

**BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO
EN ADOLESCENTES NICARAGÜENSES
SEPTIEMBRE-NOVIEMBRE 2011**

Junio de 2012

Informe independiente preparado por:

Oriana Ramírez-Rubio ^{1,2}, MD, MPH
Daniel Brooks ¹, ScD
Juan José Amador ¹, MD, MPH
James S. Kaufman ³, MD
Daniel E. Weiner ⁴, MD, MS
Chirag R Parikh ⁵, MD, PhD
Usman Khan ⁶, MD
Michael McClean ⁷, ScD
Rebecca Laws ⁷, MPH

Traducido al español por:

Oriana Ramírez Rubio

Afiliaciones:

1. Departamento de Epidemiología. Escuela de Salud Pública, Universidad de Boston, Boston, MA, EEUU
2. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España
3. Sección del Riñón, Sistema de Salud Veteranos de Boston y Escuela de Medicina, Universidad de Boston, Boston, MA, EEUU
4. División de Nefrología, Departamento de Medicina, Centro Médico de Tufts, y Escuela de Medicina de la Universidad de Tufts, MA, EEUU
5. Sección de Nefrología, Departamento de Medicina, Universidad de Yale, New Haven, CT, EEUU
6. Programa de Investigación Traslacional Aplicada, Departamento de Medicina, Universidad de Yale, New Haven, CT, EEUU
7. Departamento de Salud Ambiental, Escuela de Salud Pública, Universidad de Boston, Boston, MA, EEUU

Escuela de Salud Pública, Universidad de Boston
715 Albany St - Boston, MA 02118

I. INTRODUCCIÓN

Durante los meses de Septiembre a Noviembre de 2011, el equipo de la Universidad de Boston llevó a cabo una investigación marcadores biológicos de daño renal temprano en adolescentes de 3 Departamentos de Nicaragua. Los estudiantes fueron seleccionados y reclutados de colegios de educación secundaria en las municipalidades de Chichigalpa (2 colegios), Masaya (1 colegio) y Jinotega (1 colegio).

La razón por la que llevamos a cabo este estudio es porque se han diagnosticado muchos casos de enfermedad renal crónica (ERC) en adultos de Nicaragua en edades comprendidas entre los 20 y 30 años. A pesar de que una de las líneas de investigación de las causas de ERC han sido las etiologías ocupacionales, debido al periodo de tiempo que normalmente es necesario para que los riñones se dañen lo suficiente y el resultado sea una ERC clínicamente aparente, esta edad de instauración tan temprana observada en Nicaragua planteó la posibilidad de que el daño renal comenzara previamente, por ejemplo durante la infancia. Se han sugerido un abanico de teorías que pudieran explicar este comienzo temprano de daño renal, incluyendo exposición ocupacional durante la infancia directa o indirectamente (por ejemplo, a través de contaminantes traídos al hogar en la ropa de los padres), exposiciones ambientales, enfermedades infecciosas u de otro tipo, bajo peso al nacer y otros problemas fetales, y susceptibilidad genética. El objetivo de este estudio fue determinar si existe evidencia de daño renal temprano en adolescentes (edades 12-18 años) antes de comenzar a trabajar. Elegimos adolescentes y no niños más jóvenes porque es más probable que los primeros manifiesten daño renal detectable. Los objetivos específicos de esta investigación fueron:

- 1) Evaluar si existe evidencia de daño renal temprano en adolescentes de diferentes áreas de Nicaragua elegidas por representar una variedad de características demográficas y ambientales y, por lo tanto, potenciales riesgos de daño renal; y
- 2) Evaluar si existen diferencias en la prevalencia de daño renal temprano por sexo, edad, y colegio, y si éstas son consistentes con los patrones de la epidemia de ERC en adultos.

Debemos resaltar que el objetivo de esta investigación fue la de caracterizar la prevalencia de daño renal temprano y subclínico, no de enfermedad renal crónica (ERC). Lo primero puede ser determinado tan solo con muestras de orina (lo cual no implica ninguna molestia o riesgo a los participantes), mientras que lo segundo requiere muestras de sangre. Decidimos no tomar muestras de sangre en esta ocasión por las implicaciones éticas y por ser nuestro primer estudio exploratorio con niños en colegios de Nicaragua. En cualquier caso, de existir daño renal en los estudiantes, tampoco teníamos razón alguna para especular que ese daño hubiera progresado a ERC.

II. MÉTODOS

Los protocolos de investigación fueron revisados y aprobados por los Comités Éticos de la Universidad de Boston, el Ministerio de Salud de Nicaragua y la Universidad Autónoma de Madrid. Dado que la práctica totalidad de la población del estudio era menor de 18 años, previa a la participación en las diferentes actividades de investigación, se pidió a los padres de todos los participantes que firmaran un consentimiento informado y a los adolescentes un documento de aprobación o asentimiento.

2.1 Población y diseño del estudio

La población del estudio incluyó a los estudiantes de cuatro colegios, los cuales fueron seleccionados basándose en hipótesis *a priori* para representar un abanico de características demográficas y ambientales y, por lo tanto, también de potenciales riesgos de daño renal. Ordenados de menor a mayor riesgo hipotético (a nivel teórico), los colegios fueron:

1. Colegio 1, localizado en la ciudad de Jinotega, en el departamento de Jinotega, un área localizada a 800 metros sobre el nivel del mar con muchas plantaciones de café. Tanto las áreas a mayor altura como los trabajadores de plantaciones de café mostraron prevalencias bajas de ERC en diversos estudios. La tasa de mortalidad específica de ERC en el departamento de Jinotega fue de 5 por 100.000 habitantes en 2010, una de las tasas más bajas del país.
2. Colegio 2, localizado en la ciudad de Masaya, en el departamento de Masaya, a 220 metros por encima del nivel del mar, un área caracterizada por pequeñas granjas y ocupaciones relacionadas con la artesanía. Masaya está localizada en la región del Pacífico de Nicaragua, donde parece que se concentran el exceso de casos a lo largo de todo América Central. En 2010, el departamento de Masaya tenía una tasa de mortalidad por ERC de 12 por 100.000 residentes, ligeramente por encima de la tasa mediana a nivel nacional por departamentos en Nicaragua.
3. Colegio 3, localizado en un barrio del norte de la ciudad de Chichigalpa, departamento de Chinandega, un área de la región del Pacífico prácticamente al nivel del mar, y caracterizado por la producción de cultivos tales como la caña de azúcar, arroz y maní. El departamento de Chinandega mostró una tasa de mortalidad por ERC de 95 por 100.000 residentes, la segunda tasa más alta de Nicaragua por departamentos en el año 2010.
4. Colegio 4, localizado en un barrio del sur de la ciudad de Chichigalpa, donde la mayoría de los padres tienen experiencia en trabajar en la caña de azúcar y donde un

estudio de prevalencia llevado a cabo por un grupo de investigadores encontró altas tasas de ERC (Torres, 2008).

Para poder ser “apto” para participar en este estudio, se requirió que los estudiantes tuvieran de 12 a 18 años de edad y que nunca hubieran trabajado en una ocupación manual, ya que nuestro objetivo era evaluar el daño renal previo a exposiciones ocupacionales. Se definió trabajo previo como al menos un mes de trabajo manual, tanto remunerado como para ayudar a la familia. Se excluyeron a aquellos estudiantes que hubieran participado en actividades deportivas o ejercicio vigoroso, así como aquellas estudiantes que tuvieran la menstruación el mismo día en el que se recogieron las muestras. En el Colegio 4 (sur de Chichigalpa), decidimos seleccionar únicamente niños de padres que en la actualidad o en el pasado hubieran trabajado en la industria de la caña de azúcar. En el resto de colegios, excluimos a los niños cuyos padres hubieran trabajado alguna vez en la industria de la caña de azúcar.

Nuestro objetivo era recoger muestras de al menos 50 estudiantes en cada colegio, con igual distribución en las siguientes cuatro categorías: varones mayores (16-18 años), mujeres mayores, varones jóvenes (12-15 años), y mujeres jóvenes.

2.2. Reclutamiento de participantes e inclusión en el estudio

El proceso de reclutamiento se planificó en coordinación con los profesores del Ministerio de Educación, incluyendo los directores del Ministerio de Educación a nivel de departamento, municipalidad y de escuelas. El apoyo de estos fue esencial y un factor importante en todo el proceso. El equipo de trabajo de campo estuvo una semana completa en cada colegio. En las aulas se describió e informó brevemente a los estudiantes acerca del propósito, procedimientos, criterios de inclusión y exclusión del estudio. Los estudiantes interesados recibieron un paquete con material informativo para llevar a casa que contenía una carta de invitación al estudio, el consentimiento informado y permiso paterno, y un pequeño cuestionario. Tras la revisión de la carta de invitación, aquellos padres interesados devolvieron al día siguiente el consentimiento firmado junto con el cuestionario para padres, que contenía información de las características de la unidad familiar y criterios para determinar la elegibilidad de participación del estudiante (por ejemplo, edad del estudiante y ocupaciones de los padres) (ver Apéndice 1).

La selección de estudiantes se hizo en base a los criterios de inclusión, información que obtuvimos del cuestionario para padres. El personal del estudio entonces preguntó a los niños si aprobaban su participación. Aquellos niños que firmaron el formulario de aprobación pasaron a completar un cuestionario (ver apéndice 2), que fue revisado para evaluar la elegibilidad final del estudiante (pasado laboral del estudiante y participación previa en deportes o actividades vigorosas el mismo día). Una de las investigadoras obtuvo verbalmente información acerca de si las niñas participantes tenían en el momento del estudio la menstruación. Para poder alcanzar la distribución por sexo y edad adecuados, tuvimos que volver a determinados colegios a obtener

muestras de orina de algunas adolescentes, una vez que su periodo menstrual hubo finalizado. La Figura 1 muestra un diagrama del flujo de la población en las diferentes fases del estudio.

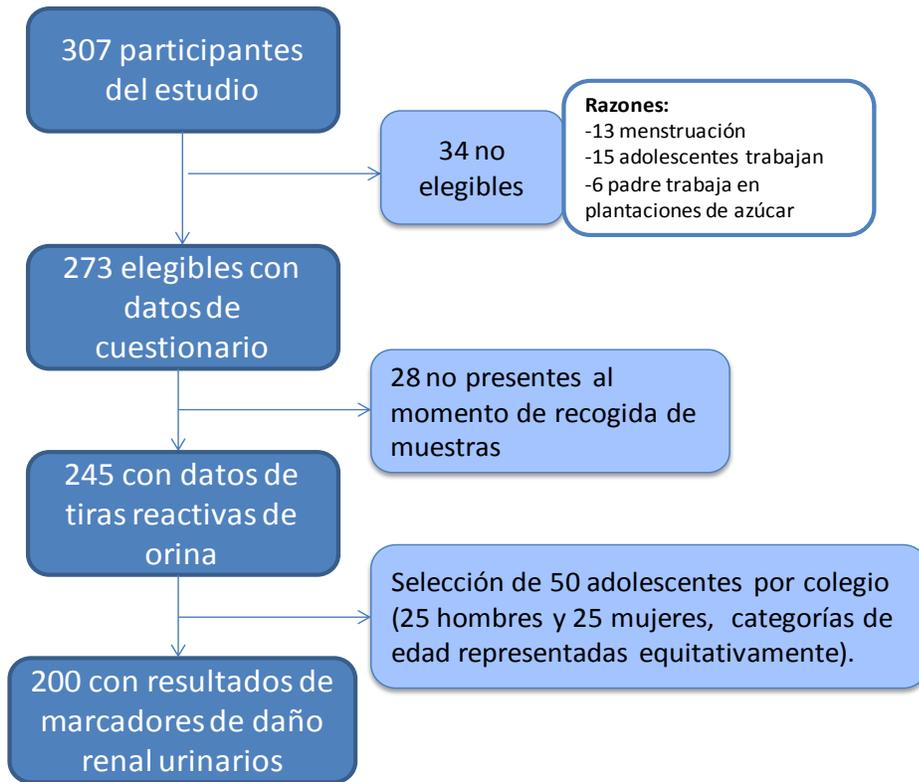
2.3 Recogida y análisis de las muestras de orina

2.3.1 Recogida de las muestras de orina

En todos los colegios, las muestras fueron recogidas durante la mañana, antes del comienzo de las clases, para incrementar la probabilidad de que las muestras fueran recogidas antes de que los estudiantes comenzaran la actividad física. Nuestro equipo del estudio de campo, formado por dos médicos, una enfermera y 2 técnicos de laboratorio, obtuvieron las muestras de orina en los colegios de 8-10 a.m. Un personal de enfermería del Ministerio de Salud supervisó las actividades de campo y visitó los colegios.

Antes de la recogida de las muestras de orina, se pidió a los participantes que se lavaran las manos con jabón, y la zona perineal y genital con una toallita impregnada en alcohol. Se pidió a cada participante que orinase en un bote estéril de 100 ml de tapón rojo (Nipro). Las muestras de orina de los dos colegios de Chichigalpa fueron transportadas refrigeradas al Centro de Salud de Chichigalpa donde se obtuvieron alícuotas y se almacenaron a -20 °C antes de ser transportadas al Centro Nacional de Diagnóstico de Referencia (CNDR) en Managua para su almacenamiento a -80 °C. En Masaya y Jinotega, las muestras fueron transportadas directamente al CNDR el mismo día de la toma de muestras.

Figura 1. Diagrama de flujo de la población adolescente del estudio



2.3.2 Análisis de las tiras reactivas de orina

Se realizaron análisis de tiras reactivas de orina en los 245 estudiantes que dieron muestras de orina. Cada tira reactiva de orina (Combur 10UX®, Roche Diagnostics) se sumergió en un contenedor de orina y posteriormente se introdujo en el lector de tiras reactivas (Urisys 1100, Roche Diagnostics). Los resultados de las medidas de las tiras (densidad, pH, esterasa leucocitaria, nitritos, proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina y sangre), se registraron en la hoja de recogida de datos.

2.3.3 Análisis de biomarcadores de daño renal en orina

Tal y como resumía el protocolo de estudio, seleccionamos 200 de las 245 muestras de orina para analizar biomarcadores de daño renal. Las muestras fueron seleccionadas para obtener 50 por colegio y 50 en cada una de las siguientes categorías: niños mayores (12 a 15), niñas mayores, niños más jóvenes (16 a 18) y niñas más jóvenes, distribuidos por igual en los cuatro colegios. En el caso de que alguna de las categorías por sexo y edad y colegio presentara más de las 50 muestras asignadas, la selección de las muestras se hizo de forma aleatoria.

