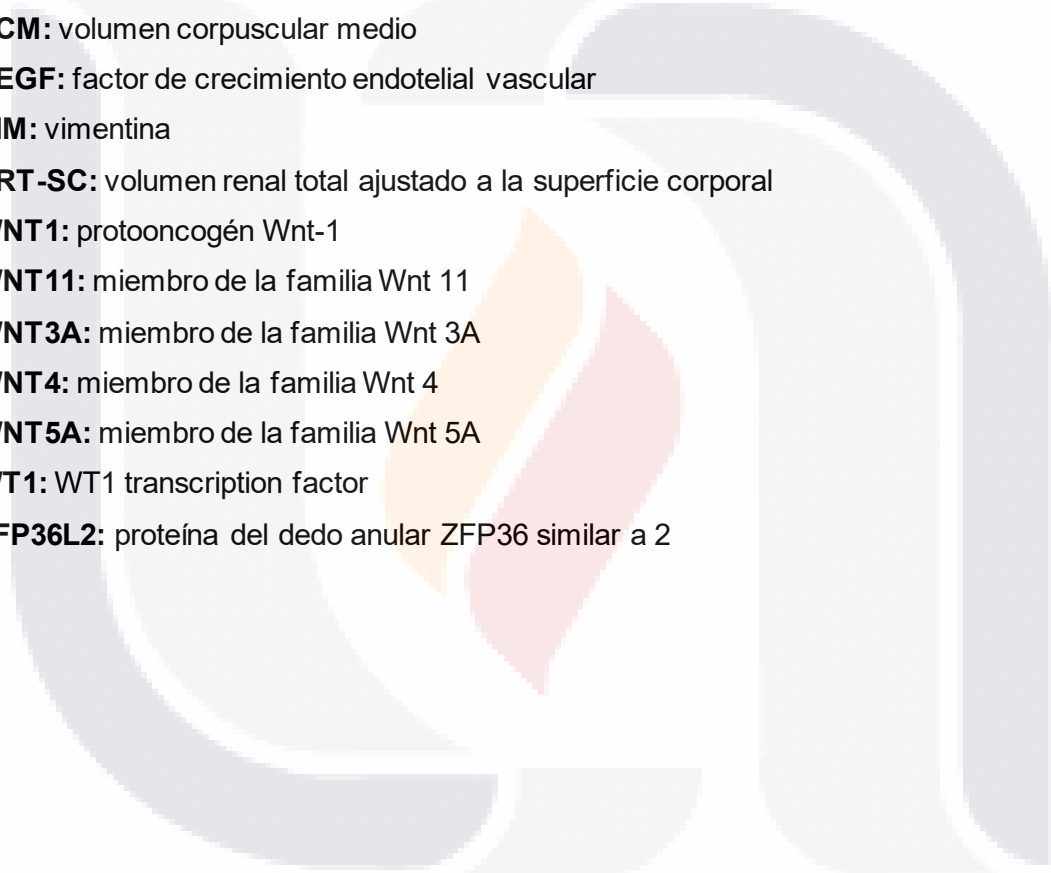
**WNT3A:** miembro de la familia Wnt 3A

**WNT4:** miembro de la familia Wnt 4

**WNT5A:** miembro de la familia Wnt 5A

**WT1:** WT1 transcription factor

**ZFP36L2:** proteína del dedo anular ZFP36 similar a 2



## Resumen

**Antecedentes:** La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud pública, con alta prevalencia en Aguascalientes. Esta situación podría estar relacionada con una baja dotación de nefronas al nacimiento, asociada a exposiciones ambientales durante la gestación. El objetivo fue evaluar el patrón de metilación del ADN asociado al desarrollo renal en tejido placentario de neonatos, en relación con la exposición prenatal a xenobióticos ambientales, particularmente al fluoruro.

**Metodología:** Estudio transversal en binomios madre–neonato. El volumen renal neonatal se evaluó por ecografía y los participantes se agruparon con base en el volumen renal y la exposición a fluoruro ( $\geq 1.5$  mg/L). Los xenobióticos se cuantificaron en 58 participantes inicialmente reclutados. Se analizó la metilación del ADN placentario mediante microarreglos Infinium MethylationEPIC v2.0 y análisis bioinformáticos. Adicionalmente, se evaluó la expresión génica de *PAX2*, *RET* y *OSR1* en amniocitos mediante PCR punto final.

**Resultados:** Se incluyeron 32 binomios. El análisis de componentes principales (PCA) mostró variabilidad entre grupos, más evidente entre BVR/F y CTRL/NF. Se identificaron 7,540 sitios CpG diferencialmente metilados ( $FDR < 0.01$ ;  $\Delta\beta \geq 0.1$ ), con predominio de hipometilación. El análisis integrativo permitió identificar una firma epigenética compartida de 244 genes, destacando genes de las familias de protocadherinas (*PCDHA*, *PCDHGA* y *PCDHGB*), así como genes relacionados con el desarrollo renal. El análisis de expresión génica estuvo limitado por la baja pureza del ARN; únicamente *RET* mostró amplificación detectable.

**Conclusión:** La exposición materna a fluoruro se asocia con alteraciones en la metilación placentaria en genes implicados en el desarrollo renal. Estas modificaciones epigenéticas sugieren la participación de mecanismos de programación fetal que podrían influir en la dotación de nefronas y en el riesgo de ERC en etapas posteriores de la vida. En conjunto, los hallazgos refuerzan la relevancia de la exposición ambiental prenatal como un factor potencialmente modificable.

**Palabras clave:** Metilación del ADN, desarrollo renal, fluoruro, xenobióticos ambientales, placenta, epigenética.

## Abstract

**Background:** Chronic kidney disease (CKD) is a public health problem with a high prevalence in Aguascalientes. This situation may be related to a low number of nephrons at birth, associated with environmental exposures during pregnancy. The objective was to evaluate the DNA methylation pattern associated with kidney development in neonatal placental tissue, in relation to prenatal exposure to environmental xenobiotics, particularly fluoride.

**Methodology:** A cross-sectional study of mother-neonate pairs. Neonatal renal volume was assessed by ultrasound, and participants were grouped based on kidney volume and fluoride exposure ( $\geq 1.5$  mg/L). Xenobiotics were quantified in 58 initially recruited participants. Placental DNA methylation was analyzed using Infinium MethylationEPIC v2.0 microarrays and bioinformatic analyses. Additionally, gene expression of *PAX2*, *RET*, and *OSR1* in amniocytes was assessed using end-point PCR.

**Results:** A total of 32 pairs were included. Principal component analysis (PCA) revealed variability between groups, most evident between BVR/F and CTRL/NF. A total of 7,540 differentially methylated CpG sites were identified ( $FDR < 0.01$ ;  $\Delta\beta \geq 0.1$ ), with a predominance of hypomethylation. Integrative analysis identified a shared epigenetic signature of 244 genes, highlighting genes from the protocadherin families (*PCDHA*, *PCDHGA*, and *PCDHGB*), as well as genes related to kidney development. Gene expression analysis was limited by low RNA purity; only *RET* showed detectable amplification.

**Conclusion:** Maternal fluoride exposure is associated with alterations in placental methylation of genes involved in kidney development. These epigenetic modifications suggest the involvement of fetal programming mechanisms that could influence nephron number and the risk of CKD later in life. Taken together, the findings reinforce the relevance of prenatal environmental exposure as a potentially modifiable factor.

**Keywords:** DNA methylation, kidney development, fluoride, environmental xenobiotics, placenta, epigenetics.

## 1. Introducción

Los xenobióticos son sustancias químicas externas al organismo humano. Estas pueden encontrarse en el ambiente (aire, agua, suelo, plantas) e incluyen compuestos de origen natural o sintético, así como subproductos derivados de actividades industriales. En los últimos años, su uso global se ha incrementado rápidamente como consecuencia del avance tecnológico e industrial (1–3). La exposición no intencional a estos compuestos representa un riesgo considerable para la salud humana y puede ocurrir bajo distintas condiciones, incluyendo el ambiente doméstico, ocupacional o a través del consumo de agua y alimentos contaminados. Incluso niveles bajos de exposición pueden generar efectos adversos durante etapas críticas de la vida, como el desarrollo embrionario, cuando los órganos en formación son particularmente sensibles a agresiones ambientales. La exposición a estos agentes se ha relacionado con diversas patologías, entre ellas cáncer, alteraciones endocrinas, inmunológicas, enfermedades neurológicas, deterioro cognitivo y, más recientemente, con la enfermedad renal crónica (ERC) y otras enfermedades no transmisibles (4).

En Aguascalientes, México, se ha reportado una alta prevalencia de enfermedad renal crónica de etiología desconocida (ERCd) (5). Estudios previos sugieren que factores ambientales y genéticos pueden interactuar durante el desarrollo del riñón, ocasionando cambios epigenéticos que favorecen la aparición de la patología renal (6). Este hallazgo es de particular importancia ya que el desarrollo renal finaliza alrededor de las 36 semanas de gestación (SDG). Durante este periodo se establece el número total de nefronas con el cual contará el individuo al momento del nacimiento y durante el resto de su vida. Cualquier alteración producida durante esta etapa puede condicionar a un bajo número de nefronas y, por lo tanto, a un mayor riesgo de ERC en etapas posteriores de la vida (7).

La expresión génica, el proceso mediante el cual la información codificada en el ADN se traduce en productos funcionales, principalmente proteínas. Este proceso puede verse alterado por mecanismos epigenéticos, como la metilación del ADN, los cuales actúan como interruptores que regulan la activación o el silenciamiento de distintos genes. En el caso del riñón, se han descrito diversas vías de señalización fundamentales para la nefrogénesis, entre ellas Wnt/ $\beta$ -catenina, Notch, fosfatidilinositol 3-quinasa/proteína quinasa B (PI3K-Akt), proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). Estas vías pueden ser moduladas por cambios epigenéticos y ocasionar

alteraciones en la organogénesis renal (8). Aunque la interpretación de las variaciones en la expresión génica puede ser compleja, estos perfiles resultan útiles para la detección temprana de enfermedades y la identificación de biomarcadores (9–11). En este contexto, se han desarrollado estudios sobre el impacto de los contaminantes ambientales en los patrones de metilación del ADN; sin embargo, la relación específica entre la exposición ambiental, alteraciones epigenéticas y genes clave del desarrollo renal aún no ha sido estudiada con profundidad (12–15).

En neonatos del estado de Aguascalientes se ha identificado una elevada exposición y presencia en muestras biológicas de xenobióticos como metales, no metales y pesticidas, particularmente metomilo, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y fluoruro. Estos compuestos podrían representar un factor de riesgo para la disminución del volumen renal y contribuir a cambios epigenéticos que alteren la expresión génica durante el desarrollo renal (16). En este contexto, resulta fundamental comprender los posibles mecanismos mediante los cuales la exposición ambiental podría influir en la regulación epigenética de genes asociados con la nefrogénesis. El estudio de estos procesos permitiría ampliar el conocimiento sobre la etiología de la ERC en la región y contribuir al desarrollo de estrategias de prevención, diagnóstico temprano y salud pública.

## **2. Marco teórico**

### **2.1 Desarrollo renal y nefrogénesis**

El desarrollo renal embrionario comienza alrededor de la cuarta SDG con la formación del cordón nefrogénico. Durante este proceso se identifican tres estructuras renales transitorias: el pronefros, el mesonefros y el metanefros, siendo este último el que dará lugar al riñón definitivo. Alrededor del día 30 de la gestación, la yema ureteral brota del conducto de Wolff e invade el mesénquima metanéfrico, lo cual marca el inicio de la organogénesis renal (17,18). El metanefros inicia su desarrollo al final de la quinta SDG y se vuelve funcional hasta el inicio de la etapa fetal, aproximadamente durante la octava SDG. A partir de la yema ureteral se originan las estructuras colectoras del riñón, incluyendo la pelvis renal, los calices y los túbulos colectores, mediante un proceso progresivo de ramificación. Los riñones metanéfricos tendrán actividad excretora a partir de la semana once de gestación; sin embargo, la nefrogénesis es un proceso que se completa alrededor de las 36 SDG, momento en el que se alcanza el número total de nefronas con las que

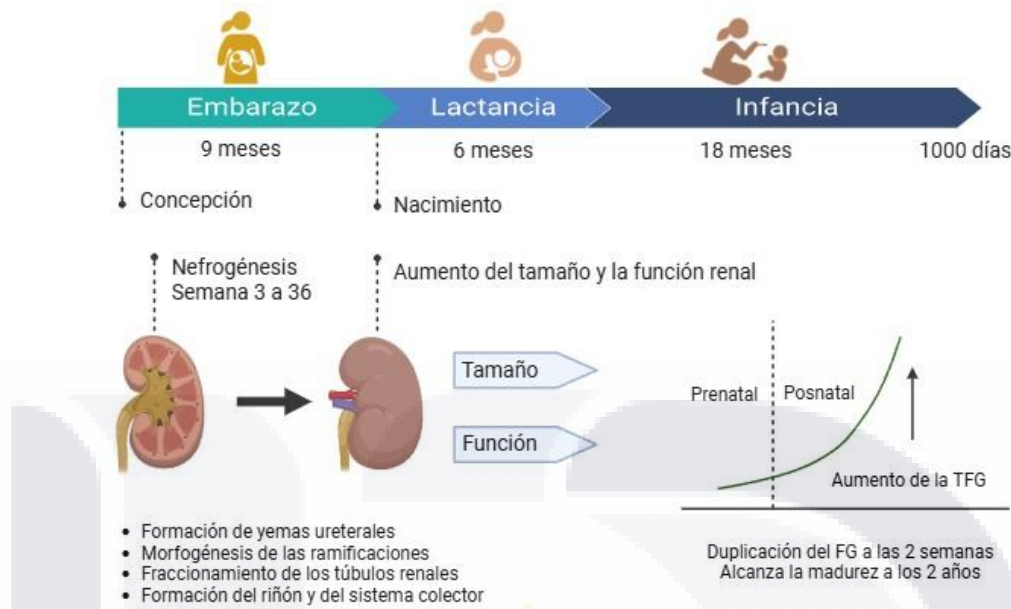
TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

contará el individuo durante toda su vida, ya que tras el nacimiento no se forman nuevas nefronas (18,19).

El número de nefronas se relaciona fuertemente con la capacidad adaptativa del riñón tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Se ha documentado que el número de nefronas considerado dentro de la normalidad en el ser humano puede variar ampliamente, oscilando entre 200,000 y 2.5 millones. Esta variabilidad puede depender de factores como el peso al nacer, el sexo, la predisposición genética y factores ambientales; sin embargo, aún se desconoce cuál es el factor determinante de estas diferencias entre individuos (18,20).

Durante el desarrollo temprano del riñón, la placenta actúa como el principal órgano temporal responsable de mantener la homeostasis fetal de líquidos y electrolitos, el equilibrio ácido-base y los requerimientos excretores del feto (21). Posteriormente, tras el nacimiento, el riñón continúa con cambios funcionales significativos. Por ejemplo, la capacidad de concentrar la orina al nivel observado en el riñón adulto se alcanza de forma progresiva durante el desarrollo postnatal (Figura 1) (18). En los recién nacidos prematuros se ha observado una afectación en la maduración renal, lo que se traduce en una tasa de filtración glomerular (TFG) baja en comparación con los recién nacidos a término, además de una progresión más lenta en la maduración funcional renal después del nacimiento (22).

Se ha documentado que un bajo número de nefronas, asociado frecuentemente con bajo peso al nacer, puede aumentar el riesgo de desarrollar ERC en etapas posteriores de la vida. Asimismo, factores ambientales y hereditarios, como el estado nutricional y de salud materna durante el embarazo, el origen étnico, el país de origen y los factores genéticos, pueden desempeñar un papel importante en la determinación del número de nefronas (7,20,21). De igual manera, se ha encontrado de forma consistente que el volumen glomerular medio es inversamente proporcional al número de nefronas y es directamente proporcional al tamaño corporal actual (23).



**Figura 1.** Desarrollo renal. Adaptado del artículo “The First Thousand Days: Kidney Health and Beyond” by Chien-Ning Hsu, et.al. (2021) (19).

## 2.2 Número de nefronas y alteraciones del desarrollo renal

Los términos “bajo volumen renal”, “disminución del número de nefronas” e “hipoplasia renal” se utilizan con frecuencia de manera intercambiable para describir una condición en la que los riñones presentan un tamaño menor al esperado, aunque conservan su morfología normal (24).

Es importante diferenciar el bajo volumen renal de las anomalías congénitas del riñón y vías urinarias (*CAKUT*, por sus siglas en inglés), las cuales constituyen un grupo clínicamente heterogéneo de alteraciones caracterizadas por cambios en el tamaño, forma, posición o número de riñones, mientras que microscópicamente se reflejan en un menor número de nefronas o una histología anormal. Se estima que hasta el 20% de los casos tiene un origen monogénico (25). En contraste, la disminución del volumen renal observada en los individuos del estado de Aguascalientes no se ha relacionado con mutaciones monogénicas específicas, sino más bien con un origen multifactorial.

En un estudio realizado por Macías-Díaz, et.al. (2022) en Aguascalientes, se reportó mediante ecografía una ligera disminución del volumen renal por debajo del percentil 10 (<45 ml/m<sup>2</sup>), lo que sugiere la presencia de bajo volumen renal en la población estudiada (6). De forma complementaria, Alcalde-Ortiz, et.al. (2024), documentaron que la población

pediátrica del estado presenta dimensiones renales significativamente menores en comparación con referencias internacionales (26). Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que los infantes de la región podrían tener un mayor riesgo de desarrollar la ERC y eventualmente requerir terapia sustitutiva durante la edad adulta (25).

La teoría propuesta por Brenner et.al. (1988) plantea que una baja dotación de nefronas incrementa la susceptibilidad a padecer hipertensión arterial sistémica (HAS) y desarrollar ERC a largo plazo. Este planteamiento se ajusta a lo observado en la población de Aguascalientes: neonatos con volumen renal bajo al nacimiento, adolescentes con hipertensión glomerular compensatoria en ausencia de fibrosis renal y adultos jóvenes con enfermedad renal crónica terminal (ERCT) (6,7).

Diversos genes han sido implicados en la regulación del desarrollo renal y la determinación del número de nefronas. Entre ellos se encuentran *RET*, *PAX2*, *WNT11*, *DNMT1*, *GDNF*, *WT1*, *EYA1*, *BMP*, *OSR1* y *SIX2* (27–29). Algunos de estos genes participan en procesos clave de la nefrogénesis, como la interacción entre la yema ureteral y el mesénquima metanéfrico, la diferenciación celular y la ramificación del sistema colector. En particular, *DNMT1*, *PAX2*, *RET* y *OSR1* han mostrado una asociación relevante con la disminución del volumen renal en ausencia de alteraciones morfológicas evidentes.

DNA metiltransferasa 1 (*DNMT1*) codifica una enzima encargada de mantener los patrones de metilación del ADN durante la replicación celular mediante la transferencia de grupos metilo a citosinas del ADN. Estas modificaciones epigenéticas suelen ocurrir en regiones promotoras y regulan la transcripción génica. Alteraciones en la actividad de *DNMT1* pueden afectar la organogénesis embrionaria y modificar la expresión de genes clave en el desarrollo renal, como *SIX2* (Figura 2) (30,31).

Paried Box 2 (*PAX2*) pertenece a la familia de factores de transcripción y desempeña un papel fundamental en la diferenciación y organogénesis renal. Este gen participa en la formación del metanefros y la ramificación de la yema ureteral, procesos determinantes para el establecimiento del número de nefronas. Alteraciones en su expresión, ya sea por mutaciones o por cambios epigenéticos, se han asociado con una reducción del tamaño renal neonatal (Figura 2) (32–35).

El protooncogén *RET* codifica un receptor tirosina quinasa cuya activación depende del ligando del factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (*GDNF*). Ambos participan en la inducción del desarrollo renal durante la embriogénesis, regulando la

interacción entre el conducto de Wolff y el mesénquima metanéfrico (36,37). Alteraciones en este gen se han asociado con agenesis o hipoplasia renal, así como una disminución del tamaño renal en el periodo neonatal (Figura 2) (38–40).

Odd-Skipped Related Transcription Factor 1 (*OSR1*) codifica un factor de transcripción expresado en el mesodermo intermedio durante etapas tempranas del desarrollo embrionario. Este gen participa en la formación del sistema urinario y en la regulación del equilibrio entre la autorrenovación y diferenciación de células progenitoras renales. Alteraciones en su regulación pueden conducir a hipoplasia renal y a una reducción del tamaño renal neonatal (Figura 2) (41–43).

Estos genes son de particular relevancia ya que participan en el desarrollo y maduración renal. En la población de Aguascalientes no se han documentado alteraciones morfológicas evidentes, lo que sugiere que la reducción del tamaño renal podría estar asociada con cambios epigenéticos. En este contexto, las modificaciones epigenéticas actúan como un “interruptor” capaz de modular la expresión génica en respuesta a factores ambientales, modificando el fenotipo sin alterar la secuencia del ADN (44).

VARIANTE GENÉTICA	CONSECUENCIA
Polimorfismo PAX2	Reducción del 10 % del tamaño del riñón en recién nacidos.
Variante RET(1476A)	Reducción del 10 % del volumen renal al nacer.
Variante BMPR1A	Reducción del 13 % en el tamaño del riñón del recién nacido.
Variante OSR1rs12329305(T)	Reducción del 12 % en el tamaño del riñón del recién nacido.

**Figura 2.** Variantes genéticas asociadas al tamaño renal en humanos (excluyendo CAKUT). Adaptado del “Clinical Consequences of developmental programming of low nephron number” (39).

### 2.3 Enfermedad renal crónica

La ERC se define como cualquier alteración estructural o funcional del riñón con una duración igual o superior a tres meses (45–47). Esta enfermedad representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial; en 2019 se estimó que 5.2

millones de personas murieron por esta patología. Las guías *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO) clasifican la ERC en cinco estadios de acuerdo con la TFG y el grado de albuminuria (Figura 3) (48,49).

			Categorías de albuminuria persistente			
			A1	A2	A3	
			Normal a medio incrementado	Moderadamente incrementado	Severamente incrementado	
			<30 mg/g <3 mg/mmol	30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	>300 mg/g >30 mg/mmol	
Categorías de TFG (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	G1	Normal o alto	≥90			
	G2	Medianamente disminuido	60-89			
	G3a	Medio a moderadamente disminuido	45-59			
	G3b	Moderada a severamente disminuido	30-44			
	G4	Severamente disminuido	15-29			
	G5	Falla renal	<15			

- Bajo riesgo
- Riesgo moderado
- Alto riesgo
- Muy alto riesgo

**Figura 3.** Clasificación KDIGO de ERC. Tomado del artículo de Romagnani P., et.al. (2017) “Chronic kidney disease” (50).

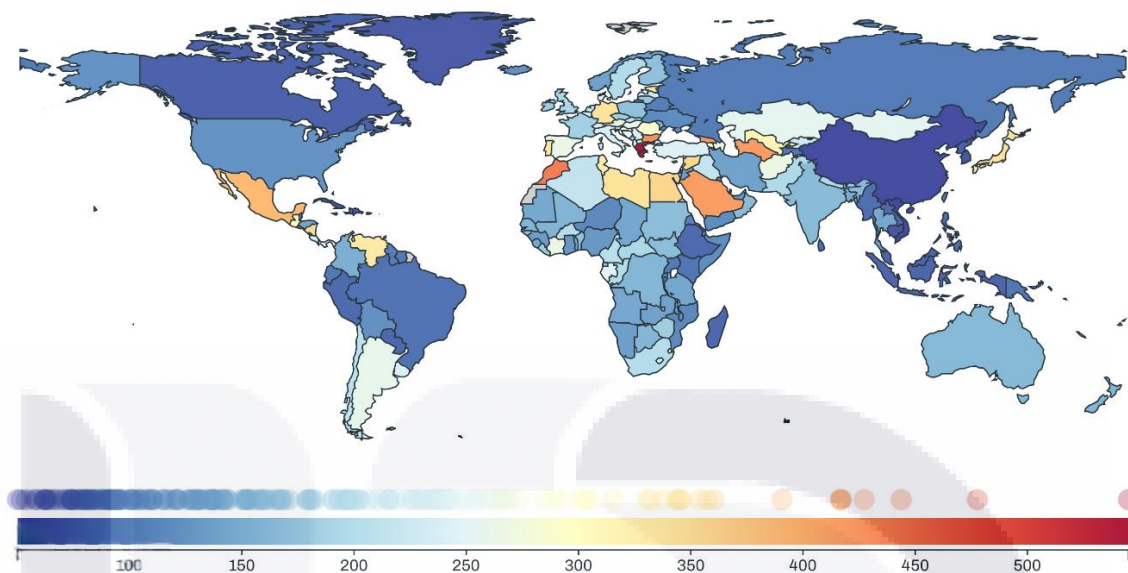
Las principales etiologías de la ERC en adultos son las enfermedades crónico-degenerativas, como diabetes mellitus (DM), la HAS y el sobrepeso u obesidad, mientras que en la población pediátrica predominan las CAKUT (51–53). Entre los principales factores de riesgo para el desarrollo y progresión de la ERC se incluyen el bajo número de nefronas al nacimiento, la pérdida progresiva de nefronas asociada con la edad, las lesiones renales agudas o crónicas por exposición a tóxicos, así como enfermedades crónico-degenerativas y hábitos como alcoholismo, tabaquismo, sedentarismo y deshidratación (50,54–56).

A medida que la enfermedad progresa, los pacientes pueden requerir terapia renal sustitutiva, incluyendo diálisis peritoneal, hemodiálisis o trasplante renal (57). Estas intervenciones representan una carga considerable para los sistemas de salud. En México, durante el 2023 el gasto total anual en servicios integrales de nefrología ascendió a aproximadamente 10,634 millones de pesos, lo que representó un incremento del 1.3% respecto al año 2022, de acuerdo con el *Informe al Ejecutivo Federal y al Congreso de la Unión sobre la Situación Financiera y los Riesgos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) 2024-2025* (58).

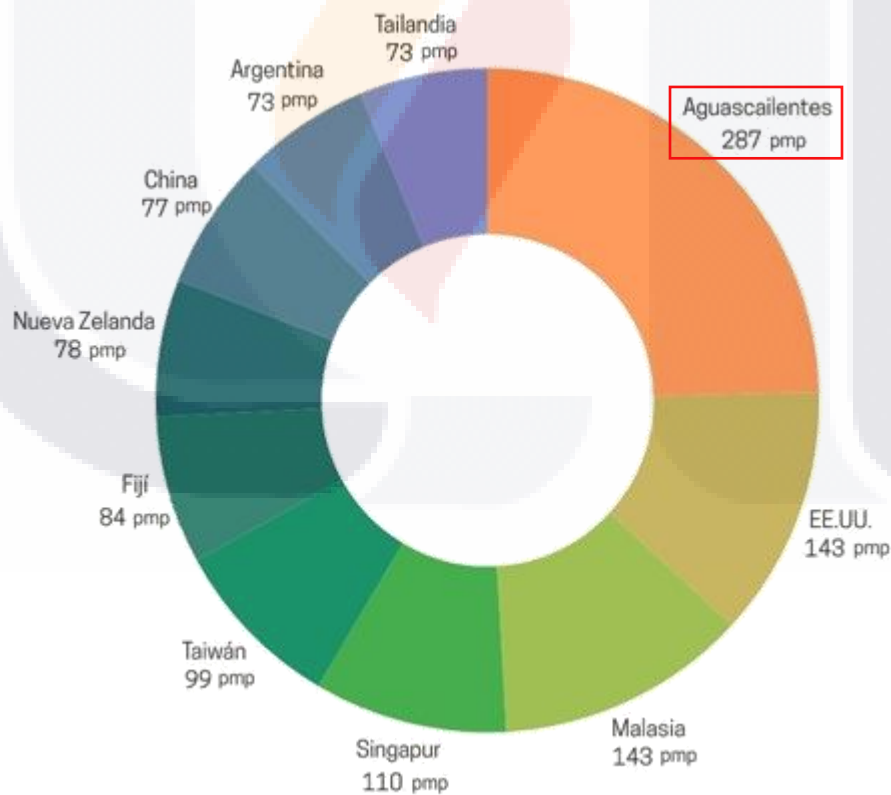
A nivel mundial, la incidencia de ERCT en 2023 se estimó en 365 personas por millón de población (pmp), siendo mayor en hombres que en mujeres, según el Registro Americano de ERC 2025 (*United States Renal Data System [USRDS]*) (59). Entre 1990 y 2017, la prevalencia global de ERC aumento aproximadamente 33%, convirtiéndose en una de las principales causas de mortalidad asociadas con enfermedades no transmisibles, de acuerdo con el reporte del Estudio de la Carga Global de la Enfermedad (*Global Burden of Disease Study [GBD]*) (60,61). En 2019, la ERC fue responsable de aproximadamente 11.6 millones de años de vida ajustados por discapacidad (AVAD), mientras que la mortalidad atribuible a esta enfermedad aumentó de 0.6 millones a 1.4 millones de personas a nivel mundial (60,62).

México presenta una de las tasas más altas de mortalidad por ERC a nivel mundial. En 2017, esta patología representó una de las principales causas de muerte asociadas con enfermedades crónicas, únicamente por debajo de la enfermedad de arterias coronarias (EAC). La ausencia de un registro nacional de ERC dificulta estimaciones precisas; sin embargo, se ha estimado una prevalencia aproximada de 14.5 pmp y una incidencia de 394.2 pmp, asociadas con cambios demográficos y epidemiológicos, el envejecimiento poblacional y la alta prevalencia de DM e HAS (63).

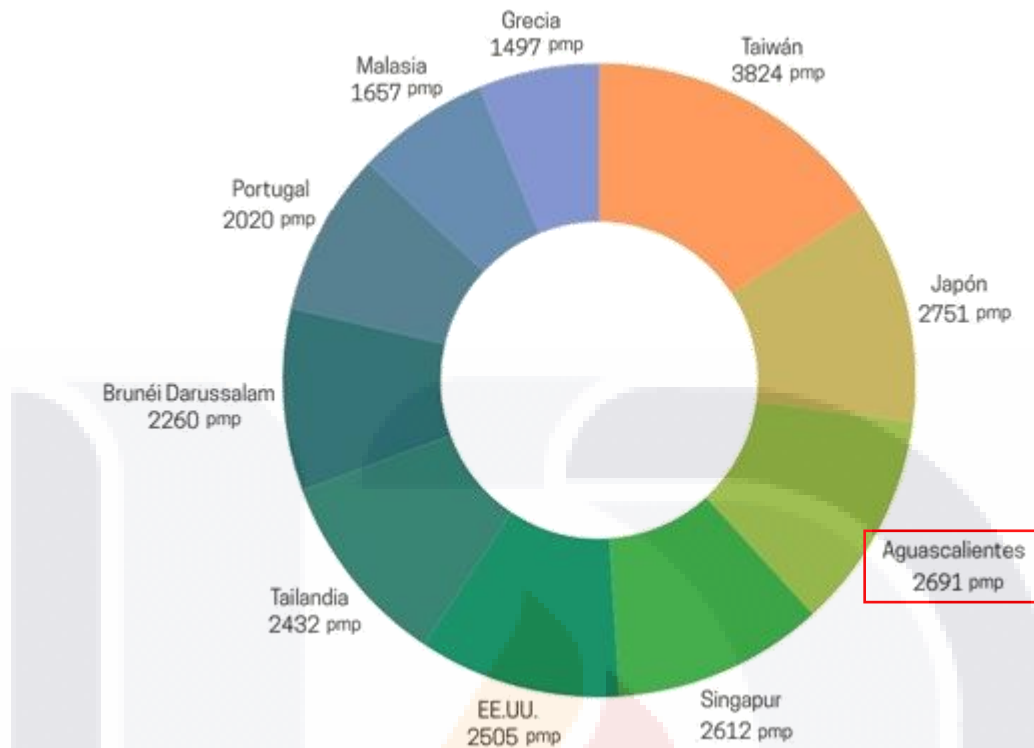
En México también se ha descrito una elevada prevalencia de ERCd, particularmente en ciertas regiones del país, entre ellas el estado de Aguascalientes (Figura 4). En esta entidad, se ha reportado una incidencia elevada de ERCT en adultos jóvenes. De acuerdo con el USRDS 2025, Aguascalientes presenta una incidencia de 287 pmp y una prevalencia de 2,691 pmp, lo que lo ubica entre las regiones con mayor carga de enfermedad renal a nivel mundial (tercer lugar, solo por detrás de Taiwán y Japón) (Figuras 5 y 6) (64).



**Figura 4.** Mapa de calor de la ERC de causas inespecíficas en el mundo. Tomado del GBD (2021) (61).



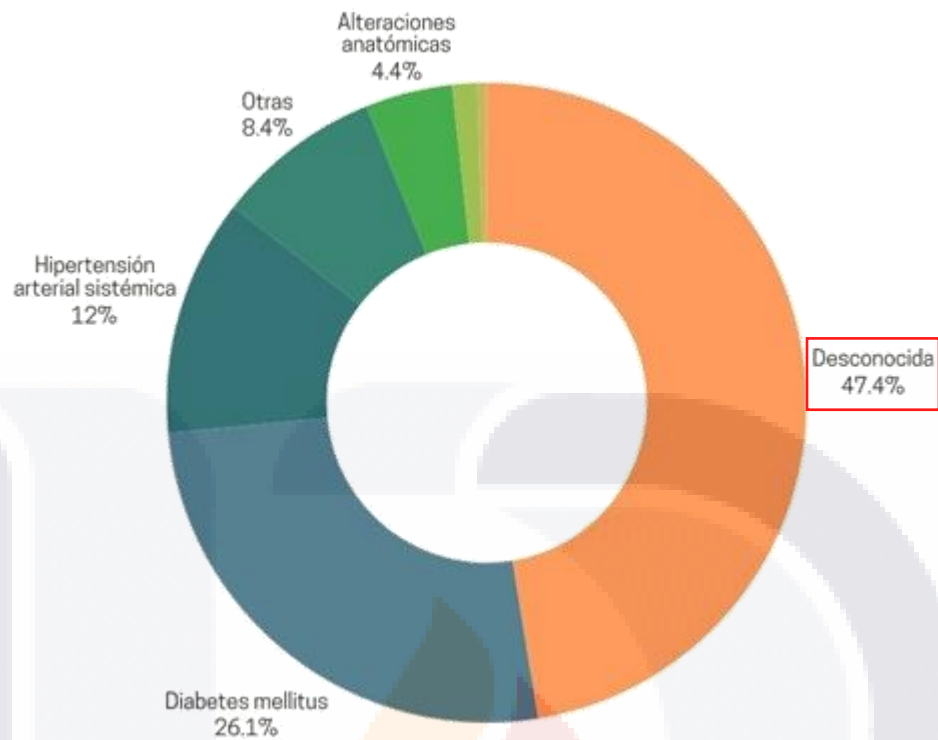
**Figura 5.** Incidencia de ERCT. Adaptado del reporte USRDS (2025) "International Comparisons" (64).



**Figura 6.** Prevalencia de ERCT. Adaptado del reporte USRDS (2025) “International Comparisons” (64).

De forma complementaria, el Registro Estatal Único de Enfermedad Renal Crónica del Estado de Aguascalientes (REUDERC) reportó para 2026 una prevalencia de 1,974.6 pmp, siendo la etiología de origen desconocido la más frecuente, seguida de DM y HAS (Figura 7) (65).

Diversos estudios realizados en la región han propuesto como posibles factores de riesgo para el desarrollo de ERC en Aguascalientes un bajo número de nefronas al nacimiento, asociado con la exposición a xenobióticos ambientales. Esta interacción podría contribuir a explicar la alta incidencia y prevalencia de la nefropatía observada en la región (6,16,66).



**Figura 7.** Etiologías ERC en el estado de Aguascalientes. Adaptado de REUDERC (2026) (65).

## 2.4 Xenobióticos y salud humana

El término xenobiótico se utiliza para describir cualquier sustancia química externa a la que se encuentra expuesto un organismo y que no forma parte de su metabolismo normal. Entre los xenobióticos más estudiados se incluyen los plaguicidas, aditivos alimentarios, compuestos presentes en plásticos, detergentes, medicamentos, cosméticos, así como metales pesados y metaloides, entre otros (16,67,68).

La exposición crónica a estas sustancias puede tener un impacto significativo en la salud humana. Con el incremento poblacional y el aumento en la demanda de alimentos, se ha incrementado el uso de productos procesados con conservadores, así como de tecnologías agrícolas que implican el uso de compuestos químicos. Como consecuencia, la presencia de xenobióticos en los alimentos, el agua y el ambiente ha aumentado considerablemente (68). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), cada año se registran alrededor de 3 millones de casos de intoxicación aguda grave y

aproximadamente 2.2 millones de muertes relacionadas con la exposición a sustancias químicas presentes en el ambiente, los alimentos y el agua (69).

La exposición crónica a xenobióticos ambientales puede ocasionar alteraciones cromosómicas y daño al ADN, lo que representa un factor de riesgo para el desarrollo de distintas enfermedades. Sin embargo, estos efectos no siempre se producen de forma directa, ya que intervienen mecanismos epigenéticos capaces de modular la respuesta del organismo frente a estas sustancias. En este sentido, las modificaciones epigenéticas, como la metilación del ADN, pueden alterar la regulación de la expresión génica sin modificar la secuencia del ADN, influyendo en la susceptibilidad individual a los efectos adversos de los xenobióticos (70). Por lo tanto, el impacto de estas sustancias en la salud no depende únicamente de la exposición ambiental, sino también de la interacción entre factores genéticos y epigenéticos que pueden modificar la respuesta biológica de cada individuo.

