



UNIVERSIDAD DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS SOCIOSANITARIAS

Oligoelementos Tóxicos y Esenciales
y Biomarcadores en Sangre de Gestantes
a Término: Impacto en la Rotura Prematura
de Membranas

D. Javier Herrera Giménez

2015



UNIVERSIDAD DE MURCIA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS SOCIO SANITARIAS

Tesis Doctoral

**OLIGOELEMENTOS TÓXICOS Y ESENCIALES Y
BIOMARCADORES EN SANGRE DE GESTANTES
A TÉRMINO: IMPACTO EN LA ROTURA
PREMATURA DE MEMBRANAS**

Javier Herrera Giménez

MURCIA, 2015

**OLIGOELEMENTOS TÓXICOS Y ESENCIALES Y
BIOMARCADORES EN SANGRE DE GESTANTES
A TÉRMINO: IMPACTO EN LA ROTURA
PREMATURA DE MEMBRANAS**

Tesis Doctoral de

Javier Herrera Giménez

Dirigida por

Dra. M^a Dolores Pérez Cárceles

Dr. José Eliseo Blanco Carnero

MURCIA, 2015

Agradecimientos

Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que me han ayudado y apoyado durante estos años.

Debo agradecer de manera especial y sincera a la Profesora M^a Dolores Pérez Cárceles, Lola, por aceptarme a realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas han sido un aporte de valor incalculable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador.

Al Profesor Julio Sánchez Meca. Su principal dolor de cabeza este año, infinita es la paciencia que has tenido conmigo. A veces, en los proyectos interfieren factores que los dilatan en el tiempo, y sin tu ayuda y consejos este trabajo no sería una realidad. Muchas gracias Julio por la supervisión minuciosa de este trabajo. Ha sido un verdadero placer el haber trabajado contigo.

Al Profesor Aníbal Nieto Díaz, Jefe de Servicio Hospital Universitario Clínico Virgen de la Arrixaca. Por inculcar en mí un sentimiento de seriedad, responsabilidad y rigor académico. Tus conocimientos, orientaciones y forma de trabajar han sido un pilar fundamental en mi formación como profesional. Nunca olvidaré que fuiste la primera persona que me animó a caminar en este proyecto. Gracias por apostar por mí.

Al Doctor José Eliseo Blanco Carnero, Responsable de la Unidad de Parto Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca. Has sido capaz de ganarte mi lealtad y admiración, así como de sentirme en deuda contigo por todo lo demostrado. Gracias por regalarme tu tiempo, confianza e infinita paciencia. Tú me llevaste hasta Lola y sin eso hoy no estaría aquí.

A mis amigos, porque sois un referente en mi vida y también me siento orgulloso de vosotros.

A mi familia. Porque a ellos les debo lo que soy. Mis logros, mis méritos, mis valores y mi dedicación, pero sobre todo la persona que soy. Padre, has sido mi máximo referente como persona y profesional, quería agradeceros a ti y a mama las infinitas oportunidades, educación, cariño, comprensión y apoyo que nos habéis siempre dado. Nunca podré devolveros a los dos el amor que nos habéis dado.

A mi hijo Javier. Mi alma. Siempre estaré a tu lado. Te quiero hijo.

A mi mujer Ana. Lo más importante en mi vida. Soy afortunado por haberte encontrado y haberme soportado. Gracias por regalarnos lo mejor de nuestras vidas. Te quiero.

A todos vosotros,

Muchas gracias por todo.

Índice

	Pág.
Resumen	1
Summary	3
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	5
1. Oligoelementos	6
1.1 Funciones fisiológicas y requerimientos nutricionales	7
1.2 Influencia de los oligoelementos en la salud humana	9
1.3 Elementos traza esenciales	11
1.4 Elementos traza con efectos tóxicos	29
1.5 Oligoelementos y gestación	36
1.6 Paso de oligoelementos	40
1.7 Oligoelementos y trabajo de parto	44
1.8 Oligoelementos y crecimiento intrauterino restringido (CIR)	46
1.9 Oligoelementos y preeclampsia	50
1.10 Oligoelementos y neurodesarrollo	52
2. Rotura prematura de membranas	58
2.1 Incidencia	60
2.2 Membranas fetales	60
2.3 Estructura del corioamnios	61
2.4 Fisiopatogenia	63
2.4.1 Fisiopatogenia física	63
2.4.2 Fisiopatogenia química	65
2.4.3 Metaloproteasas de matriz extracelular	66
2.5 Etiología	68
3. Oligoelementos y RPM	77
CAPÍTULO 2: JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	83
1. Justificación	84
2. Objetivos	87
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODO	89
1. Descripción de la muestra	90
2. Materiales	91
2.1 Cuestionario de variables sociodemográficas y clínicas	91
2.2 Parámetros analíticos generales en sangre	92
2.3 Determinación de oligoelementos	96
3. Análisis estadístico	100

CAPÍTULO 4: RESULTADOS	103
1. Características sociodemográficas y clínicas de la muestra	104
2. Objetivo 1: Perfil inflamatorio y concentraciones de oligoelementos	106
2.1 Bioquímica general y hematimetría	106
2.2 Análisis de los oligoelementos	115
3. Objetivo 2: Oligoelementos y variables sociodemográficas	136
3.1 Oligoelementos y variables de la gestante	136
3.2 Oligoelementos y variables del neonato	145
4. Objetivo 3: Perfil inflamatorio y oligoelementos en gestantes con y sin RPM ..	147
4.1 Equiparación de los grupos	147
4.2 Análisis de la bioquímica automatizada y hematimetría	150
4.3 Análisis de los oligoelementos	160
4.4 Oligoelementos y tiempo RPM-expulsión fetal	165
5. Objetivo 4: Modelo predictivo de los factores de riesgo de la RPM	166
CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN	171
1. Objetivo 1: Perfil inflamatorio y concentraciones de oligoelementos	172
2. Objetivo 2: Oligoelementos y variables sociodemográficas	185
3. Objetivo 3: Perfil inflamatorio y oligoelementos en gestantes con y sin RPM	190
4. Objetivo 4: Modelo predictivo de los factores de riesgo de la RPM	195
5. Limitaciones de la investigación	196
6. Orientaciones para la investigación futura	197
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES	199
BIBLIOGRAFÍA	203
<hr/> ANEXO: CUESTIONARIOS DE VARIABLES CLÍNICAS Y SOCIODEMOGRÁFICAS DE LA GESTANTE Y DEL NEONATO	257
<hr/>	

Resumen

El embarazo es un período de aumento de las demandas metabólicas, principalmente debido a los cambios en la fisiología de la mujer y requisitos del crecimiento fetal. Durante este período, la deficiencia de oligoelementos tiene efectos perjudiciales sobre la salud, tanto de las mujeres como en el desarrollo del feto.

Hay una creciente preocupación por las amenazas que plantea la exposición de metales pesados intraútero sobre los resultados del embarazo y/o efectos adversos del desarrollo fetal en los niveles inferiores a las directrices internacionales. El feto es más sensible a la toxicidad de los metales pesados por carecer éste de los mecanismos de reparación necesarios.

El propósito de esta investigación fue examinar las concentraciones de oligoelementos, así como los parámetros analíticos en sangre de gestantes a término y explorar posibles marcadores que pudieran actuar como factores de riesgo que permitieran pronosticar la rotura prematura de membranas (RPM) durante la gestación. Para la realización de esta investigación se aplicó un diseño retrospectivo de casos y controles. Los casos estuvieron formados por gestantes que sufrieron RPM ($n = 51$), mientras que los controles lo conformaron gestantes que no sufrieron RPM ($n = 50$). Las gestantes a término se seleccionaron de forma aleatoria en la unidad de Partorio del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, obteniendo datos clínicos y sociodemográficos de la gestante y del neonato, determinaciones analíticas sanguíneas y análisis de 23 elementos traza en sangre mediante Espectrometría de Masas (ICP-MS).

Los objetivos del estudio fueron: (1) Examinar el perfil inflamatorio y las concentraciones de oligoelementos en sangre de gestantes a término; (2) investigar las posibles relaciones entre variables sociodemográficas y clínicas de la gestante y del neonato con las concentraciones de los oligoelementos; (3) examinar variables (inflamatorias y oligoelementos) que pudieran utilizarse como marcadores para pronosticar el riesgo de RPM en gestantes, y (4) proponer un modelo predictivo capaz de identificar los predictores, de la RPM en gestantes a término, tomando en consideración el perfil inflamatorio y los oligoelementos analizados.

Las conclusiones del estudio fueron las siguientes:

(1) Las gestantes a término presentaron concentraciones de bario, cromo, estaño, estroncio y titanio que se sitúan por encima de los valores de referencia. Por el contrario se observaron concentraciones por debajo de los valores de referencia en bromo, hierro, manganeso, plomo y selenio. (2) En la comparación con gestantes multíparas, las gestantes nulíparas presentaron concentraciones superiores de boro y calcio, y concentraciones inferiores de estroncio y manganeso. La edad de la gestante presentó una correlación positiva con las concentraciones de estroncio y una correlación negativa con las de cromo. Se observó una correlación positiva entre las concentraciones de estroncio en sangre materna y el peso del neonato. En la prueba de Apgar neonatal a los 5 minutos se observó una correlación negativa para las concentraciones de sodio. (3) En la hematimetría, el grupo de pacientes con RPM presentaron mayores niveles de actividad de Protrombina y menores niveles en la concentración de plaquetas, el tiempo de Protrombina, la ratio tiempo de Protrombina y el índice INR. En cuanto a los oligoelementos, el grupo RPM presenta una concentración inferior de bario en sangre. Se observó una correlación positiva en el grupo de RPM, entre aluminio y tiempo de expulsivo. (4) Las variables que mejor discriminan entre gestantes que han sufrido y que no han sufrido RPM son las concentraciones en sangre materna de bario, plaquetas y la ratio tiempo de Protrombina.

Sería necesario un adecuado control de las deficiencias de determinados elementos traza esenciales y la exposición a metales tóxicos en pacientes gestantes, ya que estas variaciones en sangre materna podrían ser factores asociados a patologías gestacionales como la RPM y parto pretérmino, que constituyen la principal causa de morbi-mortalidad neonatal.

Summary

Pregnancy is a period of increased metabolic demands, mainly due to changes in the physiology of women and fetal growth requirements. During this period, deficiency of trace elements has detrimental effects on the health of both women and fetal development.

There is a growing concern about the threats posed by in utero exposure to heavy metals, at lower levels than those stated in international guidelines, on pregnancy outcome and/or adverse effects of fetal development. The fetus is more sensitive to the toxicity of heavy metals due to the lack of the necessary repair mechanisms.

The purpose of this research was to examine the concentrations of trace elements and laboratory parameters in the blood of pregnant women at term and to explore the possible markers that could act as risk factors which would allow predict premature rupture of membranes (PROM) during pregnancy. To carry out this research a retrospective case-control design was applied. The cases were formed by pregnant women who suffered PROM ($n = 51$), while controls were formed by the pregnant women who did not suffer PROM ($n = 50$). The pregnant women at term were randomly chosen in the Delivery Room Unit of the University Hospital Virgen de la Arrixaca, obtaining mother and newborn's clinical and sociodemographic data, blood laboratory tests and analysis of 23 trace elements in blood using Mass Spectrometry (ICP-MS).

The study objectives were: (1) To examine the inflammatory profile and concentrations of trace elements in the blood of pregnant women at term; (2) to investigate the possible relationships between sociodemographic and clinical variables of the mother and newborn with the concentrations of trace elements; (3) to examine (inflammatory and trace elements) variables that could be used as markers to predict the risk of PROM, and (4) to propose a predictive model capable of identifying predictors of PROM in pregnant women at term, considering the inflammatory profile and trace elements analyzed.

The of the study were: (1) Pregnant women at term had concentrations of barium, chromium, tin, strontium and titanium that were above the baseline. On the contrary, concentrations of bromine, iron, manganese, lead, and selenium were below the reference values. (2) In comparison with multiparous women, nulliparous ones had higher concentrations of boron and calcium and lower concentrations of strontium and manganese. The age of the mother was positively correlated with the concentrations of strontium and a negative correlation was found with chromium. A positive correlation between the concentrations of strontium in maternal blood and neonatal weight was observed. A negative correlation for sodium concentrations was observed with the neonatal Apgar test at 5 minutes. (3) The group of patients with PROM obtained higher levels of Prothrombin activity and lower levels in the platelet count, Prothrombin time, the ratio of Prothrombin time, and INR rate. As for the PROM group, trace elements have a lower concentration of barium in blood. A positive correlation was observed in the group of PROM, between aluminum and time to expulsion. (4) The variables which best discriminated pregnant women who have or not suffered PROM were maternal blood concentrations of barium, platelets, and Prothrombin time ratio.

An adequate control of deficiencies of certain essential trace elements and exposure to toxic metals in pregnant patients would be required, because these variations in maternal blood could be factors associated with gestational diseases such as PROM and preterm delivery, which are the leading cause of neonatal morbidity and mortality.

Capítulo 1:

Introducción

1. Oligoelementos

Los oligoelementos (del griego: reducido, pequeño) constituyen un grupo de micronutrientes presentes en el organismo en cantidades inferiores al 0,01 por 100 del peso corporal total. Asimismo, se les denomina elementos traza, aunque esta terminología se utiliza generalmente cuando se les relaciona con su análisis, ya que se trata de la detección de concentraciones en partes por millón (ppm) y ultratrazas cuando su cuantificación se encuentra en partes por billón (ppb) (Negretti de Bratter et al, 1995).

Los oligoelementos que hasta ahora se han relacionado con la salud humana constituyen el grupo de elementos traza esenciales: Cobalto (Co), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Yodo (I), Hierro (Fe), Manganeseo (Mn), Molibdeno (Mo), Selenio (Se) y Zinc (Zn). Además, existen otros que se incluyen como candidatos a ser esenciales y aquellos sobre los cuales no se conoce, hasta ahora, ninguna función fisiológica en el ser humano. La Figura 1 presenta una clasificación de los oligoelementos según su consideración como elementos esenciales o cuya esencialidad no está clara actualmente.

Los oligoelementos tienen un nivel normal de concentración en cada compartimento del organismo. Ese nivel se define como la cantidad adecuada del elemento que garantiza el desempeño de las funciones biológicas del organismo. Si la concentración es más alta de lo normal, el elemento pasa a tener características tóxicas; en el caso opuesto, se pueden manifestar síntomas carenciales en el organismo. Hay elementos como el Cadmio (Cd) y el Mercurio (Hg) que sólo se conocen por sus efectos tóxicos. Sin embargo, no existen elementos tóxicos, sino dosis tóxicas o efectos tóxicos de un elemento.

Ciertos oligoelementos esenciales, como el Selenio, presentan un amplio rango de concentración normal. En este caso es preferible hablar de valores de referencia, siendo muy críticos con los valores utilizados en la bibliografía y definiendo muy bien la población de estudio utilizada.

Tabla periódica y elementos esenciales

H																		He
Li	Be											B	C	N	O	F		Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl		Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br		Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I		Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At		Rn
Fr	Ra	Ac																

Elemento mayoritario
Elemento traza
Esencialidad discutida

Figura 1. Clasificación de los oligoelementos según su consideración como elementos traza esenciales (fuente: Trace element. CROA. Oct 2007).

1.1 Funciones fisiológicas y requerimientos nutricionales

La esencialidad de los oligoelementos en la nutrición viene determinada por el hecho de que su ingestión por debajo de las recomendaciones se traduce en una clara sintomatología de déficit.

Estos micronutrientes desempeñan una función particularmente importante en el crecimiento y desarrollo del organismo, estableciéndose su papel biológico a distintos niveles (Nielsen, 1991):

- En algunos casos están íntimamente relacionados con sistemas enzimáticos, formando parte de ellos o ejerciendo su influencia como *cofactores* de diversas reacciones en las que intervienen enzimas.

- Algunos elementos aceptan o donan electrones en reacciones de oxidación-reducción, que son de gran importancia en la generación y utilización de energía

metabólica.

- Otros elementos tienen un importante papel estructural, sirviendo como constituyentes de moléculas biológicas vitales, ofreciendo estabilidad a las estructuras tridimensionales de estas moléculas importantes denominadas *metaloenzimas*.

Los oligoelementos realizan además una función reguladora en la forma de metalo-proteínas sin carácter enzimático. Tenemos como ejemplo los complejos formados con las proteínas de transporte de los oligoelementos en el suero sanguíneo como la albúmina (Zn), ceruloplasmina (Cu), transferrina (Fe), alfa-2-macroglobulina (Cu, Zn) y la proteína controladora de procesos específicos metalotionina (Cd, Co, Zn). Igualmente en la leche materna la albúmina transporta Cu y Zn, la lactoferrina Fe, la caseína Cu, Fe y Zn.