Las muestras de orina fueron enviadas al Departamento de Nefrología e Hipertensión del Hospital Infantil de Cincinnati (Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH, EEUU). Se analizaron cinco constituyentes:

1. *Creatinina*, con la finalidad de normalizar o ajustar la concentración del resto de biomarcadores urinarios teniendo en cuenta la dilución de la orina;
2. *Razón albúmina/creatinina urinaria (RAC)*, principalmente una medida de daño a nivel del glomérulo del riñón;
3. *Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL)*, principalmente una medida de daño renal en los túbulos proximales del riñón;
4. *N-acetil-D-glucosaminidasa (NAG)*, principalmente una medida de daño a nivel de los túbulos distales; e
5. *Interleukina-18 (IL18)*, principalmente una medida de daño a nivel de los túbulos proximales.

Los niveles de la albúmina y creatinina urinaria se midieron por inmunoturbidimetría y una modificación colorimétrica de la reacción de Jaffé respectivamente, en un analizador químico Siemens Dimension Xpand plus HM (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL). Los valores de creatinina urinaria se expresaron en miligramos por mililitro de orina (mg/ml). Los valores de albúmina se expresaron en miligramos por litro de orina (mg/L), pero para los análisis se convirtieron a microgramos de RAC por miligramo de creatinina ($\mu\text{g}/\text{mg}$).

Para medir la actividad de la NAG se usó un test colorimétrico (Roche Diagnostics, USA), incubando 5 μl de muestra con 100 μl de solución de sustrato (3-cresolsulfon-phtaleinil-N-acetil-D-glucosaminida) durante 20 minutos a 37°C. Para detener la reacción se utilizó una reacción de carbonato de sodio y una densidad óptica de 580 nm. Los valores de densidad óptica se sustrajeron del control blanco y la actividad de la NAG se calculó en miliunidades por mililitro de orina (mU/ml), pero para el análisis se convirtió a miliunidades por miligramo de creatinina (mU/mg).

Siguiendo las instrucciones del fabricante, la NGAL (Bioporto, Gentofte, Denmark) y la IL-18 (MBL, Intl., Woburn, MA) se midieron mediante test de ELISA. La NGAL fue recogida en nanogramos por mililitro de orina (ng/ml), pero para el análisis se convirtió a nanogramos por miligramo de creatinina (ng/mg). La IL- 18 se recogió en picogramos por mililitro (pg/ml) de orina convirtiéndola a picogramos por miligramo de creatinina (pg/mg) para el análisis.

2.4 Cuestionarios

Como ya se ha explicado, al principio de la semana se suministró a los estudiantes los formularios de consentimiento informado y los cuestionarios auto-administrados para los padres después de una breve explicación. Cada familia que deseaba participar devolvió el consentimiento informado y el cuestionario con información acerca del estado vital de los padres

(por ejemplo, en caso de fallecimiento), educación, la duración de la residencia en la zona, puesto de trabajo actual y aquel más largo, así como si cualquiera de los padres había tenido en alguna ocasión un puesto de trabajo en la industria de la caña de azúcar, historia médica de los padres (ERC, piedras renales, hipertensión y diabetes), y breves preguntas acerca de la salud renal e historia médica del niño/a invitado/a a participar.

Los adolescentes también cumplieron el documento de asentimiento o aprobación para participar y respondieron a un cuestionario sobre la historia laboral, actividades físicas recientes, duración de la distancia caminada al colegio por la mañana, problemas de salud actuales y frecuencia de síntomas urinarios si los hubiera.

La información procedente de ambos cuestionarios se fusionó, creando una variable llamada “problemas renales reportados”, tanto si los padres habían respondido que su hijo/a había sido hospitalizado/a por problemas renales en alguna ocasión o si el niño/a había respondido sufrir específicamente problemas de salud renales.

2.5 Análisis de datos

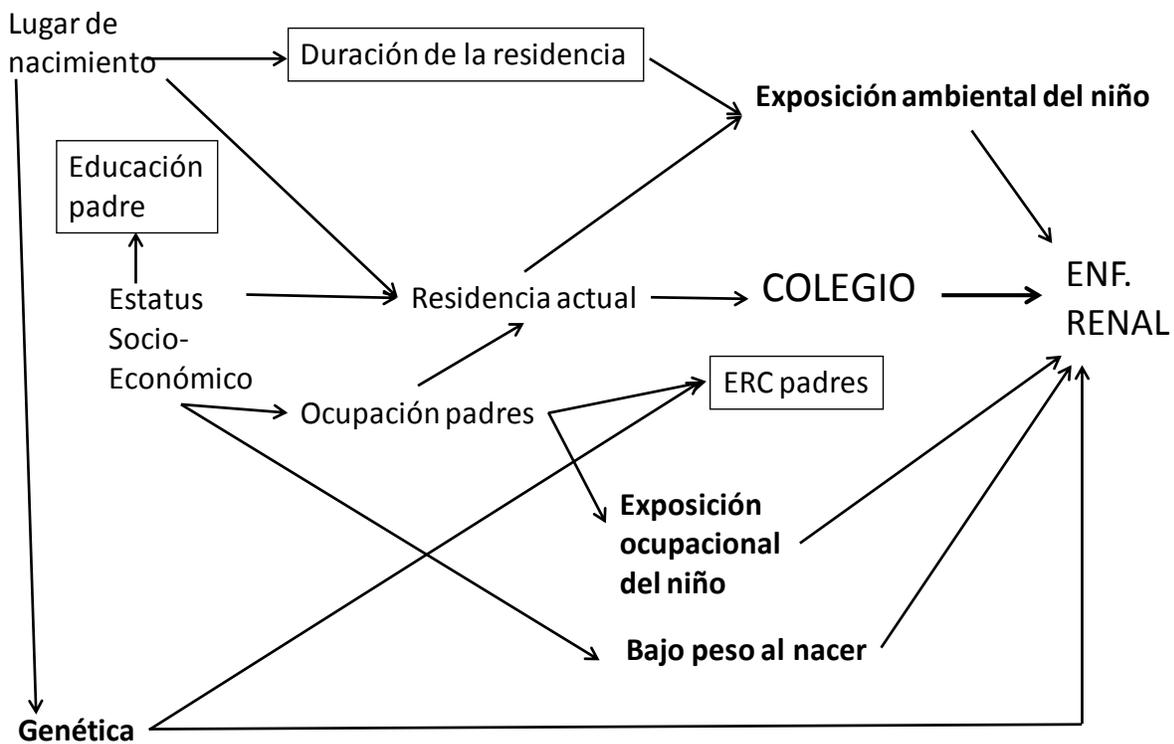
Los datos de biomarcadores fueron evaluados con el software estadístico SPSS (versión 18). La distribución de cada biomarcador se caracterizó usando gráficos y estadísticos de resumen. Cuando los valores reportados estaban por debajo del límite de detección del laboratorio (LD), se sustituyó el valor por el resultado de dividir el LD por la raíz cuadrada de 2, excepto para NAG, del cual no estaba disponible el LD, y usamos un valor (0.02 mU/mg de creatinina) por debajo del mínimo reportado para todas las muestras. Todos los biomarcadores mostraron una distribución log-normal y fueron transformados usando la función de logaritmo neperiano previamente al análisis estadístico para satisfacer las asunciones de normalidad.

Se utilizaron modelos de regresión lineal para evaluar potenciales predictores de los biomarcadores de daño renal. Debido a que las concentraciones de los biomarcadores habían sido previamente transformadas con el logaritmo neperiano para poder llevar a cabo los análisis estadísticos, las estimaciones de los coeficientes β exponentiados (e^{β}) pueden ser interpretados como la razón de medias entre la media de cada categoría de la variable de interés y la categoría de referencia (a lo que nos referimos como “razón de medias”). El sexo, la edad y el colegio de los niños fueron las principales variables de interés. El colegio de los estudiantes es en realidad una variable “proxy” (o sustituta) del área de residencia de los niños, lo cual a su vez es proxy de otros factores posiblemente asociados tanto con la residencia como con el daño renal, por ejemplo, exposiciones ocupacionales y ambientales, enfermedades infecciosas, bajo peso al nacer o susceptibilidad genética (ver Figura 2).

Se introdujeron también en el modelo los antecedentes de ERC en los padres, la educación de los padres (progenitores masculinos) y la duración de permanencia en la residencia actual (como

proxy de exposición a factores ambientales o a factores ocupacionales de los padres) con el objetivo de ajustar por confusión basados en el modelo causal de la Figura 2 y su efecto en la estimación de la asociación (>10% cambio) entre la variable “colegio” y los biomarcadores de daño renal. A pesar de que sexo y edad no eran factores de confusión porque se encontraban equilibrados (en proporciones similares) en todos los colegios como parte del diseño del estudio, lo cual confirmamos empíricamente, fueron introducidos también en todos los modelos como co-variables, sexo y edad (como variable continua), porque incrementaban la precisión de los coeficientes de regresión estimados para alguno de los biomarcadores. En la sección de resultados incluimos tanto los análisis ajustados solo por sexo y edad, como aquellos ajustados por todo el conjunto de co-variables para que los lectores puedan comparar ambos modelos.

Figura 2. Diagrama causal subyacente al modelado matemático y sus asunciones*



*En negrita las hipótesis causales subyacentes

2.6 Comparaciones con los resultados de otros estudios

De los cuatro biomarcadores medidos en este estudio, NGAL, IL-18 y NAG han sido utilizados en muchos contextos clínicos por varios autores tanto para el diagnóstico como el pronóstico de daño renal agudo (AKI por sus siglas en inglés, acute kidney injury). Debido a la falta de estándares de referencia histológicos (gold standards) en estos estudios, la identificación de puntos de corte para el daño renal clínico es un reto y no existen en la actualidad puntos de corte aceptados de qué constituye un valor elevado de un biomarcador. Así, para poder abordar la

interpretación de los resultados de los biomarcadores en los adolescentes nicaragüenses, hemos comparado la distribución de los biomarcadores en esta población con otras cohortes publicadas. Se realizó una revisión de estudios (la mayoría publicados entre 2003 y 2012 así como datos aún sin publicar) para establecer los niveles reportados de estos biomarcadores en diferentes contextos clínicos tales como individuos sanos (controles normales), pacientes hospitalizados con AKI, pacientes de unidades de críticos, con sepsis, cirugía cardíaca, daño post-transplante, nefropatía inducida por contraste (un síndrome que se da después de que el paciente recibe radio-contraste ionizado durante un procedimiento diagnóstico por imagen), síndrome hepato-renal (HRS; un fallo renal progresivo en pacientes con cirrosis hepática), VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana), Enfermedad Renal Poliquística Autosómica Dominante (ADPKD) e IRC.

En este análisis incluimos 12 estudios publicados y datos de dos estudios no publicados (tras requerir la información a los investigadores). En caso de existir más de un estudio en el mismo contexto clínico, incluimos aquel que tenía el mayor tamaño muestral. Creamos diagramas de Forest para comparar los rangos de los biomarcadores en los adolescentes nicaragüenses y aquellos reportados para individuos sanos, así como para otros contextos clínicos. Los valores de los biomarcadores fueron transformados logarítmicamente para la creación de los diagramas de Forest. Los valores reportados consisten en la mediana y el rango intercuartílico, a no ser que se especifique de otra manera. Se utilizaron tanto los valores corregidos como no corregidos por creatinina para NGAL e IL-18. Sin embargo, para NAG solo comparamos aquellos valores corregidos por creatinina urinaria, ya que la mayoría de los autores publican solo estos valores de NAG corregidos por creatinina.

Las características de los 14 estudios se describen en la Tabla 1. La mediana del tamaño muestral fue de 163 (rango 29-1.219), con un total de 4.404 participantes. Tres estudios ofrecían resultados de NAG, 8 de NGAL y 9 de IL-18. La edad promedio de los participantes en estos estudios varió de 51,6 a 71 años. La edad promedio en estos estudios es superior a la de la población adolescente, pero lo cierto es que no existen muchos estudios en población adolescente. La mayoría de los estudios se realizaron en población infantil (niños menores de 5 años), y se estima que los valores de los biomarcadores en los adolescentes son más cercanos a los de adultos sanos en el rango de edad de los estudios aquí referidos que aquellos en población infantil.

Tabla 1. Características de los estudios incluidos en el análisis comparativo de biomarcadores urinarios

Referencia	Tamaño muestral (N)	Edad (años)	Contexto clínico	Biomarcadores	Momento de medición del biomarcador	Análisis (Laboratorio)
Siew, et al. 2009	451	53.5	CI	NGAL	Reclutamiento*	Kit de ELISA (Antibody Shop, Gentofte, Dinamarca)
Bagshaw, et al. 2010	83	63.5	CI / Sepsis	NGAL	Reclutamiento*, 12h, 24h	ARCHITECT (Abbott)
Siew, et al. 2010	588	53.5	CI	IL-18	Reclutamiento*	Human IL-18 ELISA Kit MBL International, Dinamarca
Lonnemann, et al. 2003	29	-	CKD	IL-18	-	-
Malyszko, et al. 2009	140	63.9	CIN	IL-18	Antes del procedimiento, Post 2h, 4h, 8h, 24h*, 48h	R&D Kit, Abington, Reino Unido
Parikh, et al. 2011	1219	71	CS	IL-18, NGAL	Pre-qx, Post-qx día 1 q6h* después diariamente por 5 días	ARCHITECT (Abbott)
Hall, et al. 2011	249	66.2	Hosp / AKI	IL-18, NGAL	Reclutamiento*	Kit de ELISA (Antibody Shop, Gentofte, Dinamarca)
Hall, et al. 2010	91	51.6	Tp	IL-18, NGAL	Q6h post-qx comenzando a las 0h* por 4 y diariamente por 2d	ELISA NGAL (AbS, Dinamarca), Human IL-18 ELISA Kit (MBL, Japón)
Parikh, et al. 2012	107	32.1	ADPKD	IL-18, NGAL	Reclutamiento* y anualmente por 3	ELISA NGAL (AbS, Dinamarca), Human IL-18 ELISA Kit (MBL, Japón)
Belcher, et al.†	187	55.1	HRS	IL-18, NGAL		
WIHS†	895	-	HIV	IL-18, NGAL		
Han, et al. 2008	30	40.8	ER	NAG	Reclutamiento*	Análisis colorimétrico (Roche App. Sciences, IN)
Han, et al. 2009	90	64.3	CS	NAG	Pre-qx, inmediatamente Post-qx*, 3h, 18h, 24 h	Análisis colorimétrico (Roche App. Sciences, IN)
Liangos, et al. 2007	201	65	Hosp / AKI	NAG	Reclutamiento*	Análisis colorimétrico (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania)