#### **2.4.1 Xenobióticos ambientales y enfermedad renal crónica**

En toxicología ambiental existen dos conceptos clave para comprender los efectos de los xenobióticos sobre la salud. El primero es el NOAEL (nivel sin efecto adverso observado), que corresponde a la dosis más alta de una sustancia que no produce efectos adversos observables. Este valor se determina generalmente a partir de estudios experimentales en animales expuestos a diferentes concentraciones del compuesto. Por otro lado, el LOAEL (nivel de efecto adverso observado más bajo) se refiere a la dosis mínima en la que comienzan a manifestarse efectos negativos. Ambos parámetros permiten establecer niveles seguros de exposición y evaluar los posibles riesgos para poblaciones vulnerables (71).

En las últimas décadas se ha observado un incremento en el uso doméstico y agrícola de pesticidas y otros compuestos químicos, lo que implica que la mayoría de los individuos estén expuestos a los xenobióticos ambientales en algún grado de forma regular, ya sea a través de la dieta, el agua o el ambiente. La exposición crónica a estas sustancias se ha asociado con diversos efectos en la salud, afectando incluso a individuos expuestos desde la etapa prenatal. Sin embargo, aún son limitados los estudios que documentan de manera sólida los efectos de estos compuestos en recién nacidos y niños (72,73).

Debido a su menor peso corporal y a las características propias de su desarrollo fisiológico, los niños pueden experimentar una exposición proporcionalmente mayor a

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

tóxicos ambientales que los adultos. Además, el feto y el neonato presentan una mayor vulnerabilidad frente a estos agentes, ya que pueden interferir con procesos críticos del desarrollo. En particular, el riñón es un órgano susceptible al daño tóxico durante las primeras etapas de la vida, debido a que su maduración funcional continúa después del nacimiento. Su elevada actividad metabólica y la captación activa de compuestos por las células tubulares, especialmente en el túbulo proximal, favorecen la acumulación de sustancias potencialmente nefrotóxicas (72,74).

Aunque la mayoría de los estudios se han enfocado en la población adulta, los efectos de la exposición a xenobióticos durante la infancia han sido relativamente poco estudiados. Esta falta de atención podría contribuir al desarrollo temprano de ERC en etapas posteriores de la vida. En este sentido, la exposición a contaminantes ambientales desde etapas tempranas podría representar un factor relevante en la etiología de la nefropatía observada en regiones como el estado de Aguascalientes, lo que resalta la importancia de este estudio para el desarrollo de estrategias de prevención y detección oportuna.

#### **2.4.2 Metales, metaloides y pesticidas**

Los metales son elementos que tienden a formar iones positivos al perder electrones durante las reacciones químicas, con excepción del hidrógeno. Comparten propiedades físicas como el brillo, alta densidad, puntos de fusión elevados, ductilidad, maleabilidad y buena conductividad térmica y eléctrica. Por su parte, los metaloides tienen propiedades intermedias entre metales y no metales. Muchos de estos elementos se encuentran de forma natural en el ambiente y, en algunos lugares, pueden alcanzar concentraciones elevadas en el suelo, agua o aire (75,76).

Los pesticidas, por otro lado, se definen como sustancias o mezclas destinadas a prevenir, repeler o eliminar plagas. Dentro de esta categoría se incluyen herbicidas, insecticidas y fungicidas, utilizados ampliamente en actividades agrícolas y urbanas (77–79). Entre los xenobióticos con mayor relevancia clínica en la población del estado de Aguascalientes destacan el fluoruro y algunos pesticidas, como el 2,4-D y metomilo, debido a las concentraciones elevadas detectadas en muestras ambientales y biológicas en la región (16).

### **2.4.3 Fluoruro**

Los fluoruros son compuestos binarios o sales formadas por la combinación del flúor con otros elementos. Se encuentran de forma natural en la corteza terrestre y pueden liberarse al ambiente a través de procesos geológicos o por arrastre del viento. Una vez presentes en el ambiente, el fluoruro no se degrada, sino que puede transformarse químicamente y distribuirse en el ambiente, encontrándose en pequeñas cantidades en el agua, el aire, las plantas y los animales. Por ello, la exposición humana ocurre principalmente a través del consumo de agua y alimentos contaminados, así como por la inhalación de aire que contiene partículas de fluoruro (80,81).

Los niveles promedio de fluoruro en aguas superficiales suelen situarse alrededor de 0.2 partes por millón (ppm). La OMS y la Unión Europea (UE) establecen un límite máximo recomendado de 1.5 mg/L, mientras que la Norma Oficial Mexicana (NOM) establece un límite de 1 mg/L en agua potable (82–84). Es importante destacar que el fluoruro puede atravesar la barrera placentaria y alcanzar al feto en desarrollo. Diversos estudios en humanos han asociado niveles altos de exposición con defectos congénitos, alteraciones en el desarrollo cognitivo y disminución del coeficiente intelectual en los niños, lo que resalta la importancia de evaluar sus posibles efectos en órganos en desarrollo, incluido el riñón (80).

### **2.4.4 Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)**

El 2,4-D es un herbicida ampliamente utilizado en la agricultura y en el mantenimiento de áreas urbanas. Existen múltiples formulaciones comerciales que contienen este compuesto como ingrediente activo. En 2013 se estimó una aplicación aproximada de 39 millones de libras en cultivos como trigo, soja, maíz y forrajes en Estados Unidos, además de su uso frecuente en céspedes y otras áreas verdes. Debido a su alta movilidad en el suelo, el 2,4-D puede infiltrarse hacia aguas subterráneas, lo que aumenta el riesgo de exposición ambiental (85).

La población general puede estar en contacto con residuos de 2,4-D durante o después de su aplicación. Los niños pequeños pueden ser particularmente vulnerables debido al contacto directo con suelos contaminados y comportamientos que favorecen la ingesta accidental de partículas ambientales. Los efectos adversos asociados con la exposición incluyen alteraciones respiratorias, endocrinas, inmunológicas, neurológicas,

reproductivas y del desarrollo, además de su relación con algunos tipos de cáncer o la muerte (85,86).

En modelos animales, el riñón se ha identificado como un órgano blanco de toxicidad inducida por 2,4-D. En estudios realizados en humanos, la presencia de este compuesto en orina se ha relacionado con un incremento de la creatinina urinaria, albuminuria persistente y presencia de cilindros urinarios, aunque no siempre se han observado cambios degenerativos evidentes en el tejido renal (85,87).

#### **2.4.5 Metomilo**

El metomilo es un insecticida y ovicida clasificado en la categoría I de toxicidad. Se utiliza ampliamente en diversos cultivos agrícolas, frutales y hortalizas, así como en céspedes, instalaciones ganaderas y otros entornos donde se requiere control de plagas. Su aplicación puede realizarse mediante diferentes métodos, incluyendo pulverización aérea o terrestre, formulaciones granuladas y cebos, lo que incrementa el riesgo de dispersión ambiental y exposición humana. Aunque su uso doméstico no está aprobado en muchos países, la exposición puede ocurrir por vía oral, inhalación o absorción dérmica (88).

Los efectos tóxicos del metomilo se manifiestan principalmente a nivel del sistema nervioso central (SNC); sin embargo, también se han descrito efectos en otros sistemas, incluyendo el urinario y el reproductivo. A nivel celular, este compuesto puede inducir estrés oxidativo mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), alterando el equilibrio redox celular y produciendo daño tisular. En el riñón, estos procesos pueden afectar particularmente al epitelio tubular, favoreciendo la aparición de alteraciones funcionales (88,89).

### **2.5 Epigenética**

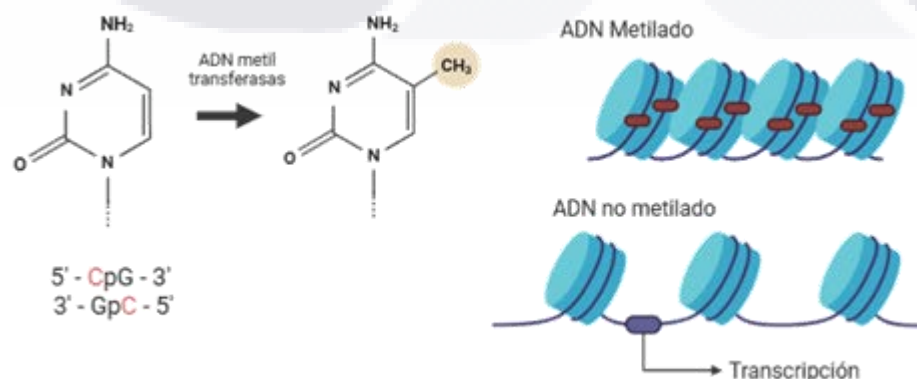
La epigenética se refiere a cambios heredables, pero potencialmente reversibles, en la función de los genes que ocurren sin modificaciones en la secuencia del ADN. Estos cambios implican alteraciones estructurales y bioquímicas en la cromatina que regulan la accesibilidad del ADN a la maquinaria transcripcional y, por lo tanto, modulan la expresión génica. A través de estos mecanismos, la epigenética participa en la regulación de diversos procesos fisiológicos y patológicos (90,91).

Entre los mecanismos epigenéticos más estudiados se encuentran la metilación del ADN, las modificaciones postraduccionales de las histonas y la regulación mediada por ARN no codificante (ARNnc) (92). Estos mecanismos contribuyen al control de la expresión génica durante procesos fundamentales como el desarrollo embrionario, la diferenciación celular y la respuesta a estímulos ambientales.

En la última década se ha demostrado que el epigenoma es altamente dinámico y puede modificarse durante el desarrollo, a lo largo de la vida e incluso en respuesta a factores ambientales externos. En algunos casos, estas modificaciones pueden transmitirse entre generaciones; sin embargo, aún resulta complejo establecer conclusiones generales sobre la interacción entre epigenotipo, genotipo y fenotipo. Asimismo, se ha observado que ciertas señales ambientales pueden inducir modificaciones específicas en el epigenoma que no necesariamente se acompañan de cambios fenotípicos evidentes. Por lo tanto, el vínculo exacto entre epigenotipo y fenotipo continúa siendo un desafío que aún no se ha podido dilucidar (91).

### 2.5.1 Metilación del ADN

La metilación del ADN es uno de los mecanismos epigenéticos más relevantes y ampliamente estudiados. Este proceso consiste en la transferencia de un grupo metilo a la posición C5 de la citosina, lo que da lugar a la formación de 5-metilcitosina (5mC) (Figura 8). La metilación del ADN regula la expresión génica mediante el reclutamiento de proteínas asociadas con la represión transcripcional o mediante la inhibición de la unión de factores de transcripción al ADN. Sus efectos dependen en gran medida de la región genómica donde ocurre la modificación (90,93).



**Figura 8.** Proceso de metilación del ADN (94).

Este proceso es catalizado por la familia de ADN metiltransferasas (DNMTs). *DNMT3A* y *DNMT3B* son responsables del establecimiento de los patrones de metilación *de novo*, mientras que *DNMT1* se encarga principalmente del mantenimiento de dichos patrones durante la replicación del ADN. Además de la 5mC, existen otras modificaciones del ADN, como N6-metiladenina (6mA) y 4-metilcitosina (4mC); sin embargo, estas últimas se encuentran principalmente en genomas procariotas. En contraste, la 5mC es la modificación epigenética más abundante y mejor estudiada en genomas eucariotas (90,95).

Las técnicas basadas en la conversión con bisulfito de sodio representan uno de los métodos más utilizados para el estudio la metilación del ADN. Asimismo, existen otras estrategias que se basan en la digestión del ADN genómico mediante endonucleasas sensibles a metilación (96). La metilación del ADN participa en la regulación de numerosos procesos celulares, incluyendo el desarrollo embrionario, la regulación de la transcripción, la organización de la cromatina, la inactivación del cromosoma X, la impronta genómica y la estabilidad cromosómica. Alteraciones en estos patrones epigenéticos pueden originar silenciamiento aberrante de genes supresores de tumores, desregulación del ciclo celular y disminución de los mecanismos de reparación del ADN, contribuyendo al desarrollo de diversas patologías (97).

### **2.5.2 Perfil de metilación del ADN y expresión génica**

El perfil de metilación del ADN constituye una herramienta emergente que permite caracterizar con gran precisión los mecanismos de regulación génica y se ha convertido en un complemento importante en el diagnóstico molecular de diversas enfermedades. Estos patrones de metilación, presentes en regiones reguladoras del genoma como promotores, potenciadores y sitios de unión de factores de transcripción, son altamente específicos para cada tipo celular y desempeñan un papel fundamental para el mantenimiento del fenotipo celular. Por lo tanto, alteraciones en estos patrones pueden afectar el destino y la función celular, impactando procesos como el desarrollo, la diferenciación y la homeostasis tisular (98,99).

La expresión génica se define como el proceso mediante el cual la información codificada en un gen se utiliza para generar un producto funcional. Este procesos inicia con la trascrición del ADN en moléculas de ARN, que pueden corresponder a ARN mensajero (ARNm) codificante de proteínas o a ARNnc con funciones regulatorias o estructurales en la célula (100). La expresión génica incluye diversas etapas, entre ellas la transcripción, la

traducción y el recambio de ARNm y proteínas. Aunque todas las células del organismo contienen esencialmente la misma información genética, los patrones diferenciales de expresión génica determinan las propiedades funcionales específicas de cada tipo celular (101,102).

Los múltiples pasos involucrados en la síntesis, procesamiento y traducción del ARNm son procesos altamente regulados, y alteraciones en estos mecanismos pueden generar fenotipos específicos o contribuir al desarrollo de distintas patologías. Entre los mecanismos que regulan la expresión génica se encuentran las modificaciones epigenéticas, como la metilación del ADN, así como procesos postranscripcionales que incluyen la unión de proteínas a moléculas de ARN y la acción de factores implicados en el procesamiento, transporte y degradación del ARNm (102).

Desde el punto de vista clínico, un perfil epigenético alterado puede reflejar procesos de adaptación del organismo al entorno o a la exposición a agentes ambientales; sin embargo, también puede contribuir a la aparición o progresión de diversas enfermedades (103).

### **2.5.3 Expresión génica y enfermedad renal crónica**

El papel de los factores ambientales en la patogenia de la ERC, particularmente en CAKUT, ha sido ampliamente documentado. Por ejemplo, algunos fármacos que inhiben la enzima convertidora de angiotensina (ECA) durante el embarazo se han asociado con ciertas formas de CAKUT. De igual manera, diversos factores maternos y prenatales, como la DM gestacional, alteraciones en el volumen del líquido amniótico (oligohidramnios o polihidramnios), deficiencia de vitamina A o D, infecciones urogenitales o sistémicas, sobrepeso u obesidad materna y bajo peso al nacimiento, se han relacionado con anomalías en la morfología y función renal (104).

Los eventos espaciales y temporales que ocurren durante el desarrollo renal son determinantes para la formación adecuada del órgano y para los fenotipos que pueden manifestarse posteriormente. Aunque existe evidencia sólida que respalda un origen monogénico en algunos casos de CAKUT, las mutaciones genéticas identificables explican aproximadamente el 20% de los casos. Esto sugiere que, en regiones como el estado de Aguascalientes, podrían intervenir otros mecanismos, incluidos factores epigenéticos inducidos por exposiciones ambientales, los cuales podrían influir en el volumen renal y la predisposición a ERC (25).

Se ha propuesto que la interacción entre factores genéticos, epigenéticos y ambientales puede contribuir al desarrollo de bajo volumen renal o hipoplasia renal al nacimiento no asociada a CAKUT, lo que podría favorecer la progresión hacia ERC en etapas posteriores de la vida. En México, donde aproximadamente la mitad de los embarazos son no planificados, la exposición a teratógenos y sustancias potencialmente tóxicas durante la gestación puede ser relativamente frecuente. Otros factores asociados con el bajo volumen renal incluyen el consumo insuficiente de ácido fólico, niveles bajos de folato, deficiencia de vitamina A, obesidad materna, DM, desnutrición materna y exposición a sustancias tóxicas durante el embarazo (25).

A diferencia de lo que ocurre en CAKUT, donde se observan alteraciones anatómicas evidentes del riñón, en la población de Aguascalientes se ha descrito principalmente una reducción del volumen renal sin malformaciones estructurales aparentes. Este hallazgo sugiere que, en esta región, la enfermedad podría no estar dominada por mutaciones monogénicas clásicas, sino posiblemente por mecanismos más complejos que involucren interacciones entre factores ambientales, epigenéticos y del desarrollo renal temprano.

## **2.6 Herramientas de análisis molecular**

En la actualidad se han desarrollado diversas estrategias que permiten analizar y comprender procesos biológicos complejos y su relación con la salud y la enfermedad. Entre estas estrategias destacan las tecnologías ómicas, como los microarreglos, que permiten el análisis masivo y simultáneo de patrones de metilación del ADN o de expresión génica, proporcionando una visión global del genoma, el epigenoma o el transcriptoma (105).

Por otra parte, las técnicas de diagnóstico molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se utilizan ampliamente para facilitar la detección, el diagnóstico, el pronóstico y el seguimiento de diversas enfermedades (106). Este enfoque surge de la integración entre la medicina y los avances genómicos y tecnológicos de la biología molecular, lo que proporciona información valiosa sobre los mecanismos involucrados en distintas patologías y favorece la identificación de biomarcadores moleculares asociados con la predisposición a ciertas enfermedades (107).

Entre las técnicas más utilizadas destacan la PCR en sus distintas modalidades (RT-PCR, PCR en tiempo real, PCR de punto final, PCR *in situ* y PCR múltiplex), los

microarreglos de ADN y ARN, la hibridación fluorescente *in situ* (FISH), la genotipificación, el análisis de metilación del ADN y la secuenciación del genoma. Estas metodologías no solo permiten la identificación de modificaciones genéticas y epigenéticas, sino que también contribuyen a comprender cómo los factores ambientales pueden influir en la metilación del ADN y en la regulación génica, modificando la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades desde etapas tempranas de la vida (108).

### **2.6.1 Microarreglos de metilación del ADN**

Los microarreglos, también conocidos como micromatrices o *microarrays*, consisten en matrices bidimensionales de moléculas biológicas impresas o sintetizadas sobre superficies sólidas como vidrio, silicona, nailon o plástico, comúnmente denominadas “chips”. Estas matrices permiten detectar diferentes tipos de biomoléculas, como ácidos nucleicos, anticuerpos u otras proteínas previamente inmovilizadas. Inicialmente fueron desarrollados para el análisis de secuencias de ADN; sin embargo, con el tiempo su aplicación se ha ampliado al estudio de la expresión génica y a otras áreas de la biología molecular (108,109).

En los microarreglos, los oligonucleótidos se depositan en puntos microscópicos organizados de forma ordenada sobre la superficie del chip. Cuando las secuencias presentes en la muestra de ADN o ARN son complementarias a las sondas inmovilizadas, ocurre un proceso de hibridación que puede detectarse mediante señales fluorescentes. La intensidad de estas señales permite obtener información cuantitativa sobre la abundancia relativa de las secuencias analizadas o identificar variaciones específicas en el material genético (109). El análisis mediante microarreglos permite procesar un gran número de muestras de manera simultánea, y los resultados se obtienen a través de sistemas de escaneo y software especializado para el procesamiento y análisis de las imágenes generadas (110).

En particular, los microarreglos de metilación del ADN permiten evaluar el estado de metilación de numerosos sitios CpG distribuidos a lo largo del genoma humano, lo que resulta fundamental para comprender la regulación epigenética tanto en procesos fisiológicos como patológicos (111,112). Durante el desarrollo embrionario, los patrones de metilación del ADN son altamente dinámicos, involucrando procesos de metilación y desmetilación *de novo*. A medida que las células se diferencian, adquieren patrones de metilación relativamente estables y específicos de cada tejido, los cuales participan en la

regulación de la expresión génica. Estos patrones pueden modificarse en respuesta a distintos estímulos ambientales o fisiológicos, incluyendo la exposición a fármacos o sustancias potencialmente nefrotóxicas (93).

Existen diferentes tipos de microarreglos de metilación que varían en el número de sondas diseñadas para detectar sitios CpG específicos. Entre los más utilizados se encuentran los microarreglos desarrollados por Illumina. Las versiones más recientes de esta tecnología han incrementado el número de sitios CpG evaluados, pasando de plataformas con aproximadamente 850 mil sitios analizados a versiones más recientes capaces de detectar más de 935 mil sitios CpG en el genoma humano (113).

### **2.6.2 PCR para la validación de genes candidatos**

La reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) es una técnica *in vitro* altamente sensible que desempeña un papel importante en la investigación básica, biológica, traslacional y médica. Esta metodología se utiliza principalmente para detectar y cuantificar niveles de ARNm, permitiendo evaluar los patrones de expresión génica en diferentes células o tejidos. La RT-PCR puede realizarse como PCR de punto final o PCR cuantitativa en tiempo real (114,115).

En la RT-PCR, el ARN se utiliza como plantilla y se convierte en ADN complementario (ADNc) mediante la acción de la enzima transcriptasa reversa, lo que permite su posterior amplificación mediante PCR convencional. La RT-PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) utiliza sondas o colorantes fluorescentes que permiten monitorear la amplificación del ADNc durante cada ciclo de la reacción, a partir de la intensidad de la señal fluorescente generada. Este procedimiento implica aislar el ARN de las células o tejidos de interés, sintetizar ADNc a partir del ARNm, amplificar regiones específicas mediante *primers* y estimar la cantidad inicial del transcrito a partir de la fase exponencial de amplificación. Debido a su alta sensibilidad, especificidad y reproductibilidad, la RT-qPCR es una de las técnicas más utilizadas para validar genes candidatos identificados mediante estudios de expresión génica a gran escala, como los análisis por microarreglos. Además, se considera una herramienta confiable para confirmar cambios en la expresión génica asociados con diferentes procesos fisiológicos y patológicos (116,117).

## 2.7 Líquido amniótico, amniocitos y placenta

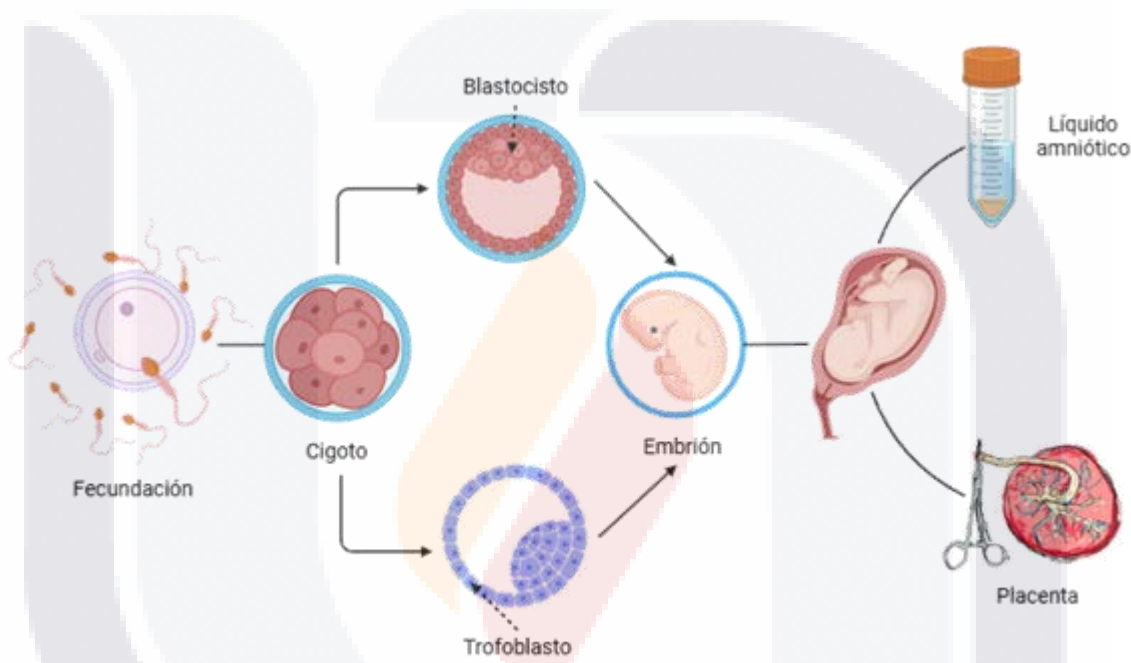
El líquido amniótico es un fluido biológico complejo que rodea al feto durante el embarazo y cumple funciones esenciales para su desarrollo. Este líquido proporciona protección mecánica, permite el movimiento fetal y contribuye al intercambio de sustancias necesarias para el crecimiento y bienestar del feto. Durante el primer trimestre, la osmolaridad del líquido amniótico es similar a la del suero materno, lo que sugiere que el plasma materno constituye la principal fuente de este líquido en etapas tempranas del embarazo. En la segunda mitad de la gestación, el líquido amniótico se origina a partir de múltiples fuentes, entre ellas la orina fetal, las excreciones pulmonares, la deglución fetal y los movimientos de fluidos a través de las membranas fetales, incluyendo el transporte transmembranoso entre el amnios y el corion, así como el intramembranoso entre la sangre fetal y la placenta (118,119).

El líquido amniótico desempeña diversas funciones fisiológicas, entre las que destacan la protección frente a traumatismos, el soporte del desarrollo fetal, la actividad antimicrobiana, el aporte de nutrientes y la regulación de la temperatura. Su volumen puede estimarse mediante ecografía fetal o durante procedimientos clínicos invasivos. Aproximadamente a las 12 SDG el volumen promedio es de alrededor de 60 ml; a las 16 SDG alcanza cerca de 175 ml; entre las 20 y 30 SDG oscila entre 300 y 600 ml; y entre las 34 y 38 SDG puede alcanzar aproximadamente 1200 ml, disminuyendo posteriormente hasta alrededor de 800 ml después de la semana 38 (118,120).

Los amniocitos son células fetales presentes en el líquido amniótico cuya función específica durante el desarrollo embrionario aún no se comprende completamente. Estas células representan una fuente importante de material genético fetal y reflejan el mosaicismo presente en el líquido amniótico. Diversos estudios han sugerido que los amniocitos poseen características similares a las células madre multipotentes, debido a la expresión de reguladores transcripcionales y antígenos de superficie asociados con células madre. Asimismo, presentan una alta capacidad proliferativa, aunque, a diferencia de las células madre embrionarias, no son inmortales y no forman tumores *in vivo* (Figura 9) (121,122).

Por otra parte, la placenta es un órgano temporal que se desarrolla a partir de la interacción entre el trofoblasto del blastocisto y el epitelio endometrial, aproximadamente entre los días 5 y 6 posteriores a la fecundación. Durante este proceso, las células del

trofoblasto se diferencian en citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto, estructuras que participan en la invasión del endometrio y en el establecimiento de la interfaz materno-fetal. Este proceso induce la transformación del endometrio en decidua, la cual se divide en tres regiones: decidua basal (localizada en el sitio de implantación), decidua capsular (que cubre el embrión en desarrollo) y decidua parietal (que recubre el resto de la cavidad uterina). El citotrofoblasto y el sincitiotrofoblasto contribuyen al desarrollo del corion, que junto con el mesodermo extraembrionario dará origen a la placenta (Figura 9) (123,124).



**Figura 9.** Origen embrionario común del líquido amniótico, amniocitos y placenta.

Una placentación adecuada es fundamental para el desarrollo embrionario, ya que la disfunción placentaria puede comprometer el ambiente intrauterino y afectar el crecimiento y la viabilidad del embrión. La placenta cumple múltiples funciones endocrinas, inmunológicas y fisiológicas, además de interactuar con el entorno materno. Alteraciones en su desarrollo se han asociado con diversas complicaciones gestacionales, entre ellas preeclampsia, restricción del crecimiento intrauterino, aborto espontáneo recurrente y muerte fetal (125,126).

Recientemente, se ha descrito una relación entre el entorno intrauterino y la susceptibilidad a desarrollar enfermedades crónicas en la vida adulta, lo que ha llevado a considerar a la placenta como un posible biomarcador de riesgo fetal. En este contexto, se

ha planteado la hipótesis de que los cambios en los patrones de metilación del ADN placentario podrían influir en la regulación de genes implicados en el desarrollo renal embrionario. Estas modificaciones epigenéticas podrían asociarse con alteraciones fenotípicas, como la reducción del volumen renal al nacimiento, potencialmente relacionadas con la exposición prenatal a ciertos xenobióticos (126,127).

## 2.8 Estudios previos

La evidencia sobre el perfil de metilación del ADN placentario y su relación con el desarrollo renal fetal aún es limitada. En México, además, la información disponible sobre la magnitud de la ERCd y de la ERC en general es escasa. Muchos de los estudios identificados se han realizado en contextos clínicos como la restricción de crecimiento uterino, preeclampsia, DM o HAS, lo que puede influir en los resultados y dificultar su interpretación. A continuación, se presenta una síntesis de estudios que reportan genes y mecanismos epigenéticos asociados con el desarrollo renal, el número de nefronas, la exposición prenatal a tóxicos y las alteraciones del crecimiento fetal (Tabla 1).

**Tabla 1.** Estudios previos relacionados a mecanismos epigenéticos en el desarrollo renal, número de nefronas, exposición prenatal a xenobióticos y complicaciones.

Autor, (año)	Diseño del estudio	Objetivo	Hallazgos principales	Marcadores identificados	Análisis
<b>Xu, Y. (2025)</b> (128)	Estudio bioinformático en bases de datos de preeclampsia.	Identificar genes placentarios relacionados con estrés oxidativo regulados por metilación.	Se identificaron 13 genes regulados por metilación asociados con estrés oxidativo en preeclampsia.	<i>VIM, SNCA, PIK3CG, DNM2, BMP6</i>	Potenciales biomarcadores epigenéticos para diagnóstico y tratamiento de preeclampsia.
<b>Montañez Rodríguez, E. (2024)</b> (129)	Modelo experimental en ratas Wistar (n=27).	Evaluar el impacto prenatal del flúor en el desarrollo renal.	El flúor alcanzó el líquido amniótico y el feto; produjo restricción fetal y alteraciones renales.	<i>WNT4</i>	Alteración de zonas nefrogénicas y número de glomérulos.

<b>Jedynak, P. (2024)</b> (130)	Cohorte de mujeres embarazadas (n=387).	Analizar exposición prenatal a fenoles y ftalatos y metilación placentaria.	Exposición a disruptores endocrinos se asoció con cambios en metilación placentaria y metabolismo fetal.	<i>LEPR, ACSL5</i>	Evidencia de que contaminantes ambientales modifican la epigenética placentaria.
<b>Elkin, E. (2022)</b> (131)	Revisión sistemática. (26 estudios humanos y 18 animales).	Evaluar asociación entre exposición prenatal a metales y metilación del ADN.	Evidencia consistente de cambios epigenéticos asociados a metales.	<i>CDH5, LXA4, A2BP1, CASP8, MED31, ALAD, SEMA4B, SLC7A11, WNT3A, ADRB2</i>	Metilación del ADN como mecanismo clave en exposición prenatal a metales.
<b>Wang, A. (2021)</b> (132)	Estudio poblacional en niños (n=931).	Evaluar asociación entre exposición a flúor y metilación del ADN.	Identificados 237 sitios diferencialmente metilados asociados a la exposición a flúor.	<i>NNAT, CALCA</i>	Alteraciones epigenéticas mediaron cambios hormonales inducidos por flúor.
<b>Seoyeong, L. (2021)</b> (133)	Estudio en pacientes con restricción del crecimiento intrauterino (n=8).	Identificar alteraciones epigenéticas relacionadas al desarrollo renal.	Genes diferencialmente expresados asociados a regiones metiladas en placenta.	<i>INS, MEG3, ZFP36L2.</i>	Alteraciones epigenéticas asociadas con mayor riesgo neonatal.
<b>Tekola-Ayele, F. (2020)</b> (134)	Cohorte de mujeres embarazadas (n=301).	Identificar loci donde la metilación placentaria se asocia con peso al nacer.	Mayor metilación asociada con mayor peso al nacer y menor expresión de <i>FOSL1</i> .	<i>FOSL1, MLLT1, PDE9A, ASAP2 y SLC20A2</i>	Cambios epigenéticos asociados con programación fetal.

<b>Zheng, S.</b> (2020) (135)	Estudio en placenta neonatal (n=12).	Analizar cambios metabólicos en neonatos grandes para edad gestacional.	117 regiones diferencialmente metiladas.	<i>DECR1</i> y <i>FK506</i>	El ambiente intrauterino regula la expresión génica.
<b>Yong, EJ.</b> (2020) (136)	Revisión bibliográfica. (n=179 estudios).	Analizar transcriptoma placentario.	Identificación de genes implicados en el desarrollo placentario.	<i>FLT1</i> , <i>CACNA11</i> , <i>SLC18A2</i> , <i>CCL21</i> , <i>FXD2</i> , <i>PAEP</i> y <i>DNER</i>	Necesidad de más estudios funcionales.
<b>Luycky, V.</b> (2020) (39)	Estudio de revisión.	Analizar programación renal y número de nefronas.	Factores genéticos y ambientales influyen en el número de nefronas.	<i>PAX2</i> , <i>RET</i> , <i>BMPR1A</i> , <i>ALHD1A2</i> y <i>OSR1</i>	Variantes genéticas asociadas con el tamaño renal en recién nacidos.
<b>Hillman, S.</b> (2015) (137)	Estudio en neonatos con restricción del crecimiento intrauterino vs. controles.	Comparar metilación en placenta y cordón umbilical.	839 sitios diferencialmente metilados.	No especificado.	Los perfiles epigenéticos podrían predisponer a enfermedades en la vida adulta.

n: número.

### 3. Planteamiento del problema

En los últimos años, la incidencia y prevalencia de la ERCT han aumentado considerablemente a nivel mundial en comparación con otras enfermedades no infecciosas, lo que representa un importante problema de salud pública. Además, esta patología genera altos costos económicos y sociales en todo el mundo (138).

En México, la ERCd continúa siendo una de las formas más prevalentes de ERC, junto con la asociada a enfermedades crónico-degenerativas como la DM, HAS y sobrepeso u obesidad. A pesar de la evidente magnitud del problema, el país carece actualmente de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

un registro nacional de ERC, lo que limita la disponibilidad de datos precisos y dificulta dimensionar la situación epidemiológica real, así como el diseño de estrategias efectivas para su prevención.

En Aguascalientes, el registro estatal de ERC (único oficial en el país) ha permitido realizar comparaciones con otras regiones del mundo. Estas evidencias muestran que México enfrenta un importante problema de salud, ya que la etiología desconocida representa la principal causa de ERC en esta región, alcanzando el tercer lugar de prevalencia a nivel mundial y el primer lugar en la población de 20 a 40 años, de acuerdo con datos de la USRDS (61,64).

Por otra parte, un estudio dirigido a la detección temprana de ERC en Aguascalientes realizado por Macías-Díaz, et.al. (2022) reportó una prevalencia de 2.04% de albuminuria persistente en adolescentes, superior a lo descrito a nivel internacional (1.9%) (6,139). En dicho estudio, las biopsias realizadas en individuos con albuminuria persistente mostraron glomerulomegalia compensatoria en ausencia de fibrosis renal. Asimismo, se investigaron factores de riesgo asociados con el desarrollo de la enfermedad, destacando la exposición a pesticidas por parte del padre (5,6). Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de una interacción entre factores genéticos y ambientales para el desarrollo de ERCd en Aguascalientes y, posiblemente, en otras regiones del país. Con base en lo anterior, se plantea la siguiente pregunta de investigación:

*¿El patrón de expresión génica puede verse modificado durante el desarrollo renal en pacientes expuestos a metales, metaloides y pesticidas?*

#### **4. Justificación**

En la actualidad, la exposición a diversos xenobióticos ambientales, como metales, metaloides y pesticidas, ha aumentado de forma considerable. México, y particularmente el estado de Aguascalientes, presenta una alta prevalencia de ERCd. Diversos estudios epidemiológicos sugieren que esta alteración podría originarse desde la etapa prenatal, como consecuencia de la exposición a xenobióticos durante ese periodo.

Generalmente, la exposición aguda a estos compuestos se manifiesta como fibrosis renal; sin embargo, en las biopsias de pacientes locales no se ha identificado dicha alteración. Por ello, los efectos de la exposición crónica aún no se comprenden

completamente. Un estudio reciente realizado por De Santiago, et. al. (2024) en mujeres embarazadas de Aguascalientes mostró una asociación entre xenobióticos ambientales (metomilo, 2,4-D y fluoruro) y una reducción del volumen renal al nacimiento, lo cual constituye un factor de riesgo para el desarrollo de la ERC (16).

Estos hallazgos sugieren que la exposición temprana a xenobióticos podría inducir modificaciones epigenéticas, afectando la metilación del ADN y la expresión génica en etapas críticas del desarrollo renal, lo que favorecería la aparición de ERC en etapas posteriores de la vida. Por lo tanto, considerando la alta prevalencia de ERCd en nuestra región, resulta necesario evaluar los cambios en el patrón de metilación del ADN y en la expresión génica en neonatos, asociados con la exposición a xenobióticos ambientales durante la etapa perinatal.