Las cantidades diariamente requeridas de oligoelementos son mínimas, por lo que habitualmente una dieta equilibrada es capaz de cubrir las necesidades. No obstante, es importante tener en cuenta que, durante algunos periodos de edad como, por ejemplo, la etapa de lactancia exclusiva, la leche humana o de fórmula es la única fuente nutricional de oligoelementos, ya que los suplementos habitualmente utilizados poseen, generalmente, concentraciones mínimas de estos elementos. La Figura 2 presenta las ingestas recomendadas para algunos de estos nutrientes.

Los requerimientos de oligoelementos son específicos para cada individuo. Considerando la amplia variación interindividual, las recomendaciones dietéticas deben establecerse de una forma bastante amplia para cubrir las necesidades de la mayoría de la población (Mertz, 1991).

Las ingestas de oligoelementos por debajo de los valores recomendados no son necesariamente deficientes, pero aumentan el número de individuos de la población con riesgo de deficiencia. Un incremento por encima de los requerimientos no conlleva ningún efecto beneficioso conocido. Dicho exceso es apropiadamente metabolizado, se disminuye su absorción, se saturan las proteínas transportadoras, se incrementa la excreción y se induce a proteínas específicas para almacenar el exceso (Underwood et al, 1977). En estos casos se han utilizado valores bastante amplios, basados en la

evaluación de las ventajas y desventajas de una ingesta deficitaria o excesiva de los mismos.

Ingestas recomendadas diarias aproximadas de algunos nutrientes
(modificado de Truswell, 2002)

Ingestas recomendadas diarias de adultos (redondeadas)	Nutrientes
1 – 10 µg	Vitamina B12, D, K, cromo
≈ 100 µg	Biotina, yodo, selenio
200 – 400 µg	Folato, molibdeno
1 – 2 mg	Vitamina A, B1, B2, B6, flúor, cobre
5 – 10 mg	Pantotenato, manganeso
≈ 15 mg	Eq. de niacina, vitamina E, cinc, hierro
≈ 50 - 100 mg	Vitamina C
300 mg	Magnesio
≈ 1 g	Calcio, fósforo
1 – 5 g	Sodio, cloro, potasio, ácidos grasos esenciales
≈ 25 g	Fibra dietética
≈ 50 g	Proteína (8-10 aminoácidos esenciales)
50 – 100 g	Hidratos de carbono disponibles
1 kg (litro)	Agua

Ángeles Carbajal Azcona. Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid

Figura 2. Ingestas recomendadas para algunos nutrientes (fuente: Ángeles Carbajal Azcona, Departamento de Nutrición, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid).

Durante las tres últimas décadas, la investigación básica en el campo de la nutrición humana con modelos de animales ha permitido el conocimiento de las funciones esenciales de un elevado número de elementos traza.

1.2 Influencia de los oligoelementos en la salud humana

Parece oportuno relacionar, en la medida de lo posible, la repercusión de los oligoelementos en el organismo humano, el estado de participación activa de dichos oligoelementos en los procesos metabólicos, las patologías de déficit y los signos tóxicos que ocasionalmente puedan afectar a la salud humana.

Estos elementos, o alguna forma de ellos, están naturalmente presentes en los productos alimenticios específicos, desde mariscos a las frutas y verduras. Por su esencial papel nutricional hay un uso creciente en suplementos nutricionales.

Para todos los metales, ha habido varios estudios correctamente diseñados, con un número poblacional adecuado para posibles factores de confusión, y muchos de estos nos informan de efectos nocivos en los seres humanos y los animales, expuestos por la dieta, las condiciones laborales y de vida. Los autores han informado como causas potenciales de efectos nocivos la exposición a largo plazo de antimonio (Sb), arsénico (As), berilio (Be), cadmio (Cd), cesio (Ce), cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), galio (Ga), oro (Au), hierro (Fe), plomo (Pb), manganeso (Mn), mercurio (Hg), níquel (Ni), platino (Pt), plata (Ag), telurio (Te), talio (Tl), estroncio (Sr), uranio (U), vanadio (V) y cinc (Zn) (Glanze W, 1996).

En efecto, las exposiciones múltiples (es decir, varios productos químicos a través de varias vías) y múltiples dianas biológicas (por ejemplo, para los productos químicos que alteran homeostasis endocrina) son los principales problemas en la evaluación de riesgos toxicológicos en el medio ambiente (Berglund et al, 2001; Caserta et al, 2008).

La toxicidad de metales pesados puede afectar al estrés oxidativo celular (por ejemplo, As, Cd), daño en el ADN (por ejemplo As, Cr, Cb), deterioro mental y funcionamiento del sistema nervioso central (por ejemplo, Pb, Hg), alteraciones del metabolismo hidrocarbonado (por ejemplo, As, Cr) o calcio (por ejemplo, cadmio, plomo) e interferencias en el metabolismo de los elementos traza esenciales (e.g., Cd, Hg, Se; Cremer , 1959; Robbins, 2004). También pueden dañar una amplia gama de órganos tales como la sangre, los riñones, el hígado o los tejidos reproductivos (Lewis et al, 1991; Tseng, 2007; Wirth et al, 2010).

El plomo, cadmio, mercurio y arsénico, que se refieren a menudo como 'Metales pesados', son tóxicos para el organismo. Sabemos que la exposición a largo plazo puede conducir muy lentamente tanto física, muscular y neurológicamente, a procesos degenerativos que imitan la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, distrofia muscular y esclerosis múltiple (Geier et al, 2007). Por otra parte, los metales

pesados, por ejemplo Cadmio, pueden interferir con el sistema endocrino (Hossn et al, 2001; Ribas-Fito et al, 2006).

Mientras que los datos de la exposición ambiental a niveles elevados de elementos traza son bien conocidos en los animales y los seres humanos, los efectos de la exposición a niveles bajos en la salud humana y el sistema reproductivo son limitados. La evidencia de los efectos de la exposición a niveles bajos se conoce mejor para algunos elementos como el cadmio, el plomo y el mercurio y con menor seguridad, por ejemplo, para el arsénico (Prasher, 2009). Los efectos adversos no sólo son importantes en relación con las concentraciones de los metales pesados, sino también con el grado de vulnerabilidad asociado a la etapa de vida. El plomo y el metilmercurio son bien conocidos por poner en peligro la maduración prenatal del cerebro (Williams et al, 2007), debido al hecho de que el feto es más sensible a largo plazo a efectos de los metales pesados. Los adultos tienen los mecanismos de reparación para hacer frente a ciertos niveles de exposición, mientras que tales mecanismos están subdesarrollados o incluso faltan en el feto (Wigle et al, 2007).

1.3 Elementos traza esenciales

Hierro

Aunque la deficiencia de hierro es previsible y remediable fácilmente, todavía en el mundo se dan grandes deficiencias nutricionales que conducen a ella. Esta deficiencia se origina como resultado del balance negativo entre la ingesta recibida, el total de las necesidades para el crecimiento y las pérdidas adicionales (Reeves et al, 1984).

Fuentes de exposición. En los alimentos de origen animal (carne, pescado y aves) el hierro se presenta como hierro “hemo”, que se absorbe mejor y es un 10% del total ingerido. El hierro “no hemo”, de origen vegetal (leguminosas, frutos secos y algunas verduras) se absorbe peor que el “hemo”. Se recomienda que, al menos, un 25% de hierro de la dieta sea “hemo” (Sistema Nacional de Salud, 2010).

Bioquímica y funciones metabólicas. El hierro forma parte de la hemoglobina, mioglobina, los sistemas citocromáticos, peroxidasas, catalasas y diversas enzimas y, por tanto, es un nutriente esencial para los seres humanos. El hierro se encuentra

distribuido en el organismo aproximadamente: del 60-75% en los eritrocitos como hemoglobina; un 5% como mioglobina; menos del 0,5% en enzimas en forma hemo; sobre el 10% en enzimas en forma no hemo; menos del 0,1% circulante unida a la transferrina, y el resto, hasta el 30%, permanece almacenado como ferritina y hemosiderina en el hígado, bazo y médula ósea (Lynch, 1984).

Los depósitos de hierro se distribuyen de la siguiente forma: una tercera parte permanece en el parénquima hepático, otra en el músculo esquelético y el último tercio en el sistema retículo endotelial.

El mantenimiento de estatus férrico es fundamental para conservar importantes funciones específicas, entre las que destacan el almacenamiento y el transporte de oxígeno, el crecimiento tisular, la síntesis de ADN y las capacidades de trabajo, memoria y concentración.

Algunas enzimas que contienen hierro hemo, como las catalasas y peroxidasas, intervienen en reacciones redox. Otras hemoenzimas, como los citocromos, también utilizan el hierro como sistema redox, empleando el par Fe(II)/Fe(III) para proporcionar el gradiente electroquímico adecuado y transferir los electrones para generar energía metabólica en forma de ATP (Lynch, 1984).

El contenido corporal de hierro está regulado homeostáticamente a través de los cambios en la cantidad absorbida por la mucosa intestinal. Sin embargo, esta respuesta puede no ser suficiente para evitar la anemia, que se padece con una baja ingesta dietética, y, tampoco, para prevenir la acumulación excesiva de hierro (National Research Council, NRC, 1989).

Deficiencia de hierro. La deficiencia de hierro surge cuando la cantidad ingerida no satisface las necesidades del organismo, bien por una ingesta dietética insuficiente, una absorción deficiente o un exceso en las pérdidas fisiológicas. Una carencia grave de hierro no se suele asociar con la dieta sino, casi siempre, con mayores requerimientos de hierro en embarazo, pérdida de sangre o durante el crecimiento.

En circunstancias normales sólo se pierde alrededor de 1 mg de hierro al día, por lo que las necesidades nutricionales de las mujeres postmenopáusicas y de los varones sanos son muy pequeñas. Pero las mujeres en edad fértil deben cubrir el hierro perdido durante la menstruación y las necesidades adicionales del embarazo y la lactancia (Sistema Nacional de Salud, SNS, 2010). Se recomienda que éstas consuman diariamente 18 mg/día de hierro y los hombres y mujeres postmenopáusicas 8 mg/día (Moreiras et al, 2011). Los requerimientos medios estimados según el Institute of Medicine (IOM, 2011) son de 6 mg/día para hombres, 8,1 mg/día para mujeres en edad fértil y 5 mg/día para mujeres postmenopáusicas.

Es bien conocido el notable aumento en el volumen de sangre materna durante el embarazo, produciéndose un mayor aumento en el nivel del plasma que en los glóbulos rojos. Como resultado de esta circunstancia, se puede desarrollar una anemia fisiológica del embarazo. Durante éste, los límites de la anemia se sitúan en torno a 110 g/l de hemoglobina, mientras que entre las mujeres no embarazadas son de 120 g/l (WHO, 1972). Por otra parte, la deficiencia de hierro subclínica latente puede existir mientras que la hemoglobina y el hierro en suero se mantienen normales (Kaneshige, 1981). Esta situación puede ser detectada mediante la determinación de ferritina en suero (Puolakka et al, 1980).

Las mujeres en edad reproductiva la ingesta de hierro no supera el 80% de las ingestas dietéticas recomendadas (IDRs), lo que indica deficiencia (Carbajal, 2003). Estos datos son coincidentes con los obtenidos en las gestantes valencianas del estudio ENIDE, ya que presenta una ingesta inadecuada de hierro un 68%, permaneciendo alta (51%) tras la suplementación. El US Centre for Disease Control and Prevention (CDC) recomienda la suplementación universal con hierro para cumplir con los requerimientos en el embarazo, excepto en caso de ciertas enfermedades genéticas tales como la hemocromatosis (nivel de evidencia III). En general, en las mujeres sin antecedentes de riesgo de ferropenia, en las que se presuma o se constaten unas reservas adecuadas, se recomiendan los suplementos de dosis bajas de hierro oral durante la segunda mitad del embarazo (Protocolos SEGO). En mujeres con déficit previo la administración de hierro debería iniciarse cuanto antes, si bien en muchas ocasiones la intolerancia a los suplementos de hierro oral está acentuada durante el primer trimestre de la gestación.

La dosis recomendada de hierro elemental al día durante el embarazo (27 mg/día según el IOM, 2011; Moreiras et al, 2011; SNS, 2010), se encuentra en 150 mg de sulfato ferroso, o 300 mg de gluconato ferroso (González de Agüero et al, 2001). Es preferible tomar los suplementos en ayunas o entre comidas para favorecer su absorción y no deberían tomarse con té, leche o café. El carbonato de calcio y el óxido de magnesio inhiben la absorción del hierro y la vitamina C lo favorece. La adición de los folatos a la profilaxis con hierro no parece que mejore los resultados hematológicos. Los efectos indeseables de la suplementación con hierro oral corresponden a aquellos derivados de la intolerancia gástrica. Estos efectos han sido reducidos en un gran número de compuestos diferentes del sulfato ferroso (ascorbato, lactato, succinilcaseína), si bien a expensas en muchas ocasiones de una menor absorción o biodisponibilidad.

Entre las causas que pueden originar pérdidas de hierro se contemplan el consumo de leche de vaca fresca y de algunos fármacos (aspirina), y alteraciones, como la hernia de hiato, la hipertensión portal, hemofilia, la colitis ulcerosa y la hematuria crónica (Belton, 1991).

Manifestaciones clínicas. La palidez es el signo más común observado en esta deficiencia, aunque puede estar acompañada de esplenomegalia. La deficiencia de hierro afecta a la inmunidad celular, inhibe la acción bactericida de los fagocitos y deprime la respuesta de los linfocitos.

Existen claras evidencias de que con el tratamiento correspondiente se incrementa la ganancia de peso, mejora el desarrollo psicomotor y se recupera la respuesta inmune deprimida (Aukett et al, 1986).

Toxicidad. La dosis máxima de hierro recomendada es de 45 mg/día (IOM, 2011). No se han descrito efectos tóxicos en personas con defectos genéticos que aumentan la absorción de hierro. Sin embargo, muchos son los casos de intoxicaciones agudas de hierro por consumo involuntario en niños de medicamentos destinados a adultos.

Existe un error innato en el metabolismo del hierro por el cual algunas personas sufren una predisposición genética a sobrecarga de hierro o hemocromatosis. Esta enfermedad, que se debe a un defecto congénito, aumenta la absorción de hierro; sin embargo, no se desarrolla patología hasta edad adulta, en la que aparece hepatomegalia, pigmentación de la piel, diabetes e hipogonadismo (Beaumont et al, 1979).

Cinc

El amplio papel desempeñado por el cinc en el metabolismo de los seres humanos hace ver la notable importancia de una situación de déficit. Paradójicamente, si bien se han estudiado extensamente la amplia variedad de circunstancias que provocan la deficiencia en los humanos, no están tan claramente definidos los índices bioquímicos para su diagnóstico, como sucede para otros oligoelementos.

Fuentes de exposición. El cinc está considerado como un nutriente esencial. La principal fuente alimentaria la constituyen las proteínas de origen animal y los cereales.

Bioquímica y funciones metabólicas. El cinc está involucrado en diversas funciones bioquímicas y se sabe que es fundamental para el metabolismo materno y fetal (Kynast et al, 1980).

En 1940 se reconoció, por primera vez, su importante papel en los procesos bioquímicos, descubriéndose sus propiedades como metaloenzima en la anhidrasa carbónica. En la actualidad se conocen más de 200 metaloenzimas, entre las que se pueden incluir fosfatasas, carboxipeptidasas, aldolasas, aminopeptidasas, fosfatasa alcalina, timidinquinasa y numerosas deshidrogenasas (retinol, alcohol, malato, lactato, glutamato y gliceral- dehidó 3P deshidrogenasa), que intervienen en múltiples procesos metabólicos (Ernst et al, 1992).

Existen diversas enzimas, dependientes de cinc, necesarias para la síntesis de los ácidos nucleicos, la formación y configuración de los polinucleótidos intracelulares (polirribosomas y monosomas), la síntesis proteica y el normal desarrollo de otros procesos metabólicos intercelulares (Ernst et al, 1992). La ADN polimerasa, aspartato transcarbamilasa y la timidinquinasa intervienen de forma esencial en la incorporación

de timidina en la síntesis de nucleótidos, explicando el retraso en el crecimiento en animales con deficiencia de cinc (Hambidge, 1977; Prasad, 1985).

También desempeña un papel importante como estabilizador de las membranas celulares y citoplasmáticas. Su deficiencia puede causar daños oxidativos a las membranas y alterar la función de receptores específicos y lugares de absorción de nutrientes, la actividad de las enzimas unidas a membrana, la permeabilidad de sus canales y la función de las proteínas transportadoras en la membrana. El cinc protege contra los efectos del aumento de las especies reactivas libres de oxígeno (ROS) (Makhoul et al, 2004).

Entre el 95% y el 98% de los niveles séricos de cinc están unidos a proteínas, principalmente a la albúmina y alfa-2-macroglobulina. La afinidad del cinc a la molécula de proteína determina su biodisponibilidad (Brandes et al, 1980).

Es conocida la acción del cinc sobre la producción, almacenamiento y secreción de diferentes hormonas (insulina, glucagón, glucocorticoides, hormona luteinizante, hormona foliculoestimulante, etc.) (Hambidge, 1977; Prasad, 1985).