*Los valores en este punto en el tiempo fueron los utilizados en el análisis comparativo.
†Nota: Los estudios de Belcher y WIHS no son estudios publicados a la fecha.
CI, enfermos críticos; CIN, Nefropatía inducida por contraste; CS, Cirugía cardíaca; Hosp, hospitalizados; Tp, transplante

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características de la población a estudio

Se incluyeron en el estudio y ofrecieron información a través de un cuestionario 245 estudiantes. La Tabla 2 resume los datos de los padres. En el momento del estudio los padres habían residido en la dirección actual una mediana de 13 años (rango 1 semana-57 años) y en el mismo Departamento de Nicaragua por 33 años (rango 2-57 años). Los padres de los estudiantes en el Colegio 4 (sur de Chichigalpa) habían residido en su dirección actual aproximadamente 5-6 años de mediana menos que los padres de los estudiantes en cualquiera de los otros colegios. Sin embargo, las diferencias en cuanto a la duración de tiempo residido en el mismo departamento fueron mucho más pequeñas. El grupo de padres de estudiantes que habían completado la universidad o una educación profesional en el Colegio 4 fue prácticamente inexistente, en comparación con un rango de 17-30% en los otros colegios. Los porcentajes más altos de padres que no habían accedido a educación más allá de la primaria se encontraron en los colegios 2 (Masaya) y 4 (sur de Chichigalpa) con 51 y 54% respectivamente, comparado con aproximadamente un tercio en los otros colegios. En cuanto a las madres, el porcentaje de aquellas que no había accedido a educación más allá de la primaria era muy superior en el colegio 4 (62%) comparado con el resto de colegios (28%-42%). Tal y como esperamos, basado en el diseño del estudio, prácticamente todos los estudiantes del colegio 4 (94%) tenían al menos uno de sus padres que había trabajado en la industria de la caña de azúcar en la actualidad o en el pasado, comparado con el padre de un solo estudiante en todos los colegios restantes.

Las madres de virtualmente todos los estudiantes estaban vivas en el momento del estudio. En el colegio 4, Sur de Chichigalpa, 13% de los padres (en masculino) habían muerto, comparado con el 5-6% en el resto de colegios. Esta misma distribución fue observada para la IRC auto-referida, mientras que las madres mostraron prevalencias relativamente bajas en todos los colegios (2-6%), los padres (en masculino), mostraron esta misma distribución en los colegios 1, 2 y 3 comparado con el 36% hallado en el Colegio 4 del sur de Chichigalpa.

Los datos de los estudiantes se muestran en la Tabla 3. La distribución por sexo fue bastante similar para todos los colegios, mientras que la proporción de estudiantes más jóvenes fue ligeramente superior en el Colegio 1 (Jinotega) y 4 (sur de Chichigalpa). También evaluamos el tipo de transporte y el tiempo caminado para llegar al colegio, ya que cabe la posibilidad de que los estudiantes que caminaron por sustanciales periodos de tiempo puedan mostrar incrementos transitorios en los niveles de biomarcadores. Cinco estudiantes reportaron tomar transporte público (bus) o privado (coche, moto) para ir al colegio. De aquellos que caminaban, la mediana de tiempo fue de 10 minutos, con un mínimo de 1 y un máximo de 60 minutos. Tan solo un 5% de los niños en los colegios 1 y 4 caminaron por más de 30 minutos, comparado con el 13%-18% en los colegios 2 y 3.

Tabla 2. Características de la población de padres

Colegios	1. Jinotega	2. Masaya	3. Norte Chichigalpa *	4. Sur Chichigalpa	TOTAL
	n=63 n (%)	n=52 n (%)	n=63 n (%)	n=67 n (%)	n=245 n (%)
Educación padre					
<i>No escolarizado</i>	1 (1.5%)	2 (5%)	4 (7%)	6 (10%)	13 (6%)
<i>Primaria</i>	15 (24.5%)	19 (46%)	15 (27%)	28 (44%)	77 (34.5%)
<i>Secundaria</i>	31 (51%)	14 (33%)	23 (41%)	27 (43%)	95 (43%)
<i>Universidad/profesional</i>	14 (23%)	7 (17%)	14 (25%)	2 (3%)	37 (16.5%)
Educación madre					
<i>No escolarizado</i>	0 (0%)	1 (2%)	0 (0%)	3 (5%)	4 (2%)
<i>Primaria</i>	17 (28%)	17 (40%)	20 (34%)	34 (57%)	88 (39%)
<i>Secundaria</i>	26 (43%)	16 (37%)	28 (47%)	23 (38%)	93 (42%)
<i>Universidad/profesional</i>	18 (29%)	9 (21%)	11 (19%)	0 (0%)	38 (17%)
Años vividos en la misma dirección					
<5	8 (13%)	5 (10%)	1 (2%)	3 (4%)	17 (7%)
5-9	6 (9.5%)	8 (16%)	10 (16%)	5 (8%)	29 (12%)
10-19	23 (36.5%)	18 (35%)	28 (44%)	51 (77%)	120 (49%)
20+	26 (41%)	20 (39%)	24 (38%)	7 (11%)	77 (32%)
Años vividos en la misma región (departamento)					
<5	0 (0%)	1 (2%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.4%)
5-9	0 (0%)	0 (0%)	2 (3%)	0 (0%)	2 (0.8%)
10-19	10 (16%)	13 (27%)	19 (31%)	17 (26%)	59 (24.7%)
20+	53 (84%)	35 (71%)	40 (66%)	49 (74%)	177 (74.1%)
Padres trabajado en la caña de azúcar					
<i>Padre o madre ha trabajado en la caña de azúcar</i>	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)	63 (94%)	64 (26%)
Antecedentes salud reportados por los padres					
<i>Alguno de los padres reporta IRC</i>	7 (11%)	3 (6%)	4 (6%)	26 (39%)	40 (16%)
Padre					
<i>IRC</i>	4 (6%)	1 (2%)	4 (6%)	24 (36%)	33 (16%)
<i>Cálculos renales</i>	7 (11%)	1 (2%)	1 (2%)	6 (9%)	15 (7%)
<i>Hipertensión</i>	8 (13%)	6 (12%)	6 (10%)	12 (18%)	32 (13%)
<i>Diabetes</i>	7 (11%)	3 (6%)	5 (8%)	3 (5%)	18 (9%)
<i>Fallecido</i>	3 (5%)	3 (6%)	3 (5%)	9 (13%)	18 (8%)
Madre					
<i>IRC</i>	4 (6%)	2 (4%)	1 (2%)	3 (5%)	10 (5%)
<i>Cálculos renales</i>	6 (10%)	4 (8%)	1 (2%)	3 (5%)	14 (7%)
<i>Hipertensión</i>	11 (18%)	11 (21%)	8 (13%)	12 (18%)	42 (20%)
<i>Diabetes</i>	2 (3%)	2 (4%)	4 (6%)	4 (6%)	12 (6%)
<i>Fallecida</i>	0 (0%)	0 (0%)	3 (5%)	2 (3%)	5 (2%)

*4 adolescentes vivían en Posoltega.

Tabla 3. Características de la población adolescente

Colegios	1. Jinotega	2. Masaya	3. Norte Chichigalpa	4. Sur Chichigalpa	TOTAL
	n=63	n=52	n=63	n=67	N=245
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Sexo					
<i>Male</i>	33 (52%)	25 (48%)	32 (51%)	31 (46%)	121 (49%)
<i>Female</i>	30 (48%)	27 (52%)	31 (49%)	36 (54%)	124 (51%)
Grupo de edad (años)					
12-15	37 (59%)	25 (48%)	33 (52%)	38 (57%)	133 (54%)
16-18	26 (41%)	27 (52%)	30 (48%)	29 (43%)	112 (46%)
Minutos caminados al colegio					
<10	15 (26%)	7 (16%)	8 (15%)	37 (62%)	67 (31%)
10-29	39 (69%)	30 (67%)	38 (72%)	20 (33%)	127 (59%)
≥30	3 (5%)	8 (18%)	7 (13%)	3 (5%)	21 (10%)

Tal y como hemos referido previamente, analizamos muestras de orina para los biomarcadores NGAL, NAG, IL-18 y RAC para 200 de los 245 estudiantes incluidos en el estudio. Los 200 estudiantes fueron seleccionados de tal manera que existiera una distribución equilibrada en cuanto a colegio, sexo y categoría de edad. El resto de características presentaron una distribución similar a las observadas para el total de 245 participantes.

3.1 Tiras reactivas de orina

Los datos de las tiras reactivas de orina están disponibles para el total de los 245 participantes. Para semicuantificar densidad, pH, esterasa leucocitaria, nitritos, proteínas, glucosa, cuerpos cetónicos, urobilinógeno, bilirrubina y sangre en muestras de orina, se utilizaron tiras reactivas (Tabla 4).

Tabla 4. Resumen de resultados de tiras reactivas de orina para el total de participantes

	Colegios (ciudad)			
	1. Jinotega	2. Masaya	3. Norte Chichigalpa	4. Sur Chichigalpa
N=245	n=63	n=52	n=63	n=67
Medidas de tira reactiva de orina	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
DENSIDAD URINARIA				
1,005	4 (6%)	2 (4%)	7 (11%)	16 (24%)
1,010	14 (22%)	19 (37%)	18 (29%)	25 (37%)
1,015	18 (29%)	12 (23%)	20 (32%)	20 (30%)
1,020	19 (30%)	12 (23%)	14 (22%)	6 (9%)
1,025	4 (6%)	3 (6%)	3 (5%)	0 (0%)
1,030	4 (6%)	4 (8%)	1 (2%)	0 (0%)
pH				
5	41 (65%)	25 (48%)	26 (41%)	19 (28%)
6	10 (16%)	11 (21%)	19 (30%)	24 (36%)
6.5	1 (2%)	3 (6%)	3 (5%)	7 (10%)
7	8 (13%)	9 (17%)	10 (16%)	12 (18%)
8	3 (5%)	4 (8%)	5 (8%)	5 (8%)
ESTERASA LEUCOCITARIA				
Neg	57 (90%)	46 (88%)	58 (92%)	61 (91%)
+1	3 (5%)	2 (4%)	0 (0%)	1 (1.5%)
+2	1 (2%)	4 (8%)	2 (3%)	1 (1.5%)
+3	2 (3%)	0 (0%)	3 (5%)	4 (6%)
NITRITOS				
Neg	63 (100%)	51 (98%)	61 (97%)	65 (97%)
Pos	0 (0%)	1 (2%)	2 (3%)	2 (3%)
SANGRE				
Neg	55 (87%)	45 (86%)	57 (90%)	60 (90%)
+1	2 (3%)	4 (8%)	1 (2%)	3 (4%)
+2	1 (2%)	3 (6%)	2 (3%)	2 (3%)
+3	2 (3%)	0 (0%)	2 (3%)	0 (0%)
+4	3 (5%)	0 (0%)	1 (2%)	2 (3%)
PROTEINAS				
Neg	63 (100%)	48 (92%)	61 (97%)	66 (99%)
+1	0 (0%)	3 (6%)	2 (3%)	0 (0%)
+2	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
+3	0 (0%)	1 (2%)	0 (0%)	1 (1%)
GLUCOSA				
Neg	63 (100%)	50 (96%)	63 (100%)	67 (100%)
+1	0 (0%)	1 (2%)	0 (0%)	0 (0%)
+2	0 (0%)	1 (2%)	0 (0%)	0 (0%)
CUERPOS CETÓNICOS				
Neg	63 (100%)	52 (100%)	62 (98%)	67 (100%)
+1	0 (0%)	0 (0%)	1 (2%)	0 (0%)
UROBILINÓGENO				
Neg	63 (100%)	52 (100%)	60 (95%)	67 (100%)
+1	0 (0%)	0 (0%)	2 (5%)	0 (0%)
BILIRRUBINA				
Neg	63 (100%)	52 (100%)	63 (100%)	67 (100%)

Centraremos nuestro análisis y discusión en los datos de proteínas, glucosa, nitritos, esterasa leucocitaria y sangre. La esterasa leucocitaria es una enzima producida por los leucocitos, de modo que un test positivo para esta indica la presencia de leucocitos en orina (leucocituria). La leucocituria puede ser un indicador de infección (bacterias, IVU) o de inflamación (cristales/cálculos, daño tubular). Por ello, los pruebas de esterasa leucocitaria habitualmente se interpretan junto con otras medidas como los pruebas de nitritos o sangre en orina, o la detección mediante microscopía de leucocitos en la orina. El hallazgo de nitritos en orina es un test específico pero no sensible, para la presencia de bacterias Gram negativas, los patógenos urinarios más frecuentes. Normalmente los resultados positivos para esterasa leucocitaria y/o nitritos sugieren IVU y se suele confirmar con un cultivo de orina. Apenas se detectaron nitritos o esterasa leucocitaria positiva en la población a estudio. Los nitritos fueron positivos tan solo en 5 adolescentes (2%). Tan solo 23 (9,4%) adolescentes tuvieron una esterasa leucocitaria positiva, de los cuales 22 eran mujeres distribuidas uniformemente en los cuatro colegios.

A continuación se estudió si la positividad a la esterasa leucocitaria estaba asociada con los marcadores de daño renal. Tal y como se muestra en la Tabla 5, la tasa de medias de NGAL fue superior en aquellas niñas con esterases leucocitarias positivas comparadas con aquellas que tuvieron este test negativo.

Tabla 5. Análisis de biomarcadores* según positividad en la esterasa leucocitaria en mujeres

	Tasa de medias	LIIC	LSIC
RAC (ug/mg Crea)	1.10	0.73	1.66
NGAL (ng/mg Crea)	2.13	1.46	3.12
NAG (mU/mg Crea)	0.75	0.49	1.13
IL-18 (pg/mg Crea)	1.11	0.74	1.66

*Los biomarcadores fueron transformados logarímicamente con la función logaritmo neperiano. LIIC: Limite inferior del intervalo de confianza. LSIC: Límite superior del intervalo de confianza.

