

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA
ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MÉXICO

**Exposición prenatal a Molibdeno y neurodesarrollo infantil en niños residentes
del estado de Morelos.**

Alumna: Ruth Argelia Vázquez Salas
Maestría en Ciencias con área de concentración en Salud Reproductiva

Generación:
2009-2011

Comité de tesis:
Directora: Dra. Luisa E. Torres Sánchez
Asesores: Dra. Lizbeth López Carrillo
Dr. Stephen Joel Rothenberg.

Enero, 2012

INDICE

Resumen	2
Antecedentes	4
Características físico-químicas del Molibdeno	4
Fuentes de exposición del Molibdeno	4
Vías de exposición a Molibdeno	6
Metabolismo del Molibdeno	8
Métodos de determinación de Molibdeno	10
Deficiencia de Molibdeno	10
Toxicidad por Molibdeno	11
Neurodesarrollo infantil	12
Justificación	14
Material y métodos	15
Población de estudio	16
Evaluación del neurodesarrollo	16
Análisis químicos	16
Determinación de Molibdeno	18
Determinación de p,p'-DDE	19
Determinación de plomo	19
Evaluación de la ingesta dietética de Cobre y energía durante el embarazo	19
Análisis estadístico	20
Resultados	22
Discusión	35
Agradecimientos	41
Referencias	42

RESUMEN

El Molibdeno (Mo) es un metal potencialmente tóxico y un elemento esencial, necesario para el metabolismo de aldehídos, purinas y sulfuros. La principal vía de exposición a Mo, tanto para animales como en humanos es la oral, a través de alimentos. La cantidad de Mo presente en los alimentos, depende de la concentración de Mo en la tierra de cultivo. Aunque existen evidencias en animales de intoxicación por Mo, en humanos es muy escasa la información sobre alteraciones producidas por el exceso de este metal. Por lo que, en este estudio el objetivo del estudio fue explorar la asociación entre la exposición prenatal a Mo y el neurodesarrollo evaluado mediante la Escala de Bayley (BSID-II) en niños menores de 30 meses, residentes del estado de Morelos.

De un total de 294 niños participantes en un estudio de cohorte realizado en el estado de Morelos, con peso al nacer ≥ 2 kg, productos de embarazos únicos, sin historia de asfixia perinatal y que contaban con al menos 5 evaluaciones del neurodesarrollo infantil con la escala de Bayley (BSID-II) entre el mes y los 30 meses de edad, se seleccionaron aleatoriamente para este análisis a 147 niños. La exposición a Mo durante el embarazo, se midió mediante espectrofotometría de absorción atómica (AA) con horno de grafito AA24Z, en muestras de orina materna, obtenidas previamente durante cada trimestre del embarazo y se reportan con y sin ajuste por creatinina. La asociación entre Mo y neurodesarrollo se estimó mediante el uso de modelos multivariados de efectos mixtos.

Todas las muestras tuvieron concentraciones de Mo por arriba del límite de detección ($<0.2 \mu\text{g/L}$) y entre un 6 a 15% de ellas presentaron concentraciones superiores al P_{95} para mujeres, reportado en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de los Estados Unidos ($152 \mu\text{g/L}$ y $139 \mu\text{g/g}$) (NHANES). Las concentraciones promedio de Mo en orina sin ajuste por creatinina variaron entre 37.0 ± 3.1 a $40.4 \pm 2.8 \mu\text{g/L}$ al tercer y primer trimestre del embarazo, respectivamente. Mientras que al ajustar por creatinina los valores promedios de Mo para los mismos trimestres fueron de 45.6 y $54.0 \mu\text{g/g}$ de creatinina. Después de ajustar por potenciales confusores, se estimó que un doble incremento de Mo ($\mu\text{g/g}$ de creatinina) en orina durante el tercer trimestre del embarazo, se asocia con una

reducción significativa en el índice de desarrollo psicomotor (IDP) ($\beta=-0.57$; $p=0.03$) y ningún efecto sobre el índice de desarrollo mental (IDM)($\beta=0.07$; $p=0.66$).

Hasta donde sabemos este es el primer estudio que evalúa el efecto del Mo sobre el neurodesarrollo infantil y sugiere que una mayor exposición prenatal a Mo durante el tercer trimestre de embarazo, podría afectar negativamente el desarrollo psicomotor durante los primeros 30 meses de vida. No obstante estos hallazgos necesitan ser replicados y evaluar su relevancia clínica.

Palabras clave: Exposición prenatal, neurodesarrollo infantil, molibdeno, escala de Bayley y cohorte.

ANTECEDENTES

Existen metales que son considerados elementos esenciales, debido a que actúan como catalizadores o componentes estructurales de moléculas de mayor tamaño, tienen funciones específicas y son indispensables para la vida (Mertz W, 1981). Sin embargo, la deficiencia o exceso de estos elementos puede resultar en una enfermedad o alteración del metabolismo. De los metales considerados esenciales, hasta ahora el más estudiado es el manganeso (Mn) cuya exposición se asocia con una disminución en el desarrollo mental de niños lactantes y escolares (Claus Henn B y cols., 2010; Riojas-Rodríguez H y cols., 2010). Existen otros metales como el Molibdeno (Mo), que al igual que el Mn es un elemento esencial, potencialmente tóxico, ampliamente distribuido en el ambiente y sobre el cual, sólo existe información de toxicidad en animales y ha sido poco estudiado en humanos.

Características Físico-químicas del Molibdeno:

El Mo es un metal que junto con el cromo y el tungsteno conforman el grupo VIb de la tabla periódica. En la naturaleza, el Mo no existe en su forma pura, sino en asociación con otros metales, como calcio, hierro y plomo, la forma predominante de Mo en forma soluble es el anión Molibdato (Mo O^{-2}_4). Las sales de Mo, más abundantes y comercialmente importantes son el molibdenito (MoS_2), ferrimolibdenito ($\text{Fe}_2[\text{MoO}_4]_3$) y el jordisito (forma amorfa de disulfido de Mo). Menos importantes son: molibdato de calcio (CaMoO_4), molibdato de plomo ($\text{PbMoO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) y el oxisulfato de Mo, todas ellas productos de desechos de las minas de uranio (Barceloux DG., 1999).

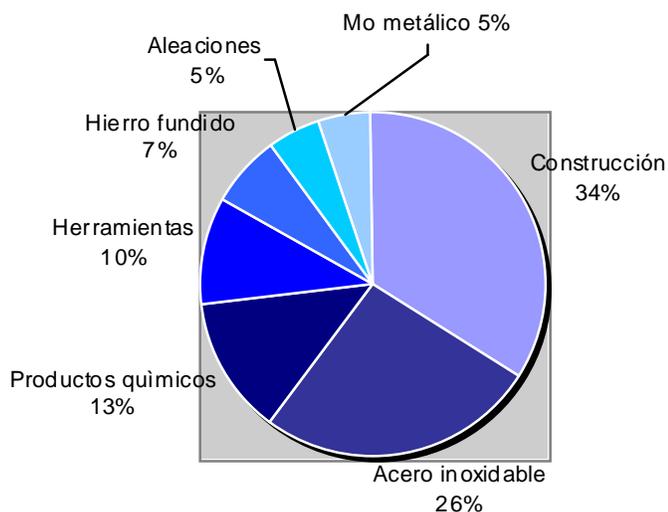
Fuentes de exposición del Molibdeno:

El Mo se encuentra en la naturaleza en los suelos volcánicos, lo cual constituye una fuente natural. El contenido de Mo en el suelo oscilan entre 0.2 y 5 mg/Kg, alcanzando hasta 200 mg/Kg en suelos de origen volcánico o cercano a yacimientos de molibdenita.

Como fuentes antropogénicas del Mo se encuentran: las operaciones de minería y productos de desecho de las minas de cobre; así como, la combustión de carbón y de los desechos municipales (Barceloux DG., 1999). Debido a su fuerza, firmeza y

retardo de la corrosión, el Mo se usa en la industria de la construcción (34%), en la generación de acero inoxidable (26%), producción de herramientas (10%), hierro fundido (7%) y en aleaciones (5%) (IMOA., 2011) (Gráfica 1).

Gráfica 1. Principales Usos del Molibdeno en el año 2009



Fuente: Moly review. IMOA International Molybdenum association, Julio del 2011

Adicionalmente, el Mo también se usa como fertilizante debido a que reduce el nitrógeno a amonio y de esta forma promueve el desarrollo de las células del parénquima de la planta y evita la deformación y necrosis de las hojas. Los cultivos en los que principalmente se usan las sales de Mo como fertilizante son: la alfalfa, los cítricos, el repollo, el repollo de Bruselas, la coliflor, las cucurbitáceas, la espinaca, la lechuga, las leguminosas forrajeras, la papa, el betabel, el rábano, el tabaco, el tomate, el trébol y en cultivos ornamentales como el clavel y las rosas (<http://www.asufrar.com.ar/pdf/molibdeno.pdf>, 2011). Las concentraciones foliares del Mo (mg/Kg) varían de acuerdo al tipo de cultivo y solo son orientativas, porque dependen del tipo de muestreo. En el Cuadro 1 se muestran las concentraciones de Mo encontradas en algunos cultivos y reportadas por una empresa argentina dedicada a la producción de fertilizantes.

Cuadro 1
Concentraciones de Molibdeno en hojas de cultivos (mg/Kg)

Cultivo	Muy Bajo	Bajo	Normal	Alto	Muy alto
Arroz			0.09		
Cítricos	<0.05	0.05-0.1	0.1-3	3-100	> 100
Clavel	<0.3	0.3-1	1-3	3-5	
Limonero	<0.05	0.05-0.09	0.1-0.29	0.3-0.4	> 0.4
Naranja	<0.06	0.06-0.1	0.1-3	3-100	> 100

Fuente: <http://www.asufrar.com.ar/pdf/molibdeno.pdf>

Vías de exposición a Molibdeno:

En humanos, la principal vía de exposición a Mo es la oral, a través del consumo de vegetales, leche y vísceras principalmente hígado y riñón. En el Cuadro 2 se muestra la concentración de Mo por 100 gramos de algunos alimentos seleccionados. Debido a las dificultades técnicas para su estimación, la información acerca de la ingesta dietética diaria de Mo es escasa. De acuerdo a dos estudios realizados en Estados Unidos, la ingesta promedio diaria varía entre 120 y 240 $\mu\text{g/d}$ (Tsongas TA y cols., 1980), estimando que en promedio para mujeres es de 76 $\mu\text{g/d}$ y 109 $\mu\text{g/d}$ para los hombres (Pennington JAT y Jones JW., 1987). Esto es muy superior a la recomendación dietética diaria en adultos de ambos sexos (Food and Nutrition Board Institute of Medicine Panel on Micronutrients y col., 2001) que es de 34 $\mu\text{g/d}$, en embarazadas y mujeres lactando que es de 40 y 36 $\mu\text{g/d}$, respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 2.
Concentración de Molibdeno en alimentos seleccionados.