La importancia del cinc sobre la inmunidad es ampliamente conocida. Estimula directamente la síntesis de ADN y ARN, favoreciendo la proliferación monoclonal de linfocitos y se relaciona con la movilización y actividad fagocítica de los macrófagos en la inmunidad inespecífica (Prasad, 1985).

También hay datos que demuestran el descenso de los niveles de anticuerpos en suero sanguíneo en aquellas patologías que cursan con deficiencia de cinc (Fraker et al, 1977).

Deficiencia de cinc. El déficit de este oligoelemento puede originarse por múltiples causas (Hernandez et al, 1992). La ingesta de este nutriente esencial está por debajo del 80% de las IDRs, lo cual es indicativo de deficiencia (Carbajal, 2003). Se considera que el 82% de las gestantes en todo el mundo no lo ingiere en cantidades suficientes para satisfacer las necesidades básicas (Haider, 2012). Según el IOM (2011) las dosis recomendadas de cinc en pacientes no gestantes sería de 8 mg/día y 15 mg/día

para las gestantes. Según Moreiras et al (2011), las dosis recomendadas diarias serían de 15 mg/día para aquellas mujeres no gestantes y en gestantes de 20 mg/día.

Existe un síndrome de deficiencia leve, que aparece cuando se ingiere este elemento en bajas cantidades, por debajo de los requerimientos dietéticos que provocan retraso en el crecimiento (Hambidge, 1985, 1988, 1991). El prototipo de la deficiencia severa lo proporciona la acrodermatitis enteropática, un desorden hereditario de carácter recesivo. Esta deficiencia resulta de un bloqueo de la absorción intestinal debido a la ausencia de una proteína, que favorece el transporte de cinc y es secretada por el páncreas.

La deficiencia del citado oligoelemento puede ser originada por una disminución de su ingesta, un trastorno de la absorción intestinal o un incremento de las pérdidas corporales. La carencia de cinc por causas dietéticas es poco frecuente. La administración de dietas especiales utilizadas principalmente en metabolopatías (dieta vegetal, hipo-proteica, sintética, etc.) puede repercutir en el origen de deficiencia de cinc (Hambidge, 1977). El riesgo de deficiencia de cinc puede incrementarse con determinadas patologías. En las enfermedades gastrointestinales que cursan con malabsorción intestinal y esteatorrea, su absorción está disminuida por formación de complejos insolubles con los ácidos grasos y los fosfatos. Las pérdidas renales ocurren en todas las patologías que cursan con proteinuria y/o insuficiencia renal como consecuencia de la eliminación de complejos de proteína-cinc y de una reabsorción disminuida (Hambidge, 1977; Perrone et al, 1990). También se ha asociado su déficit al uso de diuréticos y agentes quelantes, hemodiálisis y estados de hipercincuria, asociados a otras patologías (diabetes mellitus, quemaduras, politraumatismos, hepatopatías crónicas, etc.; Hambidge, 1977).

Manifestaciones clínicas. Los signos y síntomas de la deficiencia nutricional de cinc son muy diversos y expresan las alteraciones de sus funciones metabólicas. Su déficit va asociado a retraso en el crecimiento, alteraciones cutáneas, anomalías inmunológicas, pérdida del apetito, trastornos intestinales, bajo peso, malformaciones congénitas y elevada incidencia de muerte fetal (Da Cunha et al, 1991, 1991; Hurley, 1985; Villa et al, 1985).

El retraso en la velocidad de crecimiento es la principal manifestación de la deficiencia (Hambidge, 1985). Es uno de los signos más precoces y, en ocasiones, el único que permite sospechar esta alteración (AAP, 1978; Durá et al, 1984, 1985). Sin embargo, las lesiones cutáneas constituyen las manifestaciones más llamativas, surgiendo inicialmente en la cara y área perineal, para posteriormente extenderse por las nalgas, rodillas, codos, manos y pies; tras esta dermatitis surgen zonas de caída del cabello y alopecia. La aparición de infecciones recurrentes, sobre todo cutáneas, es una importante característica de esta deficiencia, así como las alteraciones sensoriales del gusto, olfato y vista y las manifestaciones neuro-psiquiátricas en las que se incluyen apatía, letargía, temblor, depresión y alteraciones de la atención.

Toxicidad. Hasta hace poco tiempo, el cinc ha sido presentado como un micronutriente no tóxico, con un amplio rango entre las ingestas normales y las potencialmente tóxicas (AAP, 1978). Sin embargo, se conoce hoy en día que ingestas tan sólo cinco veces mayores que las recomendadas pueden conducir a una deficiencia severa de cobre (Hurley, 1985). Estos niveles son alcanzables con la ingesta de algunos preparados de vitaminas y minerales que contienen cinc. No se recomienda superar 15 mg/día sin la supervisión médica adecuada (Department of Health, 2007; IOM, 2011).

La ingestión oral de grandes cantidades de cinc provoca vómitos, dolor abdominal, deshidratación, letargía, incoordinación muscular y aumento de las concentraciones séricas de amilasa y lipasa (Packman, 1991). Por vía parenteral, la intoxicación puede causar fallo renal y muerte.

Cobre

El cobre fue uno de los primeros oligoelementos relacionados con los sistemas biológicos, por su participación en reacciones redox de la cadena respiratoria. Se ha establecido un síndrome de anemia, neutropenia y desmineralización ósea en lactantes alimentados con dietas pobres en este oligoelemento.

Bioquímica y funciones metabólicas. El cobre tiene un importante papel en el metabolismo aeróbico. Es un componente importante de numerosas metaloenzimas que intervienen en reacciones de oxido-reducción funcionando como oxidorreductasas y antioxidantes del sistema de defensa (Cordano, 1978; Jaiser et al, 2010).

El cobre desempeña un papel importante en la parte terminal de la cadena transportadora de electrones. Forma parte de la citocromo-oxidasa, que cataliza la oxidación del citocromo C reducido por el oxígeno molecular, que a su vez se reduce a agua (Hambidge et al, 1986; Vallee et al, 1993). Sin el funcionamiento correcto de esta enzima no se podría generar la mayoría de la energía necesaria para el metabolismo y puede ser el responsable de determinados síntomas, en situaciones de déficit de cobre, como la hipertermia que ocurre en la enfermedad de Menkes (Hambidge, 1991).

Más del 90% del cobre que circula en el plasma está fuertemente unido a la ceruloplasmina (ferroxidasa I) y promueve la absorción de hierro en el tracto gastrointestinal (Ziaiel et al, 2008). Tiene actividad ferroxidasa y es necesaria para la oxidación del hierro (II), almacenado en el hígado y la médula ósea, a hierro (III). Este paso es esencial en la liberación y transferencia a la transferrina para posteriormente pasar a los eritrocitos desarrollados en la médula ósea. La disminución en la actividad de esta enzima explica las anomalías en el metabolismo del hierro, en concreto la anemia hipocrómica (Hambidge, 1991; Underwood, 1977).

Varias aminooxidasas que contienen cobre, entre ellas la lysiloxidasa, son necesarias para la síntesis de colágeno y elastina. El cobre juega un papel importante en la maduración de colágeno y elastina y, por lo tanto, contribuye al mantenimiento y la integridad de muchas estructuras vitales (Artal et al, 1979; Hambidge et al, 1974). Los defectos en las venas y arterias de los animales con síndrome de Menkes pueden ser atribuibles al funcionamiento incorrecto de estas enzimas.

La tirosinasa, otra cuproenzima con actividad oxidasa, cataliza los dos primeros pasos de oxidación de la tirosina a melanina, originando la carencia de pigmentación en estados carenciales de cobre.

Las superoxidodismutasas mitocondriales o citosólicas (cerebrocupreína, hepatocupreína, eritrocupreína) son enzimas que contienen cobre y catalizan la dismutación de radicales libres de superóxido (O_2^{\sim}) con la formación de oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno. Su papel en la detoxificación celular es fundamental para evitar daños irreparables en el sistema celular (Hambidge, 1991).

Deficiencia de cobre. La ingesta dietética correcta de cobre según el IOM (2011) sería de 900 µg/día, sin embargo, en mujeres gestantes sería de 1000 µg/día tal y como recomienda también Moreiras (Moreiras et al, 2011).

Se han señalado numerosos factores como causantes de los estados deficitarios de cobre. La causa fundamental es resultado de una ingesta dietética insuficiente o inadecuada en circunstancias extremas.

Los lactantes alimentados con un régimen rico en calorías, pero deficitario en cobre, pueden sufrir un desequilibrio en el crecimiento presentándose estados de anemia hipocroma, neutropenia y desmineralización ósea que no responde a la terapéutica con hierro (Castillo-Durán et al, 1988). Se han asociado otros estados deficitarios a síndromes de malabsorción intestinal o a anormalidades del metabolismo del cobre, como el síndrome de Menkes, en el que existe una alteración en el transporte de este oligoelemento a través de la mucosa intestinal (Holtzman, 1976).

Otras posibles pérdidas se pueden relacionar con la biodisponibilidad, en sus interacciones con la fibra, con el zinc o el hierro aportado en la dieta, y con el uso prolongado de agentes quelantes en lactantes que sufren diálisis.

Manifestaciones clínicas. Las primeras manifestaciones clínicas de la deficiencia de cobre son una anemia hipocroma, de las características anteriormente citadas.

La osteoporosis surge inicialmente en la metáfisis y epífisis acompañada de un retraso de la edad ósea (Hambidge, 1985). Este hecho se atribuye a la carencia de las aminooxidasas necesarias para la formación de colágeno; además, se presentan fracturas patológicas.

Otros signos clínicos que se han observado fundamentalmente en la deficiencia de cobre, son palidez, disminución de la pigmentación de la piel y el pelo, red venosa prominente, lesiones epidérmicas similares a la dermatitis seborreica, retraso del crecimiento, diarrea y hepatoesplenomegalia. El sistema nervioso central también se ve afectado en buena medida, pudiéndose observar hipotonía, falta de atención, retraso

psicomotor, falta de respuesta visual y episodios de apnea (Alliende et al, 1991; Sarricolea et al, 1993; Villa et al, 1991, 1992, 1995).

La enfermedad de Menkes, hereditaria ligada al cromosoma X, es representativa de todas las manifestaciones claras de la deficiencia de cobre (Danks et al, 1972).

Toxicidad. La ingesta máxima de cobre recomendable según el IOM (2011) sería de 10000 µg/día. La toxicidad del cobre puede originarse tras la ingesta accidental de soluciones de sales de cobre. Las dosis necesarias para alcanzar niveles tóxicos son elevadas (OMS/FAO, 1971), si bien el procesamiento o almacenamiento de alimentos ácidos en recipientes de cobre puede incrementar su ingesta, aunque esta posibilidad es casi nula en la actualidad (NRC, 1977).

Los síntomas de la toxicidad se ponen de manifiesto con náuseas y vómitos de coloración verde azulada, sabor metálico, dolor epigástrico y diarrea. Algunas veces aparece ictericia y hepatoesplenomegalia con posterioridad, 2 ó 3 días después. La ictericia puede ser producto de una hemólisis intravascular causada por iones cobre libres, que causan hematuria y daño tubular con oliguria o incluso anuria. También el exceso puede originar efectos cardiotóxicos. La exposición continuada puede causar cirrosis (Hambidge, 1985).

La anormal distribución intracelular y la retención excesiva de cobre por determinados tejidos puede ocasionar signos de toxicidad. La enfermedad de Wilson es un trastorno autosómico recesivo, cuya principal característica es la acumulación de cobre en hígado, cerebro, riñones y córnea; es considerado el mayor factor tóxico de los desórdenes genéticos, con clínica significativa a las lesiones patológicas anteriormente citadas.

Manganeso

El manganeso es considerado esencial en la nutrición animal desde 1931, al relacionarse su deficiencia con un incremento en las cifras de prematuridad y mortalidad neonatal en ratas, además de provocar malformaciones congénitas en la descendencia, una alteración en el crecimiento, ataxia congénita, un trastorno en la tolerancia a glucosa y discondroplasia esquelética del neonato (Hurley et al, 1987).

Si bien su esencialidad está bien establecida en sistemas biológicos, su deficiencia no ha sido observada en la población humana, salvo en un caso específico (Doisy, 1974), ya que, ante claras situaciones de déficit o disponibilidad reducida, otros cationes divalentes, y más concretamente el magnesio, pueden sustituirlo en sus funciones bioquímicas.

Fuentes de exposición. El manganeso es ampliamente utilizado en las fundiciones para producir aleaciones de acero. Las formas inorgánicas se usan en la producción de baterías, cerámica y decoloración de vidrio, incendiarias, fungicidas y catalizan la cloración de compuestos orgánicos. Los permanganatos son oxidantes energéticos empleados en la limpieza y desinfección de metales, preservación de flores y en fotografía. Los compuestos orgánicos del manganeso son utilizados como aditivos de la gasolina y como fungicidas. (Barceloux, 1999). En ambientes no laborables, la mayor parte de la exposición al Mn proviene de los alimentos (sobre todo los vegetales, como té, cereales, legumbres, aguacates, algas, etc.). El NRC de EE.UU. considera que una ingestión diaria de 2-5 µg es segura y adecuada (Greger et al, 1990).

Bioquímica y funciones metabólicas. El manganeso, como catión divalente, actúa de forma inespecífica como cofactor activando gran número de enzimas. Las glicosiltransferasas, galactotransferasas y polimerasas presentan una escasa actividad en estados deficitarios de manganeso, el cual causa una alteración en la síntesis de glicoproteínas y glicosaminoglicanos (Ernst et al, 1992). Estos sistemas enzimáticos son manganeso dependientes y son necesarios en la síntesis de mucopolisacáridos de cartílago, desencadenando trastornos esqueléticos (Hambidge, 1985).

El manganeso es también un componente esencial de diversas metaloenzimas. Entre ellos, dos sistemas son los más influenciados por su carencia, piruvatocarboxilasa y superoxidodismutasa. Este último está constituido por dos enzimas, una presente en el citosol que es cobre y zinc dependiente y otra situada en las mitocondrias, que condicionan, en situaciones de deficiencia, cambios ultraestructurales en todos los tejidos y provocan daño por radicales libres de oxígeno y de superóxido (Diplock, 1985).

La mayoría de los complejos enzimáticos que intervienen en la síntesis de la protrombina contienen manganeso, influyendo de forma determinante en los factores de los mecanismos de coagulación sanguínea.

El manganeso participa en el metabolismo de los hidratos de carbono como activador de los sistemas neoglucogénicos, en el metabolismo de los ácidos grasos, interviniendo en la síntesis de colesterol, y en la función inmune (Ernst et al, 1992).

Las últimas investigaciones relacionan el manganeso con el metabolismo cerebral y, más concretamente, con la síntesis de catecolaminas, cuestionando su carencia con algunos trastornos convulsivos de la infancia (Diplock, 1985).

Deficiencia de manganeso. La carencia específica de manganeso no se conoce perfectamente. Posiblemente, su origen sea una inadecuada ingesta dietética; podría estar asociado con otros factores genéticos, fármacos o agentes químicos o bien, como resultado de interacciones, con otros componentes de la dieta, toxinas vegetales o elevado consumo de otros oligoelementos. La deficiencia de manganeso ha sido comprobada en los animales, ya que es un elemento esencial para todas las especies estudiadas (NRC, 1991). Sin embargo, en los seres humanos sólo se ha publicado un posible caso de deficiencia en una persona que recibió una dieta sintética baja en manganeso (Doisy, 1974).

Manifestaciones clínicas. En animales de investigación, el déficit de manganeso provoca abortos o malformaciones en los sistemas de calcificación, siendo muy largo el tiempo necesario para producirlo.

Los neonatos padecen además otros trastornos como la sordera precoz, ataxia irreversible y respuesta anormal de la tolerancia a la glucosa (Hurley, 1985). Otros signos clínicos incluyen el retraso del crecimiento, disminución de la capacidad reproductiva, anormalidades óseas y cartilagosas, trastornos de pelo y uñas y dermatitis (Merrit, 1991; NRC, 1991).

La intolerancia a la glucosa detectada con hipertrofia de los islotes pancreáticos y escasez de células B desaparece en animales con una suplementación de manganeso

(NRC, 1989). Asimismo, diabéticos adultos, resistentes al tratamiento con insulina, también respondieron a dosis orales de este micronutriente (NRC, 1989).

Toxicidad. Las manifestaciones tóxicas en humanos sólo se han presentado con dosis orales muy altas o cuando fue inyectado o inhalado en forma de polvo (Hurley et al, 1987; NRC, 1991). Dichas manifestaciones son de carácter neurológico, semejantes a las que aparecen en la enfermedad de Parkinson o en la psicosis esquizofrénica (Meritt, 1991). No está muy claro el mecanismo neurotóxico, aunque parece estar ligado a la auto-oxidación de las catecolaminas.

Se ha relacionado un incremento en los niveles de manganeso en el cabello con la incapacidad de los niños en el aprendizaje; sin embargo, son necesarios más estudios que reafirmen esta asociación y expliquen los mecanismos de toxicidad de este oligoelemento (Villa et al, 1995).