La hemoglobina en orina se detectó con tiras reactivas, siendo la presencia de hematíes en orina la causa más frecuente de la positividad para sangre. Otras causas posibles son la presencia de mioglobina en la orina (por rabdomiolisis), o presencia de la hemoglobina misma por hemólisis intravascular. Hay múltiples causas de un hallazgo de sangre en orina, como la lesión en cualquier parte del tracto genitourinario, que originaría hematuria. Estas causas incluyen, lesión vesical, lesiones uretrales (por cálculos renales), inflamación en el contexto de infección del tracto urinario o de cálculos o cristales, o bien por lesiones renales abarcando causas benignas como la enfermedad por adelgazamiento de la membrana basal, hasta glomerulonefritis severas. En nuestra población, 28 (11,4%) de los adolescentes tuvieron presencia de sangre en orina, de los cuales 22 eran mujeres, distribuidas uniformemente en los cuatro colegios. Cuando analizamos si la positividad para sangre estaba asociada con valores superiores de biomarcadores de daño renal, tan solo IL-18 mostró una tasa de medias superior (Tabla 6). Aunque la

menstruación en el momento del estudio reportada por las participantes era un criterio de exclusión del estudio, es posible que algunos de estos resultados positivos puedan deberse a este hecho.

Tabla 6. Análisis de biomarcadores* por positividad a sangre en orina en mujeres

	Tasa de medias	LIIC	LSIC
RAC (ug/mg Crea)	1.26	0.83	1.91
NGAL (ng/mg Crea)	1.01	0.66	1.53
NAG (mU/mg Crea)	0.91	0.59	1.40
IL-18 (pg/mg Crea)	1.64	1.10	2.44

*Los biomarcadores fueron transformados logarímicamente con la función logaritmo neperiano. LIIC: Limite inferior del intervalo de confianza. LSIC: Límite superior del intervalo de confianza.

Un hallazgo notable en las tiras reactivas, es la mínima presencia en la orina de los participantes del estudio de proteínas (7 casos o 2,9%) o glucosa (2 casos o 0,8%), lo cual significa que hay mínima evidencia de la existencia de enfermedad glomerular, hallazgo que parece confirmarse con los resultados de la Razón de albúmina corregida por creatinina (RAC) que se describe más abajo.

En resumen, las características de la orina medidas por las tiras reactivas sugieren que no existe un daño renal elevado y que este no difiere por colegio. Sin embargo, es posible que la presencia de la esterasa leucocitaria y/o sangre en orina pudieran estar asociados con daño renal en aquellas adolescentes con valores elevados.

3.2 Creatinina urinaria

Evaluamos las concentraciones de creatinina urinaria y de densidad urinaria para determinar si los adolescentes de Nicaragua se encontraban en un estado pre-renal (un estado de hipoperfusión o flujo sanguíneo a los riñones disminuido, que puede resultar de diferentes desequilibrios hemodinámicos) y tener por tanto la orina más concentrada, lo que incrementaría falsamente las concentraciones urinarias de los biomarcadores urinarios a concentraciones que podrían considerarse como daño renal. La Tabla 7 muestra la distribución de la concentración de la creatinina urinaria para la población general y por sexo, grupo de edad y colegio.

Tabla 7. Distribución de la concentración de creatinina urinaria por sexo, grupo de edad y colegio

Creat mg/ml	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	1	0.66	0.07	0.46	0.93	1.37	3.55
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	1.07	0.65	0.07	0.47	1.05	1.55	3.20
<i>Hombre</i>	100	0.92	0.66	0.11	0.45	0.72	1.22	3.55
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	0.94	0.64	0.07	0.37	0.83	1.37	2.79
<i>16-18</i>	97	1.05	0.68	0.12	0.54	0.94	1.43	3.55
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	1.26	0.71	0.20	0.71	1.15	1.73	3.55
<i>2 (Masaya)</i>	50	0.80	0.58	0.12	0.39	0.63	1.09	3.20
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	1.22	0.68	0.23	0.64	1.17	1.62	2.76
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	0.70	0.45	0.07	0.32	0.62	0.97	1.72

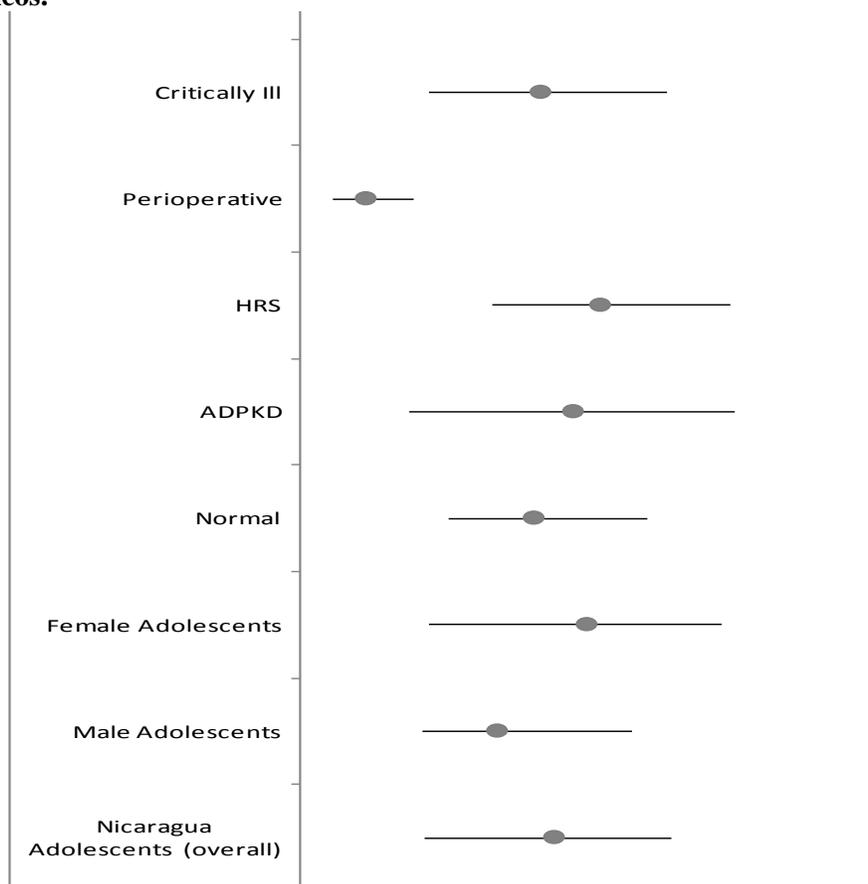
Comparamos las concentraciones de creatinina urinaria en los adolescentes con aquellas de controles sanos así como individuos con diferentes patologías (Figura 3). La concentración de creatinina urinaria mediana en los adolescentes de este estudio fue 93 mg/dl, y un rango intercuartílico, RIC (que representa los percentiles 25 y 75) de 46 mg/dl a 137 mg/dl. Estos valores son comparables a aquellos encontrados en individuos sanos (mediana: 85,5 mg/dl, y RIC: 54,5-127,5). La mediana de la concentración de creatinina urinaria en los adolescentes varones fue inferior que el de las mujeres 72 mg/dl (RIC 45-122) vs 105 mg/dl (RIC 47-155) respectivamente ($P < 0,01$).

Este hallazgo es inesperado, ya que los varones normalmente excretan significativamente más creatinina que las mujeres antes y durante la pubertad, reflejando una mayor masa muscular (Skinner et al., 1996). Sin embargo, este hallazgo fue corroborado cuando examinamos la densidad urinaria con las tiras reactivas (Tabla 8). El porcentaje acumulado en las mujeres de los tres hexiles superiores de densidad urinaria (1.020, 1.025 y 1.030) fue de 34,7%, comparado con 22,3% en los hombres ($p = 0,0005$). Este hallazgo sugiere nuevamente que la concentración urinaria en las mujeres adolescentes es superior (ver Tabla 9). Una posible explicación para estas diferencias encontradas en la concentración urinaria es que las adolescentes mujeres pudieran restringir la ingesta de líquidos por sentirse más incómodas que los varones a la hora de orinar en baños públicos (como los de los colegios), tanto por razones de higiene como culturales. Este fenómeno ha sido reportado anecdóticamente en Nicaragua y en otros países.

Tabla 8. Densidad urinaria específica por sexo

Specific gravity	Females (n=100)	Males (n=100)
1,005	13 (10.5%)	16 (13.2%)
1,010	30 (24.2%)	46 (38%)
1,015	38 (30.6%)	32 (26.4%)
1,020	29 (23.4%)	22 (18.2%)
1,025	6 (4.8%)	4 (3.3%)
1,030	8 (6.5%)	1 (0.8%)

Figura 3. Análisis comparativo de la creatinina urinaria en adolescentes nicaragüenses y en otros contextos clínicos.



Transplante (Hall et al.) Enfermos críticos (Siew et al.) Peri-cirugía (Parikh et al.) ADPKD (Parikh et al.)

Nota: Los datos para la cohorte de HRS no han sido publicados. Normal: población con cirugía cardíaca (asumimos que esta población presenta valores cercanos a individuos sanos).

3.3 Biomarcadores urinarios de daño renal

3.3.1 Razón Albúmina/Creatinina urinaria (RAC)

La albúmina urinaria elevada ponderada por la creatinina (RAC) es una medida de daño renal que indica aumento de la permeabilidad glomerular a las proteínas. La presencia de albúmina en la orina también puede deberse a disfunción tubular, por la incapacidad de los túbulos proximales de reabsorber toda la albúmina; en estos casos, la RAC urinaria es menor que en los de proteinuria glomerular. La albúmina es la proteína circulante más común en la sangre y no es normal su presencia en orina; en los casos de enfermedad glomerular (la causa más frecuente es la diabetes o las enfermedades renales glomerulares primarias), se filtran pequeñas cantidades de albúmina a la orina. Cuando la cantidad de albúmina filtrada por los capilares glomerulares supera la capacidad de los túbulos de reabsorberla, se produce la albuminuria. Los niveles muy bajos (RAC de 30-299 mg/g) se denominan microalbuminuria, y los niveles superiores (RAC >300 mg/g) se denominan macroalbuminuria (Fundación Nacional Renal, EEUU, 2002). Esta última siempre indica enfermedad glomerular significativa y se encuentra con frecuencia en nefropatías hipertensivas y diabéticas. Tan solo existió un caso de macroalbuminuria entre los estudiantes participantes en nuestro estudio. La Tabla 9 muestra la distribución de la microalbuminuria por colegio.

Tabla 9. Resultados de microalbuminuria en adolescentes por colegio

RAC	<30ug/mg n(%)	≥30 ug/mg n(%)
General	184 (92%)	16 (8%)
Sexo		
<i>Femenino</i>	92 (92%)	8 (8%)
<i>Masculino</i>	92 (92%)	8 (8%)
Grupo de edad (años)		
12-15	93 (90.3%)	10 (9.7%)
16-18	91 (93.8%)	6 (6.2%)
Colegio		
<i>Jinotega</i>	43 (86%)	7 (14%)
<i>Masaya</i>	46 (92%)	4 (8%)
<i>Norte Chichigalpa</i>	48 (96%)	2 (4%)
<i>Sur Chichigalpa</i>	47 (94%)	3 (6%)*

*Tan solo un adolescente varón del Colegio 4 en el sur de Chichigalpa presentó un valor de RAC superior a 300 ug/mg creatinina.

Las Tablas 10 y 11 muestran la distribución de la albúmina urinaria y la RAC (normalizada por creatinina urinaria) para toda la población y por sexo, grupo de edad y colegio. La Figura 4 muestra la distribución en la población total.

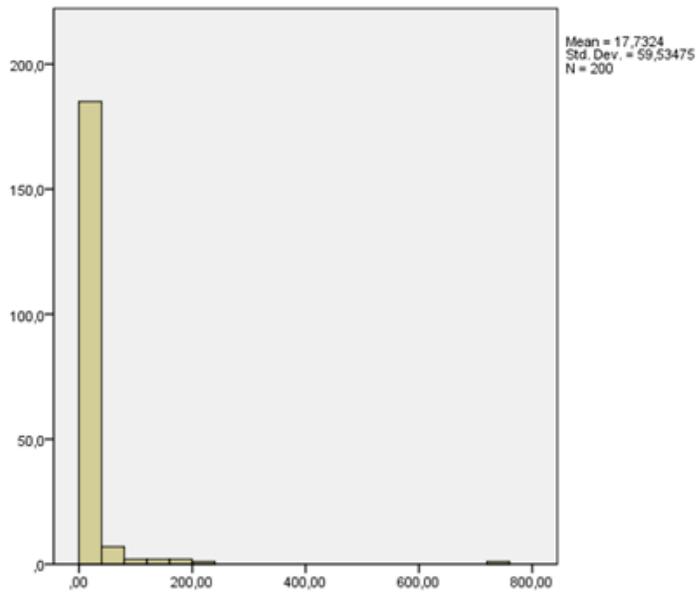
Tabla 10. Distribución de la albúmina urinaria por sexo, grupo de edad y colegio

Alb ng/ml	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	16.7	50.5	0.2	2.9	5.3	10.5	564.7
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	14.9	30.0	0.2	3.5	7.1	13.8	266.8
<i>Hombre</i>	100	18.4	65.0	0.2	2.5	4.1	7.3	564.7
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	15.3	38.7	0.2	2.7	4.8	9.7	266.8
<i>16-18</i>	97	18.1	60.8	0.7	3.0	6.0	10.7	564.7
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	21.4	41.2	0.6	3.8	6.2	26.7	266.8
<i>2 (Masaya)</i>	50	12.0	29.7	0.4	2.5	4.2	8.0	201.2
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	15.4	37.4	1.2	4.3	6.7	10.4	230.4
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	17.8	79.5	0.2	2.0	3.8	7.9	564.7

Tabla 11. Distribución de RAC urinaria (normalizada por creatinina) por sexo, grupo de edad y colegio

RAC µg/mg Crea		Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	17.7	59.5	1.1	4.6	6.2	10.5	753.9
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	13.6	22.1	1.2	5.4	7.5	11.5	182.4
<i>Hombre</i>	100	21.8	81.3	1.1	4.1	5.2	7.7	753.9
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	15.9	32.3	1.8	4.7	5.9	8.6	182.4
<i>16-18</i>	97	19.7	78.9	1.1	4.5	6.5	11.1	753.9
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	17.5	30.9	1.4	4.0	5.3	17.4	182.4
<i>2 (Masaya)</i>	50	16.3	35.5	1.1	4.0	5.3	8.8	218.5
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	13.3	30.6	2.8	4.6	6.1	10.3	167.9
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	23.8	105.8	1.75	4.7	6.0	10.8	753.9

Figura 4. Distribución de la RAC urinaria ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinina)



La Tabla 12 presenta los resultados de los modelos de regresión lineal que evalúan la asociación entre las concentraciones de RAC y el sexo, edad y colegio, ajustados por otros factores de confusión. Los adolescentes varones presentaron concentraciones de RAC inferiores a las mujeres. Además, las adolescentes en los colegios 2, 3 y 4 presentaron concentraciones menores a las de las adolescentes del colegio 1.