## **5. Objetivos**

### **5.1 Objetivo general**

Evaluar el patrón de expresión génica del desarrollo renal en amniocitos y/o tejido placentario de pacientes expuestos a metales, metaloides y pesticidas en neonatos.

### **5.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar clínicamente tanto a las mujeres embarazadas como a los neonatos en estudio.
- Cuantificar los niveles de metales, metaloides y pesticidas en líquido amniótico y orina de la madre.
- Analizar el patrón de expresión génica de genes asociados al desarrollo y maduración renal en amniocitos de líquido amniótico y/o tejido placentario de mujeres embarazadas.
- Asociar los niveles de metales, metaloides y pesticidas con el patrón de expresión génica en los neonatos y el tamaño renal.

## 6. Hipótesis

### 6.1 Hipótesis de investigación (H1)

La exposición a toxinas ambientales (metales, metaloides y pesticidas) modifica el patrón de expresión génica de los neonatos durante el desarrollo renal.

### 6.2 Hipótesis nula (H0)

La exposición a toxinas ambientales (metales, metaloides y pesticidas) no modifica el patrón de expresión génica de los neonatos durante el desarrollo renal.

## 7. Materiales y métodos

- **Tipo de estudio.** Estudio transversal, correlacional, analítico y descriptivo.
- **Sede del estudio.** Estado de Aguascalientes: Centenario Hospital Miguel Hidalgo, Hospital de la Mujer, Hospitales del sector privado y Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- **Universo de estudio.** Neonatos de mujeres embarazadas incidentes en los hospitales antes mencionados en el estado de Aguascalientes.
- **Tipo de muestreo.** No probabilístico.
- **Tamaño de la muestra.** El cálculo de la muestra se realizó con base en lo reportado en el tamizaje de ERC por parte del ISSEA del 2021, donde se analizaron 4,955 pacientes, con un porcentaje de pacientes con ERC temprana de 2.6% (140). Se calculó con un nivel de confianza del 95%. Se obtuvo un tamaño de la muestra de 30 pacientes como total.

$$n = \frac{(Z\alpha^2)(PQ)}{T^2} = \frac{(1.96)^2(0.02)(0.98)}{0.05^2} = \frac{(3.8416)(0.0196)}{0.0025} = \frac{0.075295}{0.0025} = 30.11$$

### 7.1 Criterios de selección

#### 7.1.1 Criterios de inclusión

- Neonatos de mujeres embarazadas incidentes, residentes del estado de Aguascalientes.
- Mujeres embarazadas entre 18 y 40 años.
- Mujeres embarazadas con más de un año de residencia en Aguascalientes.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Mujeres embarazadas sin antecedentes de ERC o enfermedades crónico-degenerativas como DM o HAS. Se permitieron pacientes con sobrepeso u obesidad por la limitación de las muestras.
  - Neonatos aparentemente sanos con previo consentimiento informado por parte de la madre.

#### **7.1.2 Criterios de exclusión**

- Mujeres embarazadas con alguna patología asociada al embarazo como preeclampsia, eclampsia o DM.
- Mujeres embarazadas menores de 18 años y mayores de 40 años.
- Mujeres embarazadas con menos de un año de residencia en el estado de Aguascalientes.
- Neonatos con defectos congénitos, prematuros o alguna condición crítica del recién nacido.

#### **7.1.3 Criterios de eliminación**

- Neonatos que no cuenten con ultrasonido renal al nacimiento.
- Pacientes con muestra insuficiente para la cuantificación de metales, metaloides y pesticidas.
- Pacientes cuyas muestras biológicas presenten material genético de mala calidad.

### **7.2 Variables**

#### **7.2.1 Variables dependientes**

Perfil de metilación del ADN o patrón de expresión génica de genes asociados al desarrollo y maduración renal en líquido amniótico y/o tejido placentario.

#### **7.2.2 Variables independientes**

Niveles de metales, metaloides y pesticidas en líquido amniótico y orina materna.

#### **7.2.3 Variables intervinientes**

Edad, sexo, DM, HAS, sobrepeso u obesidad, tabaquismo, alcoholismo, drogadicción, nefrotóxicos, antecedentes de ERC, antecedentes de enfermedades genéticas, fármacos previos al embarazo, peso de la madre antes y después del embarazo, peso ganado durante la gestación, índice de masa corporal (IMC) de la madre, control

prenatal, ácido fólico, complicaciones en el embarazo, tipo de vivienda, tipo de piso, tipo de agua para casa, tipo de agua para beber, tipo de agua para cocinar, ingreso mensual, endogamia, cercanía a huerto o cultivo, empleo de la pareja, uso de pesticidas o sustancias químicas, viajes fuera de la ciudad, consumo frecuente de mariscos, trabajo en campo durante el embarazo, consumo de alimentos en el trabajo, exposición a material peligroso en el trabajo, familiares expuestos a pesticidas, lavado de frutas y verduras, cambio de residencia por problemas de salud, tipo de material de los utensilios de cocina, sexo del neonato, peso del neonato, talla del neonato, edad gestacional, anomalías al nacimiento, superficie corporal del neonato, ultrasonido renal (longitud y volumen de riñón izquierdo y derecho), cistatina C, creatinina, albúmina, ferritina, hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CMHC), leucocitos y plaquetas (Tabla 2).

### 7.3 Operacionalización de variables

**Tabla 2.** Definición operacional de las variables.

Variable	Definición operacional	Tipo y característica de la variable	Escala de medición	Unidad de medida
<b>Xenobiótico</b>	Sustancias químicas a las que un organismo está expuesto y puede alcanzar concentraciones tóxicas. Elemento químico con la capacidad de conducir calor y	Cuantitativa	Variable	ng/ml
<b>Metal</b>	electricidad. Poseen alta densidad y suelen ser sólidos a temperaturas normales.	Cuantitativa	Variable	mg/L

<b>Metales</b>	Elementos químicos que tienen propiedades intermedias entre las de los elementos metálicos y no metálicos.	Cuantitativa	Variable	mg/L
<b>Pesticidas</b>	Cualquier sustancia elaborada para controlar, matar, repeler o atraer a una plaga.	Cuantitativa	Variable	mg/L
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento de la muerte.	Cuantitativa Continua	0-10 11-20 21-30 31-40 41-50 51-60 61-70 71-80 >80	Años
<b>Sexo</b>	Conjunto de características biológicas, físicas, fisiológicas y anatómicas que definen al ser humano como hombre y mujer.	Cualitativa	Femenino Masculino	NA
<b>Peso</b>	Parámetro imprescindible para la valoración del crecimiento, el desarrollo y el estado nutricional del individuo.	Cuantitativa Continua	Variable	Kilogramos
<b>Talla</b>	Estatura de una persona. Medida desde el vértice de la cabeza hasta la planta del pie.	Cuantitativa Continua	Variable	Centímetros / Metros

			<i>Clasificación</i>	
<b>Diabetes mellitus</b>	Enfermedad de control inadecuado de los niveles de glucosa en sangre.	Cuantitativa	<i>HbA1c:</i> Normal <5.7 Prediabetes 5.7 a 6.4 Diabetes ≥6.5 <i>Estadios:</i> Elevada 120-129/<80 Est. 1: 130-139/80-89 Est. 2: ≥140/≥90	Porcentaje
<b>Presión arterial sistémica</b>	Fuerza que ejerce la sangre que circula contra las paredes de las arterias.	Cuantitativa	IMC Grado I: 30-34.9 Grado II: 35-39.9 Grado III: >40	mmHg
<b>Obesidad</b>	Acumulación anormal o excesiva de grasa que presenta un riesgo para la salud.	Cuantitativa	Positivo Negativo	kg/m <sup>2</sup>
<b>Tabaquismo</b>	Inhalación del humo del tabaco quemado que puede ocurrir ocasional o habitualmente como consecuencia de una adicción física a algunas sustancias químicas.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Alcoholismo</b>	Consumo excesivo y repetitivo de bebidas alcohólicas hasta el punto de que el paciente se daña repetidamente o daña a otros.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Drogadicción</b>	Condición de salud mental en la que una persona tiene un patrón problemático de uso de	Cualitativa	Positivo Negativo	NA

	sustancias que le causa angustia y/o perjudica su vida.			
<b>Antecedentes de ERC</b>	Registro con información sobre ERC de una persona.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Antecedentes enfermedades genéticas</b>	Registro con información sobre enfermedades genéticas de una persona.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Fármacos nefrotóxicos en embarazo</b>	Toda estructura química que, situada en el sistema renal, es capaz de producir daño y desequilibrios en sus aspectos morfológicos y fisiológicos que conducen a lesión del órgano.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Índice de masa corporal</b>	Medida de la grasa corporal basada en la relación entre la altura y el peso.	Cuantitativa Continua	Bajo peso <18.5 Peso normal 18.5-24.9 Sobrepeso 25-29.9 Obesidad tipo 1 30-34.5 Obesidad tipo 2 35-39.9 Obesidad tipo 3 >40	kg/m <sup>2</sup>
<b>Control prenatal</b>	Atención médica que recibe una mujer mientras está embarazada.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA

<b>Ácido fólico en embarazo</b>	Nutriente en el complejo de vitamina B que el cuerpo necesita en pequeñas cantidades para funcionar y mantenerse saludable durante el embarazo. Incluyen afecciones físicas y mentales que	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Complicaciones en embarazo</b>	afectan la salud de la persona embarazada o puérpera, del neonato o ambos.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Vivienda</b>	Diferentes edificaciones y/o lugares adaptados para que puedan habitar las personas.	Cualitativa	NA	NA
<b>Tipo de agua</b>	Diferentes tipos de agua, según la cantidad de minerales, su procedencia o propiedades.	Cualitativa	NA	NA
<b>Ingreso mensual</b>	Ingresos regulares percibidos en el último mes del calendario.	Cuantitativa Continua	Variable	Pesos mexicanos
<b>Endogamia</b>	Matrimonio entre personas de ascendencia común.	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Cercanía a huerto o cultivo</b>	Distancia a espacios al aire libre destinados al cultivo de verduras, hortalizas, frutas, legumbres u otras plantas.	Cuantitativa Continua	Variable	Metros / Kilómetros
<b>Emigración</b>	Movimiento de población que consiste	Cualitativa	Positivo Negativo	NA

	en dejar el lugar de residencia para establecerse en otro país o región.			
<b>Consumo de mariscos</b>	<p>Ingesta de animales marinos comestibles que no pertenecen a la clase de los peces.</p>	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Edad gestacional</b>	<p>Número preciso de semanas entre el primer día del último periodo menstrual normal y la fecha del parto.</p>	Cuantitativa	Variable	SDG
<b>Anomalías al nacimiento</b>	<p>Anomalías estructurales o funcionales que ocurren durante la vida intrauterina y se detectan durante el embarazo, el parto o el nacimiento.</p>	Cualitativa	Positivo Negativo	NA
<b>Superficie corporal</b>	<p>Medida antropométrica relacionada con dos datos principales: el peso y la altura. Proporcional a la masa renal. Se calcula mediante una fórmula</p>	Cuantitativa Continua	Variable	m <sup>2</sup>
<b>Volumen renal</b>	<p>que incluye la medición de tres diámetros renales: longitudinal, antero-posterior y transverso.</p>	Cuantitativa Continua	Variable	cm <sup>3</sup>
<b>Longitud renal</b>	<p>Máxima longitud entre el polo inferior y el superior de cada riñón.</p>	Cuantitativa Continua	Variable	mm

<b>Cistatina C</b>	Proteína de concentración plasmática estable y eliminación exclusivamente renal. Producto de desecho	Cuantitativa Continua	Variable	mg/L
<b>Creatinina</b>	generado por los músculos como parte de la actividad diaria.	Cuantitativa Continua	Variable	mg/dL
<b>Albúmina</b>	Proteína producida por el hígado. Ingresa al torrente sanguíneo y ayuda a mantener el líquido sin que se filtre a otros tejidos.	Cuantitativa	Variable	mg/dL
<b>Ferritina</b>	Proteína dentro de las células que almacena hierro. Permite al cuerpo usar hierro cuando lo necesita.	Cuantitativa	Variable	mg/dL
<b>Hemoglobina</b>	Proteína de interior de los glóbulos rojos que transporta oxígeno desde los pulmones a todo el cuerpo.	Cuantitativa	Variable	g/dL
<b>Volumen corpuscular medio (VCM)</b>	Prueba sanguínea que mide el tamaño promedio de los glóbulos rojos	Cuantitativa	Variable	fL
<b>Concentración de hemoglobina corpuscular media (CMHC)</b>	Es un índice analítico que sirve para valorar la cantidad de hemoglobina presente en sangre.	Cuantitativa	Variable	g/dL
<b>Leucocitos</b>	Células que forman parte del sistema	Cuantitativa	Variable	× 10 <sup>9</sup> /L

	inmunitario del cuerpo y ayudan a combatir enfermedades.			
	Fragmentos de células megacariocitos. Ayudan a la producción de coágulos sanguíneos para facilitar la cicatrización	Cuantitativa	Variable	× 10 <sup>9</sup> /L
<b>Plaquetas</b>				
	Líquido claro-amarillento que rodea y protege al feto durante la gestación.	Cualitativa	NA	NA
<b>Líquido amniótico</b>				

**ng/ml:** nanogramo sobre mililitro; **mg/L:** miligramo sobre litro; **NA:** no aplica; **HbA1c:** hemoglobina glicosilada; **mmHg:** milímetros de mercurio; **IMC:** índice de masa corporal; **Kg/m<sup>2</sup>:** kilogramos sobre metro cuadrado; **SDG:** semanas de gestación; **m<sup>2</sup>:** metros cuadrados; **mm:** milímetros; **mg/dL:** miligramos sobre decilitro; **g/dL:** gramos sobre decilitro; **fL:** femtolitro.

## 7.4 Recolección de la Información

Los datos se recolectaron de mujeres embarazadas y neonatos residentes del estado de Aguascalientes que participaron en el estudio, previa firma del consentimiento informado. A cada binomio madre-hijo se le realizaron las mediciones antropométricas correspondientes y se recolectaron las muestras biológicas necesarias para el protocolo.

Al momento del ingreso de las mujeres embarazadas a las instituciones de salud, se aplicó un cuestionario estructurado para obtener información sobre factores de riesgo asociados con el desarrollo de ERC, antecedentes de enfermedades genéticas y crónico-degenerativas, así como la exposición a metales, metaloides y pesticidas (Anexo A). La información recabada se registró en una base de datos en Microsoft Excel® para su análisis posterior.

## 7.5 Recolección y procesamiento de muestras biológicas

### 7.5.1 Recolección de muestras biológicas

Durante el nacimiento, ya fuera mediante parto vaginal o cesárea, se recolectaron diversas muestras biológicas del binomio madre-hijo. Se obtuvieron 25 ml de orina materna en frascos estériles destinados a la cuantificación de xenobióticos ambientales. En los

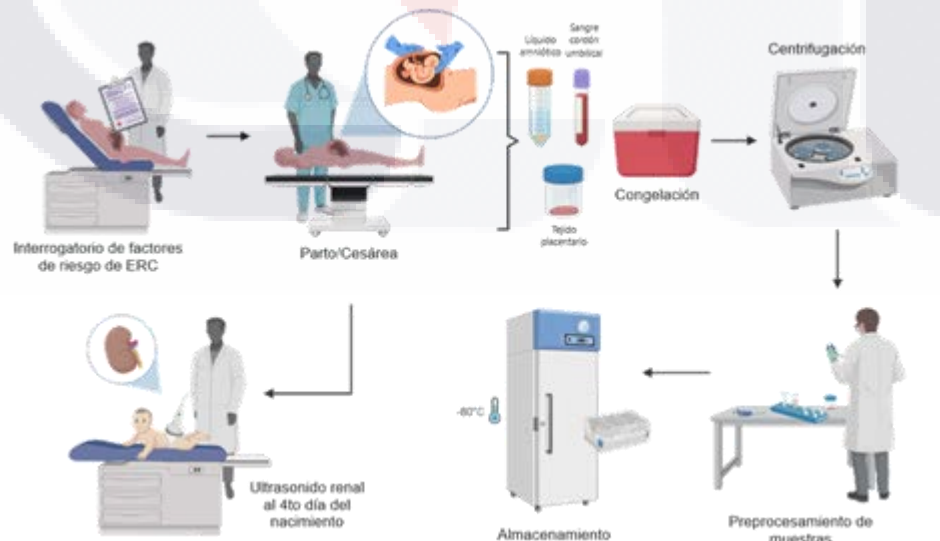
casos de cesárea, también se recolectaron 25 ml de líquido amniótico en tubos Falcon libres de RNAsas.

Asimismo, se obtuvo un fragmento de placenta de aproximadamente 3 x 3 x 3 cm, el cual se colocó en frascos estériles para su posterior conservación. Adicionalmente, se recolectaron muestras de sangre venosa materna y neonatal en tubos con EDTA, destinadas a la evaluación de la función renal, así como muestras de sangre de cordón umbilical en dos tubos con EDTA para análisis genómicos posteriores.

### 7.5.2 Procesamiento y almacenamiento de muestras biológicas

Las muestras fueron procesadas y almacenadas bajo condiciones controladas para preservar su integridad biológica. El líquido amniótico se centrifugó a 5,000 revoluciones por minuto (rpm) durante 7 min, obteniéndose un pellet celular del cual se recolectaron 100 µL de amniocitos, los cuales se colocaron en tubos Eppendorf® con 300 µL de RNAlater y se almacenaron a – 80°C. El sobrenadante restante también se conservó a la misma temperatura para análisis posteriores.

El fragmento de placenta se conservó en frascos estériles con 300 µL de RNAlater y se almacenó inmediatamente a – 80°C para su análisis molecular. Las muestras de sangre del cordón umbilical se centrifugaron a 3,500 rpm durante 5 min, separándose la fracción leucocitaria y el plasma. La capa leucocitaria se almacenó en tubos Eppendorf® con 300 µL de RNAlater, mientras que el plasma se conservó en tubos independientes (Figura 10).



**Figura 10.** Recolección de la información y muestras.

Todas las muestras fueron etiquetadas con un código de identificación único, indicando el tipo de muestra y la fecha de recolección, lo que permitió asegurar su seguimiento durante todo el proceso analítico sin comprometer la confidencialidad de los participantes.

### 7.6 Cuantificación de xenobióticos ambientales

En este estudio se cuantificaron diversos xenobióticos ambientales, incluyendo metales, metaloides y pesticidas, en muestras de orina materna y líquido amniótico, con el objetivo de evaluar la exposición prenatal a estos compuestos (Tabla 3). La cuantificación de xenobióticos ambientales se realizó en la totalidad de los 58 binomios madre-hijo inicialmente reclutados en el estudio. La cuantificación de fluoruro se realizó mediante potenciometría con electrodo de ion selectivo. Por su parte, los metales y no metales se determinaron mediante espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), mientras que los pesticidas se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS). Los procedimientos analíticos correspondientes se describen a continuación.

**Tabla 3.** *Xenobióticos ambientales cuantificados en las muestras biológicas.*

<b>Categoría</b>	<b>Compuestos analizados</b>
<b>Metales y metaloides</b>	Litio, berilio, sodio, magnesio, aluminio, potasio, calcio, vanadio, cromo, manganeso, hierro, cobalto, níquel, cobre, uranio, zinc, galio, arsénico, selenio, rubidio, estroncio, plata, cadmio, indio, cesio, bario, talio, plomo, bismuto, fluoruro.
<b>Pesticidas</b>	Acetoclor, dimetoato, metocurina, carbofurano, atrazina, tiabendazol, carbendazima, malonato, emamectina, tiacloprid, lambda, cihalotrina, clotianidina, piraclostrobina, malatión, diazinón, paratión, picloram, ametrina, fipronil, dinotefuran, oxandrolona, meclizina, metomilo, glifosato, ácido aminometilfosfónico (AMPA), tiametoxam, 2,4-D, imidacloprid, imazalil, clorpirifos.

### 7.6.1 Determinación de fluoruro

La determinación de fluoruro se realizó mediante el método recomendado por la EPA-8308 (NIOSH, 2016), utilizando el equipo Thermo Scientific Orion Star Serie A320 mediante potenciometría directa con electrodo de ion selectivo. El control de calidad se realizó utilizando soluciones estándar de concentración conocida. Las técnicas empleadas se encuentran validadas tanto por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) como por la NOM (141). Se consideró un valor anormal una concentración  $\geq 1.5$  mg/L, de acuerdo con las recomendaciones de la OMS para agua de consumo (82–84).

### 7.6.2 Determinación de metales y metaloides

La cuantificación de metales y metaloides se realizó a partir de 500  $\mu$ L de muestra, a los cuales se añadieron 3 ml de agua desionizada y 2 ml de ácido nítrico (60–70% de pureza) con el fin de eliminar la fracción orgánica. Posteriormente, las muestras se sometieron a digestión en un horno de microondas CEM Mars X (1,600 W), utilizando una rampa de temperatura de 20 min desde temperatura ambiente hasta 200°C, seguida de un periodo de mantenimiento a 200°C durante 10 min.

La solución digerida obtenida se diluyó mezclando 5 ml de la digestión con 20 ml de agua destilada, y posteriormente se analizó mediante IPC-MS, utilizando un equipo Agilent Technologies 7900. Para la calibración y cuantificación se emplearon estándares certificados de la marca Agilent.

### 7.6.3 Determinación de pesticidas

Para la cuantificación de pesticidas se realizó un pretratamiento de las muestras. En las muestras de orina materna, se mezclaron 500  $\mu$ L de muestra con 200  $\mu$ L de acetonitrilo, tras lo cual la mezcla se centrifugó y se transfirieron 300  $\mu$ L del sobrenadante a una placa de análisis. En las muestras de líquido amniótico, se utilizaron 800  $\mu$ L de muestra y 400  $\mu$ L de acetonitrilo, transfiriéndose igualmente 300  $\mu$ L del sobrenadante para su análisis.

El análisis se realizó mediante HPLC-MS/MS, utilizando un equipo Agilent 1200 acoplado a un detector de triple cuadrupolo (Agilent 6430-B). La separación cromatográfica se llevó a cabo con una columna *Zorbax Eclipse XDB-C18 Rapid Resolution* (2.1 x 50 mm, 3.5  $\mu$ m). Para la detección de 2,4-D se utilizó una fase móvil compuesta por 70% acetonitrilo y 30% agua con formiato de amonio al 0.1%, con un tiempo de inyección de 1 min. En el caso de los neonicotinoides, se empleó una fase móvil compuesta por 5% de acetonitrilo y

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ácido fórmico, con un tiempo de inyección de 1 min. Para otros plaguicidas, se emplearon como fases móviles ácido fórmico al 0.1% y formiato de metilo al 0.1%, junto con 5% de acetonitrilo, con un tiempo de inyección de 3 min y un volumen de inyección de 5  $\mu\text{L}$ . El intervalo de la curva de calibración se estableció entre 0.01 y 1000  $\mu\text{g/mL}$ , utilizando estándares de control AccuStandard.

## **7.7 Evaluación de la función renal**

La creatinina sérica y urinaria se determinó mediante método enzimático, utilizando el equipo Vitros 4600 (Ortho Clinical Diagnostics). La cistatina C se cuantificó mediante inmunoturbidimetría en el mismo equipo. Para la función renal neonatal se estimó mediante la fórmula de Schwartz, utilizando tanto los valores de creatinina como los de cistatina C. En el caso de la función renal materna, esta se estimó mediante la fórmula CKD-EPI (142,143).

## **7.8 Evaluación del volumen renal neonatal**

Los neonatos fueron sometidos a una evaluación ecográfica renal mediante un protocolo estandarizado, realizada por médicos radiólogos certificados al cuarto día de vida, con el objetivo de determinar el volumen renal. La variabilidad interobservador fue evaluada previamente por nuestro grupo de investigación, lo cual permitió asegurar la reproducibilidad y confiabilidad de las mediciones.

El estudio se realizó con los neonatos en posición supina. El volumen renal se calculó utilizando la fórmula del elipsoide (volumen =  $\pi/6$  [longitudinal x anteroposterior x transversal]). Además, se registraron el peso y la talla de los neonatos, y se calculó la superficie corporal mediante la fórmula de Dubois:  $\text{BSA (m}^2\text{)} = \text{peso corporal (kg)} 0.425 \times \text{altura corporal (cm)} 0.725 \times 0.007 184$  (26).

## **7.9 Análisis epigenético**

### **7.9.1 Extracción de ADN genómico placentario**

Para la extracción de ADN placentario, se utilizaron 10 mg de tejido previamente almacenado a  $-80^\circ\text{C}$ , asegurando que permaneciera congelado en todo momento, incluso durante el pesaje, con el fin de evitar la degradación del material genético. Las muestras se

colocaron en tubos Eppendorf® de 2 ml para su homogeneización, la cual se realizó con perlas de carburo de tungsteno utilizando el equipo TissueLyser II (QIAGEN®).

Posteriormente, la extracción se llevó a cabo empleando el kit QIAamp® DNA Micro Handbook (tercera edición), siguiendo las indicaciones del fabricante.

### 7.9.2 Evaluación de calidad e integridad del ADN placentario

La integridad del ADN se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% (Figura 11). Asimismo, la pureza y concentración del ADN se determinaron mediante espectrofotometría (NanoDrop 2000c), utilizando las relaciones de absorbancia A260/280 y A260/230 como criterios de calidad.

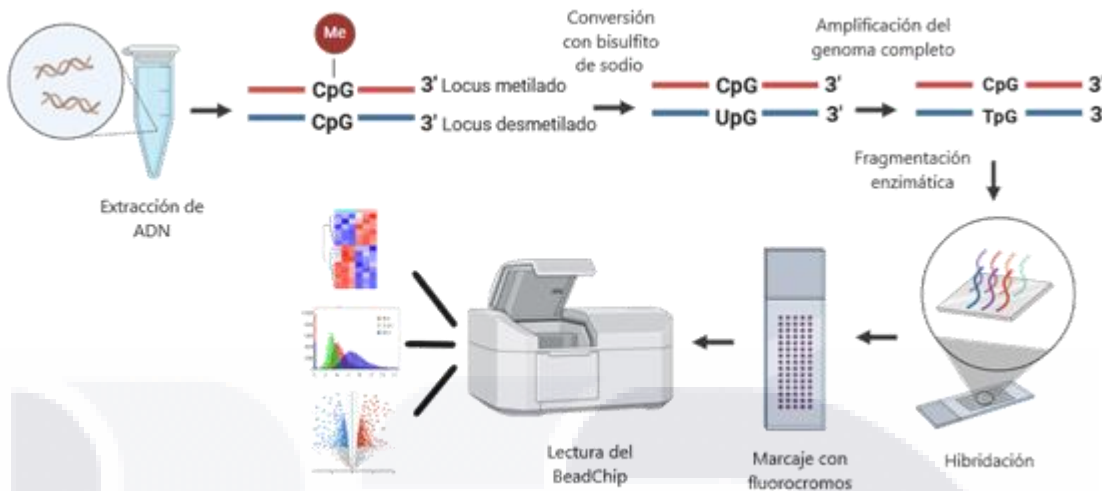


**Figura 11.** Control de calidad del total de muestras de ADN total placentario. Gel de agarosa al 1%.

### 7.9.3 Análisis de metilación del ADN por microarreglos

Para el análisis de metilación del ADN, las muestras de ADN genómico placentario fueron sometidas a conversión con bisulfito de sodio utilizando el kit EZ DNA Methylation-Lighting™ (Zymo Research®), de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Posteriormente, se emplearon 1000 ng de ADN en microarreglos de metilación Infinium™ MethylationEPIC v2.0 BeadChip (Illumina®). El procedimiento incluyó la amplificación del ADN, su fragmentación enzimática y la hibridación con las sondas específicas. Finalmente, se realizó el marcaje con fluorocromos y la lectura del BeadChip mediante escaneo (Figura 12).



**Figura 12.** Metodología del uso de microarreglos.

#### 7.9.4 Evaluación de expresión génica

Para la evaluación de expresión génica, se utilizó ARN total extraído a partir del tejido disponible, seguido de su conversión a ADNc. Se realizó la validación de los genes *PAX*, *RET* y *OSR1*, dependiendo de la disponibilidad de recursos y de la calidad del material biológico, mediante las técnicas de PCR.

#### 7.9.5 Análisis bioinformático

El análisis bioinformático se realizó utilizando la paquetería SeSAMe de Bioconductor (v.3.20) con el software R (v.4.5.1) y RStudio (v.2025.05.1). Las señales de hibridación obtenidas de los datos crudos de los microarreglos fueron procesadas para garantizar la calidad del análisis, incluyendo preprocesamiento de las muestras, controles de calidad dependientes de la muestra y del proceso, evaluación de interferencias y normalización de los datos. A partir de este procesamiento se obtuvo información de mapeo, anotaciones funcionales y desempeño técnico de las sondas. Se consideró como significativo un valor de p-FDR (False Discovery Rate)  $<0.01$  y cambio en el nivel de metilación  $\Delta\beta \geq 0.1$ .

Para la exploración global de los datos, se realizó un análisis de componentes principales (PCA) no supervisado utilizando las 32 muestras seleccionadas, con el fin de evaluar la estructura global de los perfiles de metilación e identificar posibles valores atípicos. A partir de este análisis global, se llevaron a cabo análisis de agrupamiento jerárquico de manera independiente dentro de cada grupo de estudio, utilizando distancia

euclidiana aplicada a los valores de metilación ( $\beta$ ), seguida de un método de agrupamiento jerárquico de Ward con distancias al cuadrado. Con base en estos análisis, se identificaron muestras con perfiles de metilación atípicos, las cuales fueron excluidas del análisis (n=7). El análisis final se realizó con un total de 25 muestras, lo que permitió mejorar la comparabilidad entre los grupos para los análisis epigenómicos posteriores.

Asimismo, se construyeron gráficos de volcán para comparar los grupos de estudio e identificar sitios CpG metilados diferencialmente (DMC). Posteriormente, se utilizó la herramienta STRING (v.12.0) para identificar interacciones funcionales y vías de señalización asociadas. Para el análisis comparativo, se elaboraron diagramas de Venn a partir de diferentes contrastes entre los grupos definidos por volumen renal (BVR vs. CTRL) y exposición a fluoruro (F vs. NF). Este enfoque permitió identificar genes diferencialmente metilados (DMG) compartidos y exclusivos entre las distintas comparaciones, así como explorar patrones epigenéticos asociados tanto al volumen renal como a la exposición a fluoruro. Finalmente, se realizó un análisis de enriquecimiento funcional utilizando la plataforma *DAVID Bioinformatics* y la base de datos KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*), con el fin de identificar vías biológicas y procesos funcionales asociados a los DMG.

### **7.10 Análisis estadístico**

Toda la información recolectada se registró en bases de datos electrónicas mediante archivos de Microsoft Excel® para su análisis posterior. Se realizó estadística descriptiva de acuerdo con el tipo de variable.

La distribución de las variables se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov. Las variables continuas con distribución normal se expresaron como media y desviación estándar (DE), mientras que aquellas con distribución no paramétrica se describieron como mediana y rangos intercuartilares (RIQ). Las variables categóricas se expresaron como frecuencias absolutas y relativas. Para las comparaciones entre grupos, se utilizaron pruebas paramétricas (t de Student o ANOVA de uno o dos factores, según correspondiera) con análisis post hoc de Tukey. En el caso de variables con distribución no normal, se emplearon las pruebas de U de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis. Para variables categóricas se utilizaron las pruebas de chi cuadrada o exacta de Fisher.

Se consideró como significativo un valor de  $p < 0.05$ . Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software IBM SPSS® versión 26.

## **8. Consideraciones éticas**

El presente estudio se llevó a cabo con los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki (Finlandia de 2024), la cual orienta la investigación en seres humanos, priorizando la protección de los participantes y prestando especial atención a poblaciones vulnerables. Asimismo, se garantizó la confidencialidad y el adecuado manejo de los datos personales, en apego a los lineamientos éticos vigentes en investigación (144).

De igual manera, este trabajo se apega a los principios del Código de Núremberg, que establece como esencial el consentimiento voluntario de los participantes, así como la necesidad de que toda investigación tenga un beneficio potencial para la sociedad y minimice cualquier riesgo o daño físico y mental.

Por otra parte, el estudio se apegó a la NOM para la investigación en seres humanos, específicamente en los artículos 16 y 17 del Título Segundo, así como el artículo 96 (fracciones I–VI) y el artículo 103. Asimismo, se siguieron los lineamientos del reglamento de investigación de la Benemérita Universidad Autónoma de Aguascalientes. Finalmente, el protocolo fue evaluado y aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación en el Centenario Hospital Miguel Hidalgo el 20 de octubre de 2022, con el número de aprobación 2022-E-44 (Anexo B) (145,146).

### **8.1 Riesgo de la investigación**

El riesgo al que fueron sometidos los participantes al momento de la toma de muestra de sangre periférica y orina fue mínimo, sin que se reportaran complicaciones que pusieran en riesgo la integridad o la vida de los pacientes. La recolección de muestras de líquido amniótico y placenta se realizó durante o posterior al alumbramiento, sin intervenir en el procedimiento clínico, por lo que se considera también de riesgo mínimo.

### **8.2 Confidencialidad**

A todos los participantes que aceptaron formar parte de este estudio se les solicitó la firma de consentimiento informado (Anexos C y D). La información obtenida fue tratada con estricta confidencialidad y utilizada exclusivamente con fines de investigación.

La identidad de los participantes fue resguardada mediante la asignación de un código de identificación único, conocido únicamente por los investigadores. Asimismo, se garantizó el derecho de los participantes a retirarse del estudio en cualquier momento, con la eliminación de toda su información del protocolo. Tanto los investigadores como las instituciones participantes se comprometieron a mantener la confidencialidad de los datos, evitando la divulgación de cualquier información que pudiera permitir la identificación de los participantes.

## **9. Recursos para el estudio**

### **9.1 Recursos humanos**

- Médicos especialistas en la materia, personal capacitado para el procesamiento de muestras, médicos pasantes del servicio social, enfermeros(as), químicos y estudiantes de doctorado.

### **9.2 Recursos materiales**

- Tubos para recolección de muestras sanguíneas EDTA tapa morada de 1 ml y de 4 ml, tubos de recolección de muestras sanguíneas de tapa amarilla y roja, frascos estériles para recolección de orina, bolsas recolectoras de orina, tubos Falcon estériles de 15 ml, tubos falcon libres de ARNasa, tubos Eppendorf® estériles de 500  $\mu$ L, 1.5 y 2 ml libres de ARNasas, microtubo para centrifuga con tapa de rosca de 2 ml, RNAlater, hieleras, hielo seco, refrigerador, micropipetas de 1000  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 50  $\mu$ L y 10  $\mu$ L, puntas para micropipetas libres de ARNasas, centrifuga y microcentrifuga, caja de cartón alta para criogenia con 81 pozos, ultracongeladores, primers específicos, kits de extracción de ARN y ADN, kit de conversión de ARN a ADNc, kit de metilación del ADN, TissueLyser, NanoDrop, TRIzol, cloroformo, etanol, isopropanol, termociclador, formato de interrogatorio para búsqueda de factores de riesgo.

### **9.3 Recursos financieros**

- Financiamiento por parte de los investigadores participantes, el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN), el Instituto Nacional de Rehabilitación (INR), así como materiales proporcionados por la Universidad Autónoma de Aguascalientes. No existe conflicto de intereses.