Selenio

La consideración del selenio como oligoelemento fundamental en la nutrición humana, es decir, su esencialidad en el hombre, no tuvo lugar hasta finales de la década de los cincuenta, y para numerosas especies animales ha sido establecida más recientemente (Saugstad, 1992).

Bioquímica y funciones metabólicas. El papel biológico mejor establecido del selenio es el formar parte de la enzima glutatión peroxidasa. Cataliza la destrucción de los radicales libres e hidroperóxidos de los ácidos grasos poliinsaturados resultantes de la oxidación de fosfolípidos poliinsaturados de la membrana y del metabolismo oxidativo de xeno-bióticos, protegiendo y controlando las concentraciones intracelulares de éstos. Este papel lo lleva a cabo junto con la vitamina E y otros compuestos biológicos (Saugstad, 1992). Reside en la membrana y actúa interrumpiendo la peroxidación lipídica autocatalítica.

Se considera que el selenio es un factor de protección contra el estrés oxidativo, fundamentalmente en enfermedades cardíacas y en el metabolismo de fármacos, así como también se sugiere un papel protector de la carcinogénesis (Villa et al, 1995).

Parece ser que el selenio también participa en la respuesta inmune, ya que se ha observado que su deficiencia imposibilita la capacidad de los linfocitos para reconocer antígenos y proliferar en respuesta a la estimulación linfocitaria (Kiremidjan-Schumacher et al, 1990). Sin embargo, concentraciones muy elevadas de selenio pueden ocasionar efectos contrarios en la defensa frente a tumores e infecciones víricas, sugiriéndose que un desequilibrio nutricional del mismo podría potenciar el riesgo a padecer estos trastornos (NRC, 1989).

Se ha asociado la deficiencia de selenio a un mayor grado de aterosclerosis. La carencia de selenio reduce la actividad de glutatión peroxidasa, haciendo susceptible a las células endoteliales a la inhibición por los peróxidos de la actividad ciclooxigenasa, produciendo una alteración en la función plaquetaria (Hampel et al, 1989).

Deficiencia de selenio. La dosis recomendada de selenio en el aporte diario en la dieta es de 55 µg en mujeres no gestantes y 60-65 µg en mujeres gestantes (IOM, 2011; Moreiras et al, 2011). La deficiencia de selenio no constituye una causa fundamental de patología en nuestra sociedad, aunque el mayor riesgo de padecerla lo tienen los recién nacidos (Combs et al, 1984).

En áreas geográficas donde el contenido de selenio en el suelo y agua de bebida es escaso, aparecen este tipo de deficiencias, en las que se han descrito dos patologías endémicas, la enfermedad de Keshan (Ge et al, 1983) y la de Kashin-Beck (Van Rij et al, 1979).

Manifestaciones clínicas. La enfermedad de Keshan se manifiesta como una cardiomiopatía que afecta a niños y jóvenes. La deficiencia de selenio es el mayor factor etiológico de esta patología, presente en diversas zonas particularmente carentes de este oligoelemento. Clínicamente se presenta como una insuficiencia cardíaca aguda o crónica, secundaria a una necrosis y fibrosis del miocardio. La incidencia y el grado de magnitud con que se manifiesta disminuye drásticamente con la suplementación dietética.

La enfermedad de Kashin-Beck aparece como una condrodistrofia caracterizada por lesiones degenerativas y necróticas de los huesos largos y del cartílago epifisario,

con la consiguiente osificación irregular, detención del crecimiento y posible enanismo. Su etiología no está muy clara, habiéndose sugerido otras posibles causas distintas de la deficiencia de selenio.

El déficit que se observa con más frecuencia es en lactantes y niños con nutrición parenteral prolongada, especialmente los prematuros (Lockitch et al, 1989). Las manifestaciones clínicas más frecuentes son debilidad y dolor muscular (Kein et al, 1983), pero otros han descrito retraso en el crecimiento, macrocitosis y pseudoalbinismo (Ernst et al, 1992). La deficiencia se corrige con la suplementación diaria de selenio (Kein et al, 1983).

Los bajos niveles séricos de selenio en la malnutrición calórico-proteica se consideran una importante causa de mortalidad.

Toxicidad. La ingesta excesiva se puede producir en áreas geográficas con alto contenido de este oligoelemento (Morisi et al, 1989). Los signos clásicos de toxicidad son náuseas, dolor abdominal, diarrea, anomalías de la piel y cabello, uñas ásperas y quebradizas, caída de cabello y uñas, olor de aliento a leche agria, fatiga e irritabilidad. El consumo a largo plazo de grandes dosis (más de 900 µg/día) puede ocasionar cambios neurológicos como neuropatía periférica o encefalopatía, incluyendo entumecimiento, convulsiones y parálisis. El IOM (2011) recomienda un aporte máximo de 400 µg/día en la dieta.

No se conoce el mecanismo de toxicidad del selenio, así como sus posibles indicadores bioquímicos; sin embargo, se conoce que la ingestión aguda puede ser muy peligrosa y causar un daño irremediable que lleva a la muerte (Levander, 1982). El consumo excesivo de selenio procedente de la alimentación es muy raro, aunque ha habido casos de intoxicación por la ingesta accidental de dosis elevadas de comprimidos de selenio (EUFIC, 2008).

Otros elementos traza esenciales

Molibdeno

El molibdeno es un componente esencial de varias enzimas de animales, plantas y bacterias. Su esencialidad ha sido difícil de reconocer en la salud humana debido a la

dificultad para inducir su deficiencia (Anke et al, 1985).

Su función bioquímica la desarrolla como grupo prostético de tres enzimas: xantino oxidasa, aldehído oxidasa y sulfito oxidasa. La deficiencia severa de este elemento puede ocasionar una disfunción neurológica y una disregulación del metabolismo del azufre y de la producción de ácido úrico.

El conocimiento sobre la forma química y biodisponibilidad del molibdeno es escaso; sin embargo, existen interesantes interrelaciones metabólicas con otros elementos traza. La ingesta dietética recomendada de Molibdeno es de 40 µg/día (IOM, 2011).

Cromo

El cromo, en su estado de oxidación III, es un elemento traza nutricionalmente esencial para el hombre y los animales. El aporte dietético recomendado en mujeres no gestantes es de 25 µg/día y de 30 µg/día en mujeres gestantes (IOM, 2011; Moreiras et al, 2011).

En humanos se han detectado tres casos de deficiencia tras ser sometidos a nutrición parenteral total (Mertz, 1969), que cursaron con una tolerancia anormal a la glucosa, ataxia y neuropatía central o periférica.

La administración de cromo a niños con un trastorno de malnutrición proteico-energética mejoró su crecimiento y su tolerancia a la glucosa (Gurson et al, 1971).

Todavía no se conocen las formas químicas y la biodisponibilidad del cromo presente en los alimentos. Es conocido que los aminoácidos y oxalatos pueden incrementar su absorción, mientras que el fitato puede disminuir su biodisponibilidad (Hambidge, 1974).

Actualmente no existe un método efectivo para establecer el balance de este elemento, así como determinar exactamente su papel en la nutrición humana.

Magnesio

El magnesio es un elemento esencial en los sistemas biológicos. El magnesio está presente típicamente como ión Mg^{2+} . Es un nutriente mineral esencial para la vida y está presente en todas las células de todos los organismos.

Casi todas las dietas contienen una cantidad adecuada de magnesio. Son alimentos ricos en magnesio las nueces, la soja y el cacao y todos aquellos productos vegetales, en especial, de hoja verde. Las recomendaciones diarias de magnesio en mujeres gestantes es de 360 a 450 mg/día según Moreiras et al. (2011), señalando el IOM (2011) una ingesta máxima recomendable en pacientes no gestantes de 350 mg/día.

Lo que llamamos ATP, la principal forma de energía celular, es en general ATP-Mg, como forma activa. Similarmente, el magnesio juega un rol importante en la estabilidad de todos los compuestos polifosfatados de las células, incluyendo aquellos asociados a la síntesis de ADN y ARN.

Aproximadamente 300 enzimas conocidas requieren la presencia del ion magnesio para poder realizar su función catalizadora, incluyendo todas las enzimas utilizadas en la síntesis de ATP, o aquellas que usan otros nucleótidos para sintetizar ADN y ARN.

Este mineral esencial tiene relación directa, junto con las proteínas, con la formación de colágeno.

La deficiencia de magnesio es relativamente frecuente. En ciertas circunstancias, como diarrea y vómitos prolongados, síndrome de malabsorción, ayuno, alcoholismo y otras condiciones, como una sudoración abundante, hay pérdidas excesivas de magnesio corporal. Tales pérdidas pueden llevar a debilidad y a alteraciones mentales y, en ocasiones, a convulsiones y calambres musculares.

No hay evidencia de problemas para la salud causados por una ingesta excesiva de magnesio. El polvo de magnesio puede irritar las membranas mucosas o del tracto respiratorio superior. No existe un antídoto específico.

1.4 Elementos traza con efectos tóxicos

Aluminio

El aluminio es el metal más abundante en la corteza terrestre. Hasta hace poco tiempo se ha encontrado, fundamentalmente, bajo especies químicas no disponibles para el hombre y la mayoría de las especies. Sin embargo, el dramático incremento de su concentración con la lluvia ácida ha supuesto su aparición en la mayoría de los ecosistemas biológicos.

Fuentes de exposición. La exposición a este elemento es constante, debido a la ingesta a través de agua y alimentos y al contacto continuo con partículas de polvo. El sulfato de aluminio es una sal utilizada como agente floculante en la depuración del agua de consumo público, que puede elevar el contenido de este elemento. La utilización de latas para la conservación de alimentos y utensilios de aluminio para su preparación, junto con el consumo de determinadas medicaciones, son también fuentes de la ingesta oral de aluminio. La absorción del aluminio a través de la piel es insignificante; sin embargo, la continua exposición es bastante común debido al uso de este elemento en los desodorantes. Las partículas inhaladas de aluminio son retenidas en el tejido pulmonar y los nódulos linfáticos peribronquiales, incrementando su concentración con la edad. Las fuentes principales de aluminio en pacientes con diversas patologías incluyen los fármacos orales que contienen aluminio (particularmente los destinados a reducir la hiperfosfatemia), las sales intravenosas, la albúmina intravenosa y dializados que contienen aluminio.

Manifestaciones y patologías asociadas a su toxicidad. No se conoce el papel fisiológico del aluminio. La intoxicación con aluminio es el síndrome más ampliamente estudiado de todos sus desórdenes. Se desarrolla fundamentalmente en pacientes con fallo renal (Gruskin, 1988).

Las manifestaciones clínicas de la intoxicación con aluminio incluyen la encefalopatía originada en la diálisis, osteomalacia y anemia microcítica hipocrómica resistente al tratamiento con hierro.

En los pacientes con una reducida función renal (fundamentalmente anúricos), el aluminio absorbido o perfundido no es excretado, y se acumula progresivamente. Además su absorción intestinal se puede incrementar en situaciones de hiperparatiroidismo, bajos niveles de calcio y con la administración de 1-25 dihidroxivitamina D₃.

En un principio, la encefalopatía asociada a una enfermedad renal se describió en pacientes pediátricos que no recibían tratamiento con diálisis, pero sí, en cambio, grandes cantidades de aluminio contenido en los fármacos quelantes de fosfato utilizados en el tratamiento de la osteodistrofia renal (Gruskin, 1988). Se ha sugerido, también, que la intoxicación crónica con aluminio en niños con insuficiencia renal puede originar retraso mental. Sin embargo, la manifestación más clara de la intoxicación con aluminio en niños es la alteración de la mineralización ósea. El aluminio interfiere en la correcta calcificación, suprime la función de la hormona paratiroidea y altera la función de los osteoblastos. Las manifestaciones histológicas de este daño óseo incluyen una extensa tinción positiva del aluminio, una reducida relación de mineralización ósea, incremento cuantitativo de osteocitos y disminución en el número de osteoblastos y osteoclastos. Los niños afectados presentan una baja relación de hueso nuevo, así como alteraciones del crecimiento (Sedman et al, 1984).

Interacciones con elementos esenciales. Además de la interacción con fósforo, el aluminio interacciona con el calcio en el metabolismo óseo, como se ha considerado anteriormente. Se ha sugerido en varios estudios que esta interacción tiene lugar durante la absorción intestinal (Adler et al, 1985).

El aluminio también puede afectar al metabolismo y a la utilización y distribución de hierro. Se inhiben varias enzimas de la síntesis del grupo hemo, tales como la ferroquelatasa, la uroporfirina descarboxilasa o la 8-aminolevulinato deshidratasa. Y también se ha demostrado una inhibición del aluminio por la transferrina en la eritropoyesis.

La administración de grandes cantidades de aluminio altera la distribución de los metales asociados a la metalotionina, como el cobre o el zinc, aunque existen pocos estudios que demuestren estas interacciones (Abu-Hamdan et al, 1986).

Tratamiento. El mejor tratamiento de la intoxicación con aluminio en la infancia es la prevención (Gruskin, 1988).

Durante los últimos años han llegado a ser rutinarios el uso de soluciones de diálisis sin aluminio, la utilización de carbonato cálcico sustituyendo los agentes quelantes de fósforo que contenían aluminio y el control de los niveles sanguíneos de aluminio. La aplicación de estas medidas, unidas a la terapia con agentes quelantes (desferroxamina) en niños afectados (Gruskin, 1988), ha mejorado parcialmente la encefalopatía y los desórdenes óseos, así como la situación anémica.

Plomo

El plomo es el metal tóxico más ampliamente distribuido en el medioambiente y en prácticamente todos los sistemas biológicos. Su esencialidad ha sido principalmente investigada por Reichlmayr-Lais y Kirchgessner (Reichlmayr-Lais, 1984), que han encontrado, en animales de investigación alimentados con dietas pobres en plomo, reducidos valores de hemoglobina, volumen corpuscular medio y hematocrito. Sin embargo, tiene mayor importancia su aspecto tóxico ya que la dosis necesaria para alcanzar el nivel esencial es muy pequeña (EPA, 1986, 1989; Landrigan, 1989; OMS, 1977).

Fuentes de toxicidad. Son diversas las rutas por las que el ser humano queda expuesto al plomo. Los usos industriales del plomo son muy numerosos, por lo que las intoxicaciones han sido muy frecuentes. El empleo en la fabricación de pigmentos y pinturas, el depósito en forma de polvo en el aire, agua y alimentos y el rico contenido de algunos suelos, son las fuentes principales de exposición al plomo (OMS, 1977). Existen correlaciones significativas entre los niveles sanguíneos de plomo y la presencia de pinturas con este metal en el medioambiente infantil; se han publicado también asociaciones entre la ingesta de pinturas con plomo y la sintomatología de intoxicaciones por dicho metal. El plomo tetraetilo se utilizaba en la gasolina como antidetonante y se puede acumular en el polvo de carreteras con mayor tránsito. Las exposiciones laborales o por bricolaje también incrementan los niveles de Pb de algunos adultos. También son importantes los casos descritos por ingestión de suplementos de calcio durante el embarazo, obtenidos de tejidos óseos animales o conchas marinas con

contenido elevado de Pb.

Manifestaciones y patologías asociadas a su toxicidad. El plomo ingerido se concentra principalmente en los eritrocitos; se distribuye por el organismo, localizándose inicialmente en el riñón (epitelio tubular) e hígado, y, posteriormente, en el hueso, dientes y pelo, de forma que la mayor acumulación tiene lugar en el hueso.

El sistema nervioso desarrolla los efectos más críticos o más sensibles en los niños y lactantes. Pueden verse afectados de forma aguda o crónica; la primera da lugar a una encefalopatía con signos de hipertensión craneal. Aparece con niveles sanguíneos de 80 mg/100 ml, y los síntomas son letargia, vómitos, irritabilidad, pérdida del apetito y mareos, progresando con ataxia, reducido nivel de consciencia, que termina en coma y muerte. La recuperación va acompañada a menudo de importantes secuelas, entre las que se pueden incluir epilepsia, retraso mental, neuropatía óptica y ceguera, en algunos casos (Needleman et al, 1990). El cuadro neurológico crónico presenta deterioro mental, conducta hiperkinética o agresiva, pérdida de apetito, insomnio y dolores abdominales, permaneciendo así largo tiempo, si no se diagnostica, y pudiendo avanzar a una encefalopatía más aguda (Needleman et al, 1990). Existe una neuropatía periférica en casos avanzados, caracterizada por la degeneración de la estructura y la función de los nervios motores y, en menor grado, de los sensitivos que aparece con niveles sanguíneos de plomo de 40mg/100 ml (EPA, 1986). Estudios experimentales también indican que el plomo puede producir deficiencias en los neurotransmisores, inhibiendo la función colinérgica y, posiblemente, reduciendo el calcio extracelular, así como interfiriendo en la función de otros neurotransmisores, como la dopamina y el ácido d-aminobutírico (GABA).