Tabla 12. Análisis multivariable del Ln(RAC) por sexo, edad y colegio.

	N	RAC			
		Concentración media	Media geométrica	Tasa de medias	Tasa de medias
		ug/mg Crea	ug/mg Crea	(95% IC)	(95% IC)
General	200	17.7	7.68	N/A	N/A
Sexo					
Femenino	100	13.6	8.61	Ref	Ref
Masculino	100	21.8	6.85	0.79 (0.61-1.04)a	0.84 (0.63-1.12)d
EDAD					
Incrementos 1 año	200	NA	NA	0.96 (0.89-1.04)b	0.95 (0.88-1.03)e
COLEGIO					
1 (Jinotega)	50	17.5	8.16	Ref	Ref
2 (Masaya)	50	16.3	7.79	0.97 (0.66-1.42)c	0.99 (0.65-1.51)f
3 (Norte Chichigalpa)	50	13.3	7.25	0.89 (0.61-1.30)c	0.90 (0.60-1.35)f
4 (Sur Chichigalpa)	50	23.8	7.54	0.93 (0.64-1.36)c	0.82 (0.53-1.28)f
Sexo:FEMENINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	22.9	11.44	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	11.9	7.26	0.64 (0.41-1.02)a	0.72 (0.44-1.17)d
3 (Norte Chichigalpa)	25	8.6	7.79	0.69 (0.43-1.09)a	0.72 (0.44-1.17)d
4 (Sur Chichigalpa)	25	11.1	8.48	0.76 (0.48-1.20)a	0.64 (0.37-1.11)d
Sexo: MASCULINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	12.2	5.83	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	20.7	8.36	1.47 (0.80-2.69)a	1.52 (0.75-3.07)d
3 (Norte Chichigalpa)	25	18.0	6.75	1.16 (0.64-2.13)a	1.09 (0.58-2.06)d
4 (Sur Chichigalpa)	25	36.5	6.70	1.15 (0.63-2.10)a	1.06 (0.53-2.12)d

a. Ajustado por edad b. Ajustado por sexo c. Ajustado por edad y sexo d. Ajustado por edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres e. Ajustado por sexo, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres f. Ajustado por sexo, edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres

3.3.2 NGAL urinaria

La lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL) es una proteína transportadora de hierro producida en los túbulos distales de los riñones. La expresión de la NGAL está sustancialmente sobre regulada en los túbulos renales con daño agudo (Devarajan 2008). Esta proteína es fácilmente detectable tanto en suero como en orina unas horas después del daño renal, siendo útil para una detección más precoz de daño renal que la medida de creatinina sérica (Devarajan 2008). Se ha postulado que la NGAL esté sobre regulada en respuesta a un daño en el epitelio tubular y que sea responsable de la regeneración de este epitelio. Por lo tanto, es posible que su papel principal sea reparativo, al contrario que la IL-18, que es un mediador de daño. Es

posible que la NGAL también identifique a los pacientes que desarrollarán IRC (Bolignano et al. 2009; Devarajan 2008).

Las Tablas 13 y 14 y la Figura 5 muestran la distribución de NGAL para toda la población, por sexo, grupo de edad y colegio.

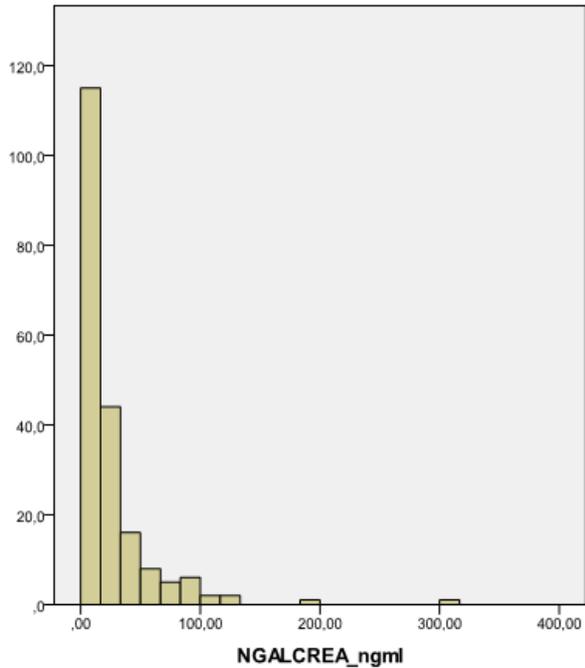
Tabla 13. Distribución de NGAL urinaria por sexo, grupo de edad y colegio

NGAL ng/ml	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	24.8	42.3	0.97	4.2	9.9	26.0	390.5
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	42.5	54.1	1.6	11.2	25.1	58.5	390.5
<i>Hombre</i>	100	7.1	5.9	0.97	2.9	5.0	9.2	33.3
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	19.2	32.2	0.97	3.1	0.1	18.1	210.5
<i>16-18</i>	97	30.7	50.4	1.26	6.0	14.6	33.2	390.5
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	27.2	35.5	1.1	7.4	12.2	35.0	203.3
<i>2 (Masaya)</i>	50	13.9	16.5	1.3	2.8	8.6	18.1	87.6
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	38.2	68.5	1.5	4.3	10.2	40.5	390.5
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	19.9	26.6	0.97	3.7	10.0	23.8	116.0

Tabla 14. Distribución de NGAL urinaria (normalizada por creatinina) por sexo, grupo de edad y colegio

NGAL ng/mg Crea	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	24.8	33.8	1.8	6.3	13.3	28.1	307.3
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	40.0	41.8	5.8	15.6	25.7	49.6	307.3
<i>Hombre</i>	100	9.6	8.9	1.8	4.2	7.0	10.9	56.7
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	21	26.4	1.8	5.7	10.6	22.3	122.3
<i>16-18</i>	97	28.9	39.8	2.4	7.9	15.6	33.5	307.3
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	20.9	21.2	2.5	6.8	12.0	26.1	96.5
<i>2 (Masaya)</i>	50	18.1	19.9	2.5	6.2	13.1	21.9	122.3
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	31.1	49.7	1.8	5.2	11.4	38.7	307.3
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	29.1	34.5	2.3	8.2	15.1	34.2	187.9

Figura 5. Distribución de NGAL urinaria (ng/mg creatinina)



La Tabla 15 presenta los resultados de los modelos de regresión lineal que evalúan la asociación entre las concentraciones de NGAL y sexo, edad y colegio, ajustado por factores de confusión. Las concentraciones medias en los adolescentes varones fueron 4 veces inferiores que en las adolescentes mujeres. Cada año la concentración media de NGAL se incrementó un 9%. Un sujeto de 18 años tendría una concentración de NGAL 51% mayor que uno de 13 años de edad. Los valores medios de NGAL fueron un 40% mayores en el Colegio 4 (sur de Chichigalpa) que en el colegio 1 (Jinotega, el colegio referencia), tanto los estudiantes varones como las mujeres mostraron niveles elevados. Las estudiantes mujeres del colegio 3 (norte de Chichigalpa) también mostraron cierta elevación en los niveles de NGAL comparado con el colegio 1, pero no hay evidencia de tal elevación entre los estudiantes varones.

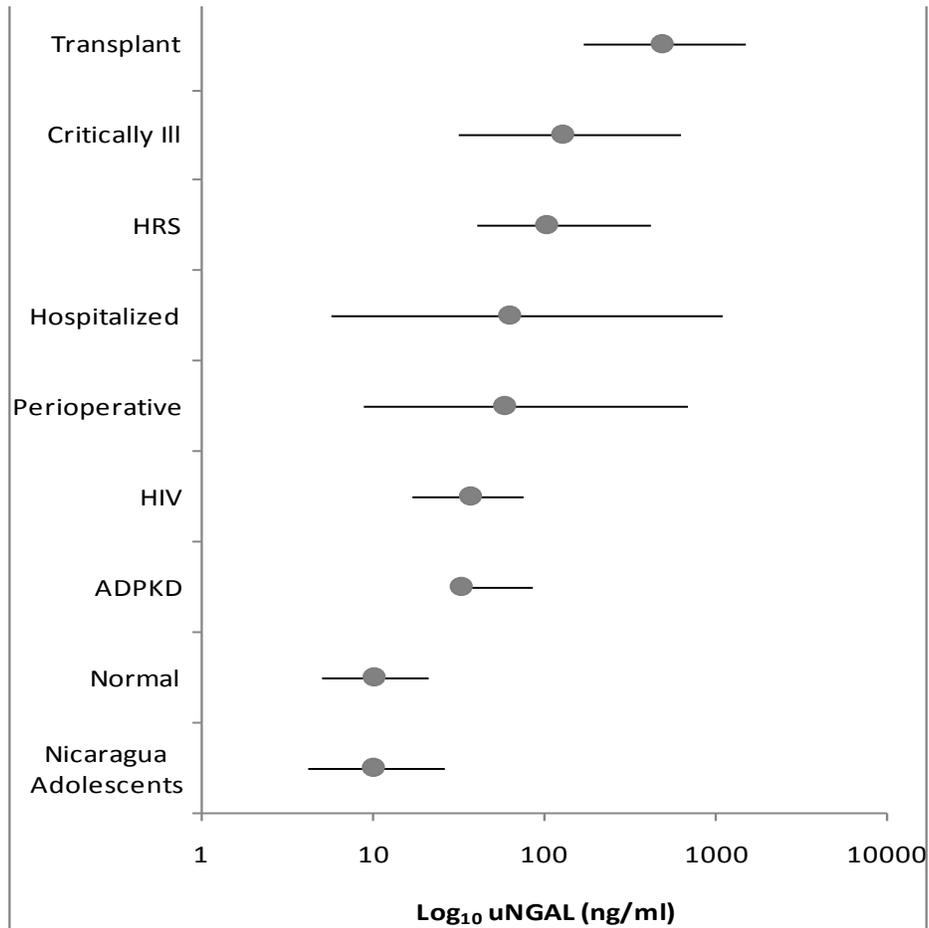
Tabla 15. Análisis multivariable de Ln (NGAL) por sexo, edad y colegio.

	N	NGAL			
		Concentración media	Media geométrica	Tasa de medias	Tasa de medias
		ng/mg Crea	ng/mg Crea	(95% IC)	(95% IC)
General	200	24.8	14.18	N/A	N/A
Sexo					
Femenino	100	40.0	28.04	Ref	Ref
Masculino	100	9.6	7.17	0.26 (0.21-0.32)a	0.25 (0.20-0.32)d
EDAD					
Incrementos 1 año	200	NA	NA	1.09 (1.03-1.16)b	1.09 (1.02-1.16)e
COLEGIO					
1 (Jinotega)	50	20.9	13.98	Ref	Ref
2 (Masaya)	50	18.1	12.27	0.84 (0.62-1.14)c	0.96 (0.69-1.34)f
3 (Norte Chichigalpa)	50	31.1	13.66	0.96 (0.71-1.3)c	0.96 (0.70-1.32)f
4 (Sur Chichigalpa)	50	29.1	17.24	1.20 (0.89-1.63)c	1.40 (0.99-1.97)f
Sexo:FEMENINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	33.7	27.70	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	24.3	18.49	0.65 (0.42-1.01)a	0.76 (0.45-1.27)d
3 (Norte Chichigalpa)	25	55.2	35.19	1.25 (0.80-1.94)a	1.28 (0.77-2.13)d
4 (Sur Chichigalpa)	25	46.9	34.31	1.19 (0.76-1.86)a	1.40 (0.79-2.50)d
Sexo: MASCULINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	8.2	7.06	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	11.9	8.14	1.09 (0.74-1.62)a	1.36 (0.87-2.13)d
3 (Norte Chichigalpa)	25	7.0	5.30	0.75 (0.51-1.10)a	0.77(0.52-1.16)d
4 (Sur Chichigalpa)	25	11.3	8.67	1.23 (0.84-1.82)a	1.53 (0.98-2.38)d

a. Ajustado por edad b. Ajustado por sexo c. Ajustado por edad y sexo d. Ajustado por edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres e. Ajustado por sexo, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres f. Ajustado por sexo, edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres

Los adolescentes de este estudio mostraron una mediana de NGAL similar a los valores reportados para individuos sanos (9,9, RIC 4,2-26 vs. 10, RIC 5,1-21,4). Las medianas de NGAL urinaria reportadas en numerosos contextos clínicos incluyendo (pero no limitado) al ámbito quirúrgico (46,8, RIC 18,4-107), pacientes críticos (126,6, RIC 32,1-623,1), y pacientes trasplantados (483, RIC 169-1498) son significativamente mayores (Figura 6). Se observó un patrón similar cuando se compararon los valores de NGAL urinaria corregidos por creatinina (datos no mostrados).

Figura 6. Análisis de la mediana y rango de concentraciones de NGAL urinario en adolescentes nicaragüenses comparado con NGAL urinario en otras poblaciones



Trasplante(Hall et al.) Pacientes críticos (Siew et al.) Hospitalizados (Hall et al.)
 Quirúrgicos (Parikh et al.) ADPKD (Parikh et al.)
 Nota: Los resultados de las cohortes de VIH y SHR no han sido publicadas.
 Asumimos que los pacientes de cirugía cardíaca muestran unos niveles de pre-quirúrgicos cercanos a individuos sanos.

3.3.3 NAG urinaria

La N-acetil-beta-D-glucosaminidasa (NAG) es un buen biomarcador de daño renal. Esta enzima se encuentra en los lisosomas, donde toma parte en la descomposición de las glicoproteínas. Normalmente, en la orina se encuentra una pequeña cantidad de NAG, pero la actividad de la NAG urinaria se incrementa cuando existe daño en las células del epitelio tubular proximal del riñón (Lin et al. 2007). NAG ha sido utilizado previamente como marcador de nefrotoxicidad a metales pesados, medicamentos tales como ciertos antibióticos, nefropatía inducida por contraste y daño tubular debido a urolitiasis o a infecciones de las vías urinarias, tanto en adultos como en niños (Price, 1992; Waring, 2001; Devarajan, 2011).