## 10. Cronograma de actividades

ACTIVIDADES	Ene-Mar 2023	Abr-Jun 2023	Jul-Sep 2023	Oct-Dic 2023	Ene-Mar 2024	Abr-Jun 2024	Jul-Sep 2024	Oct-Dic 2024	Ene-Mar 2025	Abr-Jun 2025	Jul-Sep 2025	Oct-Dic 2025
Presentación del proyecto al Comité de Ética e Investigación	■											
Revisión bibliográfica	■											
Establecimiento de objetivos e hipótesis de investigación	■											
Redacción del marco teórico	■	■										
Recolección de muestras biológicas e información clínica		■	■	■	■							
Preprocesamiento y almacenamiento de muestras biológicas			■	■	■	■						
Determinación de dimensiones renales mediante ecografía			■	■	■							
Caracterización sociodemográfica y clínica de la población en estudio					■							
Examen predoctoral						■						
Determinación de niveles de metales, metaloides y pesticidas en muestras biológicas							■	■				
Análisis del perfil de metilación de ADN mediante microarreglos								■	■	■		
Análisis de la expresión génica mediante PCR									■	■		
Análisis bioinformático y estadístico de los datos										■		
Correlación entre exposición con el perfil de metilación de ADN y expresión génica										■		
Redacción y envío del primer artículo											■	
Redacción de resultados, discusión y conclusiones de la tesis											■	
Redacción y envío del segundo artículo											■	■

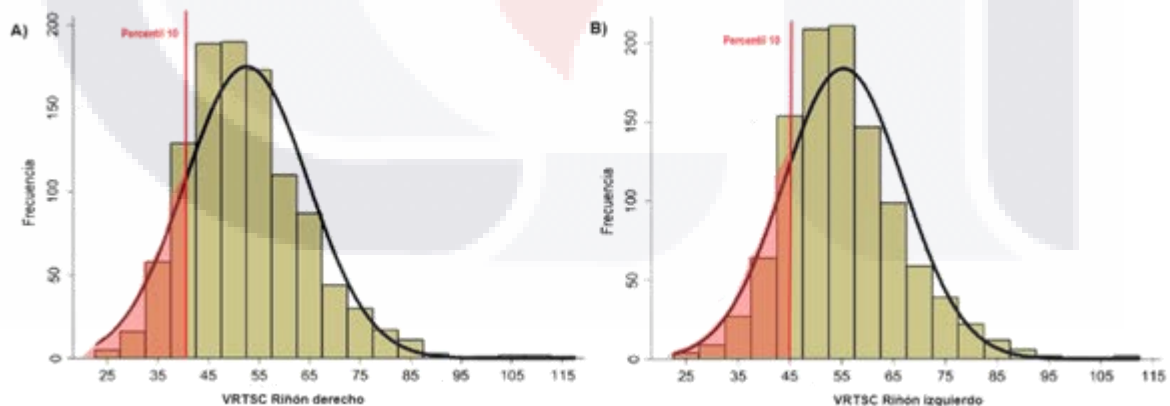
## 11. Resultados

### 11.1 Selección y asignación de los grupos de estudio

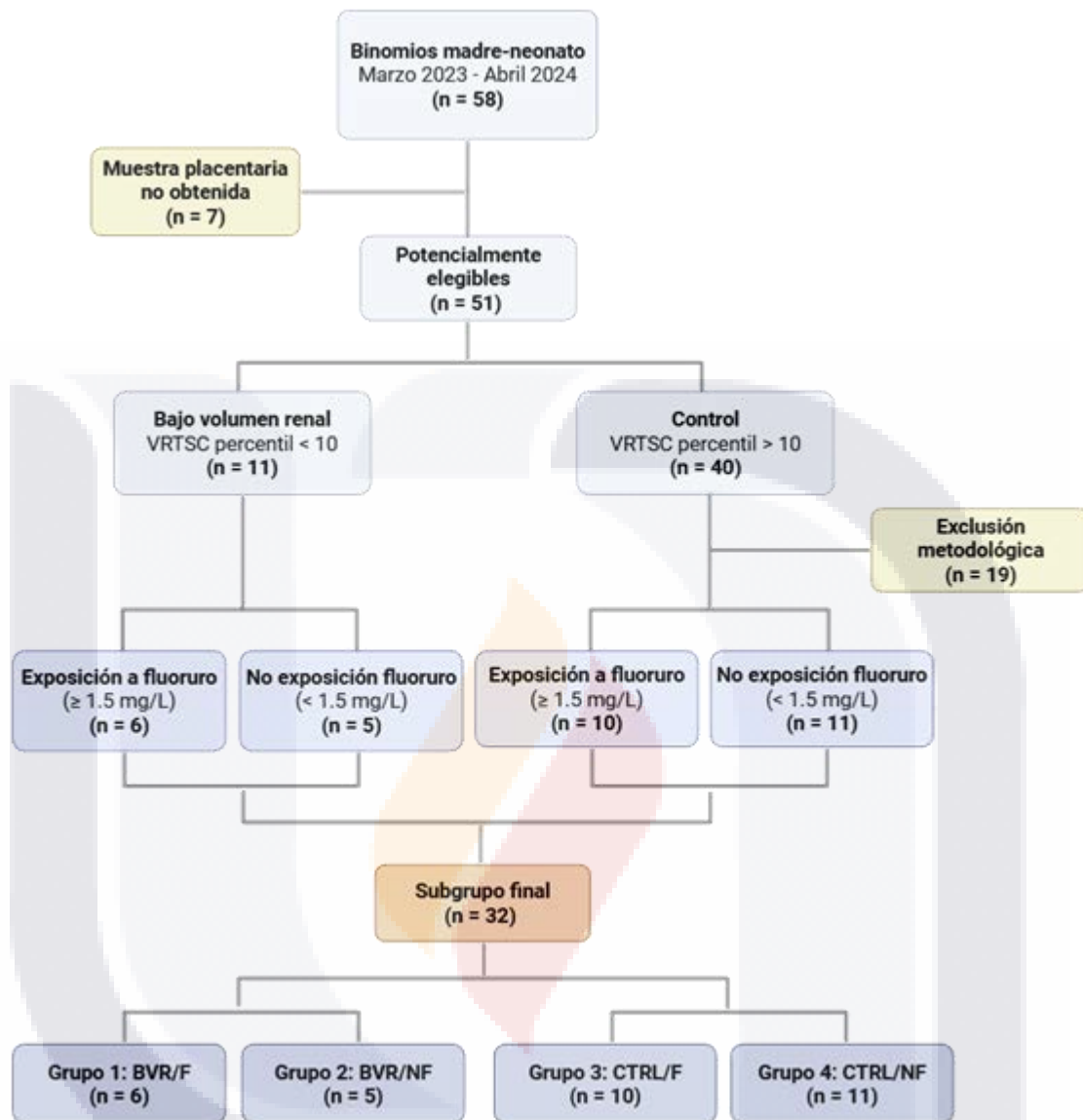
De marzo de 2023 a abril de 2024 se reclutaron 58 binomios madre-neonato, de los cuales se excluyeron siete por no contar con muestra placentaria, obteniendo 51 binomios elegibles. Para la asignación final de los grupos fue necesario contar con la cuantificación de fluoruro (xenobiótico que resultó estadísticamente significativo para este estudio) y con la determinación del volumen renal neonatal.

Once de los neonatos presentaron un volumen renal menor al percentil 10, por lo que se clasificaron como bajo volumen renal (BVR). De los 40 recién nacidos con un volumen renal mayor al percentil 10, clasificados como controles (CTRL), se seleccionaron 21 con base en peso, talla y edad gestacional.

El análisis final incluyó a 32 participantes, quienes se clasificaron en cuatro grupos de acuerdo con la exposición a fluoruro ( $F; \geq 1.5$  mg/L) y la presencia de bajo volumen renal (BVR; percentil  $<10$ ) (Figuras 13 y 14). Los grupos quedaron distribuidos de la siguiente manera: grupo 1, BVR/F (bajo volumen renal con exposición a fluoruros); grupo 2, BVR/NF (bajo volumen renal sin exposición a fluoruros); grupo 3, CTRL/F (control con exposición a fluoruros) y grupo 4, CTRL/NF (control sin exposición a fluoruros).



**Figura 13.** Volumen renal total ajustado a área de superficie corporal total, percentil  $<10$ . A) Riñón derecho, B) Riñón izquierdo. Adaptado del artículo “Pediatric kidney dimensions and risk of persistent albuminuria in Mexican adolescents” (26)



**Figura 14.** Flujograma de recolección de muestras del periodo 2023 – 2024. VRTSC: Volumen renal total ajustado a la área de superficie corporal total.

### 11.2 Exposición a xenobióticos ambientales

Se cuantificaron 60 xenobióticos ambientales en muestras de orina materna y líquido amniótico en los 58 binomios inicialmente incluidos en el estudio, utilizando las metodologías descritas en el apartado de Materiales y métodos. De estos, únicamente el fluoruro mostró diferencias estadísticamente significativas en relación con el volumen renal neonatal.

En este análisis, los participantes con concentraciones de fluoruro <1 mg/L presentaron un volumen renal total promedio de 131.5 ml/m<sup>2</sup> (± 36.3), en comparación con 107.9 ml/m<sup>2</sup> (± 30.1) en aquellos con concentraciones >1 mg/L (p=0.01). Asimismo, la proporción de neonatos con BVR fue mayor en el grupo con mayor exposición a fluoruro (28.9%) en comparación con el grupo con menor exposición (5%) (p=0.03). Con base en estos hallazgos, el fluoruro se utilizó como variable de exposición para la conformación de los grupos de estudio.

Para el análisis comparativo entre grupos, se incluyeron 32 participantes con información completa de exposición a fluoruro y volumen renal neonatal. En la Tabla 4 se resumen los niveles de xenobióticos ambientales en estos grupos.

**Tabla 4. Niveles de metales, metaloides y pesticidas.**

Variable, mediana (RIQ)	Total (n = 32)	BVR/F (n = 6)	BVR/NF (n = 5)	CTRL/F (n = 10)	CTRL/NF (n = 11)	Valor p interacción
Fluoruros en OM (mg/L)	1.5 (0.8 – 2.0)	2.0 (2.0 – 3.5)	1.0 (0.9 – 1.0)	2.0 (2.0 – 3.0)	0.8 (0.5 – 0.9)	0.75
Fluoruros en LA (mg/L)	0.1 (0.0 – 0.2)	0.08 (0.05 – 0.12)	0.06 (0.01 – 0.15)	0.10 (0.03 – 0.37)	0.1 (0.0 – 0.5)	0.79
Ametrina en OM (ng/ml)	0 (0 – 4)	0 (0 – 6.2)	0 (0 – 18.2)	0 (0 – 1.2)	0 (0 – 5.5)	0.83
Atrazina en OM (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 7.6)	0 (0 – 15)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0.56
Malatión en OM (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 3.3)	0 (0 – 0)	0.59
Malatión en LA (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 9.4)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0.30
Molinato en OM (ng/ml)	74.7 (0.0 – 615.9)	0 (0 – 229.4)	0 (0 – 352.4)	406.1 (0 – 743.8)	499.3 (0 – 712.7)	0.89
Molinato en LA (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 41.5)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0.20
Oxandrolona en OM (ng/ml)	0 (0.0 – 84.9)	0 (0 – 214.5)	48 (0 – 166.4)	0 (0 – 47.6)	0 (0 – 103.7)	0.80
Oxandrolona en LA (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 41.5)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0.84
Picloram en OM (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 399.2)	0 (0 – 0)	0 (0 – 857.5)	0.37
Picloram en LA (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0.46
2,4-D en OM (ng/ml)	3.7 (0.0 – 5.3)	0 (0 – 1.0)	2.7 (0.9 – 5.5)	4.0 (0.0 – 6.2)	5.2 (0.0 – 5.5)	0.29
2,4-D en LA (ng/ml)	1.4 (1.2 – 2.1)	1.3 (0.9 – 1.8)	1.2 (0 – 2.1)	2.2 (1.3 – 3.0)	1.4 (1.1 – 2.0)	0.40
Glufosinato en OM (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 39)	0 (0 – 118.6)	0 (0 – 0)	0 (0 – 25.2)	0.47
Glufosinato en LA (ng/ml)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0 (0 – 0)	0.46

**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **RIQ:** rango intercuartilar; **n:** número; **%:** porcentaje; **mg/L:** miligramos por litro; **ng/ml:** nanogramos por litro; **OM:** orina materna; **LA:** líquido amniótico.

### 11.3 Dimensiones renales al nacimiento

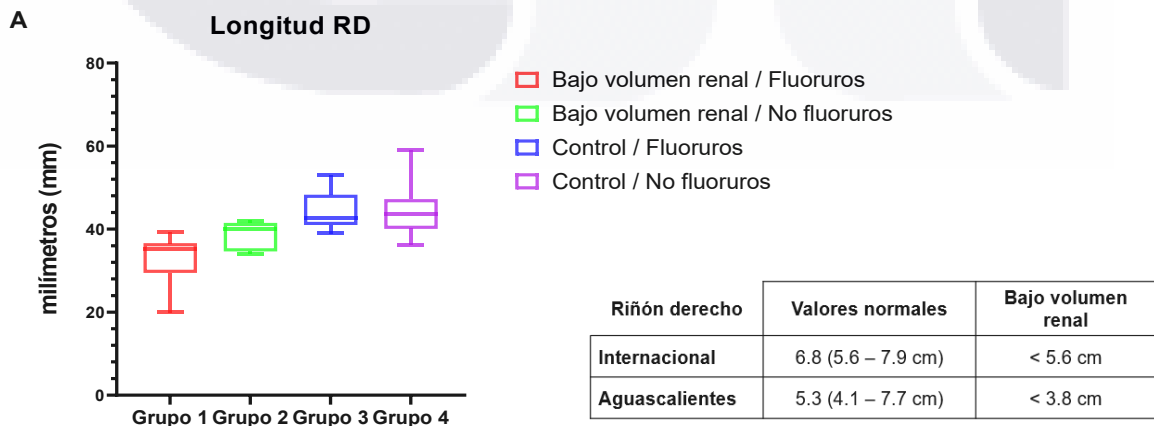
Las dimensiones renales fueron evaluadas al cuarto día de vida mediante ecografía. Se midieron los diámetros longitudinal, anteroposterior y transversal de cada riñón, y posteriormente se calculó el volumen renal total ajustado a la superficie corporal (VRTSC).

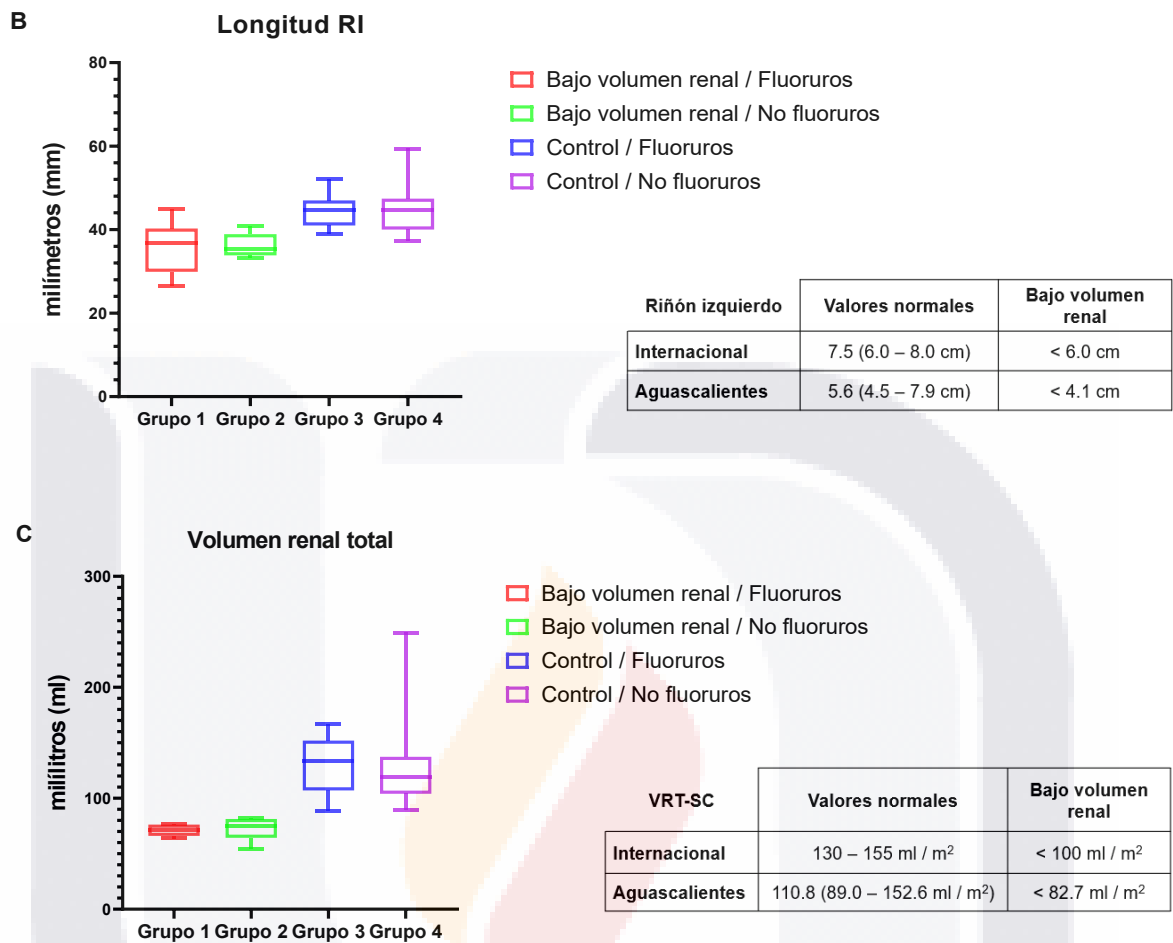
Las mediciones obtenidas se compararon con valores de referencia reportados a nivel internacional. En concordancia con lo descrito en la literatura, se observó que el riñón izquierdo presentó, en promedio, mayores dimensiones en comparación con el riñón derecho (Tabla 5). En la Figura 15 se muestran las dimensiones renales por grupo de estudio, incluyendo la longitud renal de ambos riñones y el VRTSC.

**Tabla 5.** Dimensiones renales reportadas internacionalmente comparadas con el estado de Aguascalientes.

Característica	Tamaño renal normal		Tamaño renal disminuido	
	Derecho	Izquierdo	Derecho	Izquierdo
VRTSC (Internacional)	130 – 155 ml/m <sup>2</sup>		< 100 ml/m <sup>2</sup>	
VRTSC (Aguascalientes)	110.8 (89.0 – 152.6 ml/m <sup>2</sup> )		< 82.7 ml/m <sup>2</sup>	
Longitud renal (Internacional)	6.8 (5.6 – 7.9 cm)	7.5 (6.0 – 8.0 cm)	< 5.6 cm	< 6.0 cm
Longitud renal (Aguascalientes)	5.3 (4.1 – 7.7 cm)	5.6 (4.5 – 7.9 cm)	< 3.8 cm	< 4.1 cm

VRTSC: Volumen renal total ajustado a superficie corporal total; ml/m<sup>2</sup>: mililitros por metro al cuadrado (26,147,148).





**Figura 15.** Determinación de dimensiones renales del recién nacido (RN) por grupos. A) Longitudes promedio del riñón derecho (RD). B) Longitudes promedio del riñón izquierdo (RI). C) Volumen renal total ajustado a la superficie corporal (VRT-SC).

## 11.4 Características de la población de estudio

### 11.4.1 Características sociodemográficas

Las características sociodemográficas de las participantes se presentan en la Tabla 6. El análisis incluyó 32 mujeres reclutadas entre marzo de 2023 y abril de 2024, con una edad promedio de 24.4 años ( $\pm$  5.4). La mayoría de las participantes eran originarias de Aguascalientes (93.8%) y todas residían en esta entidad al momento del estudio. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para la mayoría de las variables evaluadas; sin embargo, se identificó una diferencia significativa en los años de residencia en Aguascalientes ( $p=0.02$ ).

**Tabla 6. Características generales y sociodemográficas de la madre.**

Variable	Total (n = 32)	BVR/F (n = 6)	BVR/NF (n = 5)	CTRL/F (n = 10)	CTRL/NF (n = 11)	Valor p interacción
Edad (años), m (DE)	24.4 ± 5.4	27.5 ± 8.8	24.6 ± 2.9	23.2 ± 3.3	23.9 ± 5.5	0.38
Lugar de nacimiento, n (%)						0.27
Aguascalientes	30 (93.8)	6 (100)	4 (80)	10 (100)	10 (90.9)	
Tamaulipas	1 (3.1)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	
Extranjero	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	
Radica en Aguascalientes, n (%)	32 (100)	6 (100)	5 (100)	10 (100)	11 (100)	>0.99
Años radicando en Ags., m (DE)	23.1 ± 7.3	27.5 ± 8.8	16.0 ± 11.3	23.3 ± 3.4	23.9 ± 5.5	0.02
Ingreso mensual (\$), n (%)						0.20
< 5 mil	13 (40.6)	5 (83.3)	0 (0)	4 (40)	4 (36.4)	
5 – 20 mil	14 (43.8)	1 (16.7)	4 (80)	4 (40)	5 (45.5)	
20 – 30 mil	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
30 – 50 mil	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
> 50 mil	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Desconoce	5 (15.6)	0 (0)	1 (20)	2 (20)	2 (18.2)	
Ocupación de la madre, n (%)						0.11
Hogar	22 (68.8)	6 (100)	2 (40)	4 (40)	10 (90.9)	
Empleada	4 (12.5)	0 (0)	1 (20)	2 (20)	1 (0)	
Comercio	3 (9.4)	0 (0)	1 (20)	2 (20)	0 (0)	
Obrera	2 (6.3)	0 (0)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	
Auxiliar contable	1 (3.1)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	
Cambio de residencia por salud, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0.99

**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **m:** media; **DE:** desviación estándar; **n:** número; **%:** porcentaje.

#### 11.4.2 Antecedentes clínicos y hábitos maternos

En relación con los antecedentes clínicos, ninguna de las participantes reportó el diagnóstico de DM ni HAS. En cuanto al estado nutricional, el 31.3% (n=10) presentó obesidad. Respecto al consumo de sustancias, el 12.5% (n=4) de las madres refirió tabaquismo y el mismo porcentaje consumo de alcohol, mientras que el 6.3% (n=2) reportó uso de otras sustancias psicoactivas. Al comparar entre grupos, únicamente el tabaquismo mostró una diferencia estadísticamente significativa (p=0.005) (Tabla 7).

**Tabla 7. Comorbilidades de la madre.**

Variable, n (%)	Total (n = 32)	BVR/F (n = 6)	BVR/NF (n = 5)	CTRL/F (n = 10)	CTRL/NF (n = 11)	Valor p interacción
Diabetes mellitus	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0.99
Hipertensión arterial sistémica	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0.99
Obesidad	10 (31.3)	2 (33.3)	3 (60)	2 (20)	3 (27.3)	0.45
Tabaquismo	4 (12.5)	0 (0)	3 (60)	1 (10)	0 (0)	0.005
Alcoholismo	4 (12.5)	0 (0)	0 (0)	2 (20)	2 (18.2)	0.49
Uso de otras drogas	2 (6.3)	0 (0)	1 (20)	1 (10)	0 (0)	0.39
Toma regular de medicamentos	2 (6.3)	1 (16.7)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	0.49

**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **n:** número, **%:** porcentaje.

#### 11.4.3 Antecedentes heredofamiliares

El 21.9% (n=7) de las participantes reportó antecedentes familiares de ERC, siendo los abuelos más frecuentemente afectados (10.3%, n=3). En cuanto a enfermedades genéticas, el 9.4% (n=3) refirió algún antecedente, mientras que el 90.6% (n=29) indicó no contar con este tipo de padecimientos en la familia. Respecto a las enfermedades crónico-degenerativas, el 18.8% (n=6) reportó antecedentes familiares de DM y el 6.3% (n=2) HAS. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para las variables analizadas (Tabla 8).

**Tabla 8. Antecedentes heredofamiliares del recién nacido.**

Variable, n (%)	Total (n = 32)	BVR/F (n = 6)	BVR/NF (n = 5)	CTRL/F (n = 10)	CTRL/NF (n = 11)	Valor p interacción
Historial de ERC	7 (21.9)	1 (16.7)	0 (0)	4 (40)	2 (18.2)	0.38
Familiares con ERC						0.70
Hermano	2 (6.3)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (9.1)	
Abuelo	3 (10.3)	1 (16.7)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	
Tío	1 (3.4)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Primo	1 (1.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	
Ninguno	25 (81.0)	5 (83.3)	5 (100)	6 (60)	9 (81.8)	
Historial de enfermedad genética	3 (9.4)	1 (16.7)	0 (0)	1 (10)	1 (9.1)	0.82

Tipo de enfermedad genética						0.48
Labio paladar hendido	1 (3.1)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Fibrosis quística	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Microcefalia	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	
Ninguna	29 (90.6)	5 (83.3)	5 (100)	9 (90)	10 (90.9)	
Antecedentes familiares de DM	6 (18.8)	1 (16.7)	2 (40)	1 (10)	2 (18.2)	0.57
Antecedentes familiares de HAS	2 (6.3)	0 (0)	1 (20)	1 (10)	0 (0)	0.39
Otros antecedentes de importancia	3 (9.4)	1 (16.7)	0 (0)	1 (10)	1 (9.1)	0.82

**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **n:** número; **%:** porcentaje; **ERC:** Enfermedad renal crónica; **DM:** Diabetes mellitus; **HAS:** Hipertensión arterial sistémica.

#### 11.4.4 Características del embarazo y del recién nacido

La talla promedio fue de 1.59 m ( $\pm$  0.07). El peso previo al embarazo fue de 63.6 kg ( $\pm$  16.5) y posterior de 72.6 kg ( $\pm$  16.9), con una ganancia ponderal promedio de 9.6 kg ( $\pm$  5.5). El IMC materno promedio fue de 24.9 kg/m<sup>2</sup> ( $\pm$  5.8) y la TFG estimada fue de 117.1 ml/min/1.73m<sup>2</sup> ( $\pm$  5.9). El 96.9% (n=31) de las participantes reportó haber llevado control prenatal, iniciándolo en promedio a las 9.6 SDG ( $\pm$  5.8). Asimismo, el 100% (n=32) refirió consumo de ácido fólico durante la gestación.

En cuanto a los neonatos, el 31.3% (n=10) correspondió al sexo femenino. El peso promedio al nacimiento fue de 3.217 kg ( $\pm$  0.467), la talla promedio de 49.2 cm ( $\pm$  1.9) y la edad gestacional promedio de 39.0 SDG ( $\pm$  1.2). Ninguno de los neonatos presentó anomalías aparentes al nacimiento. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos analizados (Tabla 9).

**Tabla 9.** Características generales del embarazo y del recién nacido.

Variable	Total (n = 32)	BVR/F (n = 6)	BVR/NF (n = 5)	CTRL/F (n = 10)	CTRL/NF (n = 11)	Valor p interacción
Talla de la madre (m), m (DE)	1.59 $\pm$ 0.07	1.55 $\pm$ 0.04	1.59 $\pm$ 0.07	1.60 $\pm$ 0.10	1.60 $\pm$ 0.04	0.57
Peso previo al embarazo (kg), m (DE)	63.3 $\pm$ 16.5	64.8 $\pm$ 16.8	65.6 $\pm$ 21.1	60.7 $\pm$ 15.8	64.1 $\pm$ 17.2	0.84
Peso posterior al embarazo (kg), m (DE)	72.6 $\pm$ 16.9	74.4 $\pm$ 18.8	75.5 $\pm$ 21.2	71.9 $\pm$ 16.8	71.3 $\pm$ 16.6	0.90
Peso ganado en el embarazo (kg), m (DE)	9.6 $\pm$ 5.5	9.6 $\pm$ 5.1	9.9 $\pm$ 5.4	11.2 $\pm$ 5.3	8.1 $\pm$ 6.5	0.45
IMC de la madre (kg/m <sup>2</sup> ), m (DE)	24.9 $\pm$ 5.8	26.3 $\pm$ 6.0	25.8 $\pm$ 7.5	23.4 $\pm$ 5.4	25.3 $\pm$ 5.8	0.61
TFG de la madre (ml/min/1.73m <sup>2</sup> ), m (DE)	117.1 $\pm$ 5.9	114.3 $\pm$ 9.2	117.6 $\pm$ 3.3	118.3 $\pm$ 4.3	117.5 $\pm$ 6.2	0.38
Control prenatal, n (%)	31 (96.9)	6 (100)	5 (100)	10 (100)	10 (90.9)	0.28
Inicio de control prenatal (SDG), m (DE)	9.6 $\pm$ 5.8	8.1 $\pm$ 5.3	10.4 $\pm$ 5.3	10.6 $\pm$ 7.2	9.1 $\pm$ 5.2	0.41

Uso de ácido fólico, n (%)	32 (100)	6 (100)	5 (100)	10 (100)	11 (100)	>0.99
Inicio consumo de ácido fólico (SDG), m (DE)	8.8 ± 4.4	8.6 ± 4.6	9.0 ± 4.3	8.6 ± 4.6	9.0 ± 4.7	0.96
Uso de suplementos, n (%)	25 (78.1)	5 (83.3)	4 (80)	9 (90)	7 (63.6)	0.51
Tipo de suplementos, n (%)						0.78
Sulfato ferroso	10 (31.3)	1 (16.7)	2 (40)	3 (30)	4 (36.4)	
Calcio	2 (6.3)	1 (16.7)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Multivitamínico	13 (40.6)	3 (50)	2 (40)	5 (50)	3 (27.3)	
Ninguno	7 (21.9)	1 (16.7)	1 (20)	1 (10)	4 (36.4)	
Complicaciones durante el embarazo, n (%)	6 (18.8)	1 (16.7)	0 (0)	1 (10)	4 (36.4)	0.21
Tipo de complicación en el embarazo, n (%)						0.54
Infección de vías urinarias	2 (6.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (18.2)	
Infección vaginal	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Amenaza de aborto	2 (6.3)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	
Amenaza de parto prematuro	1 (3.1)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0)	1 (9.1)	
Ninguna	26 (81.3)	5 (83.3)	5 (100)	9 (90)	7 (63.6)	
Recién nacido femenino, n (%)	10 (31.3)	2 (33.3)	2 (40)	5 (50)	1 (9.1)	0.22
Peso del recién nacido (kg), m (DE)	3.217 ± 0.467	2.837 ± 0.468	3.215 ± 0.453	3.385 ± 0.500	3.274 ± 0.377	0.15
Talla del recién nacido (cm), m (DE)	49.2 ± 1.9	49.0 ± 1.7	49.4 ± 2.5	49.1 ± 1.6	49.3 ± 2.3	0.90
Edad gestacional (SDG), m (DE)	39.0 ± 1.2	39.0 ± 0.9	39.6 ± 0.8	38.3 ± 1.5	39.2 ± 1.0	0.62
Anomalías del recién nacido, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0.99
Longitud riñón derecho (mm), m (DE)	41.3 ± 6.6	33.0 ± 6.7	38.4 ± 3.5	45.2 ± 4.4	43.6 ± 4.9	0.06
Longitud riñón izquierdo (mm), m (DE)	41.4 ± 6.0	35.8 ± 6.3	36.1 ± 2.9	45.1 ± 3.5	43.5 ± 5.0	0.56
Volumen total renal (ml), m (DE)	110.4 ± 34.4	71.1 ± 5.5	73.2 ± 10.9	133.0 ± 22.8	128.2 ± 25.5	0.65

**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **kg:** kilogramo; **mm:** milímetros; **m:** media; **DE:** desviación estándar; **n:** número; **%:** porcentaje; **TFG:** tasa de filtración glomerular; **SDG:** semanas de gestación; **g:** gramos.

#### 11.4.5 Entorno familiar y exposición ambiental

Respecto a las características de la vivienda, el 68.8% (n=22) habitaba en casas de ladrillo y el 28.1% (n=9) en viviendas de bloque; únicamente una vivienda presentó techo de lámina (3.1%). El 50 % de los hogares contaba con piso de cemento y el otro 50% con vitropiso. Respecto al suministro de agua, el 84.4% (n=27) utilizaba agua del servicio público para actividades del hogar, mientras que el 100% consumía agua de garrafón para beber y el 87.5% (n=28) también la utilizaba para cocinar.

En cuanto a la posible exposición ambiental, el 3.1% (n=1) vive cerca de cultivos agrícolas. La ocupación más frecuente del padre fue obrera (34.4%, n=11), y el 6.3% (n=2) reportó exposición a materiales potencialmente peligrosos en el ámbito laboral. Respecto a los hábitos de consumo, el 12.5% (n=4) refirió consumo frecuente de mariscos. La mitad de

las participantes adquiriría frutas y verduras en fruterías y el 100% reportó desinfectarlas antes de su consumo. En relación con los utensilios de cocina, el uso combinado de materiales fue el más frecuente (37.5%, n=12), seguido de teflón (25%, n=8) y aluminio (21.9%, n=7). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en las variables analizadas (Tablas 10 y 11).

**Tabla 10. Factores de riesgo ambientales y familiares.**

Variable, n (%)	Total (n = 32)	BVR/F (n = 6)	BVR/NF (n = 5)	CTRL/F (n = 10)	CTRL/NF (n = 11)	Valor p interacción
Tipo de vivienda						0.51
Ladrillo	22 (68.8)	5 (83.3)	2 (40)	8 (80)	7 (63.6)	
Bloque	9 (28.1)	1 (16.7)	3 (60)	2 (20)	3 (27.3)	
Ambos	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	
Techo de lámina	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	0.51
Tipo de piso						0.13
Tierra	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Cemento	16 (50)	5 (83.3)	2 (40)	6 (60)	3 (27.3)	
Vitropiso	16 (50)	1 (16.7)	3 (60)	4 (40)	8 (72.7)	
Agua para uso en casa						0.11
Llave	27 (84.4)	4 (66.7)	5 (100)	7 (70)	11 (100)	
Pozo	5 (15.6)	2 (33.3)	0 (0)	3 (30)	0 (0)	
Agua para beber						>0.99
Llave	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Pozo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Garrafón	32 (100)	6 (100)	5 (100)	10 (100)	11 (100)	
Agua para cocinar						0.26
Pozo	1 (3.1)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Llave	3 (9.4)	1 (16.7)	0 (0)	0 (0)	2 (18.2)	
Garrafón	28 (87.5)	4 (66.7)	5 (100)	10 (100)	9 (81.8)	
Marca comercial del agua						0.22
Ciel	6 (18.8)	0 (0)	0 (0)	4 (40)	2 (18.2)	
Bonafont	3 (9.4)	2 (33.3)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	
Santorini	3 (9.4)	1 (16.7)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	
Epura	3 (9.4)	1 (16.7)	0 (0)	1 (10)	1 (9.1)	
Purificadora	13 (40.6)	2 (33.3)	3 (60)	2 (20)	6 (54.5)	
Desconoce	3 (9.4)	0 (0)	1 (20)	1 (10)	1 (9.1)	
Varias	1 (3.1)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	
Parentesco entre esposos	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	>0.99

Parentesco entre abuelos 0 (0) 0 (0) 0 (0) 0 (0) 0 (0) >0.99

**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **DE:** desviación estándar; **n:** número; **%:** porcentaje.

**Tabla 11.** Exposición a metales, metaloides y pesticidas.

Variable, n (%)	Total (n = 32)	BVR/F (n = 6)	BVR/NF (n = 5)	CTRL/F (n = 10)	CTRL/NF (n = 11)	Valor p interacción
Casa cerca de huerto o cultivo (m)	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	0.51
Cultivo de maíz	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	0.51
Empleo de la pareja						0.33
Empleado	8 (25)	1 (16.7)	3 (60)	1 (10)	3 (27.3)	
Mantenimiento	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (9.1)	
Mecánico	1 (3.1)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Obrero	11 (34.4)	3 (50)	1 (20)	4 (40)	3 (27.3)	
Agricultor	3 (9.4)	2 (33.3)	0 (0)	1 (10)	0 (0)	
Comercio	2 (6.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (18.2)	
Carnicero	2 (6.3)	0 (0)	0 (0)	1 (10)	1 (9.1)	
Desempleado	1 (3.1)	0 (0)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	
Desconoce	3 (9.4)	0 (0)	0 (0)	2 (20)	1 (9.1)	
Consumo frecuente de mariscos	4 (12.5)	0 (0)	0 (0)	3 (30)	1 (9.1)	0.21
Exposición de material peligroso	2 (6.3)	0 (0)	1 (20)	1 (10)	0 (0)	0.39
Lugar de compra de frutas y verduras						0.10
Agropecuario	5 (15.6)	3 (50)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	
Supermercado	2 (6.3)	0 (0)	0 (0)	2 (20)	0 (0)	
Tianguis	9 (28.1)	1 (16.7)	2 (40)	3 (30)	3 (27.3)	
Frutería	16 (50)	2 (33.3)	3 (60)	3 (30)	8 (72.7)	
Desinfección de frutas y verduras	32 (100)	6 (100)	5 (100)	10 (100)	11 (100)	>0.99
Tipo de material de ollas y utensilios						0.27
Aluminio	7 (21.9)	2 (33.3)	2 (40)	2 (20)	1 (9.1)	
Acero	3 (9.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (27.3)	
Teflón	8 (25)	1 (16.7)	0 (0)	3 (30)	4 (36.4)	
Peltre	2 (6.3)	1 (16.7)	1 (20)	0 (0)	0 (0)	
Varios	12 (37.5)	2 (33.3)	2 (40)	5 (50)	3 (27.3)	

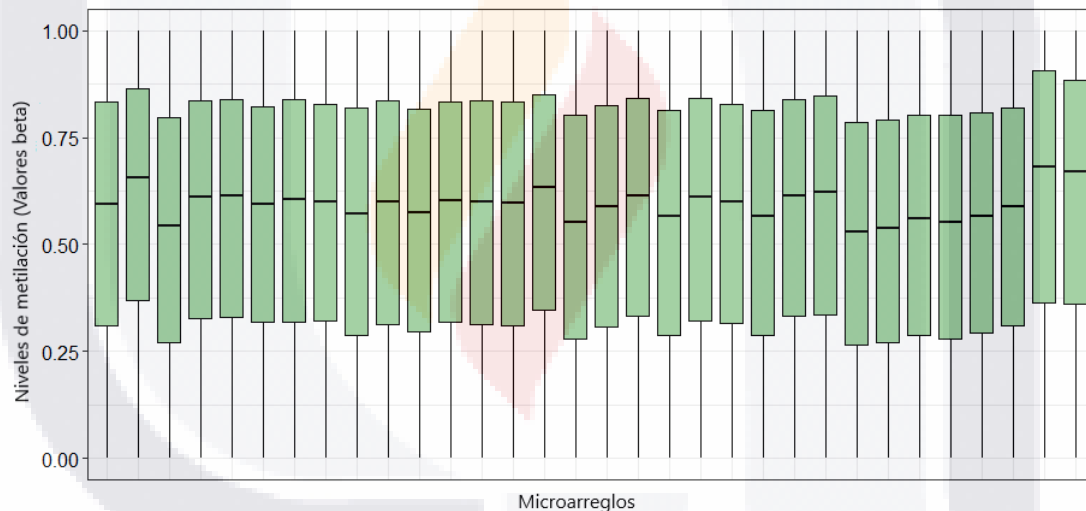
**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **DE:** desviación estándar; **m:** metros; **n:** número; **%:** porcentaje.