El plomo ejerce múltiples efectos hematológicos. Afecta a la hematopoyesis, induciendo una anemia microcítica hipocrómica. Los eritrocitos, generalmente, incrementan el número de reticulocitos con un moteado basófilo, debido a la inhibición de la enzima pirimidina-5-nucleotidasa. La anemia es producto del acortamiento de la vida del eritrocito y de la inhibición de la síntesis del grupo hemo. La disminución vital se debe al incremento de la fragilidad de la membrana celular. Las bases bioquímicas de este efecto no se conocen, pero parecen estar relacionadas con la inhibición de las ATPasas dependientes de sodio y potasio (EPA, 1986).

Los efectos tóxicos del plomo en el riñón se presentan bajo dos aspectos: una forma aguda y reversible de disfunción tubular que padecen la mayoría de los niños con exposición aguda, y una forma irreversible, al provocar una nefropatía intersticial con esclerosis vascular y glomerular, atrofia de las células tubulares y fibrosis intersticial.

La intoxicación aguda por plomo es ocasional, provocando un cuadro gastrointestinal, con abundantes vómitos y dolor abdominal, heces negras, diarrea o estreñimiento. Con altas dosis (100-300 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$), en niños pueden originarse encefalopatías agudas, con vómitos, ataxia, estupor, somnolencia e irritabilidad.

Interacciones con elementos esenciales. La interacción entre calcio y plomo es una de las mejores conocidas entre los elementos esenciales y tóxicos (Chisolm, 1980). La experiencia indica que la baja ingesta de calcio no sólo incrementa la absorción de plomo, sino que también eleva el plomo sanguíneo en el riñón a valores mayores que los hallados en el hueso.

La deficiencia nutricional de hierro agrava la toxicidad de plomo, ya que se incrementa su absorción intestinal. Existen evidencias experimentales que correlacionan el contenido de hierro en el niño y la absorción o retención de plomo, incrementándose severamente en estados de deficiencia. Sin embargo, el incremento en la absorción de plomo parece depender siempre de un aumento en la capacidad del sistema de transporte de hierro (Morrison et al, 1987).

La interacción del plomo con el cinc tiene especial relevancia en la biosíntesis del grupo hemo y en la absorción de plomo. La exposición crónica de plomo puede causar hipercincuria, incrementándose la concentración de cinc en páncreas e hígado.

El incremento de las concentraciones dietéticas de cobre agravan la toxicidad del plomo. Se ha sugerido que la anemia inducida por el plomo se asocia con la interacción con cobre, ya que las manifestaciones de la anemia debida a la intoxicación con plomo son similares a aquellas originadas con la deficiencia de cobre (Chisolm, 1980).

Tratamiento. El tratamiento consiste en la retirada inmediata de la fuente de exposición, tratamiento sintomático de los cuadros más graves y eliminación del plomo con quelantes (edetato cálcico disódico, dimercaptol y d-penicilamina).

Cadmio

El cadmio se ha convertido en uno de los metales con mayor capacidad tóxica, debido a su gran utilización en la industria. A pesar de su potencial toxicidad, no puede ser excluida la posibilidad de su esencialidad (Smith, 1984). Los síntomas iniciales de deficiencia no se observan claramente en humanos, ya que el contenido de cadmio en los alimentos es considerablemente mayor que el requerimiento dietético de cadmio (IARC, 1987).

Fuentes de toxicidad. En la naturaleza se encuentra asociado a cinc, cobre y plomo, extrayéndose de manera conjunta. Su producción aumenta considerablemente cada año, debido a la gran diversidad de sus aplicaciones (protección del hierro frente a la oxidación y corrosión, pigmentación de plásticos y pinturas, galvanización y electrodeposición, recubrimientos electrolíticos, estabilización de plásticos, endurecimiento del cobre, fabricación de pilas y electrodos, etc.). La ingesta de cadmio por vía respiratoria, excluyendo las zonas industriales, es una pequeña parte de la ingesta total aportada por todas las fuentes. Aunque el agua no es el mayor factor contribuyente a la ingesta de algunos individuos, puede ocurrir que elevados niveles puedan contribuir a una mayor ingesta dietética. Sin embargo, para la población infantil es la alimentación la que representa la mayor vía de exposición al cadmio (Friberg et al, 1986). La mayor exposición al Cd en humanos es dietética, con un promedio de ingestión diaria en adultos de 10-30 µg. El Cd del suelo se absorbe con facilidad por los vegetales (verduras y cereales), lo que condiciona concentraciones elevadas en cultivos con aguas residuales de origen industrial que contienen este elemento (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1990; Babish et al, 1984). Este metal también tiende a concentrarse en los moluscos encontrados en aguas costeras contaminadas. Otra exposición importante es a través del humo del tabaco, teniendo los fumadores niveles de Cd en sangre, aproximadamente, del doble que los no fumadores (Hastings et al, 1998; Järup et al, 2009).

Manifestaciones y patologías asociadas a su toxicidad. La intoxicación aguda puede producirse por la ingestión de altas concentraciones de cadmio procedente de bebidas o alimentos contaminados. Aparecen náuseas, vómitos y dolor abdominal, diarrea y shock. Por vía respiratoria, provoca neumonitis química, disnea, debilidad, fiebre e insuficiencia respiratoria que puede concluir con un edema agudo de pulmón. La intoxicación crónica afecta principalmente al riñón. Aparece, primero, una lesión en el túbulo proximal, que se pone de manifiesto por un incremento del cadmio en la orina, proteinuria, glucosuria y disminución de la reabsorción tubular de fosfato y, posteriormente, afectación glomerular. También la intoxicación con cadmio afecta al metabolismo del calcio, originando cambios esqueléticos relacionados probablemente con la pérdida de calcio, osteomalacia y osteoporosis. Estudios epidemiológicos sugieren que el cadmio es un agente etiológico de la hipertensión, afectando la función y el metabolismo del miocardio (IARC, 1987). La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado el cadmio en la categoría I (carcinógeno para los humanos, con evidencia epidemiológica suficiente).

Interacciones con elementos esenciales. La absorción de cadmio intestinal parece estar influenciada ya sea directamente o indirectamente por varios micronutrientes, en particular hierro, manganeso y cinc (Akesson et al, 2002; Kippler et al, 2010).

La interferencia del cadmio en la absorción intestinal de calcio parece ser la posible causa de la perturbación del metabolismo óseo del calcio. Este elemento traza ejerce un efecto inhibitorio directo sobre la absorción de hierro, estableciéndose una correlación inversa entre las reservas de hierro y bioacumulación de cadmio.

El cadmio también interfiere en la unión del hierro con la ferritina; se posiciona en los lugares que necesita el hierro para su dación y deposición. Por todo ello, la anemia microcítica hipocrómica constituye uno de los parámetros que indican la intoxicación con cadmio.

La toxicidad del cadmio se incrementa en situaciones de deficiencia de cinc. La administración de cinc reduce los efectos de la toxicidad aguda de cadmio, disminuyendo la inhibición del metabolismo hepático y de la fosforilación oxidativa.

Tratamiento. El tratamiento con fármacos complejantes sólo es efectivo cuando se realiza inmediatamente después de la exposición al cadmio. El edetato cálcico disódico es el quelante más frecuentemente administrado en estos casos (Cherian et al, 1982).

1.5 Oligoelementos y gestación

El embarazo es un período de aumento de las demandas metabólicas principalmente debido a los cambios en la fisiología de la mujer y requisitos del crecimiento fetal (Pathak et al, 2004), como puede apreciarse en la Figura 3.

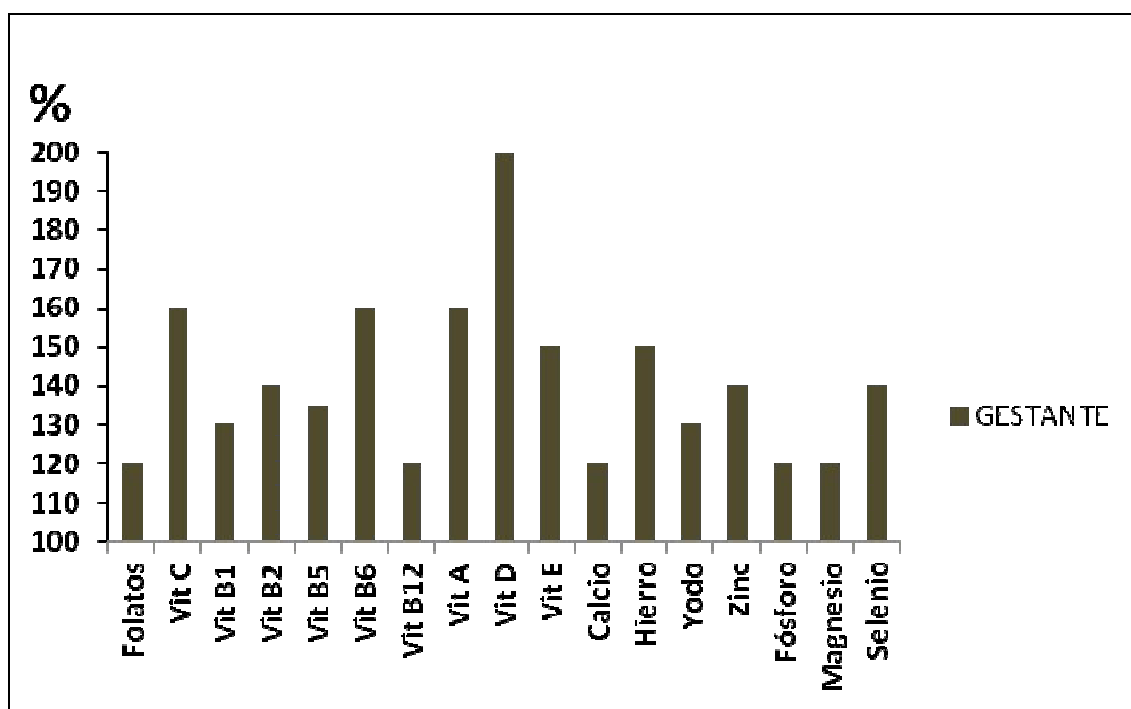


Figura 3. Comparación de las ingestas recomendadas de micronutrientes de la mujer gestante frente a la mujer adulta de la misma edad (tomado de Mataix y Aranda, 2005).

En nuestro estudio es fundamental conocer que el nivel en sangre materna de algunos elementos traza se modifica durante la gestación de forma fisiológica. Se ha documentado un descenso en los niveles maternos de cinc, hierro y calcio a lo largo de la gestación (Brandes et al, 1980; Jameson, 1976; Pitkin et al, 1979; Puolakka et al, 1980; Rahmanian et al, 2014). Por otro lado, los niveles maternos de cobre se

incrementan hacia el final del embarazo (Prenia et al, 1980; Rahmanian et al, 2014; Vir et al, 1981).

Durante la gestación, la deficiencia de oligoelementos tiene efectos perjudiciales sobre la salud tanto de las mujeres como en el desarrollo del feto. Deficiencias de Zn, Cu, Mg y Se se han asociado con abortos, anomalías congénitas, hipertensión gestacional, ruptura prematura de membranas (RPM), desprendimiento de la placenta, parto prematuro, mortalidad fetal y una alta incidencia de retraso en el crecimiento intrauterino (Al-Saleh et al, 2004; Black, 2001; Borella et al, 1990; Osada et al, 2002; Pathak et al, 2004; Perveen et al, 2002; Scheplyagina, 2005; Srivastava et al, 2001).

Si analizamos la ingesta media de vitaminas y minerales en el grupo de mujeres entre 25-44 años de la encuesta ENIDE y se les suministrara uno de los preparados multivitamínicos disponibles en el mercado español, podemos comprobar que alcanzaríamos la cantidad de ingesta recomendada por el IOM (2011) y por Moreiras et al (2011), sin alcanzar los límites de ingesta tolerables máximos recomendados por el IOM, con lo que la posibilidad de sobredosificación sería altamente improbable (Figura 4).

Con el aumento mundial de la contaminación industrial y artificial o las actividades de combustión naturales, estamos expuestos, ya sea voluntaria o involuntariamente, a ciertos contaminantes ambientales tales como metales pesados, hidrocarburos orgánicos y pesticidas, a partir de diversas fuentes. En los últimos años ha aumentado el interés por el estudio de las alteraciones en la salud del feto en relación con las exposiciones ambientales. El periodo prenatal se considera la etapa más delicada del desarrollo humano, debido al alto grado de división y diferenciación celular fetal. También, debido a las diferencias con el adulto en muchas rutas bioquímicas, ya que el feto es altamente susceptible a teratógenos a bajas dosis de exposición con unos niveles que no son dañinos para la madre (Wells et al, 2010). Estas exposiciones pueden conducir a enfermedades crónicas, ya sean de aparición temprana o de forma tardía (Silbergeld y Patrick, 2005).

VITAMINAS	Unidades/día	Ing. Media *	Sup. Nutricional	Moreiras 2011	IoM 2011	IoM 2011
				Gestante 2ºT	Gestante	UL
A	µg (RE ^a)	738	500-800	800	770	3000
D	µgcolecalciferol ^{bc}	3,52	5-10	15	15	100
E	mg α-tocoferol	13,24	12-15	15	15	100
K	µg/mg		75	3500	90	ND
B1	mg	1,6	1,1-1,5	1	1,4	ND
B2	mg	1,3	1,4-1,6	1,6	1,4	ND
B6	mg	1,5	1,4-2,2	1,9	1,9	100
B12	µg	5,8	2,5-2,7	2,2	2,6	ND
C	mg	130	40-180	80	85	2000
Folatos	µg	265	400-800	600	600	1000
Niacina	mg equivalentes ^d			17	18	35
Ác Pantoténico	mg	40	6		6	ND
Biolina	µg		50-150		30	ND
MINERALES						
Calcio	mg	850		1300	1000	2500
Hierro	mg	14	14-28	38	27	45
Yodo	µg	87	150-200	135	220	1100
Zinc	mg	9	10-15	20	11	40
Fosforo	mg	1303		700	700	3500
Magnesio	mg ^e	356	57-100	450	350-360	350
Selenio	µg	53	55	65	60	400
Cobre	µg		1000		1000	10000
Fluor	µg		3,5		3	10
Cromo	µg		40		30	ND
DHA	mg		160-200			ND

Figura 4. Ingesta diaria de vitaminas minerales y elementos traza en mujeres en edad reproductiva del estudio ENIDE (25-44 años *). Composición de suplementos nutricionales comercializados en España. Ingestas diarias recomendadas (IDRs) para la población española y de la IOM. Nivel de ingesta máxima tolerable (UL) del IOM (fuente: José Eliseo Blanco Carnero. Suplementos nutricionales en el embarazo: Necesidades. Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca Murcia).

La etapa de desarrollo en la que se produce la exposición tiene gran importancia en las consecuencias causadas. Si la exposición se produce durante el periodo de organogénesis, pueden ocurrir cambios estructurales permanentes. Alternativamente, las exposiciones después de la organogénesis completa podrían dar lugar a consecuencias funcionales. Los sistemas inmunológico, respiratorio y nervioso central son vulnerables a las exposiciones postnatales porque son inmaduros al nacer y tienen un período prolongado de maduración postnatal (Sly y Flack, 2008). Por otra parte, variaciones en la toxicocinética con respecto al adulto, en especial en relación con el metabolismo hepático y la función renal, podría aumentar la susceptibilidad del feto a los contaminantes (Ginsberg et al, 2004).

Aunque se ha estudiado la exposición intraútero a metales pesados en las últimas décadas, parece que hay una creciente preocupación por las amenazas que plantea sobre los resultados del embarazo y/o efectos adversos del desarrollo en los niveles inferiores

a las directrices internacionales (Gardella, 2001; Holmesm et al, 2009; Schoeters et al, 2006).

Mattison (2010) sugirió que los impactos de las exposiciones medio ambientales sobre el resultado del embarazo y/o desarrollo pueden no tener umbrales, y el único enfoque razonable sería mantener éstas lo más baja posibles en todos los individuos.

Hierro. El déficit de hierro es la deficiencia nutricional más extendida en el mundo. Es la causa más común de anemia durante el embarazo. Según las estimaciones realizadas en 2011, la prevalencia mundial de anemia en mujeres embarazadas fue del 38% (IC95%: 33% y 43%), que se traduce en 32 (28 a 36) millones de mujeres embarazadas.

Se sugiere que la alta demanda de hierro durante el embarazo no podría cumplimentarse con la dieta únicamente, por lo que la suplementación con hierro es vital en estos meses. Las mujeres embarazadas de forma rutinaria deberían utilizar suplementos de hierro durante el embarazo. Esto, junto con otras intervenciones, están siendo empleadas con el fin de reducir los déficits de hierro.

Los suplementos de hierro reducen el riesgo de anemia materna a término en un 70% (RR = 0,30; IC95%: 0,19 y 0,46) y déficits de hierro a término en un 57% (RR = 0,43; IC95%: 0,27 y 0,66). Yakoob et al (2011) mostraron que la suplementación diaria de hierro provocaba una reducción de 73% en la incidencia de anemia (RR = 0,27; IC95%: 0,17 y 0,42) y del 67% en la incidencia de anemia por deficiencia de hierro en gestantes a término (RR = 0,33; IC95%: 0,16 y 0,69) en comparación con ninguna intervención / placebo.