Las Tablas 16 y 17 y la Figura 7 muestran la distribución de NAG para la población general, por sexo, grupo de edad y colegio.

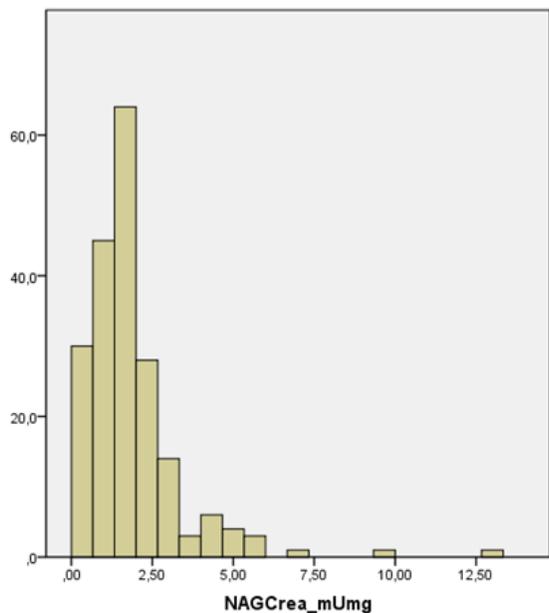
Tabla 16. Distribución de la NAG urinaria por sexo, grupo de edad y colegio

NAG mU/ml	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	1.6	1.3	0	0.6	1.2	2.4	7.4
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	1.7	1.3	0	0.8	1.5	2.6	7.4
<i>Hombre</i>	100	1.4	1.2	0	0.6	0.9	2.3	4.7
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	1.7	1.4	0	0.6	1.3	2.7	7.4
<i>16-18</i>	97	1.5	1.1	0	0.7	1.1	2.2	4.7
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	1.6	1.2	0	0.6	1.2	2.6	4.1
<i>2 (Masaya)</i>	50	1.0	0.9	0	0.5	0.7	1.5	4.0
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	2.1	1.3	0.3	1.1	2.0	2.8	7.4
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	1.7	1.4	0.1	0.7	1.2	2.4	6.2

Tabla 17. Distribución de la NAG urinaria (normalizada por creatinina) por sexo, grupo de edad y colegio

NAG mU/mg Crea	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	1.8	1.5	0.02	1.04	1.5	2.2	12.9
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	1.9	1.4	0.02	1.2	1.6	2.2	9.7
<i>Hombre</i>	100	1.8	1.7	0.02	1.0	1.4	2.1	12.9
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	2.0	1.4	0.02	1.3	1.7	2.3	9.7
<i>16-18</i>	97	1.7	1.7	0.02	0.8	1.4	2.0	12.9
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	1.7	2.2	0.02	0.5	1.3	2.2	12.9
<i>2 (Masaya)</i>	50	1.2	0.6	0.02	0.9	1.3	1.6	2.9
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	1.9	1.0	0.5	1.3	1.6	2.1	5.1
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	2.5	1.6	0.3	1.4	2.2	3.1	9.7

Figura 7. Distribución de la NAG urinaria (mU/mg creatinina)



La Tabla 18 presenta los resultados de los modelos de regresión lineal que evalúan la asociación de la concentración de NAG con el sexo, edad y colegio, ajustado por factores de confusión. Las concentraciones medias de NAG para los adolescentes varones fueron un 22% menores que para las adolescentes mujeres, y disminuyeron un 8% por cada año de edad. Por ejemplo, un sujeto de 18 años tendría una concentración un 35% menor que uno de 13 años. Tomando el colegio 1 como referencia (Jinotega), la razón de medias de las concentraciones de NAG estaban elevadas en el resto de colegios, especialmente en los dos colegios de Chichigalpa. Respecto al colegio 1, el colegio 3 (Norte de Chichigalpa) tenía concentraciones medias 2 veces mayores y el Colegio 4 (Sur de Chichigalpa) 2.7 veces mayores. Se encontraron resultados similares cuando se analizaron las mujeres y los hombres por separado.

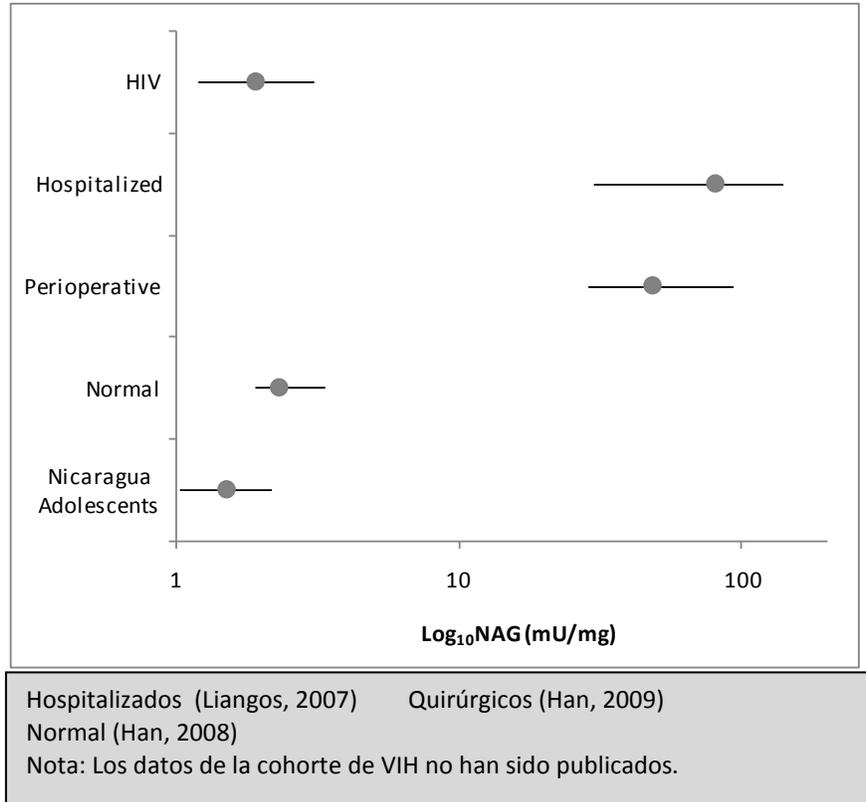
Tabla 18. Análisis multivariable de ln(NAG) por sexo, edad y colegio.

	N	NAG			
		Concentración media	Media geométrica	Tasa de medias	Tasa de medias
		mU/mg Crea	mU/mg Crea	(95% CI)	(95% CI)
General	200	1.8	1.31	N/A	N/A
Sexo					
Femenino	100	1.9	1.47	Ref	Ref
Masculino	100	1.8	1.16	0.79 (0.59-1.05)a	0.78 (0.58-1.05)d
EDAD					
Incrementos 1 año	200	NA	NA	0.90 (0.83-0.97)b	0.92 (0.84-1.00)e
COLEGIO					
1 (Jinotega)	50	1.7	0.83	Ref	Ref
2 (Masaya)	50	1.2	0.99	1.26 (0.87-1.84)c	1.27 (0.85-1.90)f
3 (Norte Chichigalpa)	50	1.9	1.66	2.04 (1.40-2.97)c	1.98 (1.35-2.90)f
4 (Sur Chichigalpa)	50	2.5	2.13	2.64 (1.81-3.85)c	2.69 (1.77-4.10)f
Sexo:FEMENINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	1.4	0.89	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	1.3	1.19	1.40 (0.92-2.12)a	1.28 (0.86-1.90)d
3 (Norte Chichigalpa)	25	2.0	1.81	2.09 (1.38-3.17)a	2.00 (1.36-2.94)d
4 (Sur Chichigalpa)	25	2.9	2.44	2.92 (1.93-4.45)a	2.27 (1.46-3.52)d
Sexo: MASCULINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	2.1	0.77	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	1.2	0.83	1.14 (0.60-2.16)a	1.43 (0.70-2.92)d
3 (Norte Chichigalpa)	25	1.7	1.53	1.99 (1.05-3.77)a	2.15 (1.13-4.07)d
4 (Sur Chichigalpa)	25	2.2	1.86	2.39 (1.26-4.52)a	3.25 (1.61-6.55)d

a. Ajustado por edad b. Ajustado por sexo c. Ajustado por edad y sexo d. Ajustado por edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres e. Ajustado por sexo, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres f. Ajustado por sexo, edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres

La concentración mediana de NAG (mU/mg) en los adolescentes nicaragienses fue comparable a la reportada por controles sanos (1,5, RIC 1,04-2.2 vs 2,3, RIC 1,9-3,4) y significativamente menor que los valores reportados para pacientes hospitalizados con AKI y pacientes sometidos a cirugía cardiaca (80, RIC 30-140 and 48, RIC 28.5-94, respectivamente) (Figura 8).

Figura 8. Análisis de la mediana y rango de concentraciones de NAG urinaria (corregida por creatinina urinaria) en adolescentes nicaragüenses comparado con NAG urinaria en otras poblaciones



3.3.4 IL-18 Urinaria

La interleukina-18 (IL-18) es una citoquina pro-inflamatoria producida durante la respuesta inmune activa por los macrófagos y las células dendríticas, es otro biomarcador urinario de elevación precoz en el curso del daño renal. La IL-18 funciona uniéndose a su receptor y, junto con la IL-12, induce la inmunidad celular. La presencia de IL-18 en orina indica inflamación de túbulo renales y en altas concentraciones se asocia con necrosis tubular aguda (Parikh et al. 2005).

Las Tablas 19 y 20 y la Figura 9 muestran la distribución de IL-18 para la población general, por sexo, grupo de edad y colegio.

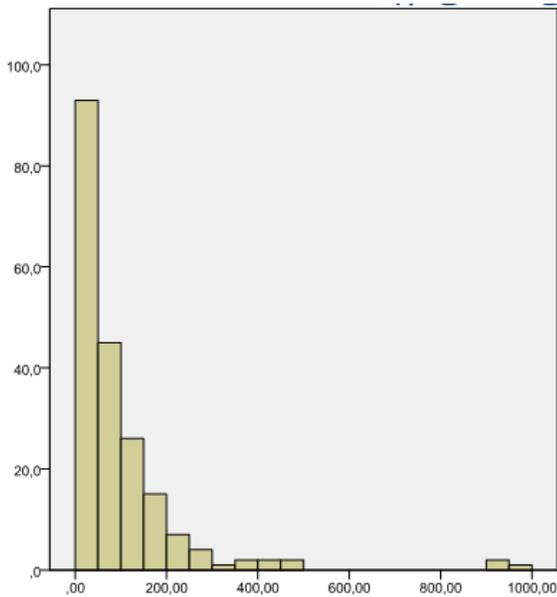
Tabla 19. Distribución de IL-18 urinaria por sexo, grupo de edad y colegio

IL-18 pg/ml	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	115.0	227.1	1.77	20.9	44.9	115.2	1893.7
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	190.2	299.8	2.8	45.1	95.9	231.3	1893.7
<i>Hombre</i>	100	39.8	48.7	1.77	10.6	26.2	41.1	307.6
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	98.1	205.5	2.8	20.5	40.1	96.5	1893.7
<i>16-18</i>	97	133.0	247.8	1.77	21.6	50.2	135.1	1616.5
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	189.2	354.5	4.2	27.7	65.0	203.6	1893.7
<i>2 (Masaya)</i>	50	86.2	135.1	1.8	7.8	31.5	94.8	599.0
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	91.8	102.5	5.1	24.8	49.3	129.9	464.8
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	92.9	218.0	2.8	21.6	33.7	90.9	1528.3

Tabla 20. Distribución de IL-18 urinaria (normalizada por creatinina urinaria) por sexo, grupo de edad y colegio

IL-18 pg/mg Crea	n	Media	ds	Min	P25	P50	P75	Max
Muestra general	200	100.8	135.4	2.5	28.9	56.7	122.8	976.5
Sexo								
<i>Mujer</i>	100	156.7	166.3	19.6	66.5	117.7	178.8	976.5
<i>Hombre</i>	100	44.9	53.3	2.5	21.3	32.3	53.1	468.2
Grupo edad (años)								
<i>12-15</i>	103	92.5	115.5	4.9	33.1	52.2	107.2	911.7
<i>16-19</i>	97	109.6	153.7	2.5	26.7	58.6	133.2	976.5
Colegio								
<i>1 (Jinotega)</i>	50	125.8	183.1	9.6	34.5	54.1	165.4	922.1
<i>2 (Masaya)</i>	50	90.3	108.9	2.5	20.4	41.9	119.3	463.8
<i>3 (Norte Chichigalpa)</i>	50	72.8	59.4	12.7	25.4	48.2	115.3	274.1
<i>4 (Sur Chichigalpa)</i>	50	114.4	154.1	3.5	38.3	78.8	121.1	976.5

Figure 9. Distribución de IL-18 urinaria (pg/mg creatinina)



La Tabla 21 presenta los resultados de los modelos de regresión lineal que evalúan las asociaciones entre las concentraciones de IL-18 y el sexo, edad y colegio, ajustando por variables de confusión. Las concentraciones medias de IL-18 fueron 3,4 veces menores en los adolescentes varones que en las adolescentes mujeres, y no se encontró asociación con la edad. Tomando el colegio 1 (Jinotega) como referencia, las concentraciones de IL-18 fueron menores en el colegio 2 (Masaya) y el colegio 3 (norte de Chichigalpa) y no existió asociación con el colegio 4 (sur de Chichigalpa). Sin embargo, cuando se analizaron independientemente, las mujeres mostraron una tasa de medias menor en los tres colegios, mientras que los hombres en el colegio 4 mostraron una tasa de medias mayor que el colegio 1.