## 11.5 Perfil de metilación del ADN placentario

### 11.5.1 Control de calidad y desempeño de los microarreglos

Para el análisis del perfil de metilación del ADN de las 32 muestras placentarias, se utilizó el microarreglo Infinium MethylationEPIC v.2.0 BeadChip (Illumina®), procesado en la unidad de microarreglos del INMEGEN, siguiendo las indicaciones del fabricante.

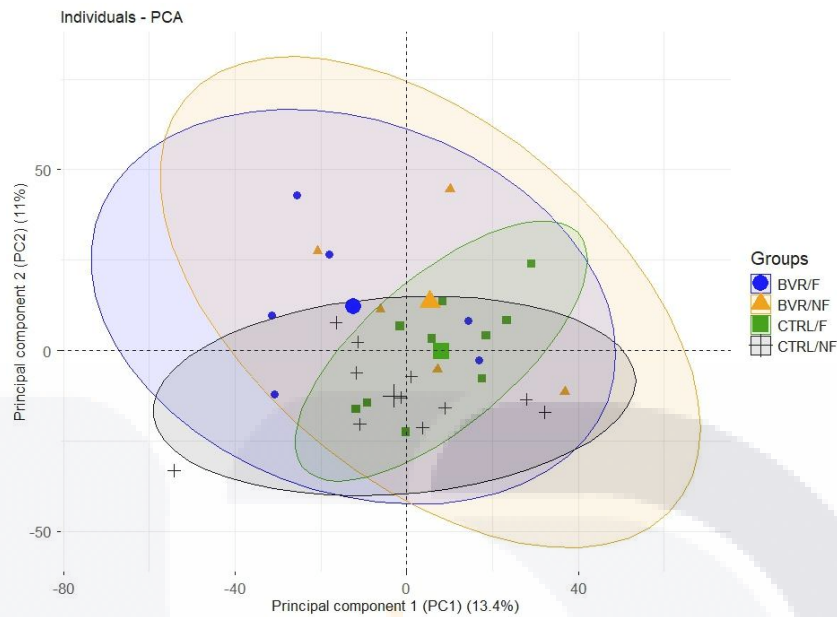
Los controles de calidad mostraron un desempeño satisfactorio en todas las muestras, con una hibridación superior al 90%. El número de sitios CpG detectados osciló entre 913,507 (96.15%) y 936,355 (98.56%), lo que indica una adecuada cobertura del epigenoma. La distribución de las intensidades de señal fue homogénea entre las muestras, lo que respaldó su capacidad para los análisis posteriores. Con base en estos resultados, se procedió al análisis bioinformático de los datos de metilación (Figura 16).



**Figura 16.** Datos homogéneos de los 32 microarreglos de metilación del ADN.

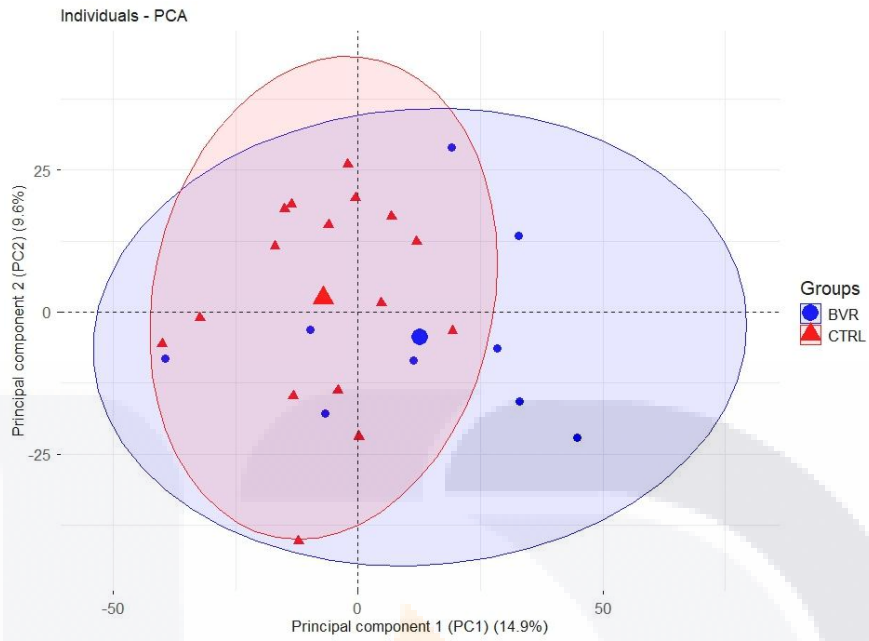
### 11.5.2 Análisis de componentes principales

Se realizó un PCA no escalado para explorar de manera general la distribución de los datos de metilación en las 32 muestras (Figura 17). A partir de este análisis, se identificaron siete muestras con perfiles atípicos de metilación, las cuales fueron excluidas del análisis posterior. En consecuencia, el análisis final se realizó con 25 muestras, garantizando una mejor comparabilidad entre los grupos.

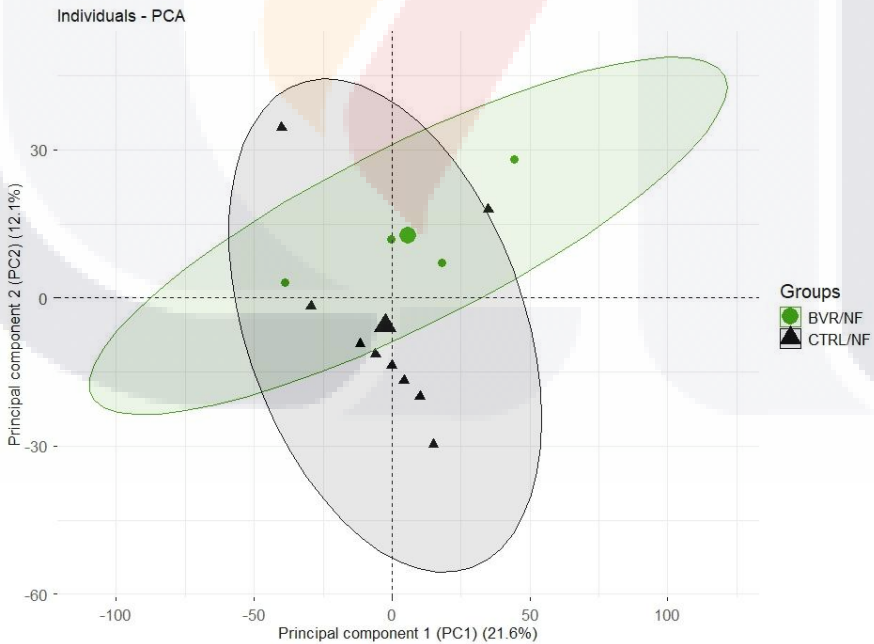


**Figura 17.** PCA no escalado. Se muestra la distribución general de los perfiles de metilación del ADN placentario, evidenciando la variación asociada al desarrollo renal y a la exposición a fluoruros. BVR/F: Bajo volumen renal con exposición a fluoruros; BVR/NF: Bajo volumen renal sin exposición a fluoruros; CTRL/F: Control con exposición a fluoruros y CTRL/NF: Control sin exposición a fluoruros.

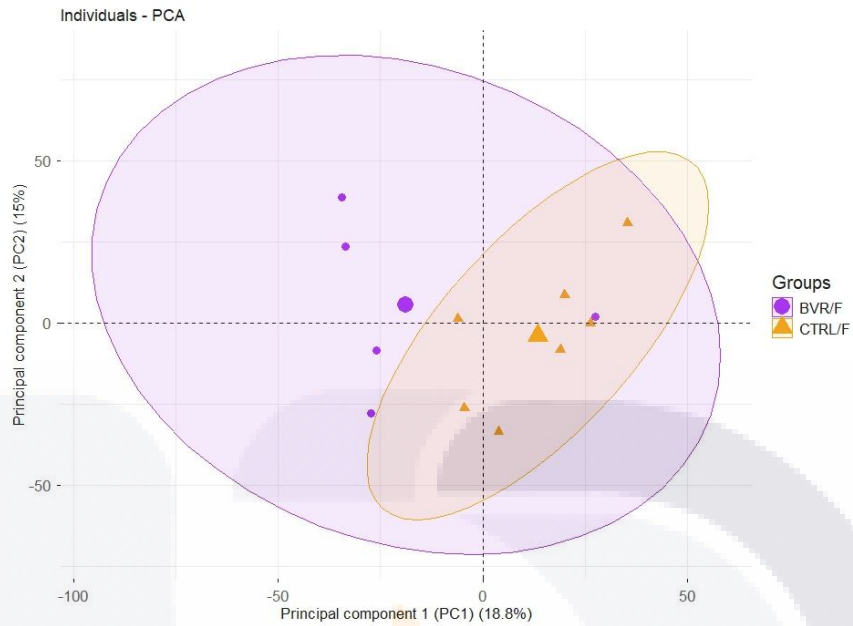
Posteriormente, se realizaron análisis de PCA específicos para cada una de las comparaciones: 1) BVR vs. CTRL; 2) BVR/NF vs. CTRL/NF; 3) BVR/F vs. CTRL/F; y 4) BVR/F vs. CTRL/NF (Figuras 18–21). En particular, la comparación entre los grupos extremos (BVR/F vs. CTRL/NF) mostró una mayor dispersión y una separación entre grupos a lo largo de los componentes principales, evidenciando diferencias en los perfiles de metilación del ADN globales.



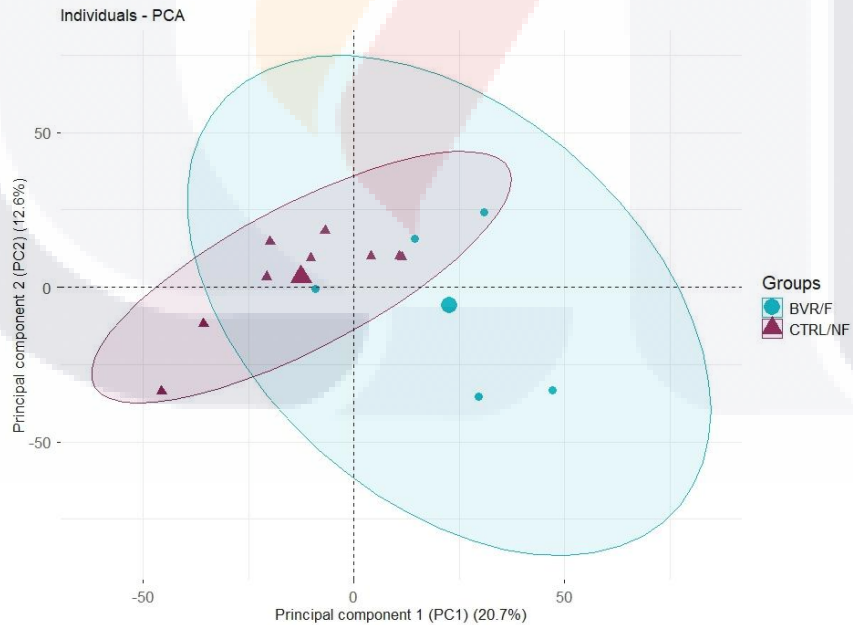
**Figura 18.** PCA de la comparación entre los grupos BVR vs. CTRL. Se observa alta similitud en los patrones de metilación del ADN, lo que indica que las variaciones podrían estar asociadas tanto a la presencia de bajo volumen renal como a la exposición a fluoruros.



**Figura 19.** PCA de la comparación entre los grupos BVR/NF vs. CTRL/NF. Se observa mayor variabilidad en los datos, la cual, al tratarse de pacientes no expuestos a fluoruros, podría estar más relacionada con el desarrollo renal que con la exposición ambiental.



**Figura 20.** PCA de la comparación entre los grupos BVR/F vs. CTRL/F. Se observa una agrupación más definida, con únicamente una muestra compartida entre ambos grupos. Esta distribución sugiere que la exposición a fluoruros influye de manera importante en la variabilidad de los perfiles de metilación, independientemente de la presencia de bajo volumen renal.

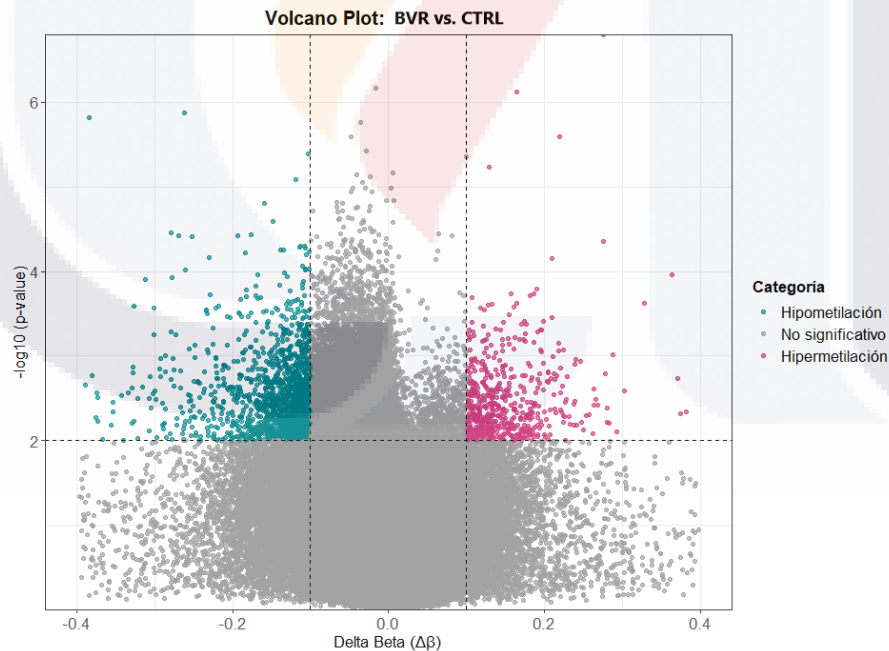


**Figura 21.** PCA de la comparación entre los grupos BVR/F vs. CTRL/NF. Se observa una diferencia marcada en los perfiles de metilación entre ambos grupos, lo que refuerza la influencia de la exposición a fluoruros como un factor determinante en las modificaciones epigenéticas observadas.

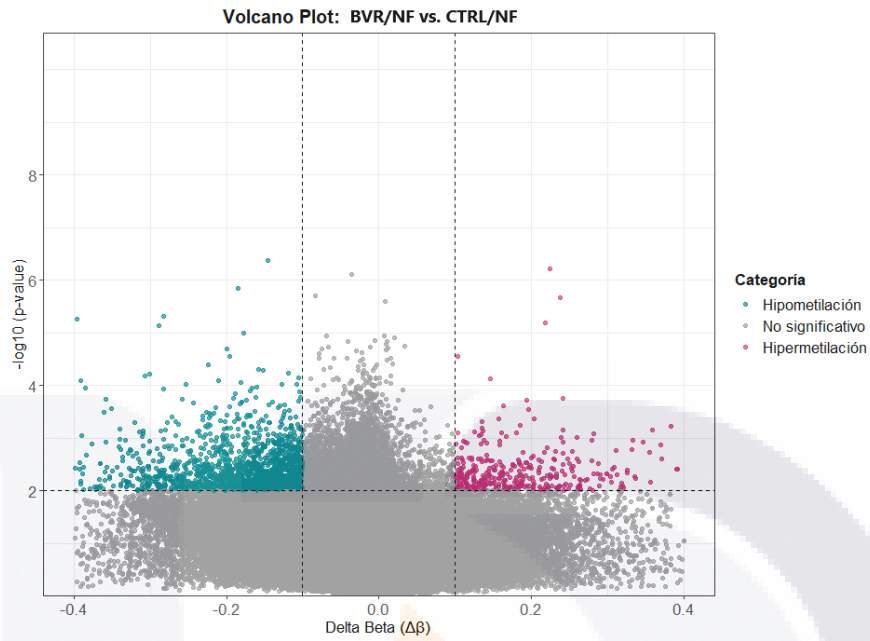
### 11.5.3 Sitios CpG diferencialmente metilados

Los sitios CpG diferencialmente metilados (DMC) se identificaron a partir de las comparaciones previamente descritas, utilizando gráficos de volcanes. Se consideraron como criterios de significancia un valor de p ajustado por tasa de descubrimiento falso (FDR)  $< 0.01$  y una diferencia en metilación ( $\Delta\beta$ )  $\geq 0.1$ .

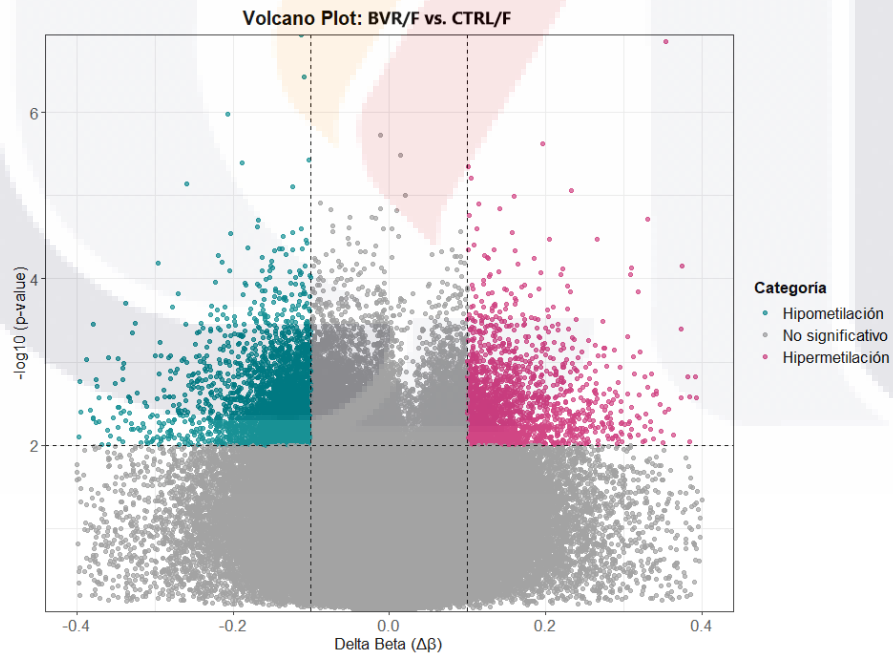
La comparación global entre BVR vs. CTRL, se identificaron 2,201 DMC, de los cuales 1,621 correspondieron a sitios hipometilados y 580 a sitios hipermetilados (Figura 22). En el análisis estratificado, la comparación BVR/NF vs. CTRL/NF mostró 1,964 DMC (1,592 hipometilados y 372 hipermetilados) (Figura 23), mientras que BVR/F vs. CTRL/F presentó 6,222 DMC (4,190 hipometilados y 2,032 hipermetilados) (Figura 24). La comparación de los grupos extremos (BVR/F vs. CTRL/NF) mostró el mayor número de sitios diferencialmente metilados, con un total de 7,540 DMC, de los cuales 6,635 fueron hipometilados y 905 hipermetilados (Figura 25). En todas las comparaciones se observó un predominio de hipometilación, así como un incremento en el número de sitios afectados en los grupos con exposición a fluoruro.



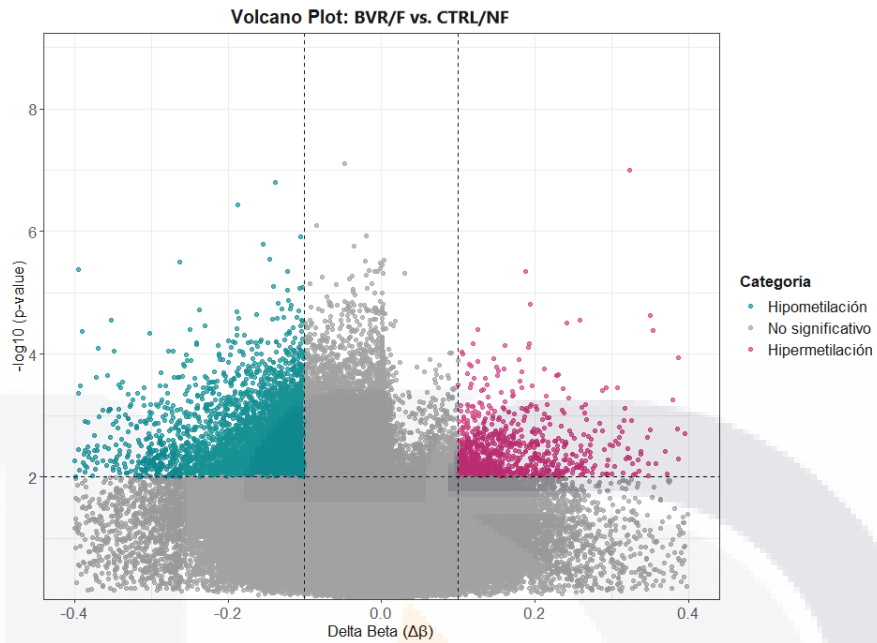
**Figura 22.** Gráfico de volcán de la comparación de BVR vs. CTRL. Total de DMC: 2,201 (Hipometilados 1,621 sitios; Hipermetilados 580 sitios) con predominio de hipometilación. Valores de cambio de metilación de -0.94 a 0.87.



**Figura 23.** Gráfico de volcán de la comparación de BVR/NF vs. CTRL/NF. Total de DMC: 1,964 (Hipometilados 1,592 sitios; Hipermetilados 372 sitios) predominando la hipometilación. Valores de cambio de metilación de -0.83 a 0.93.



**Figura 24.** Gráfico de volcán de la comparación de BVR/F vs. CTRL/F. Total de DMC: 6,222 (Hipometilados 4,190 sitios; Hipermetilados 2,032 sitios). Predominio de hipometilación. Valores de cambio de metilación de -0.93 a 0.86.

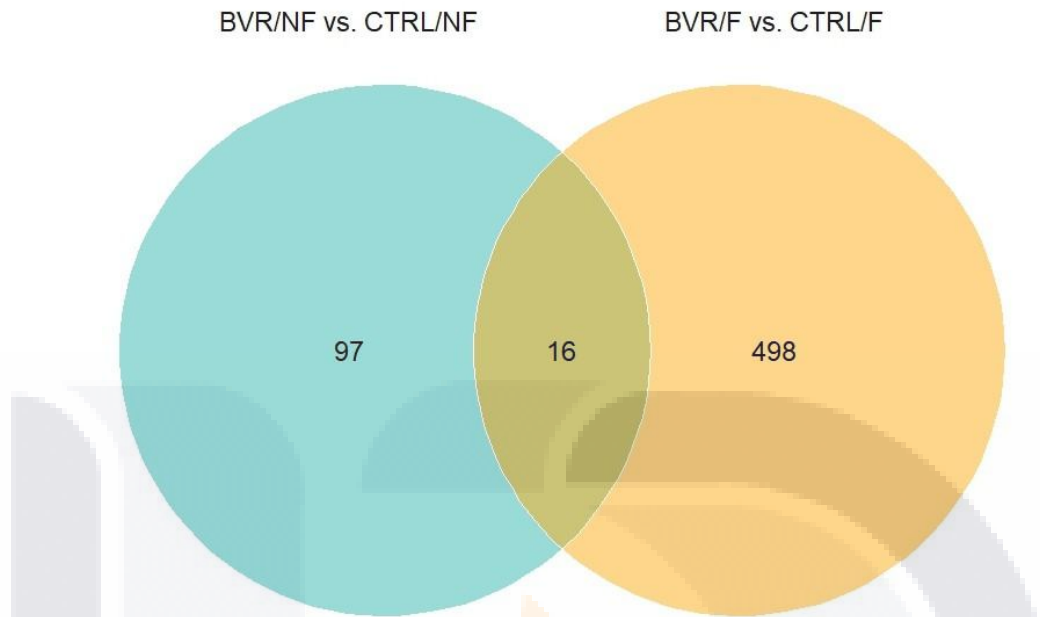


**Figura 25.** Gráfico de volcán de la comparación de BVR/F vs. CTRL/NF. Total de DMC: 7,540 (Hipometilados 6,635 sitios; Hipermetilados 905 sitios). Predominio de hipometilación. Valores de cambio de metilación de -0.93 a 0.88.

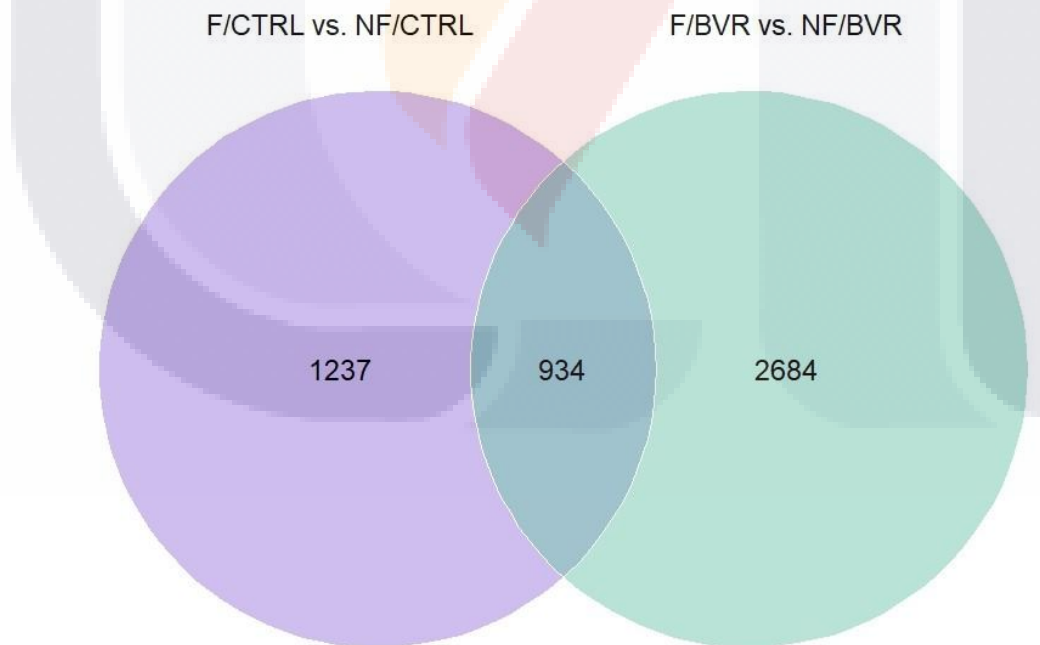
### 11.5.4 Genes diferencialmente metilados

A partir de los sitios CpG diferencialmente metilados identificados en las comparaciones previamente descritas, se identificaron DMG mediante el análisis bioinformático. En primer lugar, se evaluó el efecto del volumen renal en presencia y ausencia de exposición a fluoruros. En la comparación entre individuos con BVR y CTRL sin exposición (BVR/NF vs. CTRL/NF), se identificaron 97 DMG, mientras que en la comparación entre individuos con BVR y CTRL con exposición (BVR/F vs. CTRL/F) se identificaron 498 genes, con una intersección de 16 genes compartidos entre ambas condiciones (Figura 26).

Posteriormente, se analizó el efecto de la exposición a fluoruros dentro de cada grupo. En la comparación entre individuos expuestos y no expuestos dentro del grupo control (F/CTRL vs. NF/CTRL), se identificaron 1,237 DMG, mientras que en el grupo de BVR (F/BVR vs. NF/BVR) se identificaron 2,684 genes, con 934 genes compartidos entre ambas comparaciones (Figura 27).

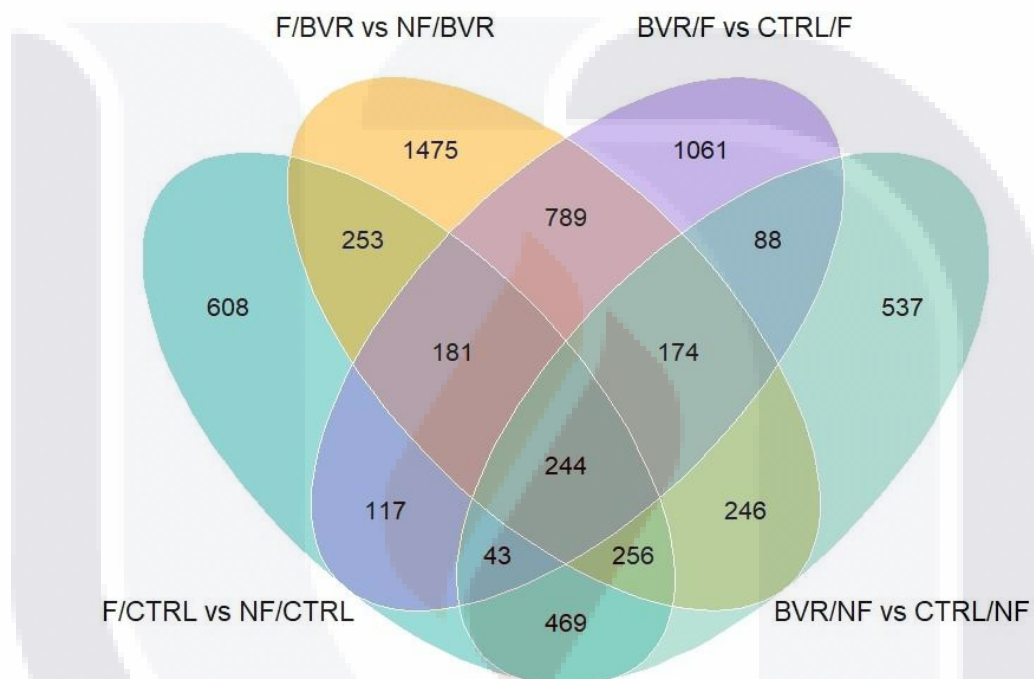


**Figura 26.** Diagrama de Venn de DMG según volumen renal. Intersección de DMG entre las comparaciones BVR/NF vs. CTRL/NF y BVR/F vs. CTRL/F. Se identificaron 16 genes compartidos entre ambas condiciones.



**Figura 27.** Diagrama de Venn de DMG según exposición a fluoruro. Intersección de DMG entre las comparaciones F/CTRL vs. NF/CTRL y F/BVR vs. NF/BVR. Se identificaron 934 genes compartidos entre ambas condiciones.

Finalmente, se realizó un análisis integral considerando las comparaciones previas (BVR/NF vs. CTRL/NF, BVR/F vs. CTRL/F, F/CTRL vs. NF/CTRL y F/BVR vs. NF/BVR). Mediante un diagrama de Venn de cuatro grupos, se identificó un grupo común de 244 DMG de manera consistente entre todas las condiciones analizadas (Figura 28). Este conjunto representa una firma epigenética compartida asociada tanto al volumen renal como a la exposición a fluoruros.



**Figura 28.** Diagrama de Venn de integración de comparaciones estratificadas. Intersección de DMG entre las comparaciones BVR/NF vs. CTRL/NF, BVR/F vs. CTRL/F, F/CTRL vs. NF/CTRL y F/BVR vs. NF/BVR.

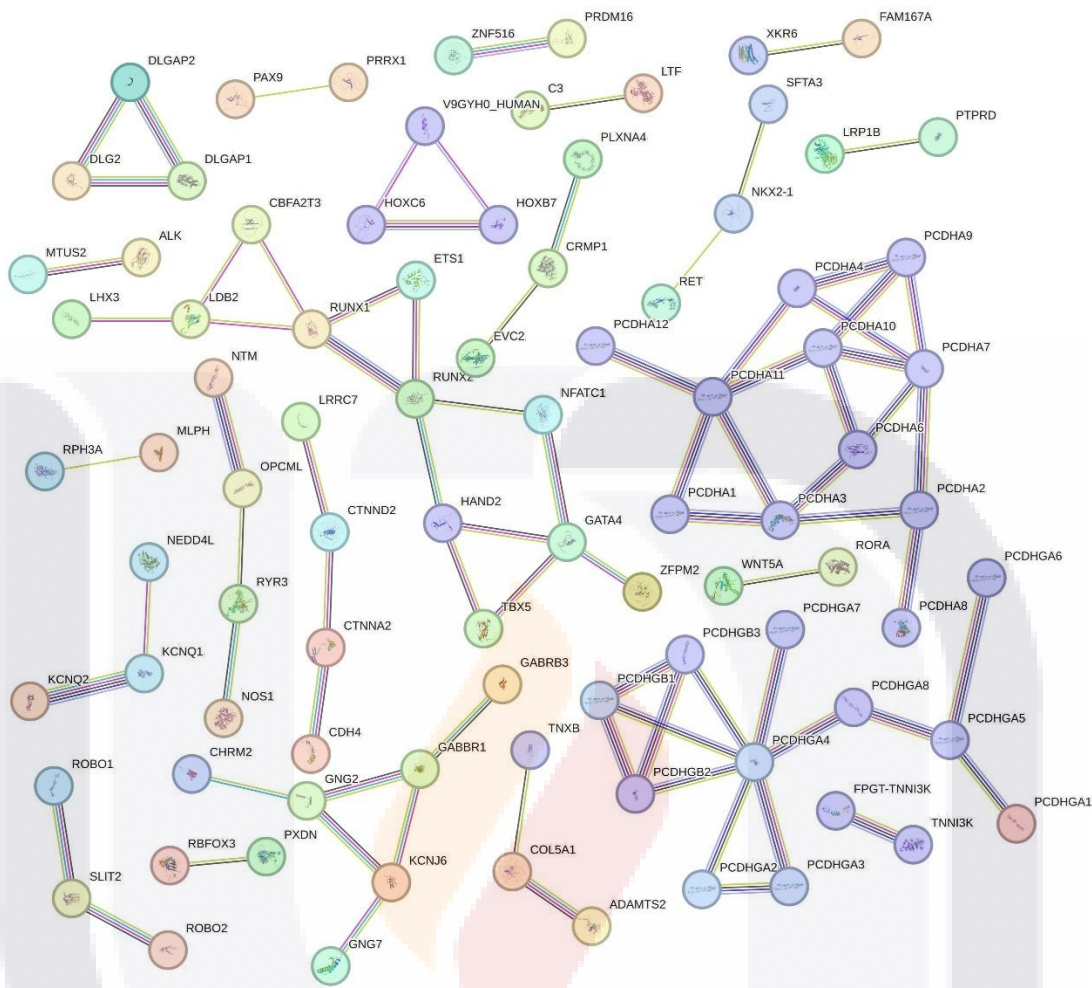
Dentro de estos genes, destacó la presencia de genes pertenecientes a los clústeres de protocadherinas (PCDHA, PCDHGA y PCDHGB), lo que sugiere una fuerte participación de genes relacionados con la adhesión celular. Además, se identificaron genes vinculados con procesos de desarrollo renal, regulación transcripcional, matriz extracelular y vías de señalización, lo que refleja la participación de redes biológicas complejas en la morfogénesis renal (Tabla 12, Figura 29).

**Tabla 12.** Genes diferencialmente metilados en las comparaciones por volumen renal y exposición a fluoruro, y su expresión en tejidos renal y placentario.

Gene	LVK vs. CTRL (NF)	LKV vs. CTRL (F)	F vs. NF (LKV)	F vs. NF (CTRL)	Kidney (nTPM)	Placenta (nTPM)
<b>Protocadherin gene cluster – <math>\alpha</math> subcluster (PCDHA)</b>						
<i>PCDHA1</i>	Up	Down	Down	Down	0.1	0
<i>PCDHA2</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.2	0
<i>PCDHA3</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.6	0
<i>PCDHA4</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.4	0.1
<i>PCDHA5</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.1	0
<i>PCDHA6</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.4	0
<i>PCDHA7</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.2	0
<i>PCDHA8</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0	0
<i>PCDHA9</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0	0
<i>PCDHA10</i>	Up/Down	Down	Down	Down	1.4	0
<i>PCDHA11</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.7	0
<i>PCDHA12</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.6	0
<i>PCDHA13</i>	Up/Down	Down	Down	Down	0.1	0
<b>Protocadherin gene cluster – <math>\beta</math> subcluster (PCDHGB)</b>						
<i>PCDHGB1</i>	Up	Down	Up/Down	Up/Down	0.4	0.2
<i>PCDHGB2</i>	Up	Down	Up/Down	Down	0.6	1.0
<i>PCDHGB3</i>	Up	Down	Up/Down	Down	0.3	0.3
<i>PCDHGB4</i>	Up	Down	Down	Down	1.3	2.8
<b>Protocadherin gene cluster – <math>\gamma</math> subcluster (PCDHGA)</b>						
<i>PCDHGA1</i>	Up	Down	Up	Up/Down	0.2	0.5
<i>PCDHGA2</i>	Up	Down	Up/Down	Up/Down	1.0	0.7
<i>PCDHGA3</i>	Up	Down	Up/Down	Up/Down	0.5	1.6
<i>PCDHGA4</i>	Up	Down	Up/Down	Up/Down	0.4	0.7
<i>PCDHGA5</i>	Up	Down	Down	Down	0.2	0.6
<i>PCDHGA6</i>	Up	Down	Up/Down	Down	0.7	2.1
<i>PCDHGA7</i>	Up	Down	Down	Down	0.5	1.2
<i>PCDHGA8</i>	Up	Down	Down	Down	0	0.2
<b>Kidney development</b>						
<i>PAX2</i>	Up/Down	Down	Up	Up/Down	94.2	0
<i>ROBO2</i>	Down	Down	Up/Down	Down	1.3	3.5
<i>SLIT2</i>	Down	Down	Down	Down	11.5	23.6

<i>RET</i>	Down	Down	Down	Up	0.4	0.3
<i>EVC2</i>	Up/Down	Up/Down	Up	Down	1.2	1.2
<b>Transcription factors</b>						
<i>HOXA3</i>	Up/Down	Down	Down	Up	12.1	0.1
<i>HOXB7</i>	Down	Down	Down	Down	28.7	5.4
<i>HOXC6</i>	Down	Up/Down	Up/Down	Down	20.6	5.3
<i>GATA4</i>	Up	Down	Up/Down	Up/Down	0	6.6
<i>RUNX1</i>	Up/Down	Up/Down	Up/Down	Up/Down	3.5	8.0
<i>RUNX2</i>	Up	Down	Down	Up	1.3	1.4
<i>ETS1</i>	Up/Down	Up	Up/Down	Down	24.6	43.1
<i>TBX5</i>	Down	Up	Up	Down	0	27.0
<i>NFATC1</i>	Down	Down	Up	Down	4.6	3.8
<i>PRDM16</i>	Up/Down	Up	Up	Up	6.8	0.1
<i>BCOR</i>	Up/Down	Down	Up	Up/Down	6.2	11.6
<b>Signaling and extracellular matrix</b>						
<i>WNT5A</i>	Down	Down	Up/Down	Up/Down	2.5	10.2
<i>PXDN</i>	Up/Down	Up/Down	Up/Down	Down	8.2	29.9
<i>COL5A1</i>	Down	Up/Down	Up/Down	Up/Down	10.6	81.5
<i>ADAMTS2</i>	Up	Up	Up/Down	Up/Down	5.6	9.0
<i>ADAMTS16</i>	Up	Down	Down	Down	3.4	0.2
<i>TNXB</i>	Down	Up/Down	Up/Down	Down	11.7	3.6
<i>NXN</i>	Down	Down	Up/Down	Down	14.3	13.6
<i>USP9X</i>	Down	Down	Up	Down	22.5	24.2

**BVR:** bajo volumen renal; **F:** exposición a fluoruro; **NF:** sin exposición a fluoruro; **nTPM:** transcritos normalizados por millón. **Up** = hipermetilación; **Down** = hipometilación; **Up/Down** = presencia de sitios CpG dentro del mismo gen que muestran direcciones opuestas de metilación diferencial en las comparaciones.