La suplementación con hierro durante la gestación también puede reducir el riesgo de mortalidad hemorrágica materna preparto o postparto y conducir a la mejora de los niveles de hierro en el período postparto.

Plomo. La exposición al plomo se ha asociado a complicaciones gestacionales como abortos espontáneos (Borja-Aburto et al, 1999), malformaciones congénitas (Needleman et al, 1984) e hipertensión gestacional (Kennedy et al, 2012).

Mercurio. La exposición ocupacional al mercurio se ha asociado con hipertensión gestacional (Pan et al, 2007) y malformaciones como defectos del tubo neural (Jin et al, 2013).

1.6 Paso de oligoelementos

La evaluación de la exposición a contaminantes ambientales intraútero se ha logrado principalmente mediante la determinación de muestras sanguíneas maternas y de cordón umbilical fetal (Jones et al, 2010; Reis et al, 2007; Röllin et al, 2009). La exposición del feto se produce a través del líquido amniótico (AF), la placenta y el cordón umbilical.

El líquido amniótico es un complejo y dinámico fluido biológico, dentro del cual se desarrolla el feto. El líquido amniótico ofrece protección mecánica y nutrientes, así como otras moléculas necesarias para el crecimiento fetal y el bienestar (Hossn et al, 2001). Tanto en lo cuantitativo como en lo cualitativo el líquido amniótico es esencial para el desarrollo normal del feto durante la gestación y de la estructura y desarrollo de las membranas fetales (Lozano et al, 2007). Es una combinación de orina fetal y plasma materno que pasa a través de las membranas fetales. Su composición es 98-99% de agua. La composición química de sus sustancias varía con la edad gestacional hasta alrededor de la semana 20. Cuando la orina fetal comienza a entrar en el saco amniótico (8-11 semanas), la osmolaridad del líquido amniótico disminuye ligeramente en comparación con la sangre fetal. Después de la queratinización de la piel fetal, la osmolaridad disminuye aún más, alcanzando valores de 250 a 260 mOsm/kg. La tasa de cambio en el volumen de líquido amniótico está en correlación con la edad gestacional. Se produce un progresivo aumento del volumen de líquido amniótico de 30 ml a las 10 semanas de gestación a 190 ml a las 16 semanas y a una media de 780 ml a 32-35 semanas, disminuyendo durante las últimas semanas de gestación (Elliott, 1961).

El líquido amniótico es un fluido-orina que se inhala y se deglute por el feto humano.

Dado que la libre difusión se produce de forma bidireccional entre el líquido amniótico y el feto a través de la piel del feto, la placenta y el cordón umbilical de 10 a 20 semanas de gestación, su composición se vuelve similar al plasma fetal durante este período. Por lo tanto, el líquido amniótico se considera un marcador valioso de la exposición prenatal a las drogas y un indicador de la función de la barrera placentaria, especialmente durante la primera mitad del embarazo (Lozano et al, 2007). Sin embargo, los datos sobre la dieta y compuestos ambientales en el líquido amniótico son sorprendentemente limitados e insuficientes para establecer valores de referencia (Barr et al, 2007).

Son escasos los estudios en la literatura sobre la presencia de metales pesados en el líquido amniótico. El estudio realizado por Caserta en 2011 (Caserta et al, 2011) proporcionó información relevante sobre la presencia de 22 metales en el líquido amniótico de 25 mujeres embarazadas no fumadoras que no se encontraban expuestas ocupacionalmente a estos elementos. Este estudio fue el primero en demostrar que Be, Ag, Ba, Pb, Sr, Cu, Mn, Sn, Sb, Te, Tl, As, Co, Zn y Se están presentes en el líquido amniótico entre las semanas 15 y 18 de gestación. En particular, Mg, Ag, Tl, Ba, Be, Sb y Zn están presentes en altos niveles. Por el contrario, Hg, Pd, Sc y Ni están ausentes en las muestras obtenidas de líquido amniótico. Otros metales como el V, U, Pt, Pb, As, Co, Se, Sr, Sn y Te, aunque no se encuentren en concentraciones superiores a los de las muestras de orina de la población adulta en general, sí que se encuentran en pequeñas cantidades en el líquido amniótico. En sólo una mujer se halló elevadas concentraciones de diversos metales pesados (Ag, Pb, U, Sr, Cu, Mn, Sn, Sb, Te, Tl, Zn y Se). El resto de las pacientes tenían una concentración elevada de uno o, por lo menos, dos metales pesados en el líquido amniótico. La razón de este resultado no quedó claro, porque todas las mujeres incluidas en el estudio eran no fumadoras sin exposición ocupacional, y con estilos de vida y hábitos alimenticios similares.

Hall et al (1983) estudiaron 97 muestras de líquido amniótico entre 16 y 19 semanas de gestación y encontraron una concentración media de Ba de 22,4 g/L (rango de <2 a 49 g/L). Kosanovic et al (2002), en un estudio con 37 mujeres normotensas no

fumadoras examinadas durante el tercer trimestre del embarazo, señaló que las concentraciones de Se fueron $12,5 \pm 2,0$ mg/L. También es bien conocido que el cobre y los metales pesados están presentes en el líquido amniótico y la leche materna (Ferri et al, 2003).

Durante el embarazo la placenta actúa como una barrera selectiva permitiendo que los nutrientes y el oxígeno pasen al feto, y actuando en la prevención de que determinados compuestos tóxicos la atraviesen (Carter, 2009; Cross, 2006; Knipp et al, 1999). Iyengar y Rapp (2001) han considerado los tejidos placentarios como un biomarcador dual de metales tóxicos tanto para la evaluación de la salud materna como para la fetal. No obstante, se sabe que la barrera placentaria no es completamente protectora para el feto contra sustancias tóxicas, tales como las drogas y productos químicos del medio ambiente. El sincitiotrofoblasto y el endotelio de capilar fetal expresan transportadores. La exposición fetal estaría determinada por el efecto de la combinación de los transportadores, su naturaleza y su localización (Vähäkangas y Myllynem, 2009). El transporte de oligoelementos esenciales de la madre al feto varía a lo largo de la gestación, con un aumento gradual conforme el embarazo avanza (Perveen et al, 2002).

Algunos elementos traza son transportados a través de la placenta en un proceso activo, mientras otros parecen ser transportados pasivamente (Cunningham, 2010; Perveen et al, 2002). Como una matriz no invasiva, la placenta se ha utilizado para la monitorización en la realización de bio-estudios (Esteban y Castaño, 2009; Smolders et al, 2009).

Los resultados del estudio realizado por Krachler et al (1999) señalaron la existencia de un mecanismo de transporte activo para Ca, Mn, Mg, Mo, Rb y Zn de la madre al recién nacido, mientras que Cs, Li, y Sr siguen un gradiente de concentración. Tanto para el Cu, Se y Co la placenta mostró tener mecanismos de bloqueo en la transferencia de la madre al neonato (Krachler et al, 1999; Rossipal et al, 2000).

Se han estudiado que determinadas circunstancias madre-feto influyen en el paso de oligoelementos como, por ejemplo, la obesidad gestacional. Así, Al-Sahel et al (2006) documentaron una ratio Cu:Zn significativamente más baja en sangre venosa de

cordón umbilical de madres obesas en comparación con no obesas. Por el contrario, la ratio Cu:Fe no se encontraba alterada en los dos grupos.

Un estudio llevado a cabo por el mismo autor evaluó la transferencia a través de la placenta de cobre, hierro, cinc, selenio y molibdeno y los relacionó con el peso al nacimiento y el peso placentario. Se observó que el peso neonatal no se correlacionaba con niveles maternos de estos oligoelementos. Lo que sí se encontró fue una relación inversa y significativa entre el peso fetal al nacimiento y los niveles de cobre en sangre de cordón umbilical. Del mismo modo, el peso de la placenta se relacionó de manera positiva con los niveles de hierro y molibdeno y negativa con los niveles de cinc en sangre venosa de cordón (Al-Saleh et al, 2004).

Plomo. Con respecto a la transferencia de plomo, sabemos que aun cuando la madre tiene un nivel de plomo en sangre bajo, la placenta no puede evitar la transferencia de plomo de la madre al recién nacido (Ernhart, 1992; Iyengar y Rapp, 2001; Raghunath et al, 2000).

Cadmio. Varios estudios han demostrado que la placenta restringe la transferencia de cadmio entre la madre y el feto (Anda et al, 2007; Osman et al, 2000; Rudge et al, 2009). El cadmio es conocido por inducir la síntesis de metalotioneína (MT), que es una pequeña proteína rica en amino que comúnmente se sintetiza en los tejidos maternos y la placenta. Su papel es el de ayudar a retener el cadmio en el tejido y evitar su paso al feto (Gupta, 2007). Una revisión realizada por Klaassen et al (2009) indicó que existen grandes variaciones individuales en la expresión de metalotioneína, lo que podría a su vez predisponer a algunas personas a la toxicidad por cadmio. En esta línea, Kippler y colaboradores encontraron que los altos niveles de cadmio de la placenta (0,11 microgr/g en peso seco) perjudica la transferencia de algunos micronutrientes para el feto, con consecuencias graves para la salud fetal. Además, las concentraciones de plomo y cadmio fueron un 15% y 22% mayores, respectivamente, en los recién nacidos de madres que fumaron durante el embarazo (Kippler et al, 2010).

Mercurio. Se ha documentado una transferencia limitada de mercurio de la madre al feto a través de la placenta. Las concentraciones de mercurio eran un 25% más

altas en los recién nacidos de madres con mayor consumo de pescado. Yoshida y colaboradores informaron de que la metalotioneína en la placenta tiene un papel defensivo en la prevención de la transferencia de mercurio materno-fetal (Yoshida, 2002). Así, de los tejidos maternos analizados, la placenta contenía los niveles más altos de metalotioneína (Morgan et al, 2002).

1.7 Oligoelementos y trabajo de parto

Los procesos fisiológicos en el embarazo humano que dan lugar a la iniciación del parto y el inicio del trabajo no están claramente definidos. El trabajo de parto es un evento estresante tanto para la mujer gestante como para el feto. Durante este acto las necesidades metabólicas aumentan bruscamente (Cunningham et al, 2010). En la actualidad, de las diversas teorías del mecanismo de activación del parto, la principal mantiene que formarían parte de éste los uterotónicos, prostaglandinas, oxitocina, la endotelina y el factor activador de plaquetas (Cunningham et al, 2010; Germain et al, 1994). Se ha sugerido que los uterotónicos producidos en mayores cantidades, puede conducir a la iniciación del parto humano (Cunningham et al, 2010). Otros datos dan una gran importancia a los oligoelementos en el parto. Los oligoelementos son cofactores importantes en la acción de las Metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs).

Las MMPs son conocidas por procesar un amplio espectro de moléculas de superficie celulares y por formar parte en varios e importantes procesos biológicos (Vu et al, 2008; Weiss et al, 2007). Las MMPs se encuentran en la decidua, membranas fetales y líquido amniótico (Weiss et al, 2007). Los oligoelementos están presentes en cantidades muy pequeñas en las moléculas de muchas MMPs que tienen un papel importante en el proceso del parto (Germain et al, 1994; Otlecz et al, 2007; Weiss et al, 2007). Durante la gestación de transcurso normal, MMP-1, 2, 3, 7, y 9 se localizan en fluidos y membranas amnióticas fetales. En la iniciación del trabajo, MMP-9 es la principal MMP responsable de la actividad gelatinolítica en las membranas, y MMP-2 es dominante en la decidua (Weiss et al, 2007). MMP-1 se ensayó adicionalmente en muestras individuales en el estudio de Vu et al y también se encontró sobreexpresada consistentemente en el trabajo de parto (Vu et al, 2008).

Por otra parte, el parto se caracteriza por la activación de genes implicados en las respuestas inflamatorias agudas de las membranas fetales (Than et al, 2009). Este proceso inflamatorio involucra la activación de Especies Reactivas del Oxígeno (ROS) generado por la fosforilación oxidativa. Las altas concentraciones de ROS aumentan el estrés oxidativo y aumentan la expresión de la ciclooxygenasa-2, que conduce a la activación de la vía inflamatoria y, por ende, de los mecanismos del parto. Las superóxido dismutasas (SODs) son enzimas antioxidantes que protegen a las células contra los efectos nocivos de ROS y mantienen el equilibrio redox fisiológico durante el trabajo de parto. Los oligoelementos son cofactores importantes en este grupo de enzimas, actuando como iones metálicos (Cu, Zn, Fe, Mn o Ni). SOD manganeso (MnSOD) es una enzima antioxidante que se localiza en las mitocondrias y neutraliza ROS en el momento de la inflamación. La participación de los oligoelementos como cofactores en estos compuestos indica la gran importancia de elementos traza en la iniciación del parto y en el proceso de parto activo.

El estudio de Lazer et al (Lazer et al, 2012) tenía como principal objetivo investigar las diferencias en las concentraciones de oligoelementos en el plasma venoso de la madre gestante a término en periodo activo de parto, y el plasma venoso y arterial de cordón umbilical, en comparación con aquellas pacientes sometidas a cesárea electiva, antes del comienzo de ésta, con el fin de definir el papel de los elementos traza durante el parto. Las mujeres en periodo activo de parto mostraron cambios significativos en las concentraciones de elementos traza en comparación con la cesárea electiva. En concreto, se encontraron niveles significativamente más altos de Mn y Se en plasma venoso materno en el grupo de trabajo activo de parto en contraposición con el de cesárea electiva. Los niveles arteriales de cordón umbilical de Mg, Mn y Zn fueron significativamente mayores en el grupo de trabajo de parto activo frente a los encontrados en los casos de cesárea electiva. También se encontraron niveles significativamente más altos de Cu y Zn en la vena del cordón umbilical en el grupo de trabajo de parto activo frente a los de cesárea electiva.

El cinc en suero materno disminuye durante el embarazo normal, se han encontrado niveles maternos menores en relación con parto pretérmino que con partos a término. Este hallazgo sugiere que la deficiencia de cinc puede jugar un papel en el

inicio del trabajo de parto prematuro (Kiilholma et al, 1984). Jameson (1976) informó que las mujeres que dan a luz en la semana 37 de embarazo o antes, tienen menores concentraciones de cinc en suero materno que el grupo de mujeres gestantes con partos a término. Además, concentraciones tisulares de cinc por debajo de lo normal e incluso formas más leves de la deficiencia de cinc durante el embarazo, causarían RPM a término y trabajo de parto prematuro (Jameson, 1993; Kui Li et al, 1970; Scholl et al, 1993; Takako et al, 1996).

La deficiencia de hierro también se ha relacionado con un aumento en la tasa de parto pretérmino (Scholl et al, 1992), pero la evidencia en la asociación entre la anemia prenatal y el riesgo de parto pretérmino es inconsistente (Allen, 2000; Stoltzfus et al, 2004; Xiong et al, 2000).

El cadmio ha sido otro de los metales pesados relacionados con parto pretérmino (Nishijo et al, 2002). El cadmio urinario materno fue medido en 57 gestantes. Aquellas gestantes con cadmio urinario más elevado (por encima de 2 nmol/mmol Cr) se asociaron significativamente a partos pretérmino en comparación con aquéllas que presentaron niveles más bajos.

1.8 Oligoelementos y crecimiento intrauterino restringido (CIR)

Muchas investigaciones han estudiado la asociación nutricional de oligoelementos maternos y el peso al nacimiento de los neonatos, tanto en poblaciones animales como humanas.

De 46 estudios que informaron una asociación entre la concentración de cinc en suero materno y el crecimiento fetal (ya sea expresado como peso promedio al nacer o como proporciones con bajo peso al nacer como por debajo del décimo percentil), veintitrés (50%) informaron una relación positiva. Sin embargo, la otra mitad no encontró tal relación (Biadioli et al, 1997; George et al, 1998; Roungsipragarn et al, 1999; Tamura y Goldenberg, 1996, 1997, 2000). En un estudio realizado por Tsuzuki et al se documentó una posible asociación entre cuatro elementos traza (selenio, cinc, hierro y cobre) medidos en sangre de cordón, sangre materna y sangre fetal a los 5 días

del nacimiento y el peso al nacimiento en los niños estudiados. Encontraron que la concentración de selenio en suero materno fue más baja en las gestantes pretérmino y no se hallaron diferencias en los otros tres elementos (cobre, cinc y hierro). Por ello los autores concluyeron que la concentración de selenio en suero materno se correlacionaba positivamente con el peso al nacimiento.

En la investigación de mayor alcance documentada, realizada con 3.448 mujeres embarazadas, no se encontró una asociación significativa entre la concentración de cinc en plasma y el crecimiento fetal, incluyendo el peso al nacer, la prematuridad, la circunferencia de la cabeza y la longitud corona-talón (Tamura et al, 2000).