Tabla 21. Análisis multivariable de ln (IL-18) por sexo, edad y colegio

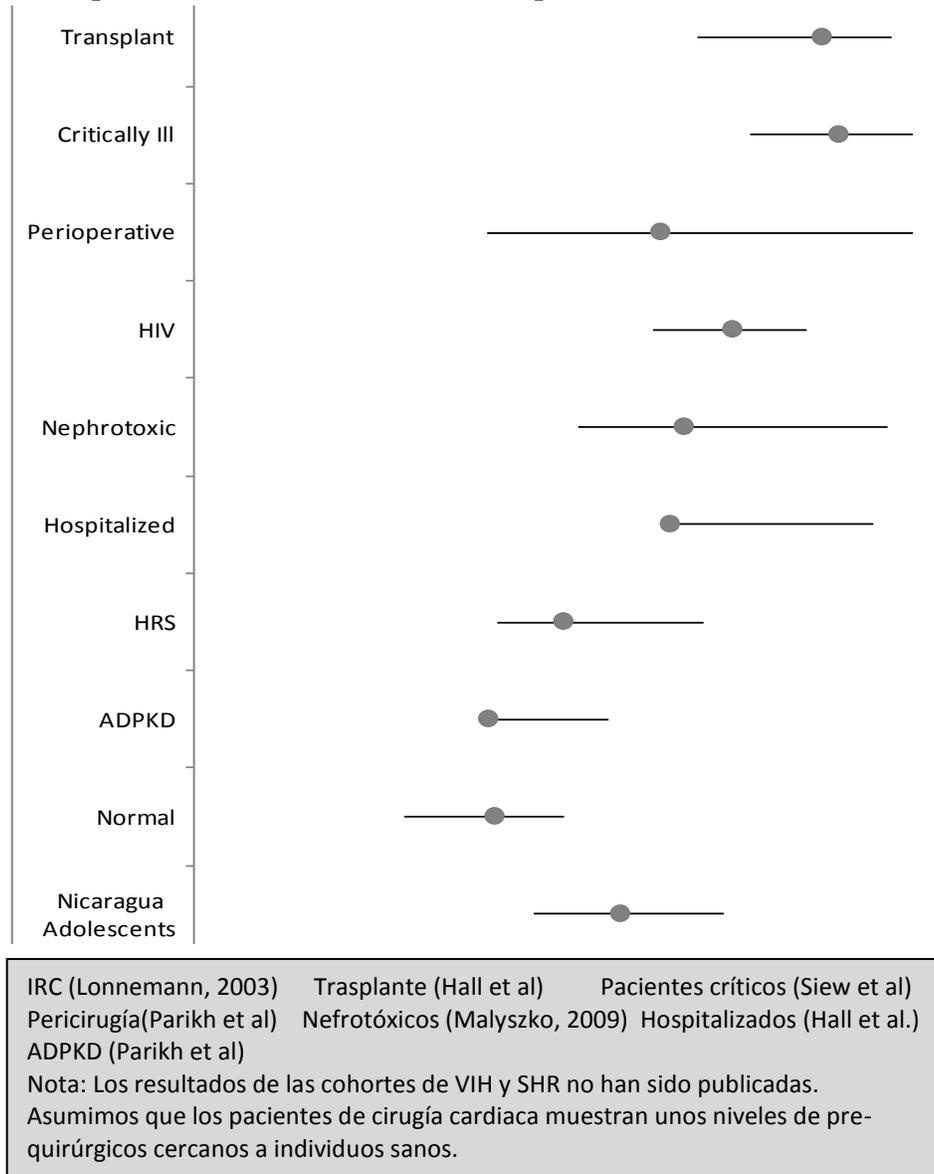
	N	IL-18			
		Concentración media	Media geométrica	Tasa de medias	Tasa de medias
		pg/mg Crea	pg/mg Crea	(95% IC)	(95% IC)
General	200	100.8	58.67	N/A	N/A
Sexo					
Femenino	100	156.7	111.06	Ref	Ref
Masculino	100	44.9	31.00	0.28 (0.22-0.35) ^a	0.29 (0.23-0.37) ^d
EDAD					
Incrementos 1 año	200	NA	NA	0.97 (0.91-1.03) ^b	0.97 (0.91-1.04) ^e
COLEGIO					
1 (Jinotega)	50	125.8	70.13	Ref	Ref
2 (Masaya)	50	90.3	44.45	0.64 (0.46-0.89) ^c	0.64 (0.45-0.91) ^f
3 (Norte Chichigalpa)	50	72.8	53.47	0.77 (0.55-1.06) ^c	0.75 (0.54-1.05) ^f
4 (Sur Chichigalpa)	50	114.4	71.12	1.02 (0.74-1.41) ^c	1.04 (0.72-1.50) ^f
Sexo:FEMENINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	217.1	156.07	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	150.8	105.32	0.64 (0.42-0.99) ^a	0.65 (0.40-1.05) ^d
3 (Norte Chichigalpa)	25	112.8	97.61	0.61 (0.39-0.94) ^a	0.64 (0.40-1.04) ^d
4 (Sur Chichigalpa)	25	146.2	94.81	0.57 (0.37-0.88) ^a	0.57 (0.33-0.98) ^d
Sexo: MASCULINO					
Colegio					
1 (Jinotega)	25	34.5	31.51	Ref	Ref
2 (Masaya)	25	29.7	18.76	0.64 (0.41-0.98) ^a	0.58 (0.35-0.96) ^d
3 (Norte Chichigalpa)	25	32.8	29.29	0.94 (0.61-1.44) ^a	0.85 (0.54-1.33) ^d
4 (Sur Chichigalpa)	25	82.5	53.34	1.68 (1.09-2.59) ^a	1.62 (0.99-2.66) ^d

a. Ajustado por edad b. Ajustado por sexo c. Ajustado por edad y sexo d. Ajustado por edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres e. Ajustado por sexo, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres f. Ajustado por sexo, edad, tiempo de residencia en la misma dirección, educación del padre e historia de IRC en los padres

La mediana de IL-18 (pg/ml) en los adolescentes nicaragüenses fue muy superior a las mostradas por controles sanos (44,9, RIC 20,9-115,2 vs. 14,6, RIC 6,6-27,6) y se encontraba en el rango reportado por muchos pacientes con daño renal tales como pacientes hospitalizados con AKI (70, RIC 0-437) y pacientes en cirugía (135, RIC 50.3-290.3) (Figura 10). Se encontró un patrón similar cuando se realizó el mismo análisis con los valores de IL-18 corregidos por creatinina urinaria (datos no mostrados). Un sub-análisis similar tan solo con los valores de IL-18 de los adolescentes del colegio del sur de Chichigalpa (no mostrado), donde la prevalencia de IRC en adultos es la más alta comparado con las otras regiones, no mostró diferencias significativas comparado con el análisis con los otros tres colegios. Tal y como hemos mencionado, las concentraciones de IL-18 en las adolescentes fueron muy superiores que las de los adolescentes. Es decir, la mediana para toda la población oculta el hecho de que los valores en los adolescentes

(hombres) se encontraron solo modestamente elevados (26,2, RIC 10,6-41,1) comparados con los controles sanos, mientras que las adolescentes mostraron valores mucho más similares que aquellos individuos con patología (95,9, IQR 45,1-231,3).

Figura 10. Análisis de la mediana y rango de concentraciones de IL-18 urinaria en adolescentes nicaragüenses comparado con IL-18 urinaria en otras poblaciones



3.3.5 Correlación entre biomarcadores de daño renal

La Tabla 22 presenta la matriz de correlaciones para los cuatro biomarcadores de daño renal (RAC, NGAL, NAG e IL-18). Estos análisis describen la relación entre cada par de marcadores pero no controlan por otras variables como pueden ser la edad o el sexo. Excepto el par RAC-

NAG, los resultados muestran que los biomarcadores de daño renal están positivamente asociados unos con otros.

Tabla 22. Correlaciones de Spearman entre los biomarcadores de daño renal en adolescentes (n=200)

	RAC	NGAL	NAG	IL-18
RAC	r=1	r=0.245*	r=0.092	r=0.206*
NGAL		r=1	r=0.126 ***	r=0.537*
NAG			r=1	r=0.147**
IL-18				r=1

* Correlación significativa al nivel 0,01 (por las dos colas)

** Correlación significativa al nivel 0,05 (por las dos colas)

*** Correlación significativa al nivel 0,076 (por las dos colas)

También estábamos interesados en conocer si la misma población que obtenía un valor alto de un biomarcador también mostraba valores altos en el resto de biomarcadores. La Tabla 23 muestra como, tomando el valor del percentil 75 como el punto de corte para cada uno de los biomarcadores, un 33% de la población obtuvo un biomarcador por encima del P75, el 20% dos biomarcadores, el 7% tres y el 1% los cuatro biomarcadores.

Tabla 23. Población con biomarcadores por encima del P75.

# biomarcadores por encima del P75	n (%)
0	78 (39%)
1	66 (33%)
2	40 (20%)
3	14 (7%)
4	2 (1%)

3.4 Análisis de síntomas auto-referidos

Tal y como se explicó en la sección de métodos, los adolescentes que participaron en el estudio completaron un cuestionario que incluía una encuesta de problemas de salud en general y sobre la frecuencia de la aparición de dolor al orinar específicamente (Apéndice 2). Los padres también fueron preguntados si su hijo/a había sido alguna vez hospitalizado y la razón de la misma (Apéndice 1). Se tomaron en cuenta las respuestas respecto a “los problemas renales” referidos tanto por los adolescentes como por los padres. Los resultados se muestran en la Tabla 24.

Un total de 23 padres refirieron que su hijo/a (12 niños y 11 niñas) sufrían de problemas renales, no existiendo diferencias significativas en estas respuestas por colegio ($p=0,967$). Las razones referidas por los padres respecto a la hospitalización de su hijo/a relacionadas con los “riñones”

incluyeron: “infecciones renales” (17), “problemas urinarios” (2), “infecciones del tracto urinario” (1), “problemas renales” (1), “piedras en el riñón”, e “insuficiencia renal” (1). Un total de 15 adolescentes (10 mujeres y 5 hombres) reportaron problemas renales, sin encontrarse diferencias significativas por colegio ($p=0,269$). En particular, los adolescentes utilizaron términos tales como: “infección renal” (5), “problemas renales” (4), “dolor o ardor al orinar” (4), y “dolor de riñones” (2).

Tabla 24. Síntomas renales reportados en los adolescentes

Colegios	1. Jinotega	2. Masaya	3. Norte Chichigalpa	4. Sur Chichigalpa	TOTAL
	n=63	n=52	n=63	n=67	N=245
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Síntomas					
Dolor al orinar					
<i>Nunca</i>	38 (60%)	21 (40%)	30 (48%)	44 (66%)	133 (54%)
<i>1-2/año</i>	19 (30%)	19 (37%)	17 (27%)	13 (19%)	68 (28%)
<i>1-2/mes</i>	5 (8%)	8 (15%)	11 (18%)	5 (7.5%)	29 (12%)
<i>1 semana</i>	1 (2%)	4 (8%)	4 (7%)	5 (7.5%)	14 (6%)
Problemas renales reportados	7 (11%)	8 (15%)	9 (14%)	8 (12%)	32 (13%)
<i>Reportados por el niño/a</i>	4 (6%)	6 (12%)	2 (3%)	3 (4%)	15 (6%)
<i>Reportados por los padres</i>	6 (10%)	5 (10%)	7 (11%)	5 (7%)	23 (9%)

Los biomarcadores urinarios de daño renal no se encontraron asociados con los problemas renales o urinarios referidos por padres o hijos (Tabla 25).

Tabla 25. Análisis de biomarcadores* respecto a problemas renales y/o urinarios referidos por los participantes

	Tasa de medias	LIIC	LSIC
RAC (ug/mg Crea)	1.00	0.69	1.46
NGAL (ng/mg Crea)	1.09	0.61	1.38
NAG (mU/mg Crea)	1.03	0.68	1.55
IL-18 (pg/mg Crea)	0.99	0.65	1.50

*Los biomarcadores fueron transformados logarítmicamente con la función logaritmo neperiano. LIIC: Límite inferior del intervalo de confianza. LSIC: Límite superior del intervalo de confianza.

La proporción de estudiantes que refirieron “padecer dolor al orinar” frecuentemente (1-2 veces por mes o semanalmente) fue del 10% en el colegio 1, 23% en el colegio 2, 24% en el colegio 3 y 15% en el colegio 4. A continuación evaluamos si experimentar dolor frecuente al orinar (referido por los adolescentes) estaba asociado con los marcadores urinarios de daño temprano, controlando por edad y sexo (Tabla 26). Aquellos estudiantes con disuria frecuente tuvieron una

concentración de RAC menor que aquellos con disuria infrecuente o ausencia de la misma. No se encontraron asociaciones con el resto de los biomarcadores.

Tabla 26. Análisis de biomarcadores* por disuria frecuente

	Tasa de medias	LIIC	LSIC
RAC (ug/mg Crea)	0.75	0.53	1.07
NGAL (ng/mg Crea)	0.95	0.72	1.27
NAG (mU/mg Crea)	0.98	0.67	1.44
IL-18 (pg/mg Crea)	1.11	0.81	1.53

*Los biomarcadores fueron transformados logarítmicamente con la función logaritmo neperiano. LIIC: Limite inferior del intervalo de confianza. LSIC: Límite superior del intervalo de confianza.

IV. CONCLUSIONES

Entre Octubre y Noviembre de 2011, el equipo de la Universidad de Boston llevó a cabo una investigación de los marcadores biológicos de daño renal en estudiantes adolescentes de cuatro colegios localizados en diferentes regiones de Nicaragua (Jinotega, Masaya y dos colegios en Chichigalpa). Las regiones y los colegios fueron seleccionados para representar un abanico de condiciones que podrían afectar el riesgo de desarrollar daño renal temprano, lo cual podría resultar en IRC.

La principal motivación de este estudio fue el frecuente diagnóstico de IRC en adultos jóvenes, especialmente en hombres, entre las edades de 20 y 30 años, lo cual es un fenómeno relativamente extraño en países como EEUU. Dado que normalmente se requieren muchos años para que un daño renal acumulado progrese a IRC, la existencia de estos casos en adultos muy jóvenes lanza la pregunta de si este daño en el riñón empieza en realidad durante la infancia. A parte de las consecuencias obvias desde un punto de vista de salud pública, la respuesta a esta pregunta tiene importantes implicaciones para la investigación de las causas de la epidemia de IRC, ya que la identificación de daño renal temprano en niños resaltaría la necesidad de estudiar factores que puedan afectar a esta población antes de comenzar la actividad laboral.

Los objetivos específicos de este estudio fueron:

- 1) Evaluar si existe evidencia de daño renal temprano en adolescentes de diferentes áreas de Nicaragua escogidas para representar diferentes características demográficas y ambientales y, por lo tanto, potenciales riesgos de daño renal; y
- 2) Evaluar si estas diferencias en la prevalencia de daño renal temprano por sexo, edad y colegio son consistentes con los patrones de la epidemia de IRC descritos para adultos.