Alimentos	Mo ($\mu\text{gr}/100 \text{ gr}$)
Lentejas	155
Ejotes	130
Coliflor	120
Chícharo	110
Levadura	109
Germen	100
Espinacas	100
Arroz	75
Ajo	70
Avena	60
Elote	45
Cebada	42
Papas	30
Cebolla	25
Cacahuete	25
Frijol	21
Otros	<20

Fuente: <http://naturopathicvermont.com/Minerals.pdf>

Cuadro 3. Recomendaciones de ingesta diaria de Molibdeno*

Edad	Ingesta de Mo ($\mu\text{g}/\text{día}$)
0 a 12 meses	0.3**
1 a 3 años	1-3
4 a 8 años	17
Hombres de 9 a 18 años	26
Mujeres de 9 a 18 años	33
Adultos	34
Embarazadas	40
Mujeres lactando	36

*: Adaptado de Food and Nutrition Board Institute of Medicine Panel on Micronutrients y cols., 2001.

** : $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{día}$

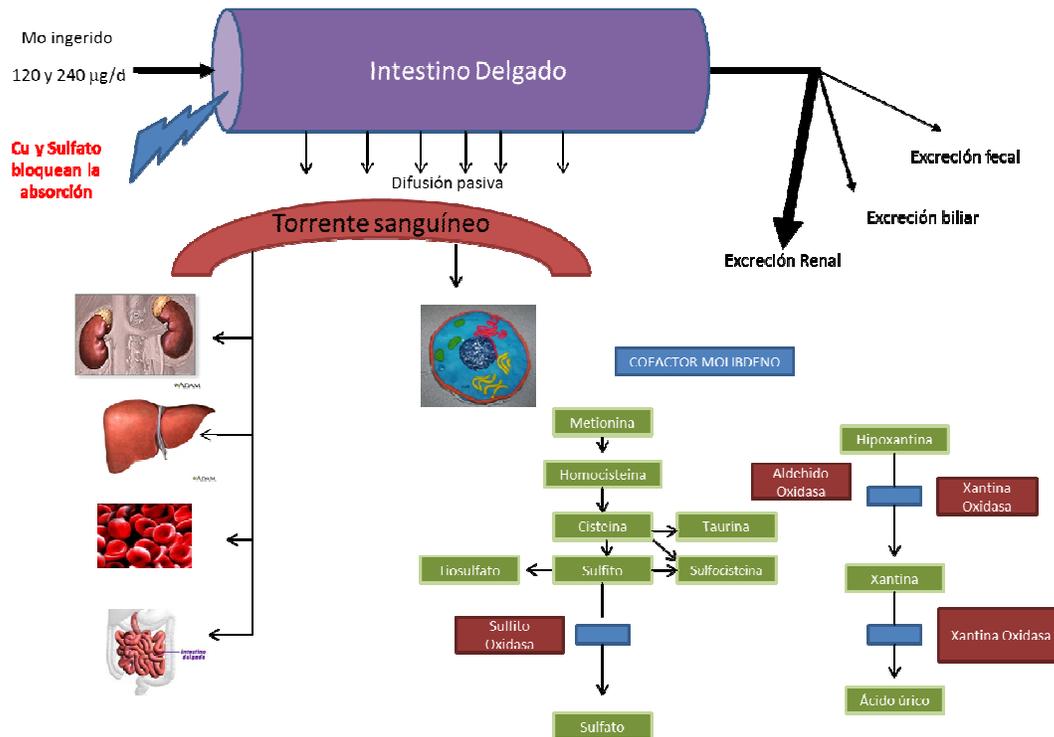
Metabolismo del Molibdeno:

En la figura 1 se muestra el metabolismo del Mo, el cual, una vez ingerido, es absorbido principalmente, en el extremo proximal del intestino delgado y en menor cantidad en el estómago y difunde pasivamente al torrente sanguíneo. La absorción y el depósito del Mo dependen de la cantidad ingerida y de las concentraciones de cobre (Cu) y sulfato (SO_4). En el tracto digestivo, el Cu se une al Mo y forma un compuesto insoluble de timolibdato de cobre que mejora la absorción del Mo (Sardesai V., 1993). Por su parte, altas concentraciones de sulfato inorgánico (300 a 400 ppm) pueden bloquear el transporte de Mo a través de la membrana y de esta forma reducir la absorción intestinal y la reabsorción tubular de Mo (Mills CF y col., 1980).

Una vez dentro de las células el Mo es transformado en el cofactor necesario para la actividad de las enzimas xantina oxidasa, aldehído oxidasa y la sulfito oxidasa, y que actúan en la detoxificación del sulfato. La enzima xantina oxidasa o Mo hidroxilasa, participa en el metabolismo de las purinas catalizando la oxidación de xantina en ácido úrico vía la hipoxantina; la aldehído oxidasa cataliza la conversión de aldehídos en ácidos e hidroxila a la hipoxantina para producir xantina, pero no puede convertir esta xantina en ácido úrico; y por último la sulfito oxidasa involucrada en el metabolismo de los sulfatos contenidos en los aminoácidos, que cataliza la conversión de sulfito en sulfato inorgánico, principal componente de los azufres en orina (Schwarz G y cols., 2009; Sardesai V., 1993).

El Mo se almacena principalmente en: riñón, hígado, glóbulos rojos, glándulas suprarrenales e intestino delgado (Schwarz G y cols., 2009). La excreción del Mo es rápida y más de la mitad ocurre a través del riñón y una pequeña porción por vía biliar. La excreción en heces fecales es mínima, con excepción de pacientes con síndrome de intestino corto o enfermedad de Crohn, donde la inflamación intestinal y la diarrea la incrementan (Sardesai V., 1993).

Figura 1. Metabolismo del Molibdeno



Fuente: Adaptado de Novoty JA, 2006

Durante el embarazo existe un intercambio pasivo de Mo entre la madre y el feto. En un estudio transversal con mujeres embarazadas, sanas, residentes de Kuwait, se compararon las concentraciones de Mo en sangre materna y en cordón umbilical tomada al momento del nacimiento, se observó una relación de 1 a 1; lo que demuestra que la placenta no representa una barrera para el paso materno-fetal del Mo (Al-Saleh E y cols., 2004).

Las concentraciones de Mo en plasma y suero son muy bajas y difíciles de medir. El mejor biomarcador de exposición es la concentración urinaria de Mo. En población general de ambos sexos de Estados Unidos, la concentración urinaria promedio de Mo varió entre 62.9 y 40.9 µg/L, mientras la media geométrica de Mo urinario con ajuste de creatinina fluctuó de 43.5 a 90.4 µg/g en sujetos de 6 años y mayores de 20 años, respectivamente (CDC.,2011).

Métodos de determinación de Molibdeno:

Hasta hace algunos años no existía una técnica suficientemente sensible para realizar la determinación de Mo en matrices biológicas. El poco conocimiento que se tiene sobre su metabolismo y las bajas concentraciones de Mo presentes en las diferentes matrices biológicas hacen difícil medirlo. La aparición de la espectrofotometría de absorción atómica (AA) ofreció una herramienta para la medición de este compuesto. La técnica consiste en la medición de la especie atómica por su absorción a una longitud de onda particular. La especie atómica se logra por atomización de la muestra, siendo la técnica más usada flama o llama, que nebuliza la muestra y luego la disemina en forma de aerosol dentro de una llama de aire acetileno u óxido nitrosoacetileno acoplada a un horno de grafito (http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/leia/choussy_c_d/apendiceC.pdf 2011). Sin embargo, debido a que el Mo forma carburos de Mo, no volátiles y térmicamente estables dentro del horno de grafito; la muestra debe ser previamente tratada con algún modificador para hacer al Mo termo-sensible e incrementar su volatilidad. Los modificadores usados son: nitrato de paladio-magnesio, hidrocloreuro de paladio e hidroxilamina, así como difluoruro de bario, siendo el primero el más sensible de los modificadores (Calvo CP y cols., 1995).

Deficiencia de Molibdeno:

Estudios experimentales sugieren que bajas concentraciones de Mo se asocian con un incremento en el riesgo de cáncer esofágico y caries dentales. En ratas, la adición de Mo al agua inhibió significativamente la carcinogénesis esofágica inducida químicamente. La actividad esofágica de la Xantina-oxidasa (XO) de los animales que recibieron 2 ppm de Mo en la dieta fue significativamente mayor que en el grupo de animales con baja concentración de Mo (Rajagopalan VK., 1980; Beedham C., 1985; Komada H y cols., 1990). Los autores sugieren que la baja concentración de Mo, afecta la actividad de la XO, la cual podría participar en la detoxificación de algunos compuestos xenobioticos. En relación con las caries dentales, en ratas la administración de 25 o 50 ppm de Mo más 50 ppm de fluoruro, en el agua fueron más efectivas en reducir las caries dentales en comparación con el grupo que sólo recibió fluoruro (Shaw JH y cols., 1961; Buttner W., 1963).

En humanos la evidencia epidemiológica es escasa y proviene principalmente de estudios ecológicos que reportan bajas concentraciones de Mo en suelo (Yang CS., 1980), en agua (Berg JW y cols., 1973) y en uñas (Nouri M y cols, 2008), en áreas con alta incidencia y mortalidad por cáncer de esófago. El mecanismo propuesto es un mecanismo indirecto en el cual, el bajo contenido de Mo en suelo puede incrementar la cantidad de nitratos (nitritos) en los cultivos y disminuir el contenido de vitamina C en los vegetales y los autores concluyen que esto coincide con el hecho de que las deficiencias de nutrimentos son comunes en poblaciones con alto riesgo de cáncer de esofágico a nivel mundial y entre sujetos alcohólicos (Yang CS., 1980).

En humanos en general, la deficiencia sistémica de Mo (evaluada a través de la actividad de las enzimas dependientes del Mo), es rara. Sólo sujetos con alteraciones genéticas muy poco frecuentes, ej. Síndrome de deficiencia del factor Mo, defectos de las enzimas Xantin-oxidasa y sulfito oxidasa presentan síntomas leves (convulsiones, contracciones musculares) o daño neuronal progresivo, así como muerte en la infancia temprana (Goldhaber S., 2003). En adultos, sólo existe un reporte clínico sobre deficiencia de Mo no genética, posterior a un largo período de nutrición parenteral y múltiples resecciones intestinales, el cuadro clínico se caracterizó por: taquicardia, taquipnea, cefalea bifrontal severa, ceguera nocturna, náusea, vómito, escotomas centrales, periodos de letargia, desorientación y eventualmente coma (Schwarz G y cols., 2009).

Toxicidad por Molibdeno:

En animales la toxicidad por Mo, varía de acuerdo a la especie, la edad, sexo y duración de la exposición. Los más sensibles son los rumiantes, pero en general las alteraciones observadas son: reducción en el crecimiento, pérdida de peso, falla renal, anormalidades esqueléticas, infertilidad, anemia, diarrea, alteraciones de la tiroides y en la calidad, cantidad y color del pelo. Muchos de estos síntomas son atribuidos a la deficiencia de cobre que se puede producir como consecuencia de la formación de tiomolibdato de cobre a nivel intestinal (Food and Nutrition Board Institute of Medicine Panel on Micronutrients y cols.,2001;Arrington LR y cols., 1953). La única alteración que no parece estar relacionada con el cobre, son las alteraciones de tipo esqueléticas.