**Figura 29.** Red de interacción de los genes diferencialmente compartidos. Red generada mediante STRING a partir de 244 DMG identificados en la integración de comparaciones por volumen renal y exposición a fluoruros. Los nodos representan genes y las conexiones reflejan interacciones funcionales.

### 11.5.5 Análisis de vías y enriquecimiento funcional

El análisis de interacción funcional realizado mediante la plataforma de STRING mostró un enriquecimiento significativo en procesos biológicos relacionados con el desarrollo embrionario, la organogénesis renal y la adhesión celular. Asimismo, se observaron interacciones asociadas con mecanismos de respuesta ambiental y adaptación celular. De forma complementaria, se evaluó la expresión génica de los genes identificados mediante el uso de bases de datos públicas, observándose la expresión de estos genes tanto en tejido placentario como renal, lo que respalda su relevancia biológica en el estudio.

Por otra parte, el análisis de enriquecimiento funcional y ontológico, realizado mediante la plataforma DAVID, mostró una representación significativa de genes involucrados en procesos de adhesión célula-célula dependientes de calcio y dominios relacionados con cadherinas. Además, se identificaron vías de señalización relevantes, entre las que destacan la señalización del calcio y la adhesión focal, las cuales se encuentran asociadas con procesos de desarrollo embrionario, función placentaria y organogénesis renal.

### 11.6. Análisis de expresión génica en amniocitos

#### 11.6.1 Evaluación de la calidad y pureza del ARN

Para la evaluación de la expresión génica de los genes *PAX2*, *RET* y *OSR1*, se obtuvo ARN total a partir de amniocitos provenientes de líquido amniótico. La calidad y pureza del ARN se determinaron mediante espectrofotometría con el equipo NanoDrop 2000. Los valores de absorbancia A260/280 y A260/230 se emplearon como indicadores de pureza. En general, las concentraciones de ARN obtenidas fueron adecuadas; sin embargo, los valores de pureza se encontraron fuera de los rangos óptimos en varias muestras, lo que sugiere la presencia de contaminantes (Tabla 13).

**Tabla 13.** Concentraciones de ARN de muestras de amniocitos de los pacientes elegidos para la medición de *RET*, *PAX2*, *OSR1* (n=8).

Número de muestra	Concentración ng/μl	A260/280	A260/230
ARNm 1	131.6	1.67	0.32
ARNm 2	71.6	1.57	0.29
ARNm 3	126.7	1.62	0.29
ARNm 4	115.9	1.59	0.25
ARNm 5	255.3	1.76	0.41
ARNm 6	85	1.57	0.16
ARNm 7	169	1.56	0.33
ARNm 8	208.2	1.57	0.44

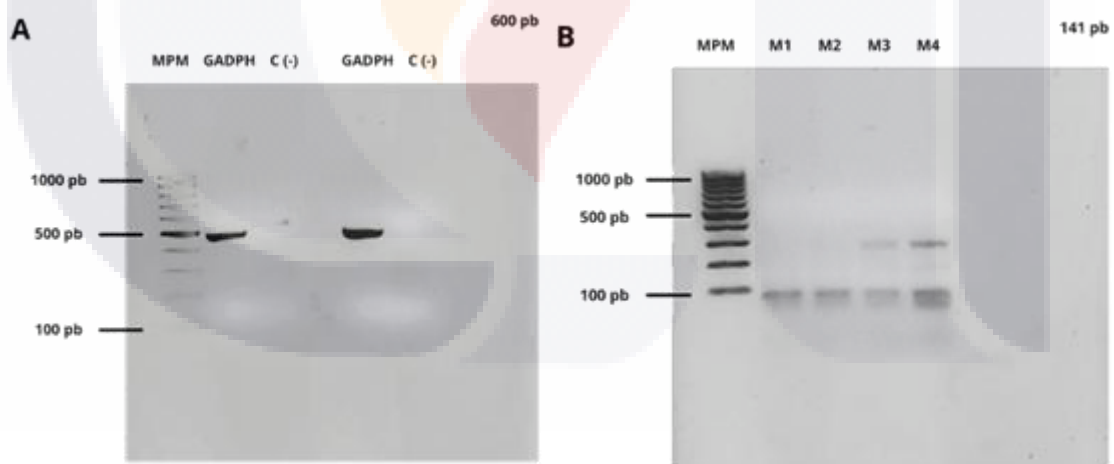
Estas condiciones pueden atribuirse a las características propias del material biológico, ya que los amniocitos presentan dificultades en su homogeneización y se

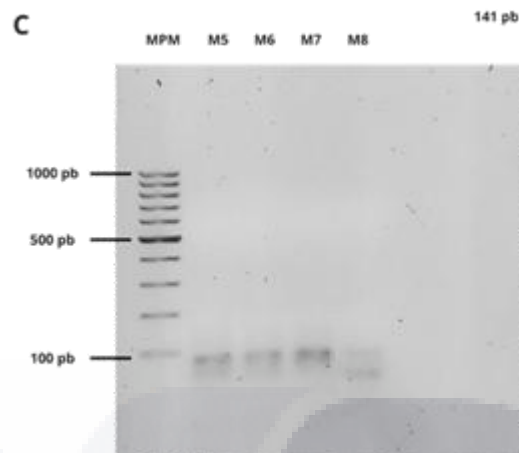
obtienen en cantidades limitadas. Asimismo, el carácter invasivo de la recolección del líquido amniótico restringe la disponibilidad de muestras, lo que limita la repetición de procedimientos de extracción y purificación sin comprometer la integridad del material.

### 11.6.2 Evaluación de la expresión génica mediante PCR punto final

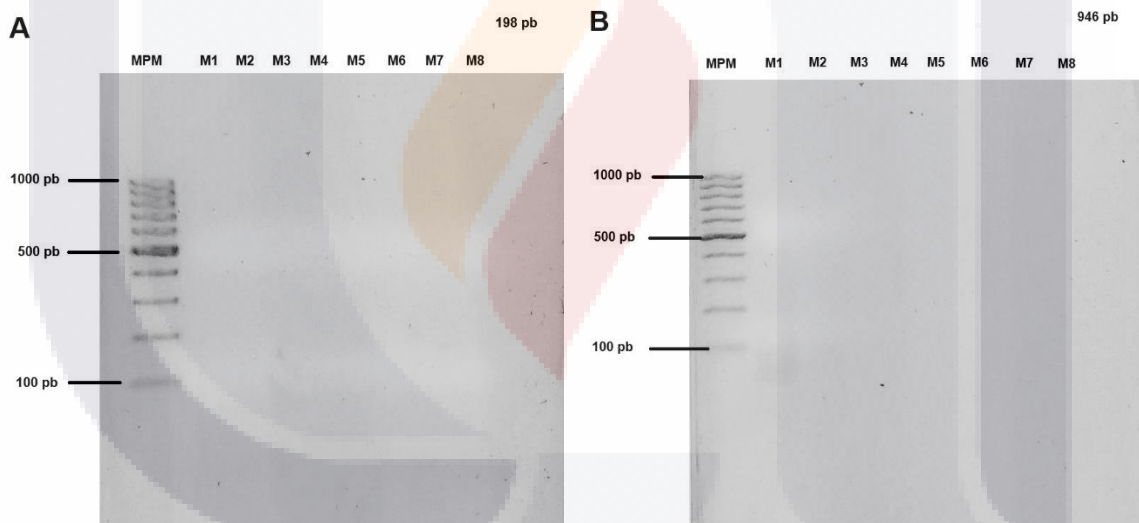
Como análisis preliminar, se realizaron ensayos de PCR punto final con el objetivo de evaluar la presencia de la expresión de los genes *PAX2*, *RET* y *OSR1*. El ARN extraído se utilizó directamente en las reacciones, empleado *GAPDH* como gen constitutivo.

En estos ensayos, únicamente el gen *RET* mostró un amplicón observable en el gel de agarosa, mientras que *PAX2* y *OSR1* no presentaron amplicón visible (Figuras 30 y 31). No obstante, debido a las limitaciones en la calidad del ARN, así como a las dificultades en la estandarización del proceso de extracción y homogeneización, los resultados obtenidos no permitieron una evaluación concluyente de la expresión génica. Estos hallazgos evidencian la necesidad de optimizar las condiciones de extracción y purificación del ARN para su aplicación en análisis posteriores más sensibles, como RT-qPCR. Por lo tanto, los resultados de expresión génica deben interpretarse de manera exploratoria.





**Figura 30.** PCR punto final de GAPDH y RET de amniocitos. A) PCR del gen GAPDH y un control negativo (ddH<sub>2</sub>O). B) PCR del gen RET de muestras de amniocitos de la 1 a 4. C) PCR del gen RET de muestras de amniocitos de las 5 a 8. MPM: marcador de peso molecular; M: muestra; pb: pares de bases.



**Figura 31.** PCR punto final de PAX2 y OSR1 de amniocitos. A) PCR del gen PAX2 de las muestras de amniocitos de la 1 a 8. B) PCR del gen OSR1 de muestras de amniocitos de la 1 a 8. En ambas imágenes se observa la ausencia de expresión de los genes PAX2 y RET, respectivamente. MPM: marcador de peso molecular; M: muestra; pb: pares de bases.

Por lo tanto, estos datos resaltan la importancia de mejorar la técnica de homogeneización y extracción del ARN, así como asegurar la calidad del mismo antes de continuar con los análisis cuantitativos (RT-qPCR), la cual es una parte fundamental para garantizar que los resultados de expresión génica son confiables.

## 12. Discusión

En este trabajo se demostró la presencia de cambios en el patrón de metilación del ADN asociados a genes del desarrollo y maduración renal en mujeres expuestas a xenobióticos ambientales durante la gestación, particularmente al fluoruro. Estos hallazgos refuerzan la hipótesis de que la exposición prenatal a estos compuestos puede influir en la regulación epigenética del riñón y, en consecuencia, en su desarrollo y función.

Los cuestionarios aplicados permitieron identificar diversos factores de riesgo asociados a ERC, incluyendo variables sociodemográficas, comorbilidades, hábitos, antecedentes heredofamiliares, control prenatal y condiciones del entorno. Entre las variables analizadas, el tabaquismo fue el único factor que mostró una diferencia estadísticamente significativa, lo que sugiere su posible contribución como factor de riesgo adicional en esta población.

En relación con la cuantificación de xenobióticos, de los 60 compuestos analizados únicamente el fluoruro en orina materna mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Este hallazgo sugiere un posible papel del fluoruro como modulador epigenético durante la gestación, capaz de inducir modificaciones en el patrón de metilación del ADN.

El análisis exploratorio mediante PCA no escalado mostró una separación entre los perfiles de metilación de los grupos de estudio, lo que sugiere una influencia tanto del volumen renal como de la exposición a fluoruros sobre la variabilidad epigenética. En particular, se observaron diferencias en los patrones de metilación aun en ausencia de exposición a fluoruro (<1.5 mg/L), lo que indica que el bajo volumen renal por sí mismo se asocia con modificaciones epigenéticas. No obstante, la separación entre grupos fue más evidente en presencia de exposición a fluoruros, especialmente en la comparación de los grupos extremos, lo que sugiere un posible efecto potenciador de fluoruro sobre estas alteraciones.

El análisis diferencial de metilación, representado mediante gráficos de volcán, evidenció un predominio de hipometilación en los sitios CpG en todas las comparaciones realizadas, así como un incremento en el número de DMC en los grupos de exposición a fluoruros. De manera complementaria, el análisis mediante diagramas de Venn permitió explorar la contribución independiente y conjunta del volumen renal y la exposición a fluoruros sobre los patrones de metilación. Las comparaciones estratificadas mostraron

conjuntos diferenciales de genes asociados de forma específica al volumen renal y a la exposición ambiental; sin embargo, la integración de todas las comparaciones permitió identificar un conjunto de 244 DMG compartidos entre condiciones. Este hallazgo sugiere la existencia de una firma epigenética común en la que convergen ambos factores, lo que refuerza la hipótesis de un efecto combinado entre la exposición a fluoruros y las alteraciones en el desarrollo renal.

Dentro de esta firma epigenética compartida destacó la presencia de genes pertenecientes a los clústeres de protocadherinas (*PCDHA*, *PCDHGA* y *PCDHGB*), lo que sugiere la participación coordinada de redes de adhesión celular. Estas moléculas desempeñan un papel fundamental en la adhesión célula-célula dependiente de calcio, la organización tisular y la comunicación intercelular durante la organogénesis, además de su interacción funcional con vías como Wnt, implicadas en la organización epitelial y el desarrollo estructural de los órganos (149). En el contexto del desarrollo renal, estos procesos son esenciales para la ramificación del brote ureteral, la segmentación de las nefronas y el mantenimiento de la integridad tisular, lo que respalda la relevancia biológica de estos hallazgos (39,150–153).

De manera adicional, se identificaron genes ampliamente reconocidos por su papel en el desarrollo renal y la determinación del número de nefronas, tales como *PAX2*, *RET*, *ROBO2*, *SLIT2*, *GATA4*, *RUNX2* y *WNT5A*. Estos genes participan en procesos clave como el crecimiento del brote ureteral, el mantenimiento de células progenitoras renales y la organización del patrón renal. Alteraciones en su regulación se han asociado con anomalías congénitas del riñón y del tracto urinario, así como con una menor dotación de nefronas y una mayor susceptibilidad a la enfermedad renal en etapas posteriores de la vida (34,39,129,154). En conjunto, estos hallazgos aportan sustento biológico a la posible relación entre la exposición a fluoruros y modificaciones epigenéticas en vías relevantes para el desarrollo renal.

El análisis de enriquecimiento funcional evidenció la sobrerrepresentación de vías como adhesión focal, señalización del calcio, PI3K-AKT y organización de la matriz extracelular, las cuales están estrechamente relacionadas con procesos de migración celular, diferenciación, supervivencia y remodelación tisular durante el desarrollo renal. Estas vías integran señales fundamentales para el mantenimiento de progenitores renales,

la angiogénesis y las interacciones epitelio-mesénquima, procesos particularmente sensibles durante la etapa prenatal (135,155–159).

Los resultados obtenidos permitieron identificar genes involucrados en procesos críticos de la organogénesis renal que podrían considerarse como candidatos para futuros estudios, incluyendo su posible utilidad como marcadores tempranos de alteraciones en el desarrollo renal. Si bien este estudio se centró en el fluoruro debido a su asociación con el volumen renal en esta población, es importante considerar que los individuos están expuestos de manera simultánea a múltiples xenobióticos ambientales, los cuales podrían actuar de forma conjunta o sinérgica modulando los patrones de metilación del ADN placentario.

Como parte complementaria del estudio, se evaluó la expresión de *PAX2*, *RET* y *OSR1* en ARN de amniocitos mediante PCR punto final. Estos genes son reguladores clave en el desarrollo embrionario renal (34,40,43), por lo que su análisis resulta relevante, dado que el líquido amniótico mantiene una estrecha relación con el riñón fetal y puede constituir una potencial fuente de biomarcadores tempranos de alteraciones renales. Sin embargo, los resultados no fueron concluyentes debido a la baja calidad del ARN aislado, probablemente asociada a dificultades en la homogeneización de la muestra durante el proceso de extracción, lo que resalta la necesidad de optimizar las técnicas de obtención y validación de la expresión génica.

Aunque en este trabajo el análisis se centró en el fluoruro (al ser el único xenobiótico que mostró diferencias estadísticamente significativas en la población de estudio), no es posible atribuirle de manera exclusiva los cambios epigenéticos observados. Las poblaciones humanas están expuestas de manera simultánea a múltiples tóxicos ambientales, cuya interacción puede generar efectos sinérgicos o antagónicos; además, la susceptibilidad de los individuos puede variar, incrementando la vulnerabilidad a determinados compuestos (72,160).

El fluoruro constituye el decimotercer elemento más abundante en la corteza terrestre, siendo el agua la principal fuente dietética de este mineral. En concentraciones adecuadas, desempeña un papel importante en el equilibrio mineral y el crecimiento óseo (161). La fluoración del agua fue considerada uno de los mayores logros en salud pública del siglo XX; sin embargo, estudios recientes han documentado que incluso a dosis relativamente bajas puede generar efectos adversos, incluyendo nefrotoxicidad (162–165). En México,

cerca del 39% del territorio depende de agua subterránea, la cual frecuentemente presenta concentraciones elevadas de minerales; por ello, las normas nacionales e internacionales establecen límites máximos permisibles de 1 mg/L y 1.5 mg/L, respectivamente (82,84,166).

La placenta, al compartir origen embrionario con el feto y actuar como interfase entre el entorno intrauterino y el medio externo, desempeña funciones clave en la protección frente a exposiciones ambientales y en la regulación de la expresión génica. En este tejido pueden reflejarse alteraciones epigenéticas relacionadas con la programación del desarrollo embrionario y la organogénesis (134,167–169). Por lo tanto, representa un modelo biológico idóneo para el análisis de perfiles de metilación. No obstante, es importante considerar que los cambios epigenéticos durante la gestación también responden a las condiciones intrauterinas, dada su alta plasticidad de este tejido (170,171).

La dotación normal de nefronas oscila entre 200 mil y 2.5 millones, y el volumen renal estimado por ecografía se utiliza como un subrogado de este parámetro, ya que la cuantificación directa del número de nefronas es un procedimiento complejo. Las metodologías disponibles para su estimación, como la biopsia renal y la resonancia magnética nuclear, son invasivas y costosas, lo que limita su aplicación en estudios poblacionales. Por ello, resulta fundamental identificar los factores asociados a un percentil bajo en el número de nefronas, y en consecuencia, a un volumen renal reducido, incluso cuando este último se encuentre dentro de los rangos considerados normales. Una baja dotación de nefronas representa, por sí misma, un factor de riesgo para el desarrollo de ERC en etapas posteriores de la vida (28,172). Se estima que solo alrededor del 20% de los casos puede explicarse por alteraciones monogénicas, lo que refuerza la necesidad de investigar el papel de la exposición a tóxicos ambientales y los mecanismos epigenéticos (25,173).

En este contexto, es importante considerar algunas limitaciones del presente estudio. El tamaño de la muestra relativamente reducido podría limitar la generalización de los hallazgos y la potencia estadística para detectar asociaciones adicionales. Asimismo, la exposición a xenobióticos ambientales en la población estudiada es compleja y multifactorial, por lo que no es posible detectar efectos combinados o interacciones entre distintos compuestos. De igual manera, factores maternos no controlados completamente, como el estado nutricional, condiciones metabólicas o variaciones en el entorno intrauterino, podrían influir en los patrones epigenéticos observados.

A pesar de estas limitaciones, existe evidencia científica suficiente que demuestra los efectos nocivos de diversos xenobióticos ambientales sobre la salud, incluidos los riñones. Aunque en poblaciones humanas la evidencia directa aún es limitada, los datos disponibles permiten considerar a estos compuestos, entre ellos el fluoruro, como posibles factores asociados a alteraciones epigenéticas y a la variación en el número de nefronas. En este sentido, resulta relevante aplicar el principio de precaución, el cual establece la necesidad de implementar medidas para prevenir el daño y proteger a la población frente a riesgos ambientales, aun cuando persista cierta incertidumbre científica (174,175).

Ante esta situación, es necesario implementar acciones orientadas a mitigar los posibles efectos de la exposición a tóxicos ambientales, incluyendo el fluoruro, sobre la salud a mediano y largo plazo. Entre estas acciones se encuentran el fortalecimiento de políticas públicas en materia de salud ambiental, así como la educación de la población respecto a los riesgos asociados a dichas exposiciones. De igual manera, es fundamental continuar y ampliar estudios epigenéticos en este campo, con el objetivo de identificar biomarcadores tempranos de daño, incluso desde etapas prenatales.

### **13. Conclusión**

Este estudio demuestra que la exposición materna a fluoruro, en el contexto de exposición a xenobióticos ambientales, se asocia con modificaciones en los patrones de metilación del ADN en tejido placentario. Se identificó una firma epigenética compartida compuesta por 244 genes diferencialmente metilados, destacando la participación de genes de los clústeres de protocadherinas (*PCDHA*, *PCDHGA* y *PCDHGB*) y de genes relacionados con el desarrollo renal, la regulación transcripcional y la señalización celular.

Estas alteraciones sugieren la participación de procesos clave como la adhesión celular y la morfogénesis renal, los cuales podrían contribuir a una menor dotación de nefronas y, en consecuencia, a un mayor riesgo de enfermedad renal crónica en etapas posteriores de la vida. Si bien no es posible atribuir estos cambios a un solo compuesto, los resultados respaldan el papel del fluoruro como un posible modulador epigenético durante la gestación. Por ello, es necesario fortalecer las estrategias de monitoreo ambiental y prevención, así como continuar con estudios que permitan validar estos hallazgos e identificar biomarcadores tempranos de alteraciones en el desarrollo renal.

## Glosario

**Aborto espontáneo:** Pérdida espontánea del embarazo antes de la vigésima semana de gestación.

**Acetonitrilo:** Líquido volátil e incoloro, utilizado como disolvente en cromatografía (HPLC).

**Actividad antibacteriana:** Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento o destruir las bacterias, previniendo así que ocasionen enfermedades.

**Aditivo alimentario:** Sustancia, sin valor nutricional propio, que se añade intencionalmente a los alimentos durante su procesamiento para mejorar su calidad, conservación o presentación, como sabor, color, textura o para aumentar su vida útil.

**ADN:** Ácido desoxirribonucleico; molécula que transporta información genética para el desarrollo y funcionamiento del organismo.

**ADNc:** Molécula de ADN de doble cadena. Una de sus hebras es una secuencia totalmente complementaria de ARN mensajero (ARNm) a partir del cual se ha sintetizado.

**Albuminuria:** Pérdida aumentada de albúmina por la orina. Se define por la excreción de más de 30 mg de albúmina por día.

**Alícuota:** Es una parte que mide exactamente a un todo.

**Amniocitos:** Célula procedente del epitelio amniótico que se encuentra suspendida en el líquido amniótico. Se origina del blastocisto; este a su vez origina epiblastos pluripotenciales, posteriormente los amnioblastos y por último los amniocitos.

**Angiogénesis:** Formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de los ya existentes.

**Años de vida ajustados por discapacidad:** Medida de salud pública que cuantifica la carga de enfermedad en una población, sumando los años de vida perdidos por muerte prematura y los años vividos con alguna discapacidad.

**Apoptosis:** Proceso biológico controlado y genéticamente regulado mediante el cual el cuerpo elimina células innecesarias, dañadas o viejas de manera ordenada, sin generar inflamación ni dañar a las células circundantes.

**ARN:** Sigla de ácido ribonucleico; ácido nucleico similar en estructura al ADN que posibilita la síntesis de proteínas.

**ARNm:** Tipo de ARN de cadena única que participa en la síntesis proteica. El ARNm se genera a partir de una plantilla de ADN durante el proceso de transcripción.

**ARNnc:** ARN no codificante. Moléculas de ARN que no se traducen para formar proteínas.

**Autofagia:** Proceso por el que la célula descompone y destruye proteínas viejas, dañadas o anormales, y otras sustancias en su citoplasma. Los productos de la descomposición se reciclan para funciones celulares importantes, en especial durante períodos de estrés o ayuno.

**Bajo volumen renal:** Tamaño renal reducido establecido como un percentil <10, sin alteraciones en la morfología del riñón.

**Biomarcador:** Característica que se mide objetivamente y se evalúa como indicador de procesos biológicos normales, procesos patogénicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.

**Cistatina C:** Es una proteína de bajo peso molecular usada como marcador de función renal más sensible que la creatinina.

**Cohorte:** Grupo de individuos que comparten una característica común. Es un grupo que forma parte de un ensayo clínico o estudio al que se observa durante un periodo de tiempo.

**Creatinina sérica:** Producto de desecho presente en la sangre proveniente de los músculos.

**Criogenia:** Conjunto de técnicas utilizadas para enfriar un material a temperatura de ebullición del nitrógeno o a temperaturas aún más bajas.

**Cromatina:** Estructura condensada muy organizada compuesta por ADN, ARN y proteínas que da origen a los cromosomas en el núcleo de la célula.

**Defecto congénito:** Alteración anatómica en un órgano o aparato que ocurre en la etapa embrionaria.

**Diabetes mellitus:** Enfermedad metabólica crónica caracterizada por niveles elevados de glucosa en sangre, que con el tiempo conduce a daños graves en el corazón, vasos sanguíneos, ojos, riñones y nervios.

**Diagnóstico molecular:** Proceso que se utiliza para identificar una patología por medio del estudio de las moléculas como ADN, ARN y proteínas de un tejido o líquido corporal.

**Diálisis peritoneal:** Método de sustitución renal para eliminar el exceso de líquidos y productos de desecho del organismo. Utiliza como filtro el peritoneo.

**Displasia renal:** Defecto congénito poco frecuente en el que los riñones, o uno de ellos, no se desarrollan correctamente durante el embarazo.

**Endogamia:** Práctica de contraer matrimonio entre personas de ascendencia común, naturales de una misma localidad o de un grupo social.

**Enfermedad de Hirschsprung:** Defecto congénito en el que faltan ciertas células nerviosas del intestino grueso, por lo que el intestino del infante no puede mover las heces normalmente y se obstruye.

**Enfermedad renal crónica:** se define como la presencia de una alteración estructural o funcional renal que persiste más de tres meses, con o sin deterioro de la función renal.

**Enfermedad renal crónica desconocida:** Enfermedad renal crónica que no está causada por un factor de riesgo típico, como la diabetes mellitus o la hipertensión arterial sistémica.

**Enfermedad renal crónica terminal:** Es la última etapa de la enfermedad renal crónica.

**Enzima:** Catalizador biológico (generalmente una proteína). Actúa acelerando las reacciones químicas específicas en las células sin ser consumida en el proceso.

**Epigenética:** Cambios heredables en la expresión génica que ocurren sin alteración en la secuencia de nucleótidos del ADN. Parte de la biología que estudia los factores no genéticos que existen en el desarrollo del embrión.

**Epigenoma:** Término que significa literalmente “por encima” del genoma. Se compone de compuestos químicos que modifican o marcan el genoma de manera que indica qué hacer, dónde hacerlo y cuándo hacerlo.

**Epigenotipo:** Conjunto de organizadores y relaciones organizativas a los que un tejido determinado está sujeto durante su desarrollo.

**Error cromosómico:** Ausencia, duplicación o formación incorrecta de una parte del cromosoma.

**Especies reactivas de oxígeno:** Moléculas inestables que contienen oxígeno y son altamente reactivas. Pueden causar daño al ADN, proteínas y lípidos, provocando estrés oxidativo y daño celular.

**Estrés oxidativo:** Desequilibrio entre los niveles de antioxidantes y radicales libres presentes en el organismo.

**Etiología:** Parte de la medicina que estudia el origen o las causas de la enfermedad.

**Exposición:** Es el contacto de células de un organismo con una sustancia, microorganismo o radiación.

**Expresión génica:** Es el proceso por el cual la información codificada por un gen se usa para producir moléculas de ARN que codifican para proteínas o para producir moléculas de ARN no codificantes que cumplen otras funciones.

**Extrínseco:** Que es adquirido o superpuesto a la naturaleza propia de algo.

**Factor de transcripción:** Proteína que participa en la regulación de la transcripción del ADN, pero que no forma parte de la ARN polimerasa.

**Fenotipo:** rasgos observables de una persona. Se determina a partir de su composición genómica (genotipo) y factores ambientales.

**Fibrosis:** Aumento patológico del tejido conjuntivo en algún órgano o tejido. Puede producirse por múltiples enfermedades, la mayoría de las veces en respuesta cicatricial normal a una lesión.

**Fluoración del agua:** Adición controlada de flúor al suministro de agua pública hasta alcanzar una concentración óptima para la prevención de caries dental.

**Fluorocromo:** Molécula que absorbe luz de una longitud de onda específica y emite luz a una longitud de onda más larga, un fenómeno llamado fluorescencia.

**Gastrulación:** Proceso vital que tiene lugar durante el desarrollo temprano del embrión donde las células de la blástula se reorganizan para formar tres capas germinales primarias: ectodermo, mesodermo y endodermo.

**Gen:** Secuencia de ADN que constituye la unidad funcional para la transmisión de los caracteres hereditarios.

**Genotipificación:** Procesos de laboratorio que identifican variaciones específicas en el ADN, como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), comparando una secuencia genética con otra o con una referencia para determinar la presencia de ciertas variantes o rasgos.

**Genotipo:** Constitución completa de un individuo. Se usa para referirse al conjunto de alelos presentes en uno o más loci específicos.

**Glomérulo renal:** Unidad funcional del riñón. Racimo pequeño y redondo de vasos sanguíneos en el interior de los riñones. Filtra la sangre para reabsorber materiales útiles y extrae los desperdicios en forma de orina.

**Glomerulomegalia:** Afección médica caracterizada por el agrandamiento de los glomérulos.

**Hemodiálisis:** Tratamiento de sustitución renal en el cual se filtran toxinas y exceso de líquido de la sangre cuando los riñones no funcionan correctamente. Se utiliza un filtro artificial llamado dializador.

**Hibridación (genómica):** Proceso en el que dos moléculas complementarias de una sola hebra de ADN y/o ARN se unen y forman una molécula de doble cadena. La unión depende del apareamiento apropiado de las bases entre las dos moléculas de una sola hebra.

**Hipermetilación:** Tratamiento de sustitución renal que filtra toxinas y el exceso de líquido de la sangre cuando los riñones no funcionan correctamente.

**Hipertensión arterial sistémica:** Enfermedad crónica de etiología multifactorial, que se caracteriza por un aumento sostenido de las cifras de la presión arterial sistólica  $\geq 140$  mmHg y/o de la presión arterial diastólica  $\geq 90$  mmHg.

**Hipometilación:** Fenómeno epigenético que implica una pérdida de grupos metilo en el ADN.

**Hipoplasia renal:** Presencia de riñones pequeños, arquitectónicamente normales, que tienen un número reducido de nefronas.

**Histona:** proteína que proporciona apoyo estructural para un cromosoma.

**Impronta genómica:** Proceso por el cual se expresa solo una copia de un gen de una persona, mientras que la otra copia es suprimida.

**Incidencia:** Número de casos nuevos de una enfermedad que se diagnostican cada año.

**Índice albumina creatinina:** El cociente de la microalbúmina y creatinina que compara la cantidad de albumina con la cantidad de creatinina en la orina.

**Índice de masa corporal:** Es un parámetro que expresa la relación entre la estatura del sujeto y su peso, cuya relación se determina para poder establecer si una persona tiene un peso considerado normal o si se encuentra en sobrepeso u obesidad.

**Intoxicación:** Reacción del organismo a la entrada de una sustancia tóxica que causa lesión o enfermedad y en ocasiones la muerte.

**Isopropanol:** Es un alcohol secundario de 3 carbonos y un único grupo –OH no terminal.

**Letalidad:** Proporción de casos de una enfermedad que resultan mortales con respecto al total de casos en un periodo de tiempo.

**Locus:** Lugar específico donde se localiza o se presenta algo. En genómica, es el sitio en un genoma.

**Mecanismo epigenético:** Proceso que altera la expresión de un gen sin cambiar la secuencia de ADN, actuando como un “interruptor” sobre el código genético.

**Metal:** Elemento químico con la capacidad de conducir calor y electricidad. Poseen alta densidad y suelen ser sólidos a temperaturas normales.

**Metaoide:** Tipo de elemento químico que muestra un comportamiento intermedio entre los metales y los no metales.

**Metilación del ADN:** Marcador epigenético que identifica la cadena molde durante la replicación del ADN y el origen parental de regiones improntadas, regula los transposones, la impronta genómica y la expresión génica.

**Microarreglos:** Tecnología en desarrollo para estudiar la expresión de varios genes a la vez. Consiste en colocar miles de secuencias génicas en lugares determinados sobre un portaobjetos llamado chip. El apareamiento de las bases complementarias entre la muestra y las secuencias de genes en el chip produce una cantidad de luz que se puede medir.

**Microorganismo zoonótico:** Patógeno (como bacteria, virus, hongo o parásito) que se transmite de forma natural de animales a seres humanos, causando una enfermedad conocida como zoonosis.

**Modificación epigenética:** Cambio en la actividad del gen que no altera la secuencia del ADN, sino que afecta la forma en la que los genes se activan o desactivan.

**Monogénico:** Describe un rasgo que está determinado por un gen.

**Morbilidad:** Cantidad de personas que enferman en un lugar y un periodo de tiempo determinados en relación con el total de la población.

**Mortalidad:** Tasa de muertes o número de defunciones en cierto grupo de personas en un periodo determinado.

**Mosaicismo:** Trastorno por el cual un individuo tiene 2 o más poblaciones de células que difieren en su composición genética.

**Muerte fetal:** Muerte del feto durante el embarazo, específicamente después de la semana 20 de gestación y antes del nacimiento.

**Multipotencial:** Son células capaces de producir un rango limitado de linajes de células diferenciadas de acuerdo a su localización.

**Mutación genética:** Cualquier cambio permanente en la secuencia de ADN de una célula.

**Nefrogénesis:** Desarrollo embrionario del riñón. Incluye el desarrollo del pronefros, mesonefros y metanefros durante el periodo embrionario.

**Nefropatía:** Cualquier alteración o enfermedad que afecta los riñones.

**Nefrotóxico:** Toda estructura química que, situada en el sistema renal, es capaz de producir daño y desequilibrios en sus aspectos morfológicos y fisiológicos que conducen a lesión del órgano.

**Neonato:** Recién nacido; comprende las primeras cuatro semanas de la vida de un bebé.

**Obesidad:** Enfermedad crónica compleja que se define por una acumulación excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud.

**Oligohidramnios:** Nivel bajo de líquido amniótico. Cantidad inferior a la esperada para la edad gestacional del bebé.

**Oligonucleótido:** Secuencia corta de ADN sintetizada artificialmente para tener una secuencia corta.

**Osmolaridad:** Medida que expresa el nivel de concentración de los componentes de diversas disoluciones.

**Patrón de metilación:** configuración específica en la que los grupos metilo se unen a la molécula de ADN, regulando la expresión génica y desempeñando funciones celulares esenciales como la diferenciación y el desarrollo.

**Percentil:** Medida de posición usada en estadística que indica el valor de la variable por debajo del cual se encuentra un porcentaje dado de observaciones en un grupo.

**Pesticida:** Sustancia o mezcla de sustancias cuyo objetivo es prevenir, destruir o repeler o controlar una plaga.

**Polihidramnios:** Es la acumulación excesiva de líquido amniótico.

**Postranscripcional:** Es el control del procesamiento del ARN, por lo tanto, se produce entre las etapas de transcripción genética y la traducción del gen.

**Preeclampsia:** Trastorno del embarazo caracterizado por hipertensión arterial de nueva aparición, acompañado de proteinuria, después de la semana 20 de gestación.

**Prematuridad:** Condición en la que un bebé nace antes de la semana 37 de gestación.

**Prevalencia:** Medida del número total de personas en un grupo específico que tienen (o tuvieron) cierta enfermedad, afección o factor de riesgo en un momento específico o durante un periodo determinado.

**Proteinuria:** Presencia en orina de proteínas en una cantidad superior a la normal.

**Región promotora:** Segmento de ADN, ubicado al inicio de un gen, que funciona como un elemento regulador de la transcripción.