No existe consenso en la literatura en cuanto a si el estado nutricional materno de cinc se asocia con el crecimiento fetal en seres humanos.

Así pues, la evidencia disponible actualmente no apoya un efecto beneficioso de la administración de suplementos de cinc materno en el crecimiento fetal y la gestación (Borella et al, 1990; Mahomed et al, 1998; Odland et al, 1999; Osendarp et al, 2000; Osman et al, 2000).

En los CIR sin anormalidad materna, el consumo de cuatro elementos esenciales para el mantenimiento de la vida, Mg, Cu, Zn y Se, parecía ser inferior en el feto. Para discernir si esta reducción es un factor causal de la restricción del crecimiento fetal o un resultado de la restricción del crecimiento se precisará de una mayor investigación (Osada et al, 2002).

Existen, como ya hemos comentado, otros elementos traza relacionados con el crecimiento fetal. Es el caso del manganeso, relacionado con el peso fetal al nacimiento, la circunferencia cefálica y la circunferencia torácica (Guan et al, 2013). Vigeh et al (2010) realizaron un estudio en el que informaron de que las madres anémicas presentaban niveles de manganeso hasta un 15% más altos que los de embarazadas no anémicas. En ese mismo estudio se evidenció que la concentración de manganeso en sangre de madres cuyos hijos habían presentado un crecimiento intrauterino restringido era un 13% más baja que la de aquellas madres cuyos hijos habían tenido normopeso. En contraposición, la concentración de manganeso en sangre umbilical de los fetos CIR

había sido un 17% más elevada que la de los fetos no CIR. Otros estudios como el de Chen et al (2014), en cambio, señalan la posible asociación entre altas concentraciones de manganeso en sangre materna y la restricción del crecimiento fetal.

El déficit de cobre también ha sido correlacionado en algún estudio con bajo peso al nacimiento (Giles et al, 2007).

Diversos estudios en animales han sugerido el potencial tóxico de Bromuro de Metilo para el desarrollo fetal, incluyendo bajo peso al nacimiento. En aquellas zonas con un aumento en 10 veces la concentración del metilbromuro en un radio de 5 km, se observó una desaceleración del crecimiento fetal durante el segundo trimestre de gestación. Al nacimiento se documentó una disminución de peso significativa (21,8 gramos de media) y una disminución también en parámetros de crecimiento, como la longitud al nacimiento y la circunferencia de la cabeza, de 0,16 cm y 0,08 cm, respectivamente (Environmental Health Perspectives, 2013).

Una serie de estudios recientes han puesto de manifiesto que los niveles de plomo en sangre inferiores a 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ pueden estar asociados con retraso en el desarrollo/crecimiento de aquellos fetos expuestos intraútero o en niños durante la primera infancia (Atabek et al, 2007; Gump et al, 2005; Hu et al, 2006; Jelliffe- Patel et al, 2006; Schnaas et al, 2006). A pesar de los hallazgos encontrados sobre los efectos adversos para la salud de los niveles de plomo en la sangre por debajo de 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$, el comité asesor de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) no cambió su nivel de preocupación en 2005, que se mantiene por encima de 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (CDC, 2005).

Se ha informado de que mayor ingesta de calcio durante el embarazo podría estar asociado con bajos niveles de plomo en sangre materna. Ettinger et al (2007) afirmaron que la suplementación con calcio en la dieta materna puede representar una importante estrategia de prevención secundaria dirigida no sólo a reducir los niveles circulantes de plomo en la madre, sino también en la reducción de la exposición fetal al plomo. A pesar del pequeño porcentaje de mujeres con plomo en sangre, la naturaleza acumulativa de plomo sigue siendo importante en la salud ambiental (Ettinger et al, 2007).

En el estudio de Pena-Rosas et al (2012) se encontró evidencia de que las mujeres que tomaban suplementos de hierro tenían menos probabilidades de tener recién nacidos con bajo peso al nacimiento (por debajo de 2.500 g) en comparación con los controles (RR = 0,81; IC95%: 0,68 y 0,97) y un mayor peso medio al nacimiento de 30,81gr de forma significativa.

La revisión Cochrane sobre la suplementación con hierro prenatal encontró evidencia de una reducción en el riesgo de bajo peso al nacimiento y parto prematuro (Cochrane Database of Systematic Reviews, 2009). Los datos presentados por Imdad et al. (2012) informan de una reducción en el riesgo de bajo peso al nacimiento exclusivamente. Además, el aumento de la concentración media de hemoglobina en el período prenatal aumentó linealmente el peso al nacimiento con una relación dosis-respuesta.

Las investigaciones que evalúan los posibles efectos de la exposición del mercurio intraútero en el crecimiento fetal son limitadas y han arrojado resultados inconsistentes (Gundacker et al, 2010; King et al, 2013). Algunos de estos estudios han mostrado una asociación inversa entre los niveles de mercurio en sangre de cordón umbilical y el crecimiento fetal (Oken et al, 2004; Ramon et al, 2009). Las diferencias que se han atribuido en los informes pueden ser causados por los cambios en los hábitos maternos en consumo de pescado, ya que muchas especies contienen nutrientes beneficiosos que pueden compensar el efecto tóxico del mercurio (Ramon et al, 2009). En este sentido, un estudio de cohorte realizado en mujeres embarazadas en Inglaterra ha demostrado una asociación inversa entre el consumo de pescado magro y el riesgo de retraso del crecimiento intrauterino (Rogers et al, 2004), mientras que el consumo de pescado graso se ha relacionado con crecimiento fetal disminuido (Halldorsson et al, 2007).

Algunos estudios afirman que se puede encontrar cadmio en sangre de cordón umbilical y que este elemento traza se asocia con una disminución de peso al nacimiento (Lin et al, 2011). No obstante, otros estudios no han encontrado esta relación (Durska, 2001).

1.9 Oligoelementos y preeclampsia

La preeclampsia complica entre el 2-7% de las gestaciones. Su incidencia en primigrávidas es de aproximadamente un 10% y en multigrávidas lo es aproximadamente del 5% (Semenovskaya, 2014). Es también responsable de gran parte de la morbilidad materna y perinatal: la incidencia es de 790 muertes maternas por cada 100.000 recién nacidos vivos (Wagner, 2004). La preeclampsia es una enfermedad multifactorial y multisistémica que afecta tanto a la madre como al feto por la disfunción vascular y por la restricción del crecimiento intrauterino (Noura et al, 2013).

Actualmente se desconoce la etiología y la fisiopatología de la preeclampsia, pero se postula que puede estar relacionada con una invasión trofoblástica anormal de los vasos uterinos, factores inmunológicos, vasculopatía, cambios inflamatorios, daños oxidativos del endotelio y cambios dietéticos y genéticos.

La preeclampsia ocurre durante el segundo y tercer trimestre del embarazo. Se caracteriza por el desarrollo de la presión arterial alta (hipertensión) y la proteinuria a partir de las 20 semanas de gestación. Cuando ésta se complica con la aparición de convulsiones se denomina eclampsia.

Las deficiencias de oligoelementos como el cinc, cobre, selenio y magnesio se han implicado en la patogenia de la preeclampsia, ya que el estrés oxidativo de la placenta ha demostrado ser una característica clave en su patogénesis (Hofmeyr et al, 2007; Mahomed et al, 2004). Un estudio realizado en Arabia Saudí por Al-Jameil et al (2014) informó la existencia de correlación entre los bajos niveles de cobre, cinc y manganeso en mujeres con preeclampsia. Los resultados de este estudio fueron consistentes con los de estudios anteriores (Acikgoz et al, 2006; Kumru et al, 2003; Ugwuja et al, 2010).

Los bajos niveles de cobre en mujeres con preeclampsia pueden estar asociados al deterioro de la capacidad antioxidante celular y del equilibrio oxidante/antioxidante (Gurer et al, 2001).

Tanto el manganeso como el cinc son necesarios para el correcto funcionamiento de enzimas como la superóxido dismutasa, que se requiere para eliminar los radicales libres. Las concentraciones deficientes de estos elementos durante el embarazo pueden causar deterioro del potencial antioxidante de las células por la disminución de la actividad superóxido dismutasa, así como aumento de la peroxidación lipídica, que conduce a aumento de la presión arterial (Thakur et al, 2004).

Varios estudios han informado que el bajo nivel de manganeso en suero puede causar acumulación de superóxidos que, en consecuencia, puede desencadenar preeclampsia y las complicaciones que ésta conlleva (Hofmeyr et al, 2007; Lou et al, 2008). Resultados similares fueron obtenidos por estudios anteriores para la deficiencia de cinc (Adeniyi, 1987; Chisolm et al, 1985; Diaz et al, 2002). En contraste con estos hallazgos de deficiencia, Ohad et al (2009) informaron de niveles más altos de Cu y Zn en los casos de preeclampsia.

Katz et al (2012) desarrollaron un estudio para medir los niveles de cobre, cinc, selenio y magnesio en mujeres con preeclampsia severa y en madres sanas. Las concentraciones de cinc resultaron ser significativamente más altas tanto en sangre venosa como en sangre arterial de cordón umbilical en el grupo de neonatos con preeclampsia, pero no hubo diferencias significativas en sangre materna. Las concentraciones de selenio y cobre fueron significativamente más bajas en todas las muestras del grupo de preeclampsia (niños y madres), a excepción del cobre en sangre materna, que fue más alta. Esta investigación concluyó que la preeclampsia severa estaba asociada a concentraciones anormales de cinc, selenio y cobre, pero son necesarios más estudios aleatorizados para constatarlo con mayor firmeza.

Con respecto al magnesio, este elemento traza tiene establecido su papel en la obstetricia, considerándose esencial para el bienestar fetal. La deficiencia de magnesio puede estar posiblemente asociada con preeclampsia, parto pretérmino y, posiblemente, bajo peso al nacer (Chien et al, 1996; Fawcett et al, 1999). Un estudio realizado en la India documentó una reducción significativa en la mortalidad materna con el uso de sulfato de magnesio (Sawhney et al, 2000). La introducción de una dosis baja de sulfato de magnesio en el tratamiento de gestantes con eclampsia ha reducido las tasas de mortalidad materna del 16% al 8% en Bangladesh. Hallazgos similares se han

documentado en otros estudios realizados en Bangladesh y China (Begum et al, 2000; Lu et al, 2000).

Diversos estudios realizados con gestantes en países desarrollados han señalado, después de la suplementación de magnesio, menores tasas de nacimiento pretérmino, hospitalización materna durante el embarazo, una menor incidencia de bajo peso al nacimiento y pequeños para la edad gestacional, así como menores tasas de ingresos del recién nacido en la unidad de cuidados intensivos (Conradt et al, 1985; Doyle et al, 1989; Makrides et al, 2000; Spatling y Spatling, 1988).

Por el contrario, otro estudio de suplementación no evidenció diferencias significativas en cuanto a la incidencia de preeclampsia, retraso del crecimiento fetal, parto prematuro, peso al nacimiento y el número de ingresos neonatales en la unidad de cuidados especiales, en comparación con los controles del grupo placebo. El estudio no documentó ninguna mejora en el resultado gestacional con los suplementos de magnesio (Turnlund, 1994). Según Sibai et al (1989), durante el segundo y tercer trimestre del embarazo el suplemento de magnesio no tuvo ningún efecto sobre el resultado del mismo.

1.10 Oligoelementos y neurodesarrollo

Un gran número de compuestos químicos interfieren el desarrollo normal del sistema nervioso central (SNC). Entre ellos, se incluyen metales pesados, alcohol, solventes, nicotina, narcóticos, cocaína, marihuana, algunos medicamentos, pesticidas, etc. Unos pocos de ellos han sido ampliamente estudiados (plomo, mercurio, alcohol, nicotina, cocaína, opioides, etc.), mientras que la gran mayoría apenas han sido investigados.

Por lo general, las pruebas experimentales de toxicidad examinan de forma aislada un compuesto químico. Aunque este enfoque es importante, no informa de los efectos sobre el neurodesarrollo de las exposiciones a mezclas de distintos compuestos. La exposición ambiental a los metales es ubicua (tierra, agua y aire), así como la interacción con todos los seres vivos. El cuerpo humano contiene mezclas de metales pesados y compuestos químicos orgánicos sintéticos en todos sus componentes

celulares y humorales. La investigación epidemiológica es complicada por la inexistencia de personas no expuestas que sirvan como controles con un propósito comparativo.

Es importante destacar que muchos compuestos químicos con toxicidad neurológica nunca han sido estudiados con respecto a los efectos sobre el neurodesarrollo y las funciones cerebrales (Roe et al, 1997; Tilson, 1999). La bibliografía pediátrica habitual carece de información útil para consultar sobre el efecto de algunos elementos pesados y la neurotoxicidad. Los efectos de algunos metales pesados sobre el SNC fetal pueden aparecer con niveles inferiores a los considerados como 'seguros'. Deben recomendarse alternativas para minimizar y eliminar los metales neurotóxicos del entorno infantil (Ortega García et al, 2005).

Plomo. El Pb atraviesa con facilidad la placenta y penetra en el cerebro fetal, interfiriendo en su desarrollo normal. Entre los efectos adversos ocasionados por la exposición fetal e infantil, destacan: disminución del cociente intelectual (CI), disminución del rendimiento y fracaso escolar, hiperactividad, déficit de atención, trastornos de aprendizaje y atención y cambios de conducta, tales como impulsividad, agresividad y conducta delictiva (Lin-Fu, 1973; Needleman et al, 1979; Ortega García et al, 2005).

No existe ningún umbral mínimo de seguridad para la exposición fetal e infantil al Pb con respecto al deterioro cognitivo (Filkelstein et al, 1998).

En cuanto al mecanismo de neurotoxicidad, puede decirse que los efectos del Pb sobre el desarrollo del SNC intrauterino influyen tanto sobre la estructura celular del cerebro como sobre la química neuronal (Silbergeld, 1992). Los efectos estructurales incluyen alteración en la proliferación celular, en la diferenciación, formación de sinapsis y apoptosis celular. Los efectos neuroquímicos incluyen niveles alterados de neurotransmisores (acetilcolina, dopamina, glutamato) y una densidad alterada del receptor de dopamina en distintas partes cerebrales (Lucchi et al, 1986). El Pb también es un potente inhibidor del receptor NMDA (glutamato). Se ha observado una mayor captación de Pb por el cerebro fetal que por el postnatal (Rossouw et al, 1987).

Mercurio. Datos del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (Center for Disease Control, CDC) establecen que, en EE.UU., un 10% de mujeres fértiles presentan, hoy en día, niveles de Metilmercurio (MeHg) suficientemente altos para causar efectos neurológicos adversos en su descendencia (U.S. Centers for Disease Control and Prevention, 1999). En marzo de 2001, la Food and Drug Administration (FDA) publicó que las mujeres en edades fértiles, embarazadas, madres lactantes y los niños pequeños no deberían comer peces grandes (tiburón, pez sierra, caballa, emperador, atún, caballa, perca, lucio y algunos pescados azules), pues contienen suficiente cantidad de MeHg para aumentar el riesgo de lesionar el SNC fetal e infantil (US Food and Drug Administration, 2001, 2003). Estudios recientes sugieren que el Hg no tiene un umbral por debajo del cual no aparezcan efectos adversos sobre la salud.

Según estudios realizados en humanos, estos compuestos destacan por su carácter neurotóxico, aunque también afectan en menor grado a los riñones, sistema inmunológico y cardiovascular. Los efectos más preocupantes de la exposición crónica al MeHg se asocian a la mayor vulnerabilidad del cerebro fetal. La exposición crónica al MeHg es especialmente tóxica para el SNC inmaduro, estando catalogado como un potente agente teratógeno del cerebro fetal, ya que puede producir alteraciones en su desarrollo estructural (necrosis focal de las neuronas corticales cerebrales y cerebelosas, con destrucción de las células gliales perifocales) y funcional (interferencia con el proceso de migración de las capas neuronales corticales y subcorticales) (Grandjean et al, 1993, 1998, 1999; Steuerwald et al, 2000).

La exposición a Hg en dosis altas provoca retraso mental, alteraciones visuales y de la marcha. En dosis bajas, afecta al lenguaje, la atención y la memoria (Geier et al, 2009; Myers et al, 2009; Oken et al, 2008). Estos hallazgos anatómicos y fisiológicos, detectados en un inicio en animales de experimentación, desgraciadamente fueron ratificados años más tarde en las autopsias infantiles practicadas tras los accidentes de Minamata (Japón), Iraq y Guatemala (Cox et al, 1989; Kakita et al, 2000). Jedrychowski et al (2007) encontraron que niveles de mercurio en sangre de cordón umbilical por encima de 0,9 µg/l se asociaron con retraso neurocognitivo y psicomotor de niños con 12 meses de edad, pero este efecto fue menos visible en los exámenes posteriores a los 24 y 36 meses de edad.

Manganeso. Muchos estudios revelan que existe una relación entre los niveles excesivos de exposición al Mn en la infancia y trastornos de hiperactividad y aprendizaje.