En relación con la toxicidad en humanos, el Mo es considerado medianamente tóxico (menos tóxico que el selenio y el telurio), básicamente ha sido estudiado como elemento esencial y son muy pocos los estudios que evalúan su toxicidad. Se estima que el límite máximo permitido de ingesta de Mo es de 2 mg/día, pero no existen valores de referencia en orina para establecer toxicidad. A diferencia de los animales, en el humano, el antagonismo entre el Mo y el Cu no parece ser el principal mecanismo tóxico (Goldhaber S., 2003). En un estudio realizado en la antigua Unión Soviética, una ingesta diaria de 10-15 mg/d, se asoció con incremento en la incidencia de síntomas similares a la gota y con elevadas concentraciones de ácido úrico (Kovalskiy y cols, 1966).

Por su parte, estudios más recientes, uno de ellos a nivel ecológico realizado en la región Lvliang, provincia Shanxi en China, sugiere que la alta prevalencia de defectos del tubo neural puede estar asociado con concentraciones de Mo por arriba o por debajo de 8.51 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tierra (Huang J y cols., 2011). En Estados Unidos, un estudio basado en la NHANES de 2007-2008, reporta un incremento de 3 veces más posibilidades de hepatotoxicidad entre adultos mayores de 20 años, con concentraciones de Mo urinario superiores a la media geométrica de 43.88 $\mu\text{g}/\text{g}$ (Mendy A y cols., 2011).

Neurodesarrollo infantil:

El neurodesarrollo infantil, es un proceso fisiológico dinámico, que depende de la adecuada formación y maduración del Sistema Nervioso Central (SNC). El SNC comienza a formarse durante la tercera semana de gestación, con la división y diferenciación de las primeras células neuroectodérmicas, que forman la placa neural y finaliza en promedio 20-21 años después (Martínez 2001).

La exposición a agentes externos como teratógenos, infecciones intrauterinas, problemas fetoplacentarios, complicaciones obstétricas, sepsis e infecciones del SNC durante la etapa perinatal o la niñez, traumas craneoencefálicos y la oclusión de las arterias y/o venas cerebrales pueden alterar el neurodesarrollo infantil y afectar algunas de las etapas de la formación y/o maduración del SNC y limitar su funcionamiento (Martínez 2001). Las deficiencias dietéticas durante el embarazo,

así como, la exposición prenatal a contaminantes ambientales que actúan como disruptores endócrinos del sistema tiroideo, pueden también alterar el desarrollo del sistema nervioso central.

Las funciones fisiológicas de las hormonas tiroideas en el cerebro en desarrollo incluyen, la señalización adecuada para la diferenciación y maduración que precisa el neurodesarrollo. Cualquier alteración en la concentración de las hormonas tiroideas, produce deficiencias en el desarrollo cerebral, con expresiones mentales y/o motoras que varían de acuerdo a la gravedad de la deficiencia (Anderson GW y cols., 2003). Los problemas de deficiencias tiroideas, son especialmente importante durante las primeras 15-18 semanas de gestación (Lavado-Autric R y cols., 2003; Haddow J y cols., 1999), en las cuales, el feto depende exclusivamente de la concentración de hormonas tiroideas materna. Aunque las principales causas de bajas concentraciones plasmáticas de hormonas tiroideas son el hipotiroidismo o la hipotiroxemia materna causada por deficiencia de yodo, existen algunos compuestos químicos como metales, compuestos organoclorados u otros, que afectan el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides a diferentes niveles (Howdeshell KL, 2002).

En relación al Mo, es poco lo que se sabe acerca de su papel como disruptor endócrino. Sólo un estudio experimental realizado en conejos reporta la presencia de signos asociados con hipotiroidismo: disminución en la concentración plasmática de T₄, y atrofia tiroidea, posterior a la administración por vía oral de 0.3% de Molibdato (Widjajakusuma MCR y cols, 1973).

JUSTIFICACIÓN

El estado de Morelos (Figura 2), se encuentra ubicado entre los estados de Puebla, Guerrero, México y el DF. Fisiográficamente, el estado pertenece a las provincias Sierra Madre del Sur y el eje neovolcánico. (Servicio geológico mexicano, 2011). Desde el punto de vista agrícola, Morelos produce cultivos de: Cebolla, pepino, tomate rojo y verde, así como de elote y plantas ornamentales. De acuerdo al INEGI es el principal productor y exportador de plantas de Nochebuena con una producción para el 2008 de 5,846,000 toneladas (INEGI,2011) y donde uno de los principales productos usados para mejorar el desarrollo de la nochebuena es un fertilizante soluble con alto contenido de nitrato, molibdeno (66%) y zinc.

Figura 2
Mapa del Estado de Morelos



Hasta donde sabemos en México no existe ningún estudio a nivel ocupacional o poblacional que evalúe la exposición a Mo y sus posibles efectos a la salud. Sin embargo, entre el 2001 al 2009 se llevó a cabo un estudio de cohorte perinatal en cuatro municipios del estado de Morelos, que incluyó a 442 pares de madres y niños, cuyo objetivo principal fue evaluar la asociación entre la exposición prenatal a organoclorados y el neurodesarrollo infantil. Como parte de este estudio se conformó un banco de muestras de orina maternas correspondientes a cada uno de los trimestres del embarazo y el análisis de las mismas mostró que dependiendo del

trimestre, entre el 7 al 15% de ellas estuvieron por arriba del percentil 95 de la distribución de Mo reportado por la NHANES para mujeres de todas las edades (152 µg/L y 139 µg/g). Por lo anterior, el objetivo del estudio fue explorar la asociación entre la exposición prenatal a Mo y el neurodesarrollo infantil evaluado mediante la Escala de Bayley (BSID-II) en niños menores de 30 meses, residentes del estado de Morelos.

MATERIAL Y MÉTODOS

De Enero del 2001 a Junio del 2009, se llevó a cabo un estudio de cohorte en cuatro municipios del estado de Morelos, México; cuyo objetivo principal fue evaluar la asociación entre la exposición prenatal a organoclorados y el neurodesarrollo infantil (Torres-Sánchez L y cols., 2007). Las participantes de la cohorte fueron 996, mujeres en edad reproductiva, identificadas durante las pláticas prematrimoniales que por ley exige el estado para la ceremonia civil, con una tasa de participación del 62.8% (Figura 3). Como criterios de inclusión se consideraron no tener antecedentes de enfermedad crónica (tiroidea, cardíaca, hepática, renal y/o gastrointestinal) no tener tratamiento con anticonvulsivantes, y no estar lactando.

Durante la evaluación basal a cada una de las mujeres participantes se les aplicó un cuestionario estructurado mediante el cual se obtuvo información acerca de las características sociodemográficas y reproductivas. El seguimiento se realizó cada 8 semanas hasta el momento del embarazo y continuó durante y posterior al mismo. Mediante un cuestionario aplicado en cada trimestre se evaluó el progreso del embarazo, las características dietéticas y se tomaron medidas antropométricas maternas (peso y talla).

Las evaluaciones postnatales se programaron al primer, tercer y sexto mes de vida y posteriormente cada seis meses hasta los 30 meses de edad. Durante la visita al primer mes de edad, se obtuvo información de aspectos relacionados con el nacimiento e inicio de la lactancia. Durante las visitas subsiguientes la recolección de la información se enfocó en el estado de salud de los niños y prácticas de alimentación. Después de los 12 meses de edad se preguntó si el niño(a) asistía a la guardería y el número de personas que convivía con el niño. Durante todas las

visitas se tomaron medidas antropométricas (peso, talla y perímetro cefálico) y a cada niño se le realizó una evaluación del neurodesarrollo, mediante la escala de Bayley.

Población de estudio

Para fines de esta tesis, del total de nacimientos se identificaron 294 niños que fueron productos de un embarazo único, sin diagnóstico de asfixia perinatal, peso ≥ 2 Kg, edad materna >15 años, que fueron evaluados al menos en cinco de las siete visitas programadas desde el mes hasta los 30 meses de edad y de cuyas madres se contaba con orina de por lo menos un trimestre del embarazo. De estos sujetos se realizó una selección aleatoria para obtener un total de 147 niños incluidos en el análisis.

Evaluación del neurodesarrollo

El neurodesarrollo infantil se evaluó mediante la versión en español de la prueba BSID-II (por sus siglas en inglés Bayley Scales of Infant Development Second Edition), esta prueba es usada en niños de 1 a 42 meses de edad (Bayley N.,1993). En este proyecto la BSID-II se aplicó a cada niño desde el primero hasta los 30 meses de edad. Esta prueba incluye dos índices: uno que evalúa el desarrollo psicomotor (IDM) y otro el desarrollo mental (IDM). Dos psicólogas entrenadas fueron las responsables de la aplicación de ésta evaluación y la concordancia inter-observador fue del 0.97 para el IDP y de 0.99 para el IDM.

El coeficiente intelectual materno (IQ) se evaluó usando una versión en español de la escala de inteligencia para adultos de Wechsler (Wechsler D., 1981). La calidad del ambiente en el hogar fue evaluada a los 6 meses de edad a través de la escala HOME (Home Observation for Measurement of the Environment) (Caldwell B., 1984), este instrumento evalúa la calidad del ambiente en el hogar como un determinante del neurodesarrollo.