**Restricción del crecimiento intrauterino:** Condición en la que un feto crece menos de lo esperado durante el embarazo, resultando en un tamaño más pequeño de lo normal para su edad gestacional.

**RNA later:** Solución acuosa estabilizadora no tóxica que penetra rápidamente en la mayoría de los tejidos para estabilizar y proteger el ARN celular in situ en las muestras frescas, eliminando la necesidad de congelar inmediatamente.

**Síndrome de hipoventilación central:** Trastorno genético poco común en el que el cerebro no controla adecuadamente la respiración, resultando en una ventilación inadecuada durante el sueño y, en casos graves, también durante la vigilia.

**Sitio CpG:** Secuencia de ADN donde un nucleótido de citosina es seguido por un nucleótido de guanina, unidos por un grupo fosfato.

**Sobrepeso:** Afección médica definida por un peso corporal superior al saludable, caracterizada principalmente por un exceso de grasa corporal.

**Susceptibilidad genética:** Aumento de la probabilidad o posibilidad de contraer una enfermedad específica debido a la presencia de una o más variantes genéticas o por una historia familiar que indica un aumento en el riesgo de la enfermedad.

**Sustancia citotóxica:** Sustancia que elimina células o tejidos.

**Sustancia genotóxica:** Sustancia dañina para el ADN. Pueden unirse directamente al ADN o actuar directamente mediante la afectación de las enzimas involucradas en la replicación del ADN.

**Sustancia psicoactiva:** Medicamento o sustancia que afecta el funcionamiento del encéfalo y provoca cambios en el estado de ánimo, la percepción, los pensamientos, sentimientos o el comportamiento.

**Tasa de filtración glomerular:** Es el fluido filtrado por la unidad de tiempo desde los capilares glomerulares renales hacia el interior de la cápsula de Bowman.

Tecnología ómica:

**Teratógeno:** Agente capaz de causar un defecto congénito. Generalmente, se trata de algo parte del ambiente al que se está expuesta la madre durante el embarazo.

**Traducción genética:** Proceso por el cual la información codificada en el ARNm dirige la adición de aminoácidos durante la síntesis proteica.

**Transcripción génica:** Proceso biológico fundamental en el que una célula crea una copia de ARN a partir de una secuencia específica de ADN.

**TRizol:** Es un reactivo completo listo para usar diseñado para el aislamiento de ARN total de alta calidad o el aislamiento simultáneo de ARN, ADN y proteínas a partir de una variedad de muestras biológicas.

**Variable:** Es una característica de una muestra o población de datos que puede adoptar diferentes valores.

**Vasculogénesis:** Formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de células progenitoras que se diferencian *in situ* durante el desarrollo embrionario.

**Xenobiótico:** Sustancia que no se encuentra de forma natural en el organismo. Sustancia química que es ajena a los organismos de un ecosistema.

## Referencias bibliográficas

1. Wang X, Sial MU, Bashir MA, Bilal M, Raza QUA, Raza HMA, et al. Pesticides Xenobiotics in Soil Ecosystem and Their Remediation Approaches. *Sustain* 2022, Vol 14, Page 3353 [Internet]. 2022 Mar 12 [cited 2023 Mar 6];14(6):3353. Available from: <https://www.mdpi.com/2071-1050/14/6/3353/htm>
2. Pollard KM, Christy JM, Cauvi DM, Kono DH. Environmental Xenobiotic Exposure and Autoimmunity. *Curr Opin Toxicol* [Internet]. Aug [cited 2023 Mar 6];10:15. Available from: [/pmc/articles/PMC5831116/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5831116/)
3. Štefanac T, Grgas D, Dragičević TL. Xenobiotics—Division and Methods of Detection: A Review. *J Xenobiotics* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Mar 7];11(4):130. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8628977/>
4. Kim KH, Kabir E, Jahan SA. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Sci Total Environ*. 2017 Jan 1;575:525–35.
5. Gutierrez-Peña M, Zuñiga-Macias L, Marin-Garcia R, Ovalle-Robles I, García-Díaz AL, Macías-Guzmán MJ, et al. High prevalence of end-stage renal disease of unknown origin in Aguascalientes Mexico: role of the registry of chronic kidney disease and renal biopsy in its approach and future directions. *Clin Kidney J* [Internet]. 2021 [cited 2021 Feb 5];14(4):1197–206. Available from: <https://academic.oup.com/ckj/article/14/4/1197/6100975>
6. Macias Diaz DM, Del M, Aguirre CC, Lilian A, Escalera R, Tiscareño Gutiérrez MT, et al. Histologic characterization and risk factors for persistent albuminuria in adolescents in a region of highly prevalent end-stage renal failure of unknown origin. *Clin Kidney J* [Internet]. 2022 Jan 14 [cited 2022 Feb 20]; Available from: <https://academic.oup.com/ckj/advance-article/doi/10.1093/ckj/sfac018/6507572>
7. Good PI, Li L, Hurst HA, Herrera IS, Xu K, Rao M, et al. Low nephron endowment increases susceptibility to renal stress and chronic kidney disease. *JCI Insight* [Internet]. 2023 Feb 8 [cited 2023 Oct 26];8(3):e161316. Available from: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.161316DS1>
8. Krause M, Rak-Raszewska A, Pietilä I, Quaggin SE, Vainio S. Signaling during Kidney Development. *Cells* [Internet]. 2015 Apr 10 [cited 2025 Aug 20];4(2):112. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4493451/>

9. Lawrence Brody. Gene expression [Internet]. National Human Genome Research Institute. 2023 [cited 2023 Feb 16]. Available from: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Gene-Expression>
10. Signor SA, Nuzhdin S V. The evolution of gene expression in cis and trans. *Trends Genet* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2023 Feb 17];34(7):532. Available from: [/pmc/articles/PMC6094946/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35444446/)
11. Ravaei A, Emanuele M, Nazzaro G, Fadiga L, Rubini M. Placental DNA methylation profile as predicting marker for autism spectrum disorder (ASD). *Mol Med* [Internet]. 2023 Dec 1 [cited 2025 Mar 21];29(1):8. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9843962/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39843962/)
12. Wang C, Zhang Z, Yao H, Zhao F, Wang L, Wang X, et al. Effects of atrazine and chlorpyrifos on DNA methylation in the liver, kidney and gill of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicol Environ Saf* [Internet]. 2014 [cited 2023 Mar 7];108:142–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25062446/>
13. Mortillo M, Marsit CJ. Select early-life environmental exposures and DNA methylation in the placenta. *Curr Environ Heal reports* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2025 Mar 21];10(1):22. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10152976/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3610152976/)
14. Chatterjee S, Ouidir M, Tekola-Ayele F. Genetic and in utero environmental contributions to DNA methylation variation in placenta. *Hum Mol Genet* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2025 Mar 21];30(21):1968. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8522638/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/368522638/)
15. Stoccoro A, Nicoli V, Coppedè F, Grossi E, Fedrizzi G, Menotta S, et al. Prenatal Environmental Stressors and DNA Methylation Levels in Placenta and Peripheral Tissues of Mothers and Neonates Evaluated by Applying Artificial Neural Networks. *Genes (Basel)* [Internet]. 2023 Apr 1 [cited 2025 Mar 21];14(4):836. Available from: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10138241/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3910138241/)
16. De Santiago-Rodríguez KV, Peregina-Lucano AA, Jaramillo-Arriaga F, Helguera-Gomez EO, Ibarra-Orenday D, González-Domínguez SI, et al. Association of perinatal exposition to xenobiotics with kidney volume at birth. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2024;(October):1–13. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/39444075>

17. Rehman S, Ahmed D. Embryology, Kidney, Bladder, and Ureter. StatPearls [Internet]. 2022 Aug 8 [cited 2023 Mar 21]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547747/>
18. Sulemanji M, Vakili K. Neonatal renal physiology. Semin Pediatr Surg. 2013 Nov 1;22(4):195–8.
19. Hsu CN, Tain YL. The First Thousand Days: Kidney Health and Beyond. Healthc 2021, Vol 9, Page 1332 [Internet]. 2021 Oct 6 [cited 2023 Nov 30];9(10):1332. Available from: <https://www.mdpi.com/2227-9032/9/10/1332/htm>
20. Kanzaki G, Tsuboi N, Shimizu A, Yokoo T. Human nephron number, hypertension, and renal pathology. Anat Rec [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2023 Mar 21];303(10):2537–43. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ar.24302>
21. Haruhara K, Kanzaki G, Tsuboi N. Nephrons, podocytes and chronic kidney disease: Strategic antihypertensive therapy for renoprotection. 2022 [cited 2023 Oct 26];46(2). Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9899692/>
22. Gubhaju L, Sutherland MR, Horne RSC, Medhurst A, Kent AL, Ramsden A, et al. Assessment of renal functional maturation and injury in preterm neonates during the first month of life. Am J Physiol - Ren Physiol [Internet]. 2014 Jul 15 [cited 2023 Mar 21];307(2):149–58. Available from: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajprenal.00439.2013>
23. Kanzaki G, Tsuboi N, Haruhara K, Koike K, Ogura M, Shimizu A, et al. Factors associated with a vicious cycle involving a low nephron number, hypertension and chronic kidney disease. Hypertens Res 2015 3810 [Internet]. 2015 Jun 18 [cited 2023 Oct 26];38(10):633–41. Available from: <https://www.nature.com/articles/hr201567>
24. Bonsib SM. Renal Hypoplasia, From Grossly Insufficient to Not Quite Enough: Consideration for Expanded Concepts Based Upon the Author’s Perspective With Historical Review. Adv Anat Pathol [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2025 Jun 4];27(5):311. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7458098/>
25. Murugapoopathy V, Gupta IR. A Primer on Congenital Anomalies of the Kidneys

- and Urinary Tracts (CAKUT). Clin J Am Soc Nephrol [Internet]. 2020 May [cited 2023 Mar 22];15(5):723. Available from:  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7269211/>
26. Alcalde-Ortiz ML, Jaramillo-Arriaga F, Ibarra-Orenday D, González-Domínguez SI, Calzada-Gallegos HD, Pinales-Jiménez AA, et al. Pediatric kidney dimensions and risk of persistent albuminuria in Mexican adolescents. Kidney Int [Internet]. 2024 Apr 1 [cited 2024 Feb 7];105(4):824–34. Available from: <http://www.kidney-international.org/article/S0085253824000176/fulltext>
  27. Cain JE, Di Giovanni V, Smeeton J, Rosenblum ND. Genetics of Renal Hypoplasia: Insights Into the Mechanisms Controlling Nephron Endowment. Pediatr Res 2010 682 [Internet]. 2010 [cited 2023 Oct 28];68(2):91–8. Available from:  
<https://www.nature.com/articles/pr2010138>
  28. Luyckx VA, Shukha K, Brenner BM. Low Nephron Number and Its Clinical Consequences. Rambam Maimonides Med J [Internet]. 2011 Oct 31 [cited 2023 Oct 26];2(4):e0061. Available from: </pmc/articles/PMC3678805/?report=abstract>
  29. Capone VP, Morello W, Taroni F, Montini G. Genetics of Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract: The Current State of Play. Int J Mol Sci [Internet]. 2017 Apr 11 [cited 2023 Oct 28];18(4). Available from: </pmc/articles/PMC5412380/>
  30. Li SY, Park J, Guan Y, Chung K, Shrestha R, Palmer MB, et al. DNMT1 in Six2 progenitor cells is essential for transposable element silencing and kidney development. J Am Soc Nephrol [Internet]. 2019 Apr 1 [cited 2023 Oct 28];30(4):594–609. Available from: </pmc/articles/PMC6442333/>
  31. Wang S, Zha L, Cui X, Yeh Y Te, Liu R, Jing J, et al. Epigenetic Regulation of Hepatic Lipid Metabolism by DNA Methylation. Adv Sci [Internet]. 2023 Jul 18 [cited 2025 Mar 24];10(20):2206068. Available from:  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10369300/>
  32. Muntean C, Chirtes C, Baczoni B, Banescu C. PAX2 Gene Mutation in Pediatric Renal Disorders—A Narrative Review. Int J Mol Sci [Internet]. 2023 Aug 1 [cited 2023 Dec 11];24(16). Available from: </pmc/articles/PMC10454596/>
  33. Harshman LA, Brophy PD. PAX2 in human kidney malformations and disease. Pediatr Nephrol [Internet]. 2012 Aug 3 [cited 2025 Mar 24];27(8):1265–75. Available

from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00467-011-2053-0>

34. Yamamura Y, Furuichi K, Murakawa Y, Hirabayashi S, Yoshihara M, Sako K, et al. Identification of candidate PAX2-regulated genes implicated in human kidney development. *Sci Reports* 2021 111 [Internet]. 2021 Apr 27 [cited 2025 Mar 24];11(1):1–13. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-88743-1>
35. Jerman S, Sun Z. Using Zebrafish to Study Kidney Development and Disease. *Curr Top Dev Biol*. 2017;124:41–79.
36. Takahashi M, Miyazono K. RET receptor signaling: Function in development, metabolic disease, and cancer. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* [Internet]. 2022 [cited 2025 Mar 24];98(3):112. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8948417/>
37. Jeanpierre C, Macé G, Parisot M, Morinière V, Pawtowsky A, Benabou M, et al. RET and GDNF mutations are rare in fetuses with renal agenesis or other severe kidney development defects. *J Med Genet* [Internet]. 2011 Jul 1 [cited 2025 Mar 24];48(7):497–504. Available from: <https://jmg.bmj.com/content/48/7/497>
38. Kuure S, Sainio K, Vuolteenaho R, Ilves M, Wartiovaara K, Immonen T, et al. Crosstalk between Jagged1 and GDNF/Ret/GFR $\alpha$ 1 signalling regulates ureteric budding and branching. *Mech Dev*. 2005 Jun 1;122(6):765–80.
39. Luyckx VA, Brenner BM. Clinical consequences of developmental programming of low nephron number. *Anat Rec* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2023 Oct 28];303(10):2613–31. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/ar.24270>
40. Zhang Z, Quinlan J, Hoy W, Hughson MD, Lemire M, Hudson T, et al. A common RET variant is associated with reduced newborn kidney size and function. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2008 Oct [cited 2023 Oct 28];19(10):2027–34. Available from: [https://journals.lww.com/jasn/fulltext/2008/10000/a\\_common\\_ret\\_variant\\_is\\_associated\\_with\\_reduced.24.aspx](https://journals.lww.com/jasn/fulltext/2008/10000/a_common_ret_variant_is_associated_with_reduced.24.aspx)
41. Xu J, Liu H, Park JS, Lan Y, Jiang R. Osr1 acts downstream of and interacts synergistically with Six2 to maintain nephron progenitor cells during kidney organogenesis. *Dev* [Internet]. 2014 Apr 1 [cited 2023 Oct 28];141(7):1442–52.

Available from: /pmc/articles/PMC3957368/

42. Schreiber J, Liaukouskaya N, Fuhrmann L, Hauser AT, Jung M, Huber TB, et al. Bet proteins regulate expression of *osr1* in early kidney development. *Biomedicines* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Mar 24];9(12):1878. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8698285/>
43. Xu J, Liu H, Chai OH, Lan Y, Jiang R. *Osr1* Interacts Synergistically with *Wt1* to Regulate Kidney Organogenesis. *PLoS One* [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2025 Mar 24];11(7):e0159597. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4956120/>
44. Conde SG, Castaño AG, Madariaga L. Revisión Alteraciones moleculares y ambientales implicadas en el desarrollo de las anomalías renales congénitas. 2023;1(5):132–40.
45. Sociedad Española de Nefrología. Documento de la Sociedad Española de Nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica. *Rev Nefrol*. 2014;34(3):273–424.
46. Versino E, Piccoli GB. Chronic Kidney Disease: The Complex History of the Organization of Long-Term Care and Bioethics. Why Now, More Than Ever, Action is Needed. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2019 Mar 1 [cited 2023 Feb 22];16(5). Available from: /pmc/articles/PMC6427524/
47. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Anemia Work Group. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Vol. 105, Official Journal of the International Society of Nephrology. 2023.
48. OPS. Carga de Enfermedades Renales - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. 2023 [cited 2023 Nov 29]. Available from: <https://www.paho.org/es/enlace/carga-enfermedades-renales>
49. Jojoa JA, Bravo C, Vallejo C. Clasificación práctica de la enfermedad renal crónica 2016: una propuesta. *Repert Med y Cirugía* [Internet]. 2016;25(3):192–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reper.2016.10.003>
50. Romagnani P, Remuzzi G, Glasscock R, Levin A, Jager KJ, Tonelli M, et al. Chronic kidney disease. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2017 Nov 23 [cited 2021 Feb 10];3(1):1–24. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrdp201788>

51. Tzanakaki E, Boudouri V, Stavropoulou A, Stylianou K, Rovithis M, Zidianakis Z. Causes and complications of chronic kidney disease in patients on dialysis. *Heal Sci J*. 2014;8(3):343–9.
52. Matovinović MS. 1. Pathophysiology and Classification of Kidney Diseases. *EJIFCC* [Internet]. 2009 Apr [cited 2020 Sep 30];20(1):2–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27683321>
53. Ingelfinger JR, Kalantar-Zadeh K, Schaefer F. Averting the legacy of kidney disease: Focus on childhood. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(3):327–31.
54. Handelsman Y, Butler J, Bakris GL, DeFronzo RA, Fonarow GC, Green JB, et al. Early intervention and intensive management of patients with diabetes, cardiorenal, and metabolic diseases. *J Diabetes Complications*. 2023 Feb 1;37(2):108389.
55. Zhang N, Liu X, Wang L, Zhang Y, Xiang Y, Cai J, et al. Lifestyle factors and their relative contributions to longitudinal progression of cardio-renal-metabolic multimorbidity: a prospective cohort study. *Cardiovasc Diabetol* [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2025 Mar 14];23(1):265. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11264843/>
56. González LM, Robles NR, Mota-Zamorano S, Valdivielso JM, González-Rodríguez L, López-Gómez J, et al. Influence of variability in the cyclooxygenase pathway on cardiovascular outcomes of nephrosclerosis patients. *Sci Reports* 2023 131 [Internet]. 2023 Jan 23 [cited 2025 Mar 15];13(1):1–11. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-022-27343-z>
57. Gutiérrez Sánchez D, Leiva Santos J, Sánchez Hernández R, Gómez García R. Prevalencia y evaluación de síntomas en enfermedad renal crónica avanzada. *Enferm Nefrol*. 2015;18(228–236).
58. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Informe al Ejecutivo Federal y al Congreso de la Unión sobre la situación financiera y los riesgos del Instituto Mexicano del Seguro Social 2024-2025 [Internet]. 2025. Available from: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/pdf/informes/20242025/19-informe-completo.pdf>
59. Annual Data Report | USRDS. International Comparisons [Internet]. End Stage Renal Disease: Chapter 11. 2022 [cited 2023 Feb 2]. Available from: <https://usrds->

- adr.niddk.nih.gov/2022/end-stage-renal-disease/11-international-comparisons
60. Kovesdy CP. Epidemiology of chronic kidney disease: an update 2022. *Kidney Int Suppl* [Internet]. 2022 Apr 1 [cited 2023 Mar 9];12(1):7. Available from: /pmc/articles/PMC9073222/?report=abstract
  61. GBD. Global Burden of Disease (GBD) | Institute for Health Metrics and Evaluation [Internet]. 2021 [cited 2023 Apr 22]. Available from: <https://www.healthdata.org/gbd>
  62. Bikbov B, Purcell CAC, Levey AS, Smith M, Abdoli A, Abebe M, et al. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* [Internet]. 2020 Feb 29 [cited 2021 Feb 10];395(10225):709–33. Available from: <https://www.un.org/>
  63. Agudelo-Botero M, Valdez-Ortiz R, Giraldo-Rodríguez L, González-Robledo MC, Mino-León D, Rosales-Herrera MF, et al. Original research: Overview of the burden of chronic kidney disease in Mexico: secondary data analysis based on the Global Burden of Disease Study 2017. *BMJ Open* [Internet]. 2020 Mar 25 [cited 2023 Mar 21];10(3):35285. Available from: /pmc/articles/PMC7170614/
  64. United States Renal Data System - USRDS. International Comparisons [Internet]. *American Journal of kidney Disease*. 2024. p. 1–41. Available from: <https://usrds-adr.niddk.nih.gov/2024/end-stage-renal-disease/11-international-comparisons>
  65. REUDERC. Registro Estatal Único de Enfermedad Renal Crónica en el Estado de Aguascalientes [Internet]. 2026. Available from: <https://www.issea.gob.mx/account/Loginer.aspx>
  66. Villalvazo P, Carriazo S, Martin-Cleary C, Ortiz A. Aguascalientes: one of the hottest CKD hotspots in Mexico and a CKDu mystery to be solved. *Clin Kidney J* [Internet]. 2021 Jul 15 [cited 2021 Sep 11]; Available from: <https://academic.oup.com/ckj/advance-article/doi/10.1093/ckj/sfab136/6321889>
  67. Croom E. Metabolism of xenobiotics of human environments [Internet]. 1st ed. Vol. 112, *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. Elsevier Inc.; 2012. 31–88 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-415813-9.00003-9>
  68. Ortiz P, Torres-Sánchez A, López-Moreno A, Cerk K, Ruiz-Moreno Á, Monteoliva-Sánchez M, et al. Impact of Cumulative Environmental and Dietary Xenobiotics on Human Microbiota: Risk Assessment for One Health. *J Xenobiotics* [Internet]. 2022

- Mar 17 [cited 2023 Mar 8];12(1):56. Available from: /pmc/articles/PMC8949313/
69. Zhu Y, Boye A, Body-Malapel M, Herkovits J. Editorial The Toxic Effects of Xenobiotics on the Health of Humans and Animals. 2017 [cited 2023 Mar 8]; Available from: <https://doi.org/10.1155/2017/4627872>
  70. Curl CL, Spivak M, Phinney R, Montrose L. Synthetic Pesticides and Health in Vulnerable Populations: Agricultural Workers. *Curr Environ Heal reports* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2024 Feb 7];7(1):13. Available from: /pmc/articles/PMC7035203/
  71. Benítez MJ. LOAEL Y DNEL ?: Toxicología. *CAPCOT*. 2023;
  72. Weidemann DK, Weaver VM, Fadrowski JJ. Toxic environmental exposures and kidney health in children. *Pediatr Nephrol* [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2021 Feb 14];31(11):2043. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4829489/>
  73. Baker SE, Barr DB, Driskell WJ, Beeson MD, Needham LL. Quantification of selected pesticide metabolites in human urine using isotope dilution high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2000 106 [Internet]. 2000 Nov 1 [cited 2023 Apr 8];10(6):789–98. Available from: <https://www.nature.com/articles/7500123>
  74. Orr SE, Bridges CC. Chronic Kidney Disease and Exposure to Nephrotoxic Metals. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2017 May 12 [cited 2021 Feb 14];18(5):1039. Available from: /pmc/articles/PMC5454951/?report=abstract
  75. ChemTalk. Properties of Metals, Nonmetals, and Metalloids | ChemTalk [Internet]. [cited 2024 Aug 13]. Available from: <https://chemistrytalk.org/properties-of-metals-nonmetals-semimetals/>
  76. Reichelt-Brushett A, Batley G. Metals and Metalloids. *Geogr Environ* [Internet]. 2023 [cited 2025 Mar 24];101–27. Available from: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-10127-4\\_5](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-031-10127-4_5)
  77. Agency USEP. What is a Pesticide? | US EPA [Internet]. [cited 2024 Aug 14]. Available from: <https://www.epa.gov/minimum-risk-pesticides/what-pesticide>
  78. World Health Organization (WHO). Chemical safety: Pesticides [Internet]. [cited 2024 Aug 14]. Available from: <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/chemical-safety-pesticides>

79. Eskenazi B, Gunier RB, Rauch S, Kogut K, Perito ER, Mendez X, et al. Association of Lifetime Exposure to Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid (AMPA) with Liver Inflammation and Metabolic Syndrome at Young Adulthood: Findings from the CHAMACOS Study. *Environ Health Perspect* [Internet]. 2023 Mar 1 [cited 2024 Aug 14];131(3). Available from: <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pesticides>
80. Tylenda CA. Analytical Methods: Toxicological profile for Fluorides, Hydrogen Fluoride, and Fluorine. *Agency Toxic Subst Dis Regist* [Internet]. 2003;(September):243–53. Available from: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp11-c7.pdf>
81. Fawell, John, Bailey, K, Chilton, J, Dahi, E, Fewtrell L et al. Fluoride in drinking-water [Internet]. World Health Organization. 2006. p. 1–144. Available from: <https://iris.who.int/handle/10665/43514>
82. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality [Internet]. World Health Organization; 2022 p. 1–614. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240045064>
83. European Commission. Critical review of any new evidence on the hazard profile, health effects, and human exposure to fluoride and the fluoridating agents of drinking water. *Dir Gen Heal Consum* [Internet]. 2010 May 16 [cited 2025 Apr 13];(May):1–55. Available from: [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/environmental\\_risks/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/index_en.htm)
84. NORMA Oficial Mexicana. DOF - Diario Oficial de la Federación [Internet]. NORMA Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-2021, Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de la calidad del agua. 2017 [cited 2025 Apr 13]. Available from: <https://www.dof.gob.mx/>
85. Services USD of H and H. Toxicological Profile for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). *ATSDR's Toxicol Profiles*. 2020;(July).
86. Fofana D, Kobae H, Oku S, Nishi JI, Miyata K. Prenatal developmental effects of pure 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on the rat. *Congenit Anom (Kyoto)* [Internet]. 2000 Dec 1 [cited 2025 Mar 24];40(4):287–96. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1741-4520.2000.tb00927.x>
87. Garabrant DH, Philbert MA. Review of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D)

- Epidemiology and Toxicology. Crit Rev Toxicol [Internet]. 2002 [cited 2025 Mar 24];32(4):233–57. Available from:  
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/20024091064237>
88. Aslanturk A, Kalender Y. Methomyl-induced nephrotoxicity and protective effect of curcumin in male rats. Toxicol Res (Camb) [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2024 Aug 20];10(5):1003. Available from: </pmc/articles/PMC8557666/>
  89. El-Demerdash F, Dewer Y, ElMazoudy RH, Attia AA. Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. Exp Toxicol Pathol. 2013 Sep 1;65(6):897–901.
  90. Li Y. Modern Epigenetics Methods in Biological Research. Methods [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2023 Mar 22];187:104. Available from: </pmc/articles/PMC7785612/>
  91. Grunau C, Luyer J Le, Laporte M, Joly D. The Epigenetics Dilemma. Genes (Basel) [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2023 Mar 22];11(1):23. Available from: </pmc/articles/PMC7016732/>
  92. Peixoto P, Cartron PF, Serandour AA, Hervouet E. From 1957 to Nowadays: A Brief History of Epigenetics. Int J Mol Sci [Internet]. 2020 Oct 2 [cited 2023 Mar 22];21(20):1–18. Available from: </pmc/articles/PMC7588895/>
  93. Moore LD, Le T, Fan G. DNA Methylation and Its Basic Function. Neuropsychopharmacology [Internet]. 2012 Jan 11 [cited 2023 Mar 22];38(1):23. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3521964/>
  94. Masuelli RW, Marfil CF. Variabilidad epigenética en plantas y evolución. BAG - J Basic Appl Genet. 2011;22(1).
  95. Ito T, Kubiura-Ichimarū M, Murakami Y, Bogutz AB, Lefebvre L, Suetake I, et al. DNMT1 regulates the timing of DNA methylation by DNMT3 in an enzymatic activity-dependent manner in mouse embryonic stem cells. PLoS One [Internet]. 2022 Jan 1 [cited 2025 Mar 25];17(1):e0262277. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8730390/>
  96. Joo YJ, Yoon SJ, Kim CW, Lee JH, Kim YJ, Koo JH, et al. A comparison of the short-term effects of a botulinum toxin type A and triamcinolone acetate injection on adhesive capsulitis of the shoulder. Ann Rehabil Med. 2013;

97. Meng H, Meng H, Cao Y, Qin J, Song X, Zhang Q, et al. DNA Methylation, Its Mediators and Genome Integrity. *Int J Biol Sci* [Internet]. 2015 [cited 2023 Mar 22];11(5):604. Available from: /pmc/articles/PMC4400391/
98. Ortiz-Barahona V, Joshi RS, Esteller M. Use of DNA methylation profiling in translational oncology. *Semin Cancer Biol*. 2022 Aug 1;83:523–35.
99. Parveen N, Dhawan S. DNA Methylation Patterning and the Regulation of Beta Cell Homeostasis. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2021 May 7 [cited 2025 Mar 25];12:651258. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8137853/>
100. National Human Genomic Research Institute NCBI. Gene Expression [Internet]. NCBI. 2023 [cited 2023 Mar 22]. Available from: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Gene-Expression>
101. Buccitelli C, Selbach M. mRNAs, proteins and the emerging principles of gene expression control. *Nat Rev Genet* 2020 2110 [Internet]. 2020 Jul 24 [cited 2023 Mar 22];21(10):630–44. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41576-020-0258-4>
102. Corbett AH. Post-transcriptional Regulation of Gene Expression and Human Disease. *Curr Opin Cell Biol* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2023 Mar 22];52:96. Available from: /pmc/articles/PMC5988930/
103. Li S, Tollefsbol TO. DNA methylation methods: global DNA methylation and methylomic analyses. *Methods* [Internet]. 2020 Mar 1 [cited 2025 Mar 25];187:28. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7914139/>
104. Ozisik O, Baudot A, Ehrhart F, Evelo CT, Mantovani A. Overlap of vitamin A and vitamin D target genes with CAKUT-related processes. *F1000Research* [Internet]. 2021 [cited 2023 May 8];10. Available from: /pmc/articles/PMC9051587/
105. Dai X, Shen L. Advances and Trends in Omics Technology Development. *Front Med* [Internet]. 2022 Jul 1 [cited 2025 Aug 21];9:911861. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9289742/>
106. Ewalt MD, Hsiao SJ. Molecular Methods: Clinical Utilization and Designing a Test Menu. *Surg Pathol Clin*. 2021 Sep 1;14(3):359–68.
107. Patrinos GP, Danielson PB, Ansorge WJ. Molecular Diagnostics: Past, Present, and

- Future [Internet]. *Molecular Diagnostics: Third Edition*. Elsevier Ltd; 2017. 1–11 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802971-8.00001-8>
108. Kurkela S, Brown DWG. *Molecular diagnostic techniques*. 2009 Oct 1 [cited 2023 Jan 20];37(10). Available from: </pmc/articles/PMC7108329/?report=abstract>
109. Pirrung MC, Southern EM. The genesis of microarrays. *Biochem Mol Biol Educ* [Internet]. 2014 Mar 1 [cited 2023 Mar 22];42(2):106–13. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bmb.20756>
110. Kierzek R, Turner DH, Kierzek E. Microarrays for identifying binding sites and probing structure of RNAs. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2023 Mar 22];43(1):1. Available from: </pmc/articles/PMC4288193/>
111. Płatek T, Polus A, Górska J, Rażny U, Gruca A, Kieć-Wilk B, et al. DNA methylation microarrays identify epigenetically regulated lipid related genes in obese patients with hypercholesterolemia. *Mol Med* [Internet]. 2020 Oct 7 [cited 2025 Mar 25];26(1):93. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7539457/>
112. Planterose Jiménez B, Kayser M, Vidaki A. Revisiting genetic artifacts on DNA methylation microarrays exposes novel biological implications. *Genome Biol* [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Mar 25];22(1):1–29. Available from: <https://genomebiology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13059-021-02484-y>
113. Moran S, Arribas C, Esteller M. Validation of a DNA Methylation Microarray for 850,000 CpG Sites of the Human Genome Enriched in Enhancer Sequences. Carles Arribas & Manel Esteller [Internet]. 2016 [cited 2025 Mar 25];8(3):389–99. Available from: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iepi20>
114. Omid M, Fatehinya A, Farahani M, Akbari Z, Shahmoradi S, Yazdian F, et al. Characterization of biomaterials. *Biomater Oral Dent Tissue Eng*. 2017 Jan 1;97–115.
115. Jalali MMM, Zaborowska J, Jalali MMM. The Polymerase Chain Reaction: PCR, qPCR, and RT-PCR. *Basic Sci Methods Clin Res*. 2017 Jan 1;1–18.
116. Freitas FCP, Depintor TS, Agostini LT, Luna-Lucena D, Nunes FMF, Bitondi MMG, et al. Evaluation of reference genes for gene expression analysis by real-time

- quantitative PCR (qPCR) in three stingless bee species (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Sci Reports* 2019 91 [Internet]. 2019 Nov 27 [cited 2023 Oct 25];9(1):1–13. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-53544-0>
117. Wagner EM. Monitoring gene expression: Quantitative real-time RT-PCR. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2013 [cited 2023 Oct 25];1027:19–45. Available from: [https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-60327-369-5\\_2](https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-60327-369-5_2)
118. Shamsnajafabadi H, Soheili ZS. Amniotic fluid characteristics and its application in stem cell therapy: A review. *Int J Reprod Biomed* [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2023 Mar 25];20(8):627. Available from: </pmc/articles/PMC9596929/>
119. Beloosesky R, Ross MG. Amniotic Fluid. *Encycl Reprod*. 2018 Jan 1;380–6.
120. Coady AM. Amniotic Fluid. *Twining’s Textb Fetal Abnorm* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2023 May 8];81–99. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780702045912000048>
121. Harasim T, Wagner A. Why Cell-Free DNA-Based Noninvasive Prenatal Testing for Fetal Chromosome Anomalies Is Not Diagnostic. *Noninvasive Prenat Test Appl Genomics Prenat Screen Diagnosis*. 2018 Jan 1;67–82.
122. Maguire CT, Demarest BL, Hill JT, Palmer JD, Brothman AR, Yost HJ, et al. Genome-Wide Analysis Reveals the Unique Stem Cell Identity of Human Amniocytes. *PLoS One* [Internet]. 2013 Jan 17 [cited 2023 May 8];8(1):53372. Available from: </pmc/articles/PMC3542377/>
123. Cindrova-Davies T, Sferruzzi-Perri AN. Human placental development and function. *Semin Cell Dev Biol*. 2022 Nov 1;131:66–77.
124. Herrick EJ, Bordoni B. Embryology, Placenta. *StatPearls* [Internet]. 2023 May 1 [cited 2025 Mar 25]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551634/>
125. Turco MY, Moffett A. Development of the human placenta. *Dev* [Internet]. 2019 Nov 15 [cited 2025 Mar 25];146(22). Available from: <https://dx.doi.org/10.1242/dev.163428>
126. Cross JC. Placental function in development and disease. *Reprod Fertil Dev* [Internet]. 2005 Dec 13 [cited 2025 Mar 25];18(2):71–6. Available from:

<https://www.publish.csiro.au/rd/RD05121>

127. Hemberger M, Dean W. The placenta: epigenetic insights into trophoblast developmental models of a generation-bridging organ with long-lasting impact on lifelong health. *Physiol Rev* [Internet]. 2023 Oct 1 [cited 2025 Mar 25];103(4):2523–60. Available from: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00001.2023>
128. Xu Y, Zeng X, Guo S, Liao Y, Zhao D. Integrated analysis of DNA methylation and transcriptome profiles to identify oxidative stress-related placenta-specific molecules for preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* [Internet]. 2025 Mar 1 [cited 2025 Mar 26];51(3):e16209. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40048749/>
129. Montañez-Rodriguez E, Avila-Rojas SH, Jimenez-Dorantes AG, León-Contreras JC, Hernandez-Pando R, Arreola-Guerra JM, et al. Morphological changes in the fetal kidney induced by exposure to fluoride during pregnancy. *Environ Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2024 Sep 1 [cited 2025 Mar 26];110:104545. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1382668924001856>
130. Jedynak P, Siroux V, Broséus L, Tost J, Busato F, Gabet S, et al. Epigenetic footprints: Investigating placental DNA methylation in the context of prenatal exposure to phenols and phthalates. *Environ Int* [Internet]. 2024 Jul 1 [cited 2026 Mar 10];189(1):108763. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10616-013-9672-1>
131. Elkin ER, Higgins C, Aung MT, Bakulski KM. Metals exposures and DNA methylation: Current evidence and future directions. *Curr Environ Heal reports* [Internet]. 2022 Dec 1 [cited 2025 Mar 26];9(4):673. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10082670/>
132. Wang A, Ma Q, Gong B, Sun L, Afrim FK, Sun R, et al. DNA methylation and fluoride exposure in school-age children: Epigenome-wide screening and population-based validation. *Ecotoxicol Environ Saf* [Internet]. 2021;223:112612. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112612>
133. Lee S, Kim YN, Im DH, Cho SH, Kim J, Kim JH, et al. DNA Methylation and gene expression patterns are widely altered in fetal growth restriction and associated with FGR development. *Animal Cells Syst (Seoul)* [Internet]. 2021 [cited 2025 Mar 26];25(3):128. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8253195/>
134. Tekola-Ayele F, Zeng X, Ouidir M, Workalemahu T, Zhang C, Delahaye F, et al.