La sobreexposición a Mn en las primeras etapas de la vida produce disminución en los niveles de los neurotransmisores dopamina, norepinefrina y serotonina. Las alteraciones sobre los neurotransmisores durante la gestación provocan un cambio estructural mucho mayor en el sistema nervioso fetal y explican la importante función de los neurotransmisores en el desarrollo cerebral fetal (Pahren et al, 1979; Tagliaferro et al, 1998). El Mn provoca trastornos de hiperactividad y aprendizaje (Ortega García et al, 2001).

Cadmio. Es un metal que no tiene función biológica esencial, pero que puede interferir con el desarrollo neurológico normal por distintos mecanismos.

Sus efectos neurotóxicos fetales son el resultado indirecto del deterioro de la función placentaria, de disfunciones enzimáticas y de la alteración metabólica de elementos traza esenciales para el SNC. La exposición al Cd produce trastornos de hiperactividad, alteraciones de la capacidad verbal y disminución del coeficiente intelectual. Las concentraciones de cadmio en sangre de cordón por encima de 0,29 mg/L se asociaron con puntuaciones más bajas en el test de Apgar al minuto y a los 5 minutos.

Un estudio reciente realizado por Al-Saleh et al (2011) basado en 1.578 bebés con una media en la concentración de cadmio en sangre de cordón de 0,78 g/L mostró que los recién nacidos con bajas puntuaciones en el test de Apgar a los 5 minutos tenían niveles más altos de cadmio en la sangre del cordón umbilical. Curiosamente los resultados de Ortega et al (2005) son consistentes con estos hallazgos. Aunque los mecanismos biológicos subyacentes que expliquen esta asociación no están claros, las posibles implicaciones clínicas de este hallazgo aconsejan la realización de más estudios.

Hasta aquí, nos hemos centrado en lo que ocurre con la exposición de metales pesados en el desarrollo neurológico. La deficiencia de micronutrientes es también una preocupación fundamental para las madres y niños de todo el mundo. Se estima que el 25% de la población mundial sufre de anemia, el 33% tiene una ingesta de cinc insuficiente, y el 30% tiene una carencia del aporte de yodo. Cada uno de estos micronutrientes está involucrado en el desarrollo cerebral y las deficiencias pueden perjudicar las habilidades del plano cognitivo, motor y socioemocional (Brown et al, 2004; De Benoist et al, 2008; World Health Organization; 2008).

Hierro. La evidencia indica que la anemia durante la infancia es un sólido factor de riesgo para el deterioro cognitivo, motor y socio-emocional, tanto a corto como a largo plazo. Evitar este tipo de consecuencias puede requerir el control del déficit de hierro antes de que sea grave o crónico, a partir de la ingesta adecuada de hierro materno antes y durante el embarazo y la realización de la ligadura tardía de cordón al nacimiento (Dewey y Chaparro, 2007). Otros elementos de una estrategia adecuada incluyen la prevención de parto prematuro, aporte postnatal con alimentos complementarios ricos en hierro y facilitar aquellos servicios que promuevan las interacciones madre-hijo (Black et al, 2011).

Los suplementos prenatales de hierro pueden prevenir determinadas situaciones carenciales. De tres ensayos aleatorios sobre suplementos de hierro materno durante el embarazo, sólo uno mostró resultados positivos en el desarrollo cognitivo posterior de los recién nacidos. En ese ensayo, que se llevó a cabo en un área de Nepal con una alta prevalencia de anemia, los niños de 7-9 años cuyas madres habían recibido hierro, ácido fólico y vitamina A tuvieron un mejor desarrollo en el plano de la la inteligencia verbal, ejecución funcional y capacidad motora que aquellos cuyas madres habían recibido vitamina A exclusivamente (Christian et al, 2010).

Dos ensayos, uno en China y otro en Australia, no lograron demostrar efectos de la suplementación de hierro materno en las puntuaciones de las Escalas Bayley para el Desarrollo Infantil (Bayley Scales for Infant Development, BSID) a los 3, 6 y 12 meses de edad o en test de inteligencia a los 4 años de edad (Li et al, 2009; Zhou et al, 2006).

Yodo. El yodo es necesario para la síntesis de hormonas tiroideas, que son esenciales a su vez para el desarrollo del sistema nervioso central, incluyendo la neurogénesis, migraciones neuronales, crecimiento de dendritas y axones, la sinaptogénesis, y mielinización. Las mujeres embarazadas con una deficiencia severa de yodo pueden presentar una cantidad insuficiente de hormonas tiroideas, dando lugar a cretinismo en el niño. El cretinismo es un trastorno caracterizado por retraso mental, deformidades faciales, sordomudez, y un crecimiento severamente atrofiado. El cretinismo no se puede revertir después del nacimiento, pero se puede prevenir con la corrección de la deficiencia de yodo antes de la concepción (Pharoah et al, 1971). Incluso en ausencia de cretinismo, la evidencia sugiere que la deficiencia de yodo crónica afecta negativamente a la inteligencia. Un meta-análisis mostró una diferencia de 13,5 puntos en test de inteligencia entre aquellas personas con suficiente aporte y déficit de yodo (Bleichrodt et al, 1994).

El embarazo parece ser un período sensible en lo que respecta a los efectos de la deficiencia de yodo en el desarrollo neurológico. En una región en China con deficiencias de yodo, los niños de 4-7 años de edad, cuyas madres recibieron suplementos de yodo durante el embarazo, realizaron mejores pruebas psicomotoras que aquellos niños que recibieron estos suplementos a partir de los 2 años de edad (O'Donnell et al, 2002).

Aunque carecemos de estudios controlados bien diseñados, la evidencia parece indicar que es necesaria una ingesta adecuada de yodo para el desarrollo normal del cerebro. La prevención de la deficiencia de yodo, especialmente para las mujeres embarazadas, es una importante manera de promover el desarrollo saludable del cerebro en los niños de todo el mundo.

Cinc. De los iones cerebrales, el cinc es el cuarto más frecuente. Éste contribuye a la estructura y función del cerebro a través de su papel en la síntesis de ADN y ARN y el metabolismo de proteínas, carbohidratos y grasas (Sandstead et al, 2000).

El cinc es un nutriente esencial para el desarrollo del sistema nervioso central a través de las enzimas dependientes de él. Hay proteínas dependientes del cinc que se

requieren para la neurotransmisión y neurotransmisores dependientes del cinc en las fibras del hipocampo. Además, el cinc también parece estar implicado en el metabolismo de las hormonas tiroideas (Morley et al, 1980), en el transporte de la hormona, receptor de unión y en el metabolismo y la producción de un neurotransmisor precursor (Golub et al, 1995). Todo ello influye en el correcto funcionamiento del SNC.

Aunque la deficiencia materna e infantil de cinc en animales causa déficits en la actividad, la atención, el aprendizaje y la memoria, la evidencia hasta la fecha a partir de estudios en humanos no ha demostrado efectos positivos de los suplementos de cinc durante el embarazo o la infancia en el desarrollo cognitivo del niño (Golub et al, 1995).

Cobre. Del cobre, que es importante para algunos procesos del neurodesarrollo, no existen estudios en poblaciones humanas con la suficiente exigencia de calidad.

2. Rotura prematura de membranas

Uno de los eventos que caracteriza las etapas tardías del trabajo del parto humano normal es la rotura de las membranas corioamnióticas que, en forma sincrónica con otros eventos como las contracciones uterinas y la dilatación y borramiento del cérvix uterino, preceden a la expulsión del feto. En la mayoría de los casos, las membranas permanecen íntegras hasta que el cuello uterino desarrolla dilatación avanzada. Sin embargo, en algunas mujeres la rotura de estas estructuras se presenta en ausencia de todos los demás eventos que caracterizan el trabajo de parto, lo que ha permitido identificar la existencia de la patología obstétrica denominada Rotura Prematura de Membranas (RPM). En este sentido, la RPM representa un ejemplo clínico que permite deducir la existencia de mecanismos fisiológicos diferentes involucrados en la regulación sincrónica de la actividad del miometrio, el cérvix y las membranas fetales durante el trabajo de parto normal. De este modo, la RPM se define como una condición patológica en la que se han inducido los mecanismos de la rotura de las membranas, en ausencia de activación de los que controlan las contracciones del miometrio y el borramiento del cérvix (véase Figura 5).

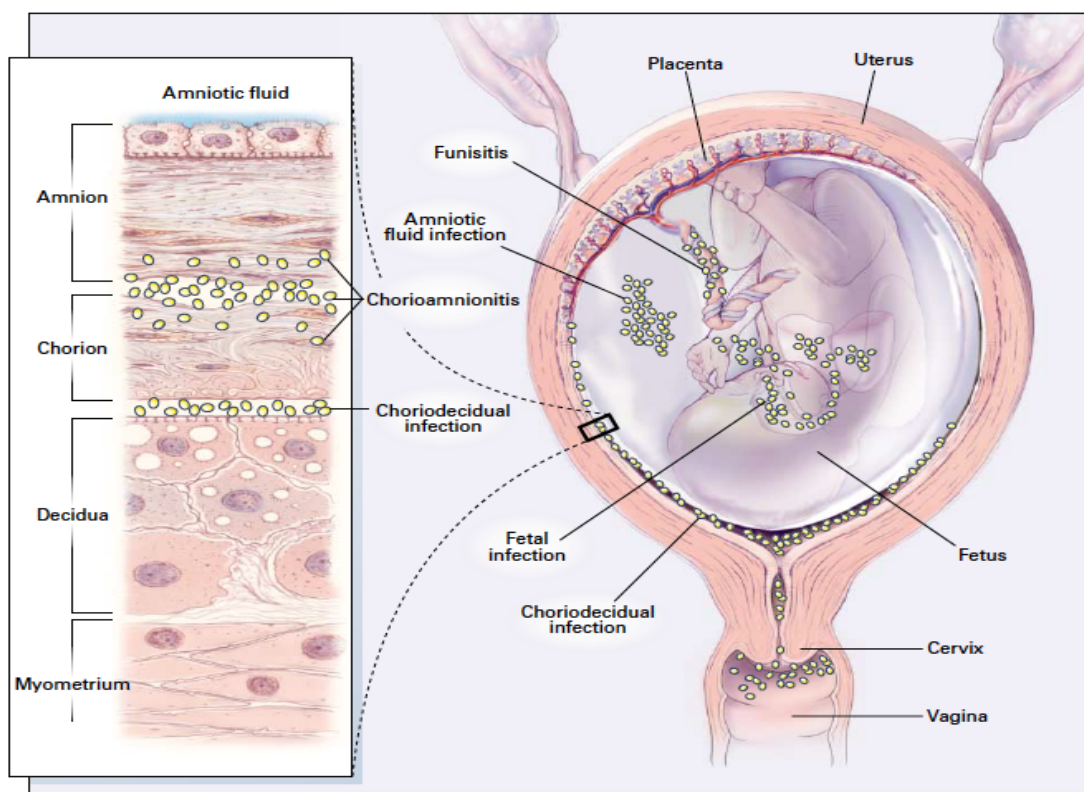


Figura 5. Gráfico ilustrativo de las membranas implicadas en el proceso de gestación (fuente: RL Goldenberg, JC Hauth, WW Andrews. Intrauterine infection and preterm delivery. *New Engl J Med.* 2000;342:1500-7, pág. 1501).

La rotura prematura de membranas ovulares (RPM) se define como la solución de continuidad espontánea de la membrana corioamniótica antes del inicio del trabajo de parto, independientemente de la edad gestacional. Antes de las 37 semanas de gestación suele referirse como rotura prematura de membranas pretérmino (RPMP). El intervalo entre rotura de membranas e inicio del trabajo de parto se conoce como intervalo de latencia. Desafortunadamente, el intervalo mínimo de latencia que se requiere antes de poder diagnosticar RPM no se ha definido con claridad en las publicaciones obstétricas. Desde el punto de vista histórico, este intervalo ha variado de cero a doce horas (Breese, 1961; Fayez et al, 1978; Gunn et al, 1970; Morales et al, 1989; Webster, 1969).

Esta circunstancia es una de las muchas causas que dificultan la comparación de informes publicados respecto de la epidemiología y las estrategias de tratamiento de pacientes con RPM. En la actualidad se requiere de un intervalo de latencia mínimo, o

de una hora, para cumplir con la definición de RPM (Cowett et al, 1976; D'Alton, 1986; Gibbs et al, 1989; Main et al, 1991).

El período de latencia se relaciona con la edad gestacional, siendo mayor en los embarazos pretérmino (más de 48 h en el 50% de los casos) que en los embarazos a término (menos de 48 h en el 90% de los casos) (Hannah et al, 1996).

2.1 Incidencia

Los datos de incidencia de RPM documentados en la literatura son muy variables, posiblemente debido a diferencias en la demografía de la población, el tipo de estudio (prospectivo o retrospectivo), el método de diagnóstico, el intervalo de latencia para cumplir con la definición de RPM y la edad gestacional en que se hizo el diagnóstico. La incidencia varía entre 8 y 10% para todos los partos. Aproximadamente el 80% de los casos de RPM ocurren a término y van seguidos del inicio del parto en cerca del 90% de las ocasiones en un plazo de 48 h (ACOG, 2007).

La RPM es tal vez el diagnóstico aislado más frecuente que se asocia con trabajo de parto prematuro y complicaciones neonatales (Garite et al, 1987). La RPM pretérmino complica a casi el 3% de los embarazos y es la causa de una tercera parte de los nacimientos prematuros, provocando una serie de complicaciones perinatales y neonatales, incluyendo 1-2% de riesgo de muerte fetal.

Se da una mayor morbilidad materna y fetal o neonatal relacionada con RPM. La complicación materna más preocupante desde una perspectiva de tratamiento es la corioamnionitis, cuya incidencia en la población obstétrica general varía del 0,5 al 1%, mientras que en pacientes con RPM, la incidencia alcanza del 3 al 31 % (Gibbs et al, 1989).

2.2 Membranas fetales

El humano, al igual que todos los vertebrados, desarrolla durante el embarazo tejidos extraembrionarios que incluyen la placenta y las membranas fetales, que nutren

al feto con diferentes mecanismos de mantenimiento de su homeostasis. Las membranas fetales, que delimitan la cavidad amniótica, están constituidas por dos tejidos adosados, el amnios y el corion, cada uno de los cuales está formado por diferentes tipos celulares, incluyendo células epiteliales, mesenquimatosas, inmunológicas y trofoblastos, contenidos en una matriz extracelular prominente cuyo principal componente es el colágeno. Las membranas corioamnióticas conforman una estructura de protección mecánica que, junto con el líquido amniótico aislan al feto durante la gestación. Además, se sabe que son tejidos sumamente dinámicos, que secretan diferentes sustancias hacia el líquido amniótico y son capaces de responder a diferentes señalizaciones bioquímicas provenientes tanto del feto como de la madre (Bowen et al, 2002).

2.3 Estructura del corioamnios

Las membranas fetales humanas se definen como el conjunto de amnios y corion, dos tejidos superpuestos que funcionan como una unidad estructural y funcional. Puede afirmarse que el amnios soporta la mayor parte de la función mecánica de las membranas, aunque también se encarga de la comunicación con el lado fetal. El corion, por su lado, se encuentra anclado a la cavidad uterina en contacto con la decidua.

El **amnios** (Wynn, 1974) está compuesto de cinco capas histológicas, no tiene vasos sanguíneos, ni se encuentra innervado y obtiene los nutrientes que requiere del líquido amniótico. Enumeramos sus cinco capas (Figura 6):

- 1) La capa más interna y cercana al feto es el epitelio amniótico.
- 2) Éste descansa sobre una membrana basal compuesta de una mezcla compleja de colágenas tipo III, IV y glucoproteínas como laminina, nidógeno y fibronectina.
- 3) Adyacente a ésta se encuentra la capa compacta, constituida de tejido conectivo organizado en una red tridimensional, compuesto de colágenas tipo I, III, IV, V, VI y fibronectina. El modo como se encuentran dispuestas hace que esta porción histológica tenga gran capacidad tensil y, por ello, es responsable de mantener la integridad mecánica del amnios.
- 4) La cuarta capa, capa fibroblástica, está constituida por células mesenquimatosas.

5) La capa esponjosa o intermedia se encuentra entre el amnios y el corion, tiene abundante contenido de proteoglicanos y colágena no fibrilar. Ésta es la región que permite que el amnios se deslice sobre el corion y así absorber el estrés mecánico asociado a los movimientos fetales.

El **corion** (Alger et al, 1986) es la zona histológica más gruesa de las membranas fetales y tiene mayor celularidad que el amnios. La porción en contacto con la capa esponjosa del amnios es una estructura tipo membrana basal que delimita la capa de trofoblastos. Además es posible encontrar cantidades variables de células marcadores de leucocitos, que en su mayoría son macrófagos, así como fibroblastos, todos contenidos en una matriz extracelular laxa con colágenas tipo I, III, IV y proteoglicanos (Bryant-Greenwood, 1998). En la Figura 1 se presenta de forma esquematizada las distintas capas histológicas que constituyen amnios y corion de las membranas fetales.