Análisis químicos

Determinación de Molibdeno

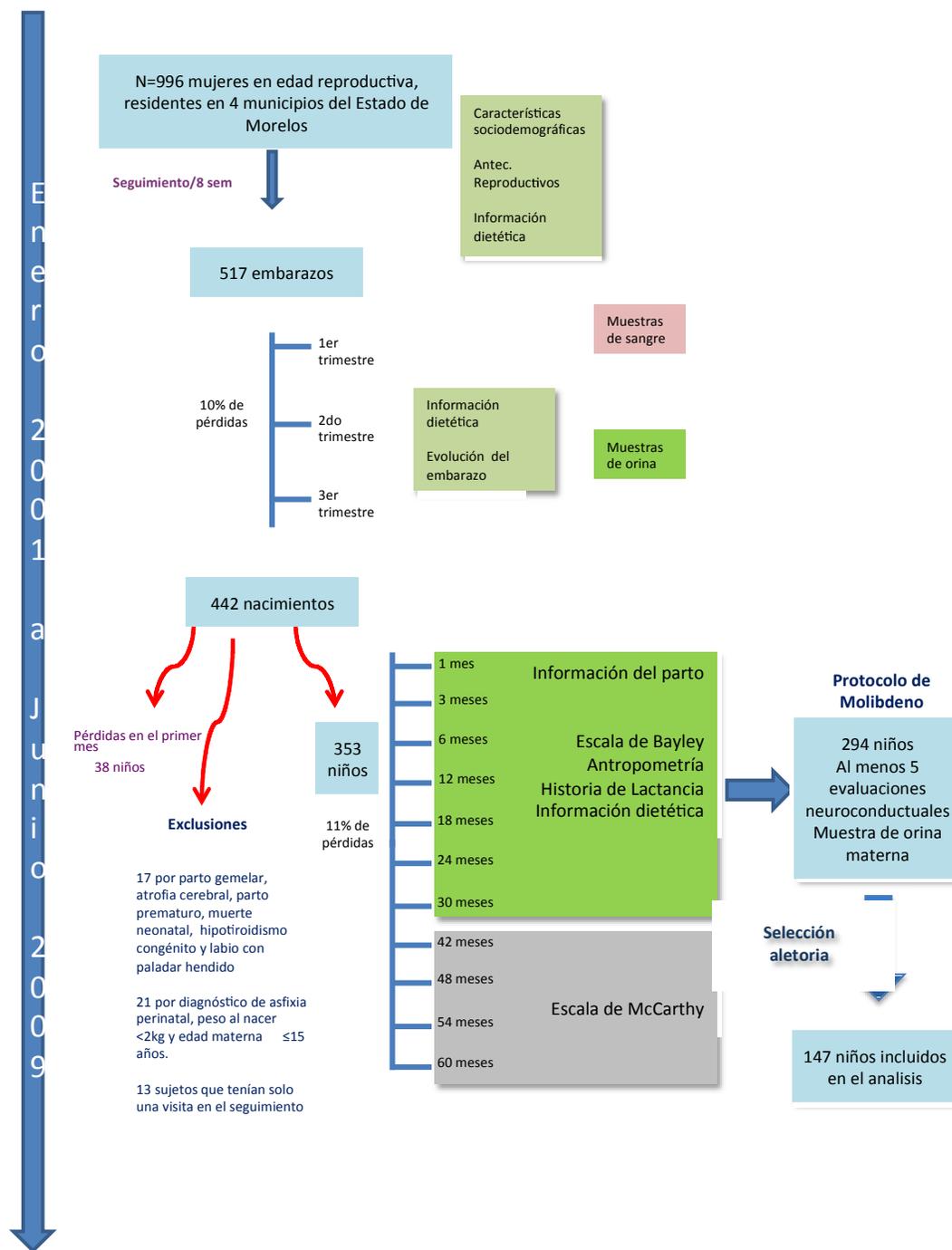
A cada madre participante, se le solicitó una muestra de orina (10 ml) en cada trimestre del embarazo. Las muestras fueron refrigeradas y transportadas al Instituto

Nacional de Salud Pública, donde fueron almacenadas en viales plásticos a -70°C . Posterior a la selección aleatoria, las muestras fueron enviadas al laboratorio de Toxicología en la Universidad Federal de Bahía, Brasil, donde se realizaron las determinaciones de Mo. El análisis fue realizado en un espectrómetro de absorción atómica con horno de grafito AA24Z (Varian inc., Australia). Todas las soluciones fueron preparadas con agua altamente purificada Tipo 1 (resistivity $18.2\text{ M}\Omega\text{ cm}$) obtenida del sistema de purificación de agua Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA) y el material fue lavado con ácido nítrico al 65%.

Las muestras de orina fueron preparadas directamente en la copa de auto muestreo a una dilución 1:1 con ácido nítrico al 0.2% y 0.5% de solución Triton X-100 con la adición de un diluyente automático para mejorar la exactitud. Para el control de calidad se analizaron muestras de orina de *Seronorm Mo-U Trace elements urine* (Noruega, Laboratorio SERO AS, Billingstad) (LOT 0511545), con cantidades conocidas de Mo. El límite de detección fue $<0.2\text{ }\mu\text{g/L}$ y el 100% de las muestras se encontraron por arriba de este valor. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado y el coeficiente de variación fue de 2.4%.

La determinación de creatinina se realizó mediante una modificación del método de Jafé, usando un kit de LabTest Diagnostica® (Sao Paulo, Brasil). El análisis se realizó manualmente usando un espectrofotómetro UV/Vis (Bioespectro SP-220). Para este método la precisión dentro de la corrida (desviación estándar relativa [DER]) fue de 2.9% a una concentración de 97.9 mg/dL (Seronorm®, Norway), mientras la precisión de todas las mediciones fue 8.9% DER y la exactitud calculada fue 101.9%.

Figura 3: Conformación de la población de estudio



Determinación de p,p'-DDE

Como parte del estudio original se contaba con la determinación de p,p'-DDE sérico, proveniente de muestras de sangre (7 ml) maternas tomadas durante la entrevista basal y/o en cada trimestre del embarazo. La determinación de las concentraciones de DDE en suero se hicieron mediante cromatografía con detector de captura de

electrones (modelo 3400; Varian, Inc; Palo Alto, CA, USA), de acuerdo al protocolo recomendado por la agencia de protección ambiental de USA (1980). El límite de detección fue de 0.05 ng/mL y el 100% de las muestras fueron positivas a p,p'-DDE.

Determinación de plomo

Al menos en un trimestre del embarazo se tomaron muestras de sangre, en vacutainers con EDTA libres de plomo. Por razones presupuestales, las determinaciones de plomo se realizaron sólo en una submuestra de las mujeres, y el análisis químico se llevó a cabo en los laboratorios ESA (por sus siglas en inglés Environmental Science Associates Laboratories), usando el método de separación anódica voltamétrica. Las concentraciones de Pb se determinaron por duplicado y las muestras con concentraciones medias < 5 µg/dL se analizaron nuevamente con espectrofotometría por absorción atómica. El control de calidad externo se realizó en el CDC (por sus siglas en inglés Centers for Disease Control and Prevention Laboratories) y a través del programa de evaluación de calidad de Pb en sangre del estado de Pennsylvania.

Evaluación de la ingesta dietética de Cobre y energía durante el embarazo

Durante el primer y tercer trimestre de gestación, se aplicó a cada una de las madres un cuestionario de frecuencia de consumo, semi-cuantitativo, previamente validado (Hernández-Ávila M y cols., 1998) y que contiene información acerca del consumo de 92 alimentos. La frecuencia de consumo de cada alimento fue clasificado de acuerdo a 10 categorías, que varió entre nunca y 6 veces al día. El consumo de frutas y vegetales fue ajustado de acuerdo a la disponibilidad de estos en el mercado durante el año. Por ejemplo, en el caso de las uvas que sólo están disponibles por 6 meses al año, el reporte de frecuencias de consumo se dividió entre 2.

El consumo dietético de Cu y energía fue estimado mediante el programa computacional desarrollado por la Universidad de Texas (Food Intake Analysis System [FIAS]). El contenido de Cu reportado para cada alimento en la base de datos del FIAS fue comparado con los valores de las tablas de composición de alimentos mexicanos desarrolladas por el Instituto Nacional de Nutrición en 1996

(Muñoz M y col.,1996). En el caso de: la ciruela roja, la manzana, el melón, el mango, el mamey, la papaya, la piña, el jitomate, el nopal, el aguacate, el pastel, el cereal (corn-flakes), la tortilla de harina y de maíz, así como del bolillo o telera; donde la cantidad de Cu reportada por ambas fuentes mostraron una diferencia mayor o igual al 10%, se decidió incorporar el valor reportado por el Instituto Nacional de Nutrición.

De acuerdo con la base de datos, los alimentos contenidos en el cuestionario, que presentaron la mayor cantidad de Cu fueron: el aguacate, la papa, los cereales, frijol, chicharos, hígado de res, puerco y pollo. La cantidad de Cu por alimento, varió entre 0.82 mg por ración de ciruela y nopal a 8.5 mg por ración de aguacate, respectivamente.

Análisis estadístico

El análisis univariado incluyó la comparación de las características maternas e infantiles y resultados de IDP e IDM entre incluidos y no incluidos, mediante pruebas de “t” de Student y χ^2 , dependiendo del tipo de variable ya sea continua o categórica, respectivamente.

Las concentraciones urinarias de Mo se reportan con y sin ajuste por creatinina durante cada trimestre del embarazo. El ajuste por creatinina se realizó de acuerdo a la metodología previamente descrita por Barr (Barr y cols., 2005). Ambas variables se encontraban sesgadas a la derecha y se transformaron a logaritmo natural, para estabilizar la varianza. Para evaluar si existían diferencias en las concentraciones de Mo a lo largo del embarazo se usó la prueba de ANOVA y se realizó una prueba de tendencia mediante un modelo de regresión lineal.

El efecto de la exposición prenatal a Mo sobre el neurodesarrollo infantil se estimó a través de modelos multivariados de efectos mixtos para cada uno de los índices (IDP e IDM, ambos con distribución normal) y por separado para cada uno de los trimestres del embarazo. La ecuación general del modelo es la siguiente:

$$Y_{ij} = X_{ij} \beta + Z_{ij} \gamma_i + \epsilon_{ij}$$

Donde ij : representa la observación j en el sujeto i ; Y_{ij} corresponde al neurodesarrollo mental o motor para cada sujeto durante el 1, 3, 6, 12, 18, 24 y 30 meses de edad y X_i son las concentraciones en orina de Mo con y sin ajuste por creatinina durante cada trimestre del embarazo bajo estudio, edad y escolaridad materna (años), coeficiente intelectual materno (escala de inteligencia para adultos de Wechsler) ocupación (remunerada/no remunerada), paridad (primer embarazo/más de un embarazo), exposición prenatal a p,p'-DDE durante el primer trimestre de gestación (medido en sangre en ng/mL), tipo de parto (vaginal/cesárea), edad gestacional (semanas de embarazo), peso al nacimiento (Kg), sexo del niño (mujer/hombre), historia de lactancia (ninguna, por al menos 12 semanas y mayor a 12 semanas) y la estimulación en el hogar (escala HOME) a los 6 meses de edad. Además, Z_{ij} son las variables con efectos aleatorios, edad al momento de la evaluación. Como potenciales confusores se consideraron aquellas variables que son factores de riesgo conocidos para alteraciones en el neurodesarrollo infantil. Permanecieron en modelos sólo aquellas que modificaron el coeficiente de regresión en más de un 10%.

Con la finalidad de facilitar la interpretación, las betas obtenidas para la concentración urinaria de Mo en cada trimestre del embarazo se multiplicaron por 0.69, para convertir los coeficientes en logaritmo base 2 y el resultado se interpretó por cada doble incremento de Mo en orina.

El diagnóstico del modelo final incluyó la identificación de la mejor estructura de los efectos aleatorios de los modelos, siendo la determinante el primer nivel, identificado como la edad al momento de la evaluación del neurodesarrollo. Además se estimaron simultáneamente los valores residuales independientes entre cada una de las edades de evaluación, ajustando por heterocedasticidad.

Para evaluar el potencial efecto confusor del plomo, se repitió el análisis de los modelos finales con una sub-muestra de 64 niños, de los cuales se contaban con resultado de Pb en sangre materna.

RESULTADOS

El cuadro 4 muestra las características maternas e infantiles de la población de estudio, de acuerdo a los niños incluidos y no incluidos en el análisis. En general se trata de hijos de madres jóvenes, en su mayoría primigestas, sin antecedentes de tabaquismo durante el embarazo; donde alrededor de la mitad de ellos nacieron por cesárea y un 65.3% reportan una historia de lactancia mayor a 12 semanas. La única diferencia estadísticamente significativa observada entre ambos grupos fue que, las madres de los niños incluidos en el análisis presentaron un índice de masa corporal al primer trimestre menor al de las madres de los niños no incluidos ($p=0.01$).