- DNA methylation loci in placenta associated with birthweight and expression of genes relevant for early development and adult diseases. *Clin Epigenetics* [Internet]. 2020 Jun 3 [cited 2025 Mar 13];12(1):78. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7268466/>
135. Shen Z, Tang Y, Song Y, Shen W, Zou C. Differences of DNA methylation patterns in the placenta of large for gestational age infant. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2020 Sep 25 [cited 2025 Mar 26];99(39):e22389. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7523834/>
136. Yong HEJ, Chan SY. Current approaches and developments in transcript profiling of the human placenta. *Hum Reprod Update* [Internet]. 2020 Nov 1 [cited 2025 Mar 26];26(6):799. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7600289/>
137. Hillman SL, Finer S, Smart MC, Mathews C, Lowe R, Rakyen VK, et al. Novel DNA methylation profiles associated with key gene regulation and transcription pathways in blood and placenta of growth-restricted neonates. *Epigenetics* [Internet]. 2015 Jan 23 [cited 2025 Mar 26];10(1):50. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4622857/>
138. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). Informe al ejecutivo federal y al congreso de la unión sobre la situación financiera y los riesgos del Instituto Mexicano del Seguro Social 2020-2021. *Angew Chemie Int Ed* 6(11), 951–952 [Internet]. 2021;1–519. Available from: <https://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/pdf/informes/20202021/22-InformeCompleto.pdf>
139. Iyengar A, Goud BR, Kamath N, Phadke KD, Kasthuri A. Feasibility of screening for urinary abnormalities as a part of school health appraisal. *Indian J Nephrol* [Internet]. 2012 May [cited 2022 Aug 2];22(3):235. Available from: </pmc/articles/PMC3459541/>
140. Arreola Guerra J. Enfermedad Renal Crónica en Aguascalientes [Internet]. Aguascalientes; 2021 [cited 2023 Mar 28]. Available from: <https://www.issea.gob.mx/ercpub/en/reprevalenciaercpbipub.aspx>
141. United States Environmental Protection Agency (EPA). SW-846 Test Method 9214: Potentiometric Determination of Fluoride in Aqueous Samples with Ion-Selective

- Electrode | US EPA [Internet]. 1996. 2025 [cited 2025 Jun 4]. p. 1–8. Available from: <https://www.epa.gov/hw-sw846/sw-846-test-method-9214-potentiometric-determination-fluoride-aqueous-samples-ion>
142. Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS, Moxey-Mims M, Dharnidharka VR, Warady BA, et al. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. 2012 Aug 2 [cited 2025 Aug 13];82(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22622496/>
  143. Inker LA, Eneanya ND, Coresh J, Tighiouart H, Wang D, Sang Y, et al. New Creatinine- and Cystatin C–Based Equations to Estimate GFR without Race. N Engl J Med [Internet]. 2021 Nov 4 [cited 2025 Aug 13];385(19):1737. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8822996/>
  144. Bibbins-Domingo K, Brubaker L, Curfman G. The 2024 Revision to the Declaration of Helsinki: Modern Ethics for Medical Research. JAMA [Internet]. 2025 Jan 7 [cited 2025 Mar 26];333(1):30–1. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2825292>
  145. Acevedo Pérez I. ASPECTOS ETICOS EN LA INVESTIGACION CIENTIFICA ETHICAL ISSUES IN CIENTIFIC RESEARCH. Cienc Y Enferm. 2002;8(1):15–8.
  146. Unión C de D del HC de la. REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE INVESTIGACION PARA LA SALUD. 2014.
  147. Weaver VM, Fadrowski JJ, Jaar BG. Global dimensions of chronic kidney disease of unknown etiology (CKDu): a modern era environmental and/or occupational nephropathy? BMC Nephrol [Internet]. 2015 Aug 19 [cited 2022 Mar 11];16(1). Available from: [/pmc/articles/PMC4539684/](https://pmc/articles/PMC4539684/)
  148. Oh MS, Hwang G, Han S, Kang HS, Kim SH, Kim YD, et al. Sonographic growth charts for kidney length in normal Korean children: A prospective observational study. J Korean Med Sci. 2016;31(7):1089–93.
  149. Mancini M, Bassani S, Passafaro M. Right Place at the Right Time: How Changes in Protocadherins Affect Synaptic Connections Contributing to the Etiology of Neurodevelopmental Disorders. Cells [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2026 Feb 24];9(12):2711. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7766791/>

150. Mah KM, Weiner JA. Regulation of Wnt Signaling by Protocadherins. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2017 Sep 1 [cited 2026 Feb 20];69:158. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5586504/>
151. Dallosso AR, Hancock AL, Szemes M, Moorwood K, Chilukamarri L, Tsai HH, et al. Frequent Long-Range Epigenetic Silencing of Protocadherin Gene Clusters on Chromosome 5q31 in Wilms' Tumor. *PLoS Genet* [Internet]. 2009 Nov [cited 2026 Feb 20];5(11):e1000745. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2776977/>
152. Kelam J, Kelam N, Filipović N, Komić L, Racetin A, Komić D, et al. Expression of Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract (CAKUT) Candidate Genes EDA2R, PCDH9, and TRAF7 in Normal Human Kidney Development and CAKUT. *Genes* 2024, Vol 15, [Internet]. 2024 May 27 [cited 2026 Feb 20];15(6). Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/15/6/702>
153. Yu C, Zheng B, Zhang L, Zhang A, Jia Z, Ding G. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling and Congenital Abnormalities of Kidney and Urinary Tract. *Kidney Dis* [Internet]. 2024 Dec 10 [cited 2026 Feb 20];10(6):588–99. Available from: <https://dx.doi.org/10.1159/000541684>
154. Feng L, Shu HP, Sun LL, Tu YC, Liao QQ, Yao LJ. Role of the SLIT-ROBO signaling pathway in renal pathophysiology and various renal diseases. *Front Physiol* [Internet]. 2023 [cited 2026 Feb 20];14:1226341. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10366692/>
155. Matsuura S, Kondo S, Suga K, Kinoshita Y, Urushihara M, Kagami S. Expression of Focal Adhesion Proteins in the Developing Rat Kidney. *J Histochem Cytochem* [Internet]. 2011 Sep [cited 2025 Jul 18];59(9):864. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3201169/>
156. Zhang Y, Reif G, Wallace DP. Extracellular matrix, integrins, and focal adhesion signaling in polycystic kidney disease. *Cell Signal* [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2025 Jul 18];72:109646. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7269823/>
157. Stewart TA, Davis FM. An element for development: Calcium signaling in mammalian reproduction and development. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*

[Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2025 Jul 18];1866(7):1230–8. Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488919300230?via%3Dihub>

158. Wang H, Gao L, Zhao C, Fang F, Liu J, Wang Z, et al. The role of PI3K/Akt signaling pathway in chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol* 2024 568 [Internet]. 2024 Mar 18 [cited 2025 Jul 18];56(8):2623–33. Available from:  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11255-024-03989-8>

159. Lindström NO, Lawrence ML, Burn SF, Johansson JA, Bakker ERM, Ridgway RA, et al. Integrated  $\beta$ -catenin, BMP, PTEN, and Notch signalling patterns the nephron. *Elife* [Internet]. 2015 [cited 2025 Sep 10];4:e04000. Available from:  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4337611/>

160. Alengebawy A, Abdelkhalek ST, Qureshi SR, Wang MQ. Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics* [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2025 Aug 4];9(3):42. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7996329/>

161. Zheng J, Wang Q, Xu K, Ma M, Wang Z, Sun Z, et al. Fluoride induces immune-inflammatory disorder in the kidneys via histone lysine crotonylation in vivo. *Ecotoxicol Environ Saf* [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2025 Jul 17];288:117385. Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0147651324014611>

162. Danziger J, Dodge LE, Hu H. Role of renal function in the association of drinking water fluoride and plasma fluoride among adolescents in the United States: NHANES, 2013–2016. *Environ Res* [Internet]. 2022 Oct 1 [cited 2025 Jul 17];213:113603. Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0013935122009306?via%3Dihub>

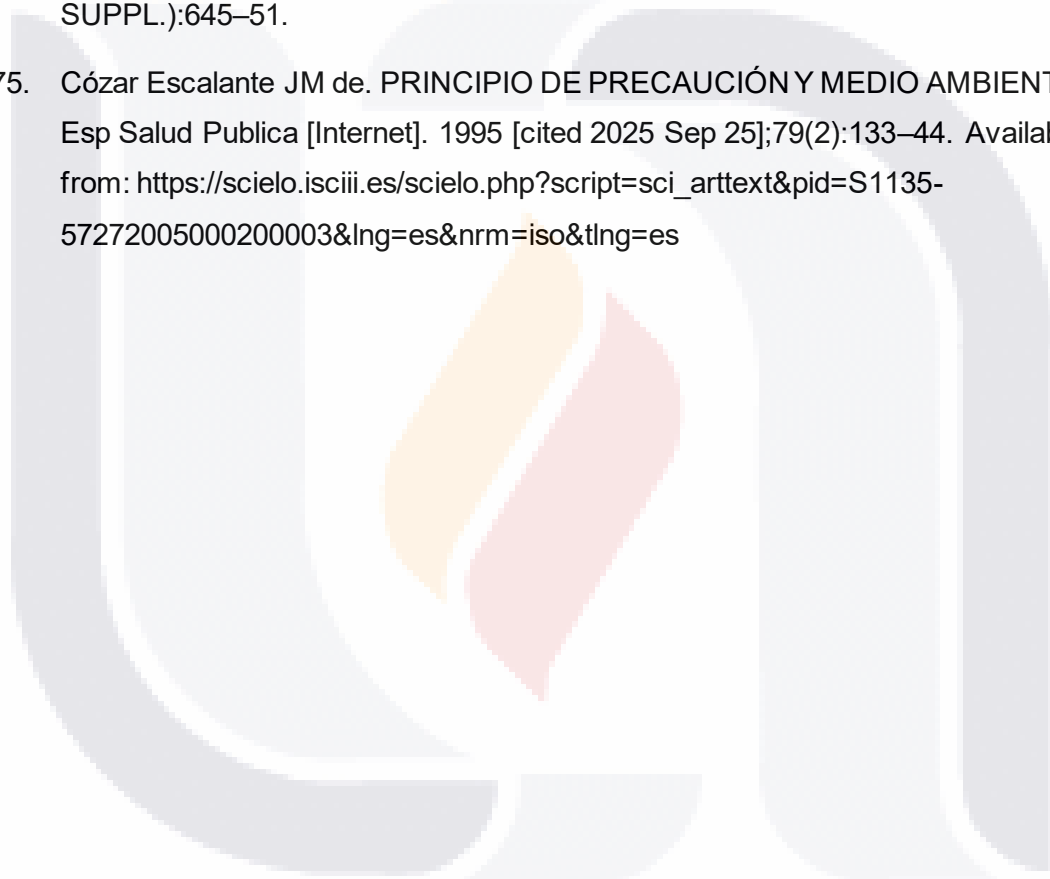
163. Malin AJ, Lesseur C, Busgang SA, Curtin P, Wright RO, Sanders AP. Fluoride exposure and kidney and liver function among adolescents in the United States: NHANES, 2013–2016. *Environ Int* [Internet]. 2019 Nov 1 [cited 2025 Jul 17];132:105012. Available from:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412019309274?via%3Dihub>

164. Lavanya S, Hema Shree K, Ramani P. Fluoride effect on renal and hepatic

- functions: A comprehensive decade review of In vitro and In vivo studies. *J Oral Biol Craniofacial Res* [Internet]. 2024 Nov 1 [cited 2025 Jul 17];14(6):735. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11525447/>
165. Aoun A, Darwiche F, Al Hayek S, Doumit J. The Fluoride Debate: The Pros and Cons of Fluoridation. *Prev Nutr Food Sci* [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2025 Sep 24];23(3):171. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6195894/>
  166. Vázquez-Bojórquez C, López-Verdín S, Villanueva-Arriaga R, Castañeda-Castaneira E, Juárez-López MLA, Molina-Frechero N. Fluoruros en agua de consumo al norte y occidente de México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* [Internet]. 2022 Mar 1 [cited 2025 Jul 18];60(2):179. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10396015/>
  167. Koukoura O, Sifakis S, Spandidos DA. DNA methylation in the human placenta and fetal growth (Review). *Mol Med Rep* [Internet]. 2012 Apr [cited 2025 Mar 13];5(4):883. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3493070/>
  168. Ghazi T, Naidoo P, Naidoo RN, Chuturgoon AA. Prenatal Air Pollution Exposure and Placental DNA Methylation Changes: Implications on Fetal Development and Future Disease Susceptibility. *Cells* [Internet]. 2021 Nov 1 [cited 2025 Jul 16];10(11):3025. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8616150/>
  169. Marsit CJ. Placental Epigenetics in Children's Environmental Health. *Semin Reprod Med* [Internet]. 2015 Dec 22 [cited 2025 Apr 2];34(1):36. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4760106/>
  170. Robinson WP, Price EM. The Human Placental Methylome. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2015 May 1 [cited 2025 Jul 17];5(5):a023044. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4448590/>
  171. Perera BPU, Faulk C, Svoboda LK, Goodrich JM, Dolinoy DC. The Role of Environmental Exposures and the Epigenome in Health and Disease. *Environ Mol Mutagen* [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2025 Jun 19];61(1):176. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7252203/>
  172. Akalay S, Rayyan M, Fidlers T, van den Heuvel L, Levchenko E, Arcolino FO. Impact of preterm birth on kidney health and development. *Front Med* [Internet]. 2024 [cited 2025 Mar 31];11:1363097. Available from:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11004308/>

173. Sanna-Cherchi S, Westland R, Ghiggeri GM, Gharavi AG. Genetic basis of human congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *J Clin Invest* [Internet]. 2018 Jan 2 [cited 2025 Jul 18];128(1):4–15. Available from: <https://doi.org/10.1172/JCI95300>.
174. Tallacchini M. Before and beyond the precautionary principle: Epistemology of uncertainty in science and law. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005 Sep 1;207(2 SUPPL.):645–51.
175. Cózar Escalante JM de. PRINCIPIO DE PRECAUCIÓN Y MEDIO AMBIENTE. *Rev Esp Salud Publica* [Internet]. 1995 [cited 2025 Sep 25];79(2):133–44. Available from: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57272005000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272005000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es)





## Anexo A: Cuestionario factores de riesgo

### EXPRESIÓN GÉNICA EN NEONATOS EXPUESTOS A XENOBIÓTICOS EN LA ETAPA PERINATAL

#### DATOS DEL PACIENTE

Folio: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Nombre: \_\_\_\_\_  
 Fecha de nacimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_ Domicilio: \_\_\_\_\_ CP \_\_\_\_\_  
 Teléfono: \_\_\_\_\_ Estado de Nacimiento: \_\_\_\_\_ Municipio nacimiento: \_\_\_\_\_  
 Estado donde radica \_\_\_\_\_ Municipio donde radica \_\_\_\_\_ ¿Desde cuándo? \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

Diabetes: Si  No  HAS: Si  No  Obesidad: Si  No  Tabaquismo: Si  No  Alcohol: Si  No   
 Otras drogas: Si  No  Hx familiar de ERC: Si  No  ¿Quién? \_\_\_\_\_  
 ¿Padece alguna otra enfermedad? \_\_\_\_\_  
 ¿Existen antecedentes de alguna enfermedad genética en su familia? Si  No  ¿Cuál (es)? \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ Otros antecedentes: \_\_\_\_\_  
 ¿Toma algún medicamento?: \_\_\_\_\_  
 Talla: \_\_\_\_\_ Peso previo al embarazo: \_\_\_\_\_ Peso posterior: \_\_\_\_\_ IMC previo: \_\_\_\_\_  
 ¿Llevo control prenatal durante su embarazo? Si  No  ¿Desde que semana? \_\_\_\_\_  
 Ácido fólico durante el embarazo: Si  No  A partir de que mes? \_\_\_\_\_  
 Otras vitaminas: Si  No  ¿Qué marca? \_\_\_\_\_  
 Suplementos o medicamentos durante el embarazo: Si  No  ¿Cuál (es)? \_\_\_\_\_  
 Complicaciones en el embarazo: Si  No  ¿Cuál (es)? \_\_\_\_\_

#### ASPECTOS SOCIOECONOMICOS Y SOCIODEMOGRÁFICOS

Tipo de vivienda: Ladrillo  Bloque  Techo de lámina: Si  No   
 Tipo de piso: Cemento  Vitropiso  Tierra  Agua para usar en casa: Llave  Pozo   
 Agua para beber: Llave  Pozo  Garrafón  Marca: \_\_\_\_\_ ¿Desde cuándo? \_\_\_\_\_  
 Agua para cocinar: Llave  Pozo  Garrafón  Marca: \_\_\_\_\_  
 ¿Cuál es el ingreso promedio mensual familiar? <5 mil  5-20 mil  20-30 mil  30-50 mil  >50 mil   
 ¿A qué se dedica? \_\_\_\_\_ Servicios con los que cuenta: Agua  Luz  Gas   
 ¿Existe algún parentesco con su esposo? Si  No   
 ¿Existe algún parentesco entre sus padres? Si  No   
 ¿Su casa está cerca de un huerto o cultivo? Si  No  ¿Cuál? \_\_\_\_\_ Distancia en metros: \_\_\_\_\_  
 ¿Empleo de su esposo?: \_\_\_\_\_

Usa pesticidas o sustancias químicas en su trabajo: Si  No  ¿Cuál?: \_\_\_\_\_

#### EXPOSICIÓN A XENOBIÓTICOS

¿Sale frecuentemente de su localidad? Si  No  ¿Qué tan frecuente? \_\_\_\_\_

¿Consume con frecuencia pescado o mariscos? Si  No  ¿Qué tan frecuente? \_\_\_\_\_

¿Trabajó en el campo durante el embarazo? Si  No

¿Consume alimentos en su lugar de trabajo? Si  No

¿Está expuesto a algún material peligroso en su trabajo? Si  No

¿Usted o alguien de su familia realiza alguna actividad que lo exponga a algún pesticida? Si  No

¿Lava las frutas y verduras? Si  No  ¿Ha cambiado de residencia por problemas de salud? Si  No

¿Dónde compra sus frutas y verduras? Agropecuario  Supermercado  Tianguis  Fruterías

¿Cuál es el material de sus ollas y utensilios de cocina? Aluminio  Acero  Teflón  Peltre

#### DATOS DEL RECIÉN NACIDO

Sexo: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ SC: \_\_\_\_\_ Edad gestacional: \_\_\_\_\_

Anomalías al nacimiento: Si  No  ¿Cuál (es)? \_\_\_\_\_

Peso al 4to día: \_\_\_\_\_ Talla al 4to día: \_\_\_\_\_ Superficie Corporal: \_\_\_\_\_

Ultrasonido: Longitud RI: \_\_\_\_\_ Volumen RI: \_\_\_\_\_ Longitud RD: \_\_\_\_\_ Volumen RD: \_\_\_\_\_

Cistatina C: \_\_\_\_\_ Creatinina: \_\_\_\_\_

Albúmina: \_\_\_\_\_ Ferritina: \_\_\_\_\_ Hb: \_\_\_\_\_ VCM: \_\_\_\_\_ CMHC: \_\_\_\_\_ Leucos: \_\_\_\_\_ Plaquetas: \_\_\_\_\_

Muestra líquido amniótico: Si  No  Muestra sanguínea: Si  No  Muestra de orina: Si  No

## Anexo B: Aprobación del Comité de Ética



### COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

CEI-CI/096/22  
Aguascalientes, Ags., a 14 de Octubre de 2022

**DRA. LESLIE PAOLA ZUÑIGA MACIAS**  
INVESTIGADORA PRINCIPAL

En cumplimiento con las Buenas Prácticas Clínicas y la Legislación Mexicana vigente en materia de investigación clínica, el Comité de Ética en Investigación del Centenario Hospital Miguel Hidalgo, en su Sesión del día 13 de Octubre de 2022, sometió a revisión el protocolo con número de registro 2022-E-44 y decidió Aprobar el proyecto de investigación para llevar a cabo en este Hospital, titulado:

**“EXPRESIÓN GENÉTICA EN NEONATOS EXPUESTOS A XENOBIÓTICOS EN LA ETAPA PERINATAL”**

Se solicita a los investigadores entregar resumen de resultados obtenidos al finalizar la investigación. En caso de existir modificaciones al proyecto es necesario que sean reportadas al Comité.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

**DR. JOSÉ MANUEL ARREOLA GUERRA**  
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN  
VOCAL SECRETARIO DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACION

IMAG/cmva\*



449 9 94 67 20

www.isea.gob.mx

Av. Manuel Gómez Morín S/N  
Frac. Alameda, C.P. 20259



## Anexo C: Consentimiento informado controles positivos



**CHMH**

CENTENARIO HOSPITAL MIGUEL HIDALGO

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:  
Expresión génica en neonatos expuestos a xenobióticos en la etapa perinatal  
FECHA DE PREPARACIÓN: 09 DE OCTUBRE DEL 2022      VERSIÓN: 1**

**Investigador principal:** Maestra Leslie Paola Zúñiga Macías  
**Dirección del investigador:** Av. Mariano Escobedo 209 Casa Blanca, Aguascalientes, Ags.  
**Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias):** (449) 1832318  
**Investigadores participantes:** Dr. Francisco Javier Avelar González, Dra. Alma Lilián Guerrero Barrera, Dr. José Manuel Arreola Guerra.  
**Nombre del patrocinador del estudio:** Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)  
**Dirección del patrocinador:** Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito Constructor, Alcaldía Benito Juárez, C.P. 03940, Ciudad de México  
**Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación:** Versión 1. Fecha: 09/10/2022

### INTRODUCCIÓN:

Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Para decidir si participa o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los riesgos y beneficios con el fin tomar una decisión informada. Este formato de consentimiento informado le dará información detallada acerca del estudio de investigación que podrá comentar con su médico tratante o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final se le invitará a que forme parte del proyecto y de ser así, bajo ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Procedimiento para dar su consentimiento: Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar en esta investigación, y se puede tomar todo el tiempo que requiera para considerar esta invitación. El investigador le explicará ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarlo, antes de decirle al investigador acerca de su decisión. Esta decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto. Al final de esta explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- I. La justificación y los objetivos de la investigación.
  - II. Los procedimientos que se utilizarán y su propósito, incluyendo la identificación de qué son procedimientos experimentales.
  - III. Los riesgos o molestias previstos.
  - IV. Los beneficios que se pueden observar.
  - V. Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para usted
  - VI. Garantía para recibir respuestas a las preguntas y aclarar cualquier duda sobre los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento de la materia.
  - VII. La libertad que tiene de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello se afecte su atención y el tratamiento en el Instituto.
  - VIII. La seguridad de que no se le va a identificar de forma particular y que se mantendrá la confidencialidad de la información relativa a su privacidad.
  - IX. El compromiso del investigador de proporcionarle la información actualizada que pueda ser obtenida durante el estudio, aunque esto pudiera afectar a su disposición para continuar con su participación.
  - X. La disponibilidad de tratamiento médico y compensación a que legalmente tiene derecho, en el caso de que ocurran daños causados directamente por la investigación.

Puede solicitar más tiempo o llevar a casa este formulario antes de tomar una decisión final en los días futuros.

### **INVITACION A PARTICIPAR Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO**

Estimado Sr(a). \_\_\_\_\_

El Centenario Hospital Miguel Hidalgo, a través del grupo de investigación, le invitan a participar en este estudio de investigación que tiene como objetivo: Conocer los niveles de sustancias tóxicas ambientales que pudieran afectar la salud de su hijo recién nacido.

En los últimos años se están utilizando muchas sustancias para mejorar los sistemas de producción. Estas sustancias son fertilizantes, pesticidas y herbicidas. La mayoría de los estudios se han realizado para verificar su toxicidad aguda y cuando se tiene contacto con estas sustancias con base a las recomendaciones de los productos, no se tienen efectos graves a la salud. Sin embargo no conocemos si el contacto con estas sustancias en la etapa previa al nacimiento pudiera afectar la salud de los recién nacidos. Por esta razón, la invitamos con la finalidad de poder medir las sustancias posiblemente tóxicas en la orina de mama, orina de bebé y líquido amniótico. Evaluar si existe relación con la presencia de las sustancias tóxicas y alteraciones genéticas. Estas alteraciones genéticas serán estudiadas en células obtenidas del líquido amniótico.

Además de estas mediciones, se les invitará para ser seguidos en consulta externa del hospital Hidalgo con la finalidad de evaluar los efectos de estos pesticidas a largo plazo.

La duración del estudio es: 5 años.

El número aproximado de participantes será: 400 pacientes.

Usted fue invitado al estudio debido a que tiene las siguientes características:

- Mujeres embarazadas.
- Entre 18 y 40 años
- No tenga enfermedades crónicas antes del embarazo como hipertensión arterial sistémica y diabetes mellitus, entre otras. Las mujeres solo con obesidad sí podrán ser invitadas.

### **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

Obtener muestras al momento del nacimiento de orina, sangre y a su bebé del cordón umbilical y líquido amniótico y placenta. Esto no representa ningún riesgo para su bebé ni para usted.

Su participación en el estudio consiste en: permitirnos obtener muestras sanguíneas y de orina de la madre, líquido amniótico, sangre de cordón umbilical del bebé y placenta.

Al cuarto día después del nacimiento, cuando lleve a su recién nacido para la toma de muestra para tamiz metabólico, tomaremos una muestra sin necesidad de puncionar a su bebé.

Los procedimientos del estudio incluyen la realización de toma de muestras.

Las responsabilidades de los participantes incluyen: acudir a sus citas de control prenatal conforme se le asignen.

### **RIESGOS E INCONVENIENTES**

Ninguno.

### **BENEFICIOS POTENCIALES**

Ayudar a conocer si la exposición a sustancias muy comunes en la actualidad pudiera afectar la salud de los recién nacidos.

Nos permitirá conocer la cantidad de tóxicos que pueda tener en su organismo y lo relacionaremos con la función del riñón de su bebé.

### **CONSIDERACIONES ECONÓMICAS**

Ninguna.

### **COMPENSACION**

No aplica.

### **ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:**

Su participación es voluntaria. Sin embargo, usted puede elegir no participar en el estudio. En caso de no hacerlo, recibirá el tratamiento o manejo estándar para su enfermedad. Sus

consultas y atención integral en el Instituto no se verían afectadas en ningún sentido si usted decide no participar.

***POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:***

Los resultados o materiales obtenidos en el estudio serán propiedad de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Si un producto comercial es desarrollado como resultado del estudio, tal insumo será propiedad del Centenario Hospital Miguel Hidalgo o de quienes ellos designen. En tal caso, usted no recibirá un beneficio financiero por el mismo.

***ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:***

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y las conclusiones del estudio.

La investigación es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

***PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:***

Su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, no se afectará su relación con el Centenario Hospital Miguel Hidalgo o su derecho a recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el Centenario Hospital Miguel Hidalgo. Se le informará a tiempo si se obtiene nueva información que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

El investigador puede excluirlo del estudio si considera que tiene enfermedad crónica.

Los procedimientos que serán necesarios si usted termina su participación en el estudio son: continuar acudiendo a sus estudios de laboratorio y visitas de seguimiento como lo ha hecho desde la detección del daño renal y hasta antes de este estudio.

***CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN***

Su nombre no será usado en ninguno de los estudios. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y se codificarán con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal, las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas, así como su información médica y/o genética, puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto, y estos estudios deberán ser sometidos a aprobación por un Comité de Ética.

Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por 2 años.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Los códigos que identifican su muestra estarán sólo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por ley a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Sólo los investigadores tendrán acceso a ellos.

Si bien existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio, su confidencialidad será protegida como lo marca la ley, asignando códigos a su información. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Personal del estudio (monitores o auditores) podrá tener acceso a la información de los participantes.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y la destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre. Si así lo desea, usted deberá poner en contacto con **Leslie Paola Zúñiga Macías** y expresar su decisión por escrito.

El Comité de Ética en Investigación del Centenario Hospital Miguel Hidalgo aprobó la realización de este estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con el Comité de Ética para que decidamos la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice recontractarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

### ***IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:***

Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con: **Leslie Paola Zúñiga Macías**. Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el presidente del Comité de Ética en Investigación del Centenario Hospital Miguel Hidalgo (Dr. Jaime Asael López Valdez, teléfono: 449 994 6720 ext. 8646).

### ***DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO***

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he

tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas para ser utilizadas en este estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas

	<b>SÍ</b> <b>(marque por favor)</b>	<b>NO</b> <b>(marque por favor)</b>
a. ¿Ha leído y entendido la forma de consentimiento informado, en su lenguaje materno?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f. ¿Entiende los posibles riesgos, algunos de los cuales son aún desconocidos, de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i. ¿Entiende que el médico participante en el estudio puede retirarlo del mismo sin su consentimiento, ya sea debido a que Usted no siguió los requerimientos del estudio o si el médico participante en el estudio considera que médicamente su retiro es en su mejor interés?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento, para sus registros personales?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Declaración del paciente:** Yo, \_\_\_\_\_  
 declaro que es mi decisión participar en el estudio. Mi participación es voluntaria. He sido informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Centenario Hospital Miguel Hidalgo y no sufriré perjuicio en mi atención médica o en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en el estudio. Puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si los solicito. Si tengo preguntas sobre el estudio, puedo ponerme en contacto Leslie Paola Zúñiga Macías Tel 4491832318. Si usted tiene preguntas sobre sus derechos como participante en el estudio, problemas, preocupaciones o preguntas, obtener información u ofrecer información sobre el desarrollo del estudio, siéntase en la libertad de hablar con el coordinador del Comité de Ética en Investigación del Centenario Hospital Miguel Hidalgo (Dr. Jaime Asael López Valdez, teléfono: 449 994 6720 ext. 8646). Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible. He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

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

\_\_\_\_\_  
 Fecha

\_\_\_\_\_  
 Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir

\_\_\_\_\_  
 Nombre del representante legal (si aplica)      Firma del representante legal

\_\_\_\_\_  
 Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre del Investigador que explicó el documento

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

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Fecha

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

Dirección:

\_\_\_\_\_  
Nombre del Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Firma del Testigo 2

\_\_\_\_\_  
Fecha

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

Dirección:

\_\_\_\_\_  
Lugar y Fecha:

**(El presente documento es original y consta de 8 páginas)**

## Anexo D: Consentimiento informado controles negativos

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO: EXPRESIÓN GENÉTICA EN NEONATOS EXPUESTOS A XENOBIÓTICOS EN LA ETAPA PERINATAL

FECHA DE PREPARACIÓN: 9 DE OCTUBRE DEL 2022

VERSIÓN: 1

**Investigador principal:** Mtra. Leslie Paola Zúñiga Macías

**Dirección del investigador:** Av. Mariano Escobedo #209, Casa Blanca, Aguascalientes Ags.

**Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias):** (449)1832318

**Investigadores participantes:** Dr. Francisco Javier Avelar González, Dr. José Manuel Arreola Guerra, Dra. Alma Lilian Guerrero Barrera, MPSS Ricardo Daniel Estrada Moreno.

**Nombre del patrocinador del estudio:** Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

**Dirección del patrocinador:** Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito Constructor, Alcaldía Benito Juárez, C.P. 03940, Ciudad de México

**Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación:** versión 1, Fecha 09/10/2022

#### INVITACIÓN A PARTICIPAR

Estimado Sr(a). \_\_\_\_\_

Su médico tratante, el Dr. \_\_\_\_\_, se complace en invitarlo(a) a participar en este proyecto, su participación es TOTALMENTE VOLUNTARIA y no afectará la atención médica con respecto a pacientes que no participen en el protocolo.

Este estudio fue presentado ante un COMITÉ DE ETICA DE INVESTIGACIÓN donde fue aprobado tras demostrar que no presenta ningún tipo de riesgo para su bebé, ni para usted.

Usted está en todo su derecho de decidir NO PARTICIPAR en dicho protocolo, lo cual no afectará de ninguna forma su atención médica habitual.

#### DESCRIPCIÓN DE PARTICIPACIÓN

##### ¿En qué consiste mi participación?

Su participación consiste en la toma de sangre y orina de la madre así como líquido amniótico, sangre y orina de su bebé.

##### ¿Cómo se tomarán las muestras de mi bebé?

La muestra de líquido amniótico se hará durante el momento del parto o cesárea por su médico tratante. La muestra de sangre se tomará del cordón umbilical, por lo que en ningún momento será necesario puncionar a su bebé. La muestra de orina se obtendrá utilizando una bolsa recolectora, la cual se pondrá debajo del pañal de su bebé.

##### ¿Cómo se tomarán las muestras de la madre?

Sus muestras serán recabadas al momento de su ingreso al hospital durante el trabajo de parto.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Su información será protegida conforme a la ley, en ningún momento sus datos personales serán usados en el estudio o publicados, quedando resguardados por los médicos investigadores. Las muestras serán codificadas con un número de serie y solo los investigadores contarán con la información de a quién pertenece cada muestra, esto con el objetivo de poder entregarle posteriormente una copia de los resultados.

Al aceptar participar en este estudio, nos permite almacenar sus muestras y en determinado momento podrían ser usadas en investigaciones futuras.

### **BENEFICIOS POTENCIALES**

#### **Para usted y su bebé:**

Podrá conocer si existe la presencia de estos tóxicos en su organismo y los relacionaremos con la función del riñón de su bebé. Se realizarán estudios en su bebé, para ver si existen alteraciones genéticas relacionadas con el desarrollo de la enfermedad renal.

Se le entregará una copia de TODA LA INFORMACIÓN ENCONTRADA en dichos estudios y se le explicará su significado.

Los estudios genéticos, los de determinación de sustancias tóxicas y cualquier otro estudio que se realice para este protocolo será cubierto por el grupo de investigación, lo que significa que será TOTALMENTE GRATIS.

#### **Para la Sociedad:**

Contribuirá en conocer si la exposición a sustancias tóxicas comúnmente usadas en la actualidad pudiera afectar la salud en nuestra sociedad.

Ayudará a conocer posibles causas de la enfermedad renal en los jóvenes de nuestro estado, lo que ayudará a desarrollar métodos para un diagnóstico temprano y tratamientos oportunos.

### **RIESGOS E INCONVENIENTES**

Puede existir el riesgo de hematoma en el lugar de la punción en la madre durante la toma de sangre. Para el bebé no existe riesgo alguno.

### **IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES**

Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con: Dra. Leslie Paola Zúñiga Macías. Si tiene preguntas acerca de sus derechos como participante del estudio, puede hablar con el presidente del Comité de Ética del Centenario Hospital Miguel Hidalgo (Dr. Jaime Asael López Valdez, teléfono: 449 994 6720 ext. 8646).

**DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, \_\_\_\_\_ declaro que he leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que me han surgido y todas han sido respondidas satisfactoriamente.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas para ser utilizadas en este estudio. Por disposición legal las muestras biológicas son catalogadas como residuos peligrosos biológicos-infecciosos y por lo tanto estas no podrán ser devueltas, no obstante, se me ha explicado mi derecho a RETIRARME DEL PROTOCOLO en cualquier momento, con la consecuente destrucción de mi material biológico e información.

Estoy de acuerdo en que los datos científicos obtenidos como parte de este estudio sean utilizados en publicaciones o presentaciones médicas, protegiendo siempre la privacidad de mis datos. Así mismo estoy de acuerdo, en caso necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere recolectar información adicional.

Nombre y Firma del Participante (o representante legal)	Fecha
---	-------

Nombre y Firma de Testigo	Relación con el paciente
---------------------------	--------------------------

Nombre y Firma de Médico

Dirección: \_\_\_\_\_

Aguascalientes, Ags., a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2023

**ESTE DOCUMENTO ES ORIGINAL, CONSTA DE 3 PÁGINAS Y CUMPLE CON LOS ALIMNEAMIENTOS ESTABLECIDOS EN EL REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE INVESTIGACIÓN PARA SALUD Y LA DECLARACIÓN DE HELSINKI. REVISADO EL 17 DE FEBRERO 2023.**

## Anexo E: Adendum al protocolo



Aguascalientes, Ags., 01 de mayo de 2023

**DR. JAIME ASael LÓPEZ VALDEZ**

Presidente del Comité de Ética en Investigación y  
 Secretario Técnico del Comité de Investigación  
 PRESENTE

Estimado Dr. Jaime López

Por medio del presente, me dirijo a usted para solicitar un adendum al protocolo de investigación titulado **“Expresión génica en neonatos expuestos a xenobióticos en la etapa perinatal”**, el cual fue presentado al Comité de Ética e Investigación del Centenario Hospital Miguel Hidalgo el día 13 de octubre de 2022 y aprobado el día 14 de octubre de 2022 con registro **22-E-44**.

La finalidad de dicho adendum es realizar la medición de la expresión génica en sangre de cordón umbilical y en tejido placentario, además de lo previamente solicitado en nuestros pacientes reclutados debido a que estudios previos han demostrado la utilidad de estos materiales biológicos para nuestra investigación médica; además de que estas muestras aumentarían de manera notoria el número de pacientes para nuestro estudio.

Confiamos en que la medición de la expresión génica en estos tejidos biológicos, además de la ya aprobada previamente (líquido amniótico), nos conducirá a resultados importantes en nuestra investigación, de tal manera que puede contribuir a la detección oportuna de enfermedad renal crónica, además de poder correlacionar de una forma más amplia la expresión génica con la exposición a pesticidas y metales pesados en neonatos.

Sin otro particular por el momento, quedo ante usted para cualquier aclaración, enviando mis saludos cordiales.

**ATENTAMENTE**

**M. en C. LESLIE PAOLA ZÚÑIGA MACÍAS**  
 Doctorado en Ciencias Biológicas  
 Universidad Autónoma de Aguascalientes