En este apartado resumimos las conclusiones obtenidas respecto a estos objetivos, basándonos en el análisis de datos que describimos en este informe. Previo al resumen de dichos resultados, queremos resaltar que un estudio como el que hemos llevado a cabo, en adolescentes aparentemente sanos de diferentes comunidades utilizando biomarcadores de daño renal tan novedosos, es único. No conocemos otros estudios de este tipo. Los resultados del estudio son

provocativos y en ocasiones sorprendentes. Debido a la singularidad del estudio, así como al relativamente pequeño tamaño muestral, creemos que es importante considerar estos resultados como preliminares y evitar sacar conclusiones firmes hasta que nosotros u otro grupo investigador tengamos la oportunidad de replicar el estudio y considerar aquellos problemas de diseño, implementación o análisis del estudio que hayan podido aparecer.

- **¿Existe evidencia de daño renal temprano en los adolescentes de Nicaragua?**

Los resultados de nuestro estudio indican que, efectivamente, podría existir daño renal temprano en los adolescentes de Nicaragua. Las dos piezas fundamentales de evidencia que sustentan esta conclusión son:

- i) Las concentraciones promedio del biomarcador renal IL-18 en esta población de adolescentes se encontraron elevadas en todos los colegios comparadas con participantes sanos en otros estudios llevados a cabo en otros países.
- ii) Ciertos grupos del estudio mostraron concentraciones de los diferentes biomarcadores elevadas respecto al resto de grupos. Esta evidencia se discute en mayor detalle en la siguiente sección de las Conclusiones.

El biomarcador Razón de Albúmina-Creatinina (RAC) es el único de los marcadores estudiados en el que la bibliografía ha definido un nivel por encima del cual se acepta que existe daño renal, al contrario que NGAL, NAG e IL-18. Estos tres biomarcadores han sido muy recientemente introducidos y la comunidad científica aún los está estudiando. Una de sus principales fortalezas, y razón por la cual los hemos utilizado en este estudio, es su habilidad de detectar daño renal antes de que este sea tan severo que la creatinina sérica (biomarcador usado comúnmente para diagnosticar clínicamente IRC), se encuentre elevada. La expectativa original era que ninguno de los estudiantes mostraría esta progresión a IRC y por lo tanto quisimos emplear estos biomarcadores tan sensibles para detectar daño renal temprano. Asimismo, no quisimos utilizar técnicas más invasivas, como la recogida de muestras de sangre, necesarias para determinar la creatinina sérica.

Debido a la falta de puntos de corte que determinen daño renal en ninguno de los tres biomarcadores mencionados, procedimos a comparar las concentraciones de los biomarcadores obtenidas en los adolescentes nicaragüenses con aquellas obtenidas en otros estudios, los cuales incluyeron tanto a individuos con patologías renales, como aquellos que en principio no tenían daño renal (“controles normales o sanos”). Los resultados de nuestro estudio mostraron que las concentraciones de NGAL y NAG eran similares a las de los controles normales, pero superiores a lo esperado para IL-18. IL-18, junto con NGAL y NAG, son biomarcadores de daño renal tubular. Este hecho es importante, ya que sugiere que podría existir un daño en esta área del riñón, lo cual es consistente con la fuerte evidencia de que la IRC que padecen los adultos jóvenes de Nicaragua es precisamente de tipo tubulo-intersticial. Es más, el hecho de que tan

solo unos pocos estudiantes tuvieran niveles elevados de RAC, el cual es un biomarcador principalmente de daño glomerular, añade a esta evidencia.

- **¿Existen diferencias en la presencia de daño renal temprano en los adolescentes de Nicaragua que sean consistentes con los patrones observados de la epidemia de IRC en adultos jóvenes?**

La epidemia de IRC se concentra principalmente en hombres que trabajan como trabajadores manuales, en la zona del Occidente de Nicaragua y en personas que residen a baja altitud. Basados en estos patrones, nuestra hipótesis era que la frecuencia de daño renal temprano sería mayor en los adolescentes varones y que variaría por colegio de menor a mayor siguiendo el siguiente orden: Jinotega, Masaya, norte de Chichigalpa y sur de Chichigalpa.

En contra de estas expectativas, las adolescentes (mujeres) mostraron niveles mayores de todos los biomarcadores que los adolescentes varones. Estas diferencias fueron particularmente notables para RAC e IL-18. También encontramos que las adolescentes mostraron densidades urinarias superiores a los adolescentes, lo que indica que su orina se encuentra más concentrada. Estas concentraciones no indican por sí solas daño renal, pero representan una relativa deshidratación que puede deberse simplemente a una restricción en la ingesta de líquidos debido a la mayor propensión que suelen mostrar las adolescentes para evitar usar los servicios urinarios públicos. Sin embargo, esto no parece explicar totalmente las diferencias encontradas entre las concentraciones de biomarcadores en las y los adolescentes, ya que esta misma relación se encontró tanto ajustando los valores de los biomarcadores por creatinina urinaria como no haciéndolo.

No tenemos una explicación para el hallazgo de concentraciones superiores en las adolescentes mujeres respecto a los adolescentes varones. Sin embargo, este hallazgo no contradice necesariamente la mayor predominancia de IRC observada en varones en los adultos. En el pasado propusimos que es muy probable que exista más de un factor responsable que explique el exceso tan pronunciado de IRC en la región, y que dichos factores podrían interactuar de manera sinérgica. Por ejemplo, un factor podría hacer al riñón más susceptible al daño renal producido por un segundo factor, o un factor podría iniciar el daño renal mientras que otro podría acelerar su progresión. Si tomamos en cuenta este modelo, es posible que las mujeres estén de alguna forma más afectadas por un factor durante la niñez pero tengan menos probabilidades de desarrollar IRC porque están mucho menos expuestas a un segundo factor. Debemos admitir, sin embargo, que esta explicación no deja de ser una especulación y de que el hallazgo de concentraciones superiores de biomarcadores en las adolescentes continúa siendo un misterio.

Los resultados según el colegio de los adolescentes se comportaron más de acuerdo con nuestras hipótesis a priori. En este sentido, los resultados para NAG son los que mostraron una mayor

consistencia, con razones medias de concentraciones de los biomarcadores ordenadas de acuerdo al perfil de riesgo previamente definido (Jinotega, Masaya, norte de Chichigalpa, sur de Chichigalpa), tanto en varones como en mujeres. Los varones del colegio del sur de Chichigalpa, los cuales según nuestra hipótesis a priori obtendrían las prevalencias más elevadas de daño renal, mostraron, efectivamente niveles elevados para los tres biomarcadores -NGAL, NAG e IL-18, cuando se compararon con los varones del colegio de Jinotega. Tanto los varones como las mujeres en los dos colegios de Chichigalpa mostraron niveles elevados respecto a los escolares de Jinotega. Es decir, ambos colegios de Chichigalpa mostraron alguna evidencia de daño renal en varones y mujeres, pero fueron los varones del colegio del sur de Chichigalpa los que mostraron esta evidencia de manera consistente para los tres biomarcadores renales. Una vez más, cabe resaltar que el biomarcador RAC, asociado principalmente a daño glomerular, no mostró estos mismos patrones.

El colegio al que pertenecían los adolescentes no es en realidad más que un acercamiento (una variable proxy) a otras exposiciones asociadas con el lugar de residencia. Se ha sugerido que, dado que se reporta que muchos adolescentes en el pasado pudieron empezar a trabajar a edades jóvenes y que éste aún podría ser el caso, el daño renal en estas edades podría simplemente reflejar la exposición a factores ocupacionales. Sin embargo en nuestro estudio se excluyeron aquellos estudiantes que refirieron cualquier pasado laboral relevante.

En general, los resultados de nuestro estudio sugieren cierta evidencia de daño renal temprano en adolescentes nicaragüenses que parecería extenderse a todas las regiones estudiadas, pero con una mayor frecuencia en Chichigalpa. Este hallazgo es preliminar y requiere de confirmación a través de más recogida de datos y su examen. Si este hallazgo es correcto, será importante identificar las causas y su relación con la epidemia de IRC presente en adultos. Algunos de los factores que podrían ser investigados serían la exposición ocupacional de manera directa o indirecta (por ejemplo a través de contaminantes presentes en la ropa de los padres), exposiciones ambientales, enfermedades infecciosas, bajo peso al nacer o susceptibilidad genética. Una mayor comprensión del posible papel que estos factores podrían jugar tendría implicaciones no solo para la salud infantil sino para esclarecer las causas de la epidemia de IRC en Nicaragua y a lo largo de América Central.

A pesar de que elegimos centrarnos en adolescentes ya que a esa edad todavía podíamos reclutarlos antes de que empezaran a trabajar pero suficientemente mayores para mostrar daño renal si este ya había ocurrido, será necesario tomar muestras en niños aún más jóvenes para demostrar si hay signos de daño renal que pueden ser detectados incluso en edades más tempranas. Un estudio de estas características fue llevado a cabo en 1998 en la ciudad de León

en 423 niños en edad pre-escolar (3-6 años) (Pastora Coca, 1998). Utilizando tiras reactivas de orina, encontraron una prevalencia del 51,4% de proteinuria y 20,3% de hematuria. Estos porcentajes son mucho mayores que los resultados mostrados por las tiras reactivas de orina en nuestro estudio. En realidad, si solo hubiéramos utilizado las tiras reactivas de orina, nuestros resultados mostrarían más bien una evidencia limitada de daño renal. En futuros estudios se debe considerar también la toma de muestras de sangre así como de orina. Como resultado, en este caso no hemos podido realizar análisis de ningún biomarcador presente en sangre, como por ejemplo, la creatinina sérica. También merece la pena considerar estudios de este tipo en otros países de la región que están experimentando esta epidemia.

VI. REFERENCIAS

Bolignano, D., A. Lacquaniti, et al. (2009). "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease." *Clin J Am Soc Nephrol* 4(2): 337-44.

Devarajan, P. (2008). "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease." *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 241: 89-94.

Devarajan P. Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Curr Opin Pediatr*. 2011 Apr;23(2):194-200.

Hall IE, Coca SG, Perazella MA, et al. Risk of poor outcomes with novel and traditional biomarkers at clinical AKI diagnosis. *Clin J Am Soc Nephrol*;6:2740-9.

Hall IE, Yarlagadda SG, Coca SG, et al. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*;21:189-97

Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S, Lee HT. Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 2009;4:873-82.

Han WK, Waikar SS, Johnson A, et al. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int* 2008;73:863-9.

Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, et al. Urinary N-acetyl-beta-(D)-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:904-12.

Lin, T. and J. Tai-Yi (2007). "Benchmark dose approach for renal dysfunction in workers exposed to lead." *Environ Toxicol* 22(3): 229-33.

Lonnemann G, Novick D, Rubinstein M, Dinarello CA. Interleukin-18, interleukin-18 binding protein and impaired production of interferon-gamma in chronic renal failure. *Clin Nephrol* 2003;60:327-34.

Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Poniatowski B, Malyszko JS, Dobrzycki S. Urinary and serum biomarkers after cardiac catheterization in diabetic patients with stable angina and without severe chronic kidney disease. *Ren Fail* 2009;31:910-9.

National Kidney Foundation (NKF). 2002. KDOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis*. 39: S1-S266.

Parikh CR, Dahl NK, Chapman AB, et al. Evaluation of urine biomarkers of kidney injury in polycystic kidney disease. *Kidney Int*.

Parikh, C. R., E. Abraham, et al. (2005). "Urine IL-18 Is an Early Diagnostic Marker for Acute Kidney Injury and Predicts Mortality in the Intensive Care Unit." *J Am SocNephrol* 16: 3046-3052.

Pastora Coca IV, Palma Villanueva YA, Salinas Centeno MJ. (1998). Prevalence of hematuria and/or proteinuria and its relationship with some risk factors in pre-school population of the city of Leon, April-August 1998).

Price RG. The role of NAG (N-acetyl-beta-D-glucosaminidase) in the diagnosis of kidney disease including the monitoring of nephrotoxicity. *Clin Nephrol*. 1992;38 Suppl 1:S14-9.

Siew ED, Ware LB, Gebretsadik T, et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin moderately predicts acute kidney injury in critically ill adults. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:1823-32.

Skinner AM, Addison GM, Price DA. Changes in the urinary excretion of creatinine, albumin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase with increasing age and maturity in healthy schoolchildren. *Eur J Pediatr*. 1996 Jul;155(7):596-602.

Torres Lacourt C, González M, Vanegas R, Aragón A. Prevalencia de la Enfermedad Renal Crónica en el Municipio de Chichigalpa, Agosto 2008.

Waring WS, Moonie A. Earlier recognition of nephrotoxicity using novel biomarkers of acute kidney injury. *Clin Toxicol (Phila)*. 2011 Oct;49(8):720-8.

APPENDIX 1

[CUESTIONARIO PADRES]

Por favor, responda a las siguientes preguntas:

1. ¿Qué edad tiene su hijo(a) que trajo a casa la información sobre el estudio de la Universidad de Boston?

2. ¿Alguna vez este niño(a) fue hospitalizado(a) por cualquier razón? Sí No

Por cada hospitalización, por favor nombre el hijo y la razón principal de la hospitalización:

3. ¿Hace cuántos años que vive en la dirección actual?

4. ¿Hace cuántos años vive en [Chichigalpa, Jinotega, Masaya]

¿Cuál es su ocupación actual?	<hr/> <hr/> Número de años:	<hr/> <hr/> Número de años:
¿En qué ocupación ha trabajado por más tiempo?	<hr/> <hr/> Número de años:	<hr/> <hr/> Número de años:

APPENDIX 2

CUESTIONARIO PARA LOS NIÑOS Y NIÑAS

1. Sexo

2. Edad

3. ¿Alguna vez has trabajado para ayudar a tu familia? Sí No

¿Por cuántos meses trabajaste para ayudar a tu familia?

¿Qué tipo de trabajo hiciste?

¿Estás trabajando para ayudar a tu familia en la actualidad?

4. Además de para ayudar a tu familia, ¿has trabajado alguna vez en un trabajo por el que has sido pagado?

Sí No

¿Cuántos meses o años has trabajado en este trabajo?

¿En qué lugar has trabajado? (ej. campo, tienda, fábrica, oficina)

¿Qué tipo de trabajo realizabas?

¿Estás trabajando en ese trabajo en la actualidad?

5. ¿Has realizado algún deporte o ejercicio enérgico en el día de hoy?

Sí No

6. ¿Cuánto tiempo (cuantos minutos) te llevó caminar al colegio hoy?

7. ¿Tienes problemas de salud en la actualidad? Sí No

¿Qué clase de problemas?

8. ¿Qué tan frecuente tienes dolor al orinar?

Nunca 1-2 veces al año 1-2 veces al mes 1 vez a la semana o más