Los resultados del IDP (rango: 68 a 118) e IDM (rango: 68 a 114) de la prueba de Bayley se encontraron dentro de los límites normales, (datos no incluidos en el cuadro). Ambos índices presentaron una disminución significativa desde el mes hasta los 30 meses de edad. La principal reducción en el IDP se observó a los 3 meses, mientras que para el IDM fue a los 24 meses. No se encontró diferencia de medias (prueba de "t") de los valores de IDP e IDM entre los niños incluidos y no incluidos en el análisis (Cuadro 5).

Entre el primer y tercer trimestre del embarazo, las concentraciones urinarias promedio de Mo sin ajuste por creatinina, variaron entre 40.4 a 37.0 $\mu\text{g/L}$. En contraste al realizar el ajuste por creatinina la variación fue de 45.6 y 54.0 $\mu\text{g/g}$ de creatinina al primer y tercer trimestre, respectivamente (Cuadro 6). El 100% de las muestras analizadas se encontraron por arriba del límite de detección de 0.2 ($\mu\text{g/L}$) y entre el 6 al 15% de las muestras (dependiendo del trimestre) estuvieron por arriba del percentil 95 de la distribución de Mo reportado por la NHANES para mujeres (152 $\mu\text{g/L}$ y 139 $\mu\text{g/g}$). No hubo diferencias significativas entre cada uno de los trimestres (p de tendencia >0.05).

Cuadro 4.Características de la población de estudio

Características	Incluidos (n=147)	No incluidos (n=206)	Valor "p" ^a
MATERNAS			
Edad (años)			
Media ± DE	22.0 ±4.3	22.4±4.2	0.4
Educación (años)			
Media ± DE	10.9 ±3.3	10.9 ±3.3	0.9
Coficiente intelectual			
Media ± DE	89.7 ±12.9	87.4±12.4	0.09
Ocupación pagada (%)	44.2	51.9	0.2
Paridad>1(%)	19.0	19.4	0.9
Índice de masa corporal ^b			
Media ± DE	23.0 ±3.5	23.9 ±4.1	0.01
Consumo dietético de Cu ^b (%)			
< 1 mg/d	8.2	11.7	0.9
Energía Media ± DE			
Primer trimestre	2838.6±79.1	2777.7±60.6	0.5
Tercer trimestre	2785.3±62.4	2815.6±64.4	0.7
Tabaquismo (%)			
Nunca	59.3	58.1	
Antes del embarazo	34.5	33.0	0.7
Fumo 1 ^{er} trimestre	6.2	8.9	
INFANTILES			
Cesárea (%)	61.2	57.8	0.5
Edad gestacional (semanas)			
Media ± DE	39.3	39.0	0.07
Peso al nacer (Kg)			
Media ± DE	3.2±0.4	3.2±0.03	0.8
Sexo femenino (%)	46.9	42.3	0.4
Lactancia (%)			
Nunca	10.2	5.3	0.2
≤ 12 semanas	24.5	24.8	
>12 semanas	65.3	69.9	
Escala HOME			
Media ± DE	30.5 ±4.7	30.4 ±4.6	0.8
% <26 puntos ^c	17.9	23.6	0.2

^a: t-test y χ^2

^b: Al primer trimestre de embarazo

^c: Percentil 10 de la distribución de HOME.

Cuadro 5. Valores promedio de la escala Bayley (Índice de desarrollo psicomotor y mental) de acuerdo a la edad de evaluación

Edad a la evaluación (meses)	Psicomotor*		Mental*	
	Incluidos	No Incluidos	Incluidos	No incluidos
1	97.3 ± 7.1 (n=143)	97.2 ± 7.0 (n=156)	98.0 ± 3.9 (n=143)	98.5 ± 4.9 (n=156)
3	86.7 ± 5.2 (n=142)	86.1 ± 5.3 (n=172)	95.0 ± 5.3 (n=142)	94.5 ± 5.2 (n=172)
6	94.3 ± 8.3 (n=143)	94.8 ± 9.2 (n=156)	95.9 ± 3.9 (n=143)	95.7 ± 4.6 (n=156)
12	89.9 ± 7.6 (n=145)	90.3 ± 9.3 (n=153)	93.4 ± 7.4 (n=145)	92.7 ± 7.2 (n=153)
18	92.4 ± 6.9 (n=143)	91.1 ± 6.5 (n=154)	89.5 ± 7.4 (n=143)	89.0 ± 7.5 (n=154)
24	95.5 ± 8.6 (n=144)	93.9 ± 8.2 (n=121)	86.1 ± 9.5 (n=144)	85.1 ± 11.5 (n=121)
30	92.8 ± 10.0 (n=144)	92.6 ± 9.1 (n=113)	90.8 ± 8.3 (n=144)	89.2 ± 8.2 (n=113)

*: p de tendencia <0.05

Cuadro 6. Concentraciones maternas de Molibdeno en cada trimestre del embarazo

Concentraciones urinarias de Molibdeno (µg/L) ^b	Media ± DE ^a	P ₅	P ₅₀	P ₉₅	% > P ₉₅ de la NHANES
1 ^{er} trimestre (n=121)	40.4±2.8	7.6	38.5	188.7	9.1%
2 ^{do} trimestre (n=110)	38.1±3.7	6.1	39.6	204.4	9.1%
3 ^{er} trimestre (n=120)	37.0±3.1	5.2	37.7	186.8	6.7%

Concentraciones urinarias de Molibdeno (µg/g de creatinina) ^c	Media ±	P ₅	P ₅₀	P ₉₅	% > P ₉₅ de la NHANES
1 ^{er} trimestre (n=121)	45.6 ± 2.5	11.4	48.9	184.9	9.1%
2 ^{do} trimestre (n=110)	54.6 ± 2.6	9.9	59.1	237.4	15.4%
3 ^{er} trimestre (n=120)	54.0 ± 2.9	7.5	58.6	292.9	12.5%

a.: Media geométrica y desviación estándar

b.: p de la prueba de tendencia= 0.54

c.: p de la prueba de tendencia= 0.18

Un mejor desarrollo psicomotor y mental se asoció significativamente ($p < 0.05$) con una mayor edad gestacional, mayor peso al nacer, una mejor estimulación en el hogar medido por la escala de HOME y circunferencia cefálica en la etapa postnatal (Cuadro 7). Adicionalmente, un mayor peso durante la etapa postnatal se asoció con un incremento significativo del IDP, mientras que un doble incremento de DDE sérico durante el primer trimestre del embarazo lo redujo significativamente ($\beta =$

0.71; $p < 0.05$). Las niñas presentaron un índice de desarrollo mental significativamente menor que los niños ($\beta = -1.64$; $p < 0.05$).

Las concentraciones urinarias de Mo (no ajustadas por creatinina) en el primer trimestre del embarazo fueron significativamente mayor en las madres con antecedentes de más de un embarazo (máximo 2 embarazos). La edad gestacional, se asoció positivamente con un incremento significativo en las concentraciones urinarias de Mo durante el segundo y el tercer trimestre del embarazo. Por otro lado, las madres que reportaron un mayor consumo dietético de cobre presentaron mayor concentración urinaria de Mo y los niños que estuvieron expuestos a una mejor estimulación en el hogar presentaron una concentración de Mo urinario significativamente menor durante el tercer trimestre del embarazo. Las concentraciones urinarias de Mo no se asociaron significativamente con ninguna otra característica materna o infantil (Cuadro 8a).

Al realizar el ajuste por creatinina, la asociación con la paridad y la estimulación en el hogar se mantienen igual. Sin embargo, a diferencia de las concentraciones sin ajuste al ajustar por creatinina, se observó que el consumo dietético de cobre incrementó significativamente las concentraciones urinarias de Mo en el primer trimestre del embarazo; las mujeres que trabajan tuvieron una concentración de Mo significativamente mayor que las amas de casa durante el segundo trimestre; así mismo, la educación, el coeficiente intelectual materno y el consumo de energía durante el tercer trimestre se asociaron negativamente con las concentraciones urinarias de Mo durante el tercer trimestre (Cuadro 8b).

Cuadro 7. Características maternas e infantiles asociadas con los índices de desarrollo psicomotor y mental de la Escala de Bayley

Características	Psicomotor (n=147)	Mental (n=147)
MATERNAS		
Edad (años)	-0.09	-0.02
Educación (años)	-0.05	0.09
Coficiente intelectual	0.009	0.03
Ocupación pagada	-0.01	-0.59
Paridad > 1	1.41	0.15
Índice de masa corporal(Kg/m ²)	-0.12	0.01
Consumo dietético de Cu (< 1 mg/d) ^a	0.88	0.48
Energía (Kcal)		
1 ^{er} trimestre	0.00014	0.00023
3 ^{er} trimestre	-0.00021	-0.00029
Tabaquismo		
Antes del embarazo	-0.56	0.11
Durante el embarazo	1.34	0.31
Exposición prenatal a DDE (ng/mL)		
1 ^{er} trimestre	-0.71 [*]	-0.3
2 ^{do} trimestre	-0.37	-0.12
3 ^{er} trimestre	-0.12	0.06
INFANTILES		
Cesárea vs. Parto vaginal	-0.45	-0.78
Edad gestacional (semanas)	0.59 [*]	0.32 [*]
Peso al nacer (kg)	2.45 [*]	1.36 [*]
Femenino vs. masculino	-0.88	-1.64 [*]
Lactancia		
≤ 12 semanas	-0.07	0.44
>12 semanas	0.16	0.54
Escala HOME	0.23 [*]	0.17 [*]
Antropométricas ^b		
Peso (kg)	0.5 [*]	0.37
Talla (cm)	0.023	0.098
Circunferencia cefálica (cm)	0.30 [*]	0.25 [*]

^a: Al primer trimestre

^b: Ajustado por edad a la evaluación

*: Valor p < 0.05

Cuadro 8a. Coeficientes betas de las concentraciones urinarias de molibdeno en cada trimestre del embarazo de acuerdo a algunas características maternas e infantiles.

Características	Concentración urinaria de Mo ($\mu\text{g/L}$) ^a		
	1 ^{er} (n=121)	2 ^{do} (n=110)	3 ^{er} (n=120)
MATERNAS			
Edad (años)	-1.0	-1.0	-1.04
Educación (años)	-1.0	1.02	-1.05
Coficiente intelectual	-1.0	-1.0	-1.00
Ocupación pagada (Si vs. No)	1.2	1.43	-1.10
Paridad >1	1.6*	1.16	1.16
Índice de masa corporal(Kg/m ²) ^b	1.0	1.01	1.02
Consumo dietético de Cu (< 1 mg/d) ^b	1.03	-1.06	1.18
Energía (Kcal)			
1 ^{er} trimestre	1.0	-1.0	-1.0
3 ^{er} trimestre	-1.0	-1.0	-1.0
Tabaquismo (Si/no)			
Antes del embarazo	1.13	1.40	1.27
Durante el embarazo	1.02	1.18	1.06
Exposición prenatal a DDE (ng/mL)			
1 ^{er} Trimestre	1.02	-	-
2 ^{do} Trimestre	-	-1.0	-
3 ^{er} Trimestre	-	-	1.04
INFANTILES			
Cesárea vs. parto vaginal	1.2	-1.07	1.15
Edad gestacional (semanas)	1.1	1.16*	1.16*
Peso al nacer (kg)	1.36	1.36	1.13
Femenino vs. Masculino	1.07	1.04	-1.24
Lactancia			
>12 semanas	1.23	1.18	-1.01
Escala Home	-1.0	1.01	-1.05*

^a: Coeficientes β

^b: Al primer trimestre del embarazo

*: Valor p <0.05

Cuadro 8b. Coeficientes betas de las concentraciones urinarias de molibdeno ajustadas por creatinina en cada trimestre del embarazo de acuerdo a algunas características maternas e infantiles.

Características	Concentración urinaria de Mo ($\mu\text{g/g}$) ^a		
	1 ^{er} (n=121)	2 ^{do} (n=110)	3 ^{er} (n=120)
MATERNAS			
Edad (años)	1.04	1.02	-1.03
Educación (años)	-1.01	1.01	-1.07*
Coficiente intelectual	-1.01	-1.01	-1.02*
Ocupación pagada	-1.10	1.49*	-1.07
Paridad >1	1.50*	-1.13	1.15
Índice de masa corporal(Kg/m ²) ^b	1.03	-1.02	1.02
Consumo dietético de Cu (< 1 mg/d) ^b	2.09*	1.37	1.17
Energía (Kcal)			
1 ^{er} trimestre	1.00	1.00	-1.00
3 ^{er} trimestre	1.00	-1.00	-1.00*
Tabaquismo			
Antes del embarazo	1.11	1.14	1.20
Durante el embarazo	1.15	1.04	-1.37
Exposición prenatal a DDE (ng/mL)			
1 ^{er} Trimestre	1.15	-	-
2 ^{do} Trimestre	-	-1.03	-
3 ^{er} Trimestre	-	-	1.09
INFANTILES			
Cesárea vs. parto vaginal	1.13	-1.15	-0.95
Edad gestacional (semanas)	-1.02	1.10	1.11
Peso al nacer (kg)	1.02	1.09	-1.05
Femenino vs. Masculino	-1.03	1.25	-1.23
Lactancia			
>12 semanas	1.01	1.25	1.21
Escala Home	-1.02	1.03	-1.06*

^a: Coeficientes β

^b: Al primer trimestre del embarazo

*: Valor p <0.05

La asociación entre exposición prenatal a Mo y neurodesarrollo infantil se evaluó usando las concentraciones de Mo sin el ajuste por creatinina, ajustadas por creatinina e incluyendo la creatinina como una variable de ajuste. Cuando se analizó la concentración urinaria de Mo sin ajuste de creatinina, se observó que sólo un doble incremento de Mo en orina durante el tercer trimestre del embarazo, se asoció con una reducción marginalmente significativa en el IDP ($\beta=-0.49$; $p=0.06$). El comportamiento fue similar cuando se consideró la creatinina como variable de ajuste ($\beta=-0.54$; $p=0.05$). Al usar las concentraciones de Mo ajustadas por creatinina, la reducción en el IDP por cada doble concentración de Mo incrementó y alcanzó significancia estadística ($\beta= -0.57$; $p=0.03$). En ninguna de las tres aproximaciones, el índice de desarrollo mental se vio afectado por la exposición prenatal a Mo.

Independientemente de las concentraciones de Mo en orina, los principales determinantes del IDP fueron la edad al momento de la evaluación y de forma marginal la estimulación en el hogar. Por otro lado, la exposición prenatal a Mo, no se asoció con ninguna alteración en el desarrollo mental. La lactancia materna por al menos 12 semanas, se asoció con un desarrollo mental significativamente mejor, mientras que el haber nacido por cesárea o ser niña se asoció con una reducción significativa en el mismo índice. (Cuadro 9).

Como se mencionó en la metodología, por razones presupuestales sólo contamos con resultados de plomo para 64 de los niños incluidos en el análisis. Las medias geométricas de plomo en sangre durante el embarazo fueron de 6.83, 5.71 y 6.63 $\mu\text{g/dL}$ en el primer, segundo y tercer trimestre, respectivamente. La correlación entre la concentración de plomo en sangre y las concentraciones de Mo en orina variaron entre -0.06 en el primer trimestre del embarazo a 0.15 en el segundo cuando se usó el Mo sin ajuste de creatinina y con el ajuste por creatinina la variación fue de 2.8% a 7.8%. Ninguna correlación fue estadísticamente significativa. La inclusión de la exposición prenatal a plomo en los modelos para desarrollo psicomotor, cambió los coeficientes de regresión en menos del 10% (Datos no mostrado en tablas).

Cuadro 9. Asociación de la exposición prenatal a Mo con el neurodesarrollo infantil en los primeros 30 meses de vida

	Neurodesarrollo					
	Psicomotor ^d			Mental ^e		
	β	IC 95%	p	β	IC 95%	p
Exposición Prenatal a Molibdeno ($\mu\text{g/L}$)^a						
1er Trimestre (n=121)	-0.001	-0.5;0.5	0.95	0.11	-0.2;0.4	0.46
2do Trimestre (n=110)	-0.2	-0.8;0.3	0.45	0.06	-0.3;0.4	0.70
3er Trimestre (n=120)	-0.49	-1.0;0.03	0.06	-0.1	-0.4;0.2	0.51
Exposición Prenatal a Molibdeno ($\mu\text{g/L}$)^b						
1er Trimestre (n=121)	0.19	-0.3;0.7	0.48	0.22	-0.1;0.6	0.22
2do Trimestre (n=110)	0.31	-0.9;0.3	0.28	0.01	-0.4;0.4	0.95
3er Trimestre (n=120)	-0.54	-1.1;-0.002	0.05	-0.06	-0.4;0.3	0.73
Exposición Prenatal a Molibdeno ($\mu\text{g/g}$)^c						
1er Trimestre (n=121)	0.27	-0.2;0.8	0.29	0.18	-0.2;0.5	0.33
2do Trimestre (n=110)	-0.5	-1.1;0.1	0.12	-0.08	-0.5;0.3	0.68
3er Trimestre (n=120)	-0.57	-1.1;-0.1	0.03	0.07	-0.2;0.4	0.66
Edad(Meses)						
3	-7.1	-8.21;-6.0	0.00	-1.9	-2.7;-1.2	0.00
6	-1.9	-3.3;-0.7	0.004	-1.4	-2.0;-0.7	0.00
12	-5.1	-6.4;-3.8	0.00	-3.2	-4.3;-2.1	0.00
18	-2.8	-4.1;-1.6	0.00	-6.1	-7.0;-5.1	0.00
24	-0.9	-2.2;0.5	0.21	-8.3	-9.5;-7.1	0.00
30	-3.7	-5.3;-2.1	0.00	-5.4	-6.5;-4.3	0.00
Cesárea vs. Parto vaginal	-0.7	-1.8;0.4	0.24	-0.7	-1.4;-0.1	0.02
Niñas vs Niño	-0.4	-1.5;0.7	0.51	-1.1	-1.8;-0.4	0.001
Lactancia						
>12 semanas	0.4	-1.4;2.6	0.65	1.5	0.3;2.6	0.01
Home	0.1	0.002;0.3	0.05	0.07	-0.007;0.1	0.08

a: Cambio por cada doble incremento de Mo en orina.

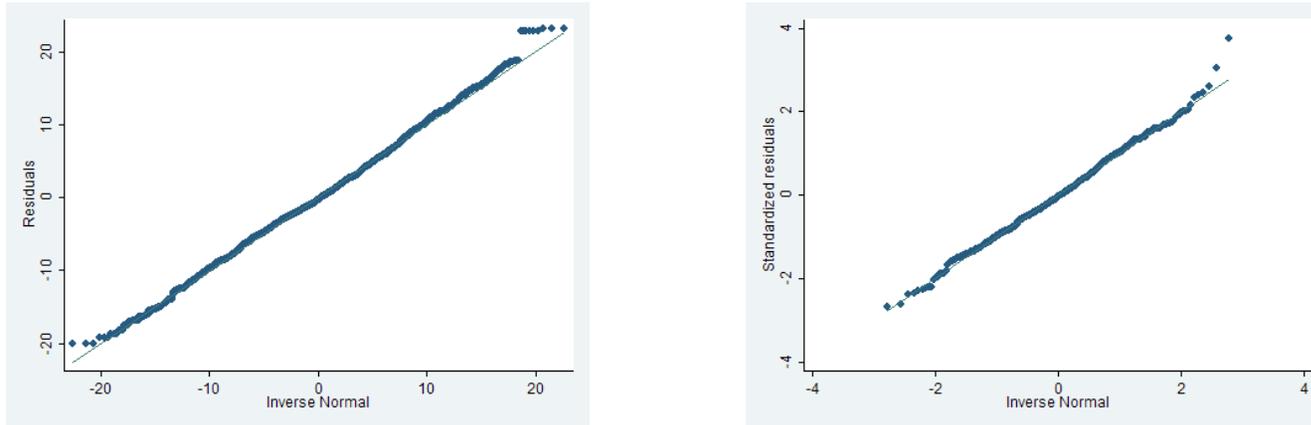
b: Modelo con creatinina como covariable.

c: $\mu\text{g/gr}$ de creatinina.

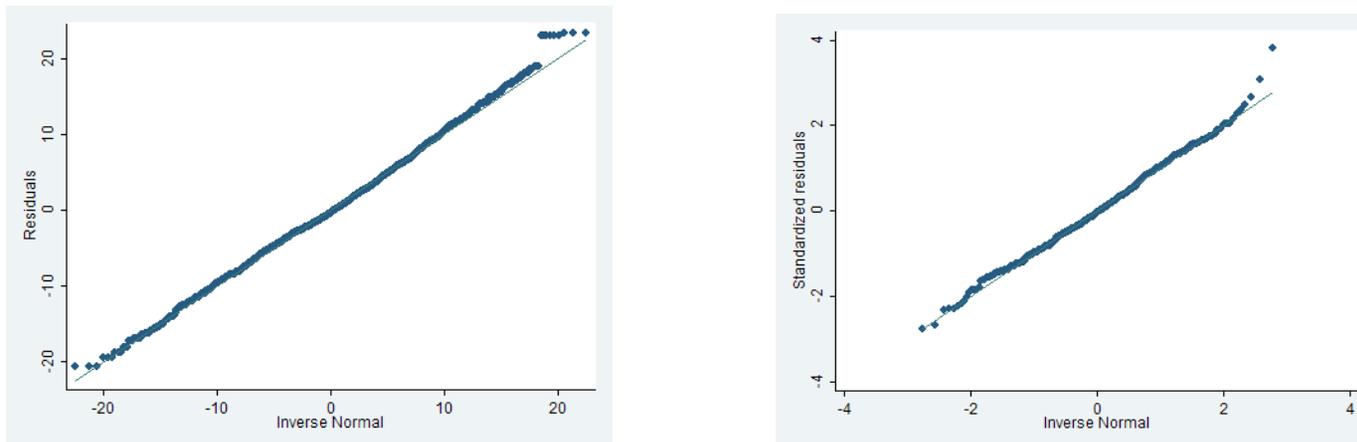
d: Ajustado por DDE al primer trimestre, edad gestacional, paridad, edad materna, escolaridad materna, coeficiente materno, peso al nacimiento, tipo de nacimiento, sexo del niño, lactancia y escala HOME.

e: Ajustado por edad gestacional, paridad, edad materna, escolaridad materna, ocupación, coeficiente materno, peso al nacimiento, tipo de nacimiento, sexo del niño, lactancia y escala HOME

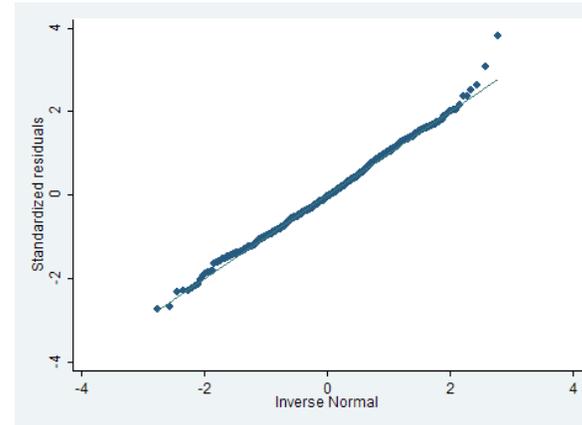
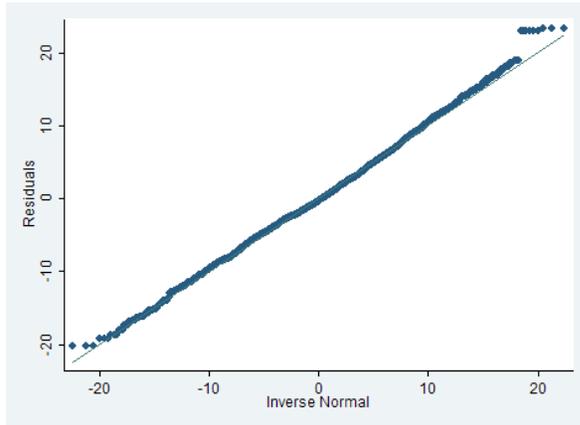
Gráfica 2. Residuales y residuales estandarizados del modelo final de Mo sin ajuste de creatinina del tercer trimestre del IDP



Gráfica 3. Residuales y residuales estandarizados del modelo final de Mo con ajuste de creatinina como covariable del tercer trimestre del IDP



Gráfica 4. Residuales y residuales estandarizados del modelo final de Mo con ajuste de creatinina del tercer trimestre del IDP



DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que evalúa la posible asociación entre la exposición prenatal a Mo con el neurodesarrollo infantil. Los resultados sugieren que la exposición prenatal a Mo durante el tercer trimestre de embarazo, podría afectar negativamente el desarrollo psicomotor durante los primeros 30 meses de vida y no se asocia con una alteración en el desarrollo mental. Aunque el Mo es considerado potencialmente tóxico, el interés en él se ha centrado principalmente en su papel como elemento esencial y hasta ahora son muy pocos los estudios en humanos, acerca de sus efectos tóxicos.

Un estudio experimental sugiere un posible papel como disruptor endócrino del Mo. En este estudio en conejos jóvenes con peso entre 1500 y 2700 grs alimentados con 0.3% de Molibdato durante 25 a 31 días, se presentaron alteraciones histológicas de tiroides; así como, menor actividad y concentración de T₄ (Tiroxina) en suero (Widjajakusuma MCR y cols, 1973).

En humanos, la glándula tiroides juega un papel relevante en el desarrollo pre y postnatal del sistema nervioso central (Haddow J y cols.,1999 ;Anderson GW y cols.,2003). Durante el embarazo, la disminución de T₄ plasmática, característica de los cuadros de hipotiroidismo, se asocia principalmente con alteraciones neurológicas que pueden ir desde manifestaciones leves con alteraciones en el aprendizaje hasta retraso mental severo (cretinismo) (Haddow J y cols., 1999; Anderson GW y cols; 2003). Por lo tanto, este puede ser considerado como un potencial mecanismo biológico, que explique el efecto observado de la exposición prenatal a Mo sobre el neurodesarrollo infantil durante los primeros 30 meses de vida. Por otra parte, un estudio experimental con conejos de diferentes edades, alimentados con al menos 0.1% de Mo en las raciones alimenticias, reporta una disminución de la fuerza de las patas delanteras sin que quede claro si es debido a problemas articulares propios de la hiperuricemia asociada al exceso de Mo o a aspectos relacionados con el sistema neurológico (Arrington LR y cols., 1953).

Aunque desde el punto de vista experimental puede existir un potencial mecanismo biológico que explique estos hallazgos, algunas potenciales fuentes

de error deben ser evaluadas para hacer una adecuada interpretación de los resultados. Debido a que los sujetos incluidos en el análisis fueron el resultado de una selección aleatoria de todos los niños que tenían 5 o más evaluaciones del neurodesarrollo a lo largo de los 30 meses de vida, es posible que los hallazgos sean consecuencia de un sesgo de selección entre los niños incluidos y no incluidos en el análisis. Al respecto, no encontramos diferencias significativas entre ambos grupos, a excepción de que, las madres de los niños incluidos en el análisis tuvieron en promedio un índice de masa corporal durante el primer trimestre del embarazo, significativamente menor que las madres de los niños no incluidos (Cuadro 4). Sin embargo, no encontramos evidencias que sugieran que el índice de masa corporal sea un determinante del neurodesarrollo infantil. Así mismo, comparamos a los niños incluidos con aquellos que teniendo 5 o más visitas no contaban con resultado de Mo (Cuadro 10) y también los comparamos con los que no fueron incluidos por tener menos de 5 visitas (Cuadro 11). En ambos casos no hubo diferencias estadísticamente significativas. Por lo tanto, en relación a la disminución observada en el IDP y la falta de asociación observada con el IDM, como consecuencia de la exposición prenatal a Mo, consideramos que es posible descartar que estos resultados sean debidos a la presencia de un sesgo de selección.

Dado que el neurodesarrollo infantil se evaluó mucho tiempo antes de que se realizaran las determinaciones urinarias de Mo y que la persona encargada de analizar el Mo en orina, desconocía la condición de neurodesarrollo de los niños, descartamos que un error de medición diferencial en el evento o en la exposición, sea la explicación para estos hallazgos. De igual forma las concentraciones urinarias de Mo, se analizaron por duplicado con una precisión de 2.4% y un porcentaje de recuperación del 98%. El hecho de no contar con un control de calidad externo, no permite descartar la presencia ni la magnitud de un error en la evaluación de la exposición. Al respecto no creemos que el error sea diferencial de acuerdo al neurodesarrollo infantil y en todo caso de existir uno, este podría ser no diferencial y afecta el poder para detectar alguna asociación.

Cuadro 10. Comparación entre niños incluidos y no incluidos en el análisis pero que tenían al menos 5 evaluaciones postnatales, de acuerdo a características maternas e infantiles seleccionadas.

Características	Incluidos (n=147)	No incluidos (n=147)	Valor "p" ^a
MATERNAS			
Edad (años)			
Media ± DE	22.1±4.3	22.6±4.2	0.3
Educación (años)			
Media ± DE	10.9±3.3	10.9±3.1	0.9
Coficiente intelectual			
Media ± DE	89.7±12.9	87.3±12.3	0.1
Ocupación pagada (%)	44.2	53.7	0.1
Paridad>1(%)	19.1	21.9	0.6
Índice de masa corporal ^b			
Media ± DE	22.9±3.5	23.9±4.2	0.05
Consumo dietético de Cu ^b (%)			
< 1 mg/d	8.2	12.2	0.3
Energía Media ± DE			
Primer trimestre	2838.6± 955.9	2766.8±814.2	0.5
Tercer trimestre	2785.3±738.8	2766.2±657.4	0.8
Tabaquismo (%)			
Nunca	59.3	58.5	
Antes del embarazo	34.5	33.3	0.8
Fumo 1 ^{er} trimestre	6.2	8.2	
INFANTILES			
Cesárea (%)	61.2	56.5	0.4
Edad gestacional (semanas) ^c	39.3	39.0	0.07
Peso al nacer (Kg)			
Media ± DE	3.2±0.4	3.3±0.5	0.7
Sexo femenino (%)	46.9	40.8	0.3
Lactancia (%)			
Nunca	10.2	4.1	0.09
≤ 12 semanas	24.5	21.8	
>12 semanas	65.3	74.2	
Escala HOME			
Media ± DE	30.5±4.8	30.5 ±4.6	0.9
% <26 puntos	17.9	21.9	0.4

a.: t-test y χ^2

b.: Al primer trimestre de embarazo

c.: Medias

Cuadro 11. Comparación entre niños incluidos y no incluidos en el análisis por tener menos de 5 evaluaciones postnatales, de acuerdo a características maternas e infantiles seleccionadas.

Características	Incluidos (n=147)	No incluidos (n=59)	Valor "p" ^a
MATERNAS			
Edad (años)			
Media ± DE	22.1±4.3	21.9±4.6	0.9
Educación (años)			
Media ± DE	10.9±3.3	10.9±3.5	0.9
Coficiente intelectual			
Media ± DE	89.7±12.9	87.4±12.6	0.3
Ocupación pagada (%)	44.2	47.5	0.7
Paridad>1(%)	19.1	15.3	0.5
Índice de masa corporal ^b			
Media ± DE	22.9±3.5	24.1±3.9	0.05
Consumo dietético de Cu ^b (%)			
< 1 mg/d	8.2	10.3	0.6
Energía Media ± DE			
Primer trimestre	2838.6±955.9	2805.5±997.1	0.8
Tercer trimestre	2785.3±738.8	2945.1±1322.7	0.3
Tabaquismo (%)			
Nunca	59.3	57.1	
Antes del embarazo	34.5	32.1	0.5
Fumo 1 ^{er} trimestre	6.2	10.7	
INFANTILES			
Cesárea (%)	61.2	61.0	0.9
Edad gestacional (semanas) ^c	39.3	39.0	0.5
Peso al nacer (Kg)			
Media ± DE	3.2±0.4	3.2±0.3	0.2
Sexo femenino (%)	46.9	45.8	0.9
Lactancia (%)			
Nunca	10.2	8.5	0.5
≤ 12 semanas	24.5	32.2	
>12 semanas	65.3	59.3	
Escala HOME			
Media ± DE	30.5±4.8	29.9±4.4	0.5
% <26 puntos	17.9	29.3	0.1

a.: t-test y χ^2

b.: Al primer trimestre de embarazo

c.: Medias

Una fuente adicional de error en la medición de la exposición sería la falta de control por la dilución de orina. En la actualidad existe una controversia acerca de la importancia de ajustar por creatinina. El ajuste por creatinina es un método comúnmente usado en las evaluaciones de exposiciones químicas medidas a través de muestras únicas de orina, bajo el supuesto de que bajas concentraciones de creatinina en orina sugieren que la muestra está muy diluida y pueden llevar a errores de detección de bajas concentraciones tóxicas, mientras que las muestras con altas concentraciones indican deshidratación que pueden producir cambios en la secreción y excreción renal, así como en la reabsorción del químico y probablemente sobrestimación de la exposición al compuesto bajo estudio (Barr y cols., 2005). Al respecto, el análisis de la información incluyó el Mo con y sin ajuste de creatinina, así como, la inclusión de la creatinina como variable de ajuste y los resultados finales acerca de la asociación entre Mo e IDP o IDM, son teniendo en cuenta el ajuste por creatinina.

En el caso específico del desarrollo mental, aunque no se encontró una asociación significativa no es posible descartar que esta exista, debido a que para la evaluación de esta asociación, el estudio contó con un poder estadístico del 60%.

Aunque este estudio cuenta con la fortaleza de que el neurodesarrollo se evaluó de manera longitudinal, tiene información acerca de las posibles ventanas críticas de exposición durante el embarazo y evaluó el papel como potenciales confusores de los principales factores de riesgo asociados con el neurodesarrollo infantil, una de sus limitaciones fue no contar con concentraciones sérica o urinarias de cobre y por lo tanto, no fue posible evaluar una potencial interacción entre la exposición a cobre y Mo. Aunque usamos la estimación de la ingesta dietética de cobre, es posible que ésta no sea la mejor aproximación al estado nutricional de este compuesto, y por lo tanto, no encontramos una interacción entre ambos metales.

Finalmente, estos resultados deben ser interpretados cautelosamente, en el contexto de un análisis exploratorio y que ameritan mayor evaluación. Las

concentraciones urinarias promedio de Mo a las cuales se observaron las alteraciones psicomotoras en estos niños (Media geométrica \pm D.E 40.4 ± 2.8 $\mu\text{g/L}$) son del orden de las reportadas por la encuesta nacional de nutrición y salud 2007-2008 de los Estados Unidos (Media geométrica 40.4 $\mu\text{g/L}$ IC 95% 38.8-43.0) y con base a la cual un estudio reciente, reporta una mayor prevalencia de hepatotoxicidad en adultos (Mendy A y cols., 2011). El interés de este compuesto como elemento esencial, la falta de estudios sobre la toxicidad del Mo y la ausencia de un límite claro de toxicidad para este compuesto, puede ser el motivo por el cual no existe información acerca de los potenciales riesgos a la salud.

AGRADECIMIENTOS

La recolección de la información que aquí se analizó fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (31034-M; 41708; 13915), así como, por Mount Sinai School of Medicine a través del Irving J. Selikoff International Scholarship Award Number D43TW000640 from the Fogarty International Center. Para el análisis de las muestras se contó con el apoyo económico de ésta última agencia a través de South-South collaboration program. El contenido de esta tesis es responsabilidad de los autores y no necesariamente representa la postura oficial del Centro Internacional Fogarty o del Instituto Nacional de Salud.

Agradecemos al Dr. Antonio Menezes de la Universidad Federal de Bahía, Brasil por el análisis de la muestra de orina. Así como a la Dra. Marcia V. Galván Portillo del Instituto Nacional de Salud Pública por su apoyo en la estimación de la ingesta de cobre y energía de las madres participantes.

REFERENCIAS

Al-Saleh E, Nandakumaran M, Al-Shammari M, Al-Falah y Al-Harouny A. Assessment of maternal-fetal status of some essential trace elements in pregnant women in late gestation: relationship with birth weight and placental weight. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004; 16; 9-14.

Anderson GW, Schoonover CM, Jones SA. Control of thyroid hormone action in developing rat brain. *Thyroid* 2003;13:1039-1056.

Arrington LR, Davis GK. Molybdenum toxicity in the rabbit 1953. *J Nutr*: 295-303.

Barr D, Wilder CL, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL y Pirkle JL. Urinary Creatinine Concentrations in the U.S. Population: Implications for Urinary Biologic Monitoring Measurements. *Environmental Health Perspectives* 2005; 13; 192-200.

Bayley N. *Bayley Scales of Infant Development*, 2nd edn. The Psychological Corporation: San Antonio, TX, 1993.

Beedham C. Molybdenum hydroxylases as drug-metabolizing enzymes. *Drug Metab Rev* 1985; 16; 119-156.

Berg JW, Jaenzel W, Devesa SS. Epidemiology of gastrointestinal cancer. *Proc Seventh Natl Cancer Congr* 1973; 459-464.

Buttner W. Action of trace elements on the metabolism of fluoride. *J Dent Res* 1963;42; 453-460.

Caldwell B, Bradley R. *Home Observational of Measurement of the Environment*. Little Rock: University of Arkansas at Little Rock; 1984

Calvo CP, Barrera PB, Varrea AB. Determination of molybdenum in human urine by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica* 1995; 310; 189-198.

Center for diseases control and prevention (CDC). National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Urinary Molybdenum. http://www.cdc.gov/exposurereport/data_tables/URXUMO_DataTables.html.

2011.

Claus Henn B, Ettinger A, Schwartz J, Tellez-Rojo M, Lamadrid-Figueroa H, Hernandez-Avila M, Schnaas L, Amarasiriwardena C, Bellinger D, Hu H, O. Wright R. Early Postnatal Blood Manganese Levels and Children's Neurodevelopment. *Epidemiology* 2010; 21; 433-439.

Espectrofotometría por Absorción Atómica.

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/leia/choussy_c_d/apendiceC.pdf. Consulta 8 de Octubre 2011.

Food and Nutrition Board Institute of Medicine Panel on Micronutrients, Subcommittees on Upper Reference Levels of Nutrients and of Interpretation and Uses of Dietary Reference Intakes, and the Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary reference intakes for vitamin a, vitamin k, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. National academy press, Washington, D.C. 2001; 420-441.

Goldhaber S. Trace element risk assessment: essentiality vs. Toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 2003; 38; 232-242.

Haddow J, Palomaki G, Allan W, Williams J, Knight G, Gagnon J, O'Heir C, Mitchell M, Hermos R, Waisbren S, D.Faix J, Klein R. Maternal thyroid

deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 1999; 341; 549-555.

Hernández-Ávila M, Romieu I, Parra S *et al.* Validity and reproducibility of a food frequency questionnaire to assess dietary intake of women living in Mexico City. *Salud Publica Mex* 1998; **39**: 133–140.

Howdeshell KL. A Model of the development of the brain as a construct of the thyroid system. *Environ Health Perspect* 2002;110(suppl3):337-348.

<http://naturopathicvermont.com/Minerals.pdf>. Consulta 8 de Octubre del 2011.

Huang J, Wu J, Li T, Song X, Zhang B, Zhang P, Zheng X. Effect of exposure to trace elements in the soil on the prevalence of neural tube defects in a high-risk area of China. *Biomed Environ Sci.* 2011; 24(2): 94-101

IMOA International Molybdenum association. Molybdenum markets-an end-use analysis. *Moly review* 2011; 2-8.

INEGI.<http://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/mor/economia/default.aspx?tema=me&e=17#sp>. Consulta 8 de Octubre 2011.

Komada H, Kise Y, Nakagawa M. Effect of dietary molybdenum on esophageal carcinogenesis in rats induced by N-methyl-N-benzyl nitrosamine. *Cancer Res* 1990;50;2418-2422.

Kovalskiy V.V y Yarovaya, G.A. Molybdenum-infiltrated biogeochemical provinces. *Agrokhimiva* 1966; 8; 68–91.

Lavado-Autric R, Ausó E, García-Velasco JV, Arufe M, Escobar del Rey F, Berbel P *et al.* Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. *J Clin Invest* 2003;111:1073-1082.

Martínez, Martínez y. *Pediatría: La salud del niño y del adolescente*. 2001; 1067-1070.

Mendy A, Gasana J, Vieira ER. Urinary heavy metals and associated medical conditions in US adult population. *Int J Environ Health Res*. 2011;1-14

Mertz W. The essential trace elements. *Science* 1981; 213; 1332-1338.

Mills CF, Brenner I. Nutritional aspects of molybdenum in animals. In: Coughlan MP, ed. *Molybdenum and molybdenum-containing enzymes*. Oxford: Pergamon, 1980:519-542.

Minerales del recreo S.A. <http://www.asufrar.com.ar/pdf/molibdeno.pdf>. Consulta 8 de Octubre 2011.

Muñoz M y col. Tablas de valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, México, 1996;150-162.

Nouri M, Chalian H, Bahman A, Mollahajian H, Ahmadi-Faghih M, Fakheri H, Soroush A. Nail molybdenum and zinc contents in populations with low and moderate incidence of esophageal cancer. *Arch Iran Med*. 2008;11:392-396.

Novoty Ja, Turnlund JR. Molybdenum intake influences molybdenum kinetics in men. *J. Nutr*. 2007; 137; 37-42.

Pennington JAT, Jones JW. Molybdenum, nickel, cobalt, vanadium, and strontium in total diets. *J Am Diet Assoc* 1987; 87; 1644-1650.

Rajagopalan VK. Xantina oxidasa. In Jacob WB, ed. *Enzymatic basis of detoxification*. New York: Academic, 1980;295.

Riojas-Rodríguez H, Solís-Vivanco R, Schilman A, Montes S, Rodríguez S, Ríos C, et al.. Intellectual Function in Mexican Children Living in a Mining Area

and Environmentally Exposed to Manganese. *Environ Health Perspect* 2010; 118;1465-1470

Sardesai V. Molybdenum: An Essential Trace Element. *Nutr clin pract* 1993; 8; 277-281.

Schwarz G, Mendel R, W.Ribbe M. Molybdenum cofactors, enzymes and pathways. *Nature* 2009; 460; 839-846.

Servicio geológico mexicano. Panorama minero del Estado de Morelos. 2011;1-41.

Torres-Sánchez L., Rothenberg S.J., Schnaas L., Cebrián M.E., Osorio E., and Hernández M.C., *et al.* In utero p,p'-DDE exposure and infant neurodevelopment: a perinatal cohort in Mexico. *Environ Health Perspect* 2007;**115**:435-439.

Tsongas TA, Meglen RR, Walraves PA, Chappell WR. Molybdenum in the diet: An estimate of average daily intake in the Unites States. *Am J Clin Nut* 1980; 33; 1103-1107.

Wechsler D. WAIS-Español. Escala de inteligencia para adultos. El Manual Moderno, S.A:Mexico, DF, 1981.

Widjajakusuma MCR, Basrur PK y Robinson GA. Thyroid function in molybdenotic rabbits. *J. Endocr* 1973; 57; 419-424.

World Health Organization. Trace Elements in Human Nutrition and Health. World Health Organization 1996. 144-154.

Yang CS. Research on esophageal câncer in China: a review. *Cancer Res* 1980; 40: 2633-2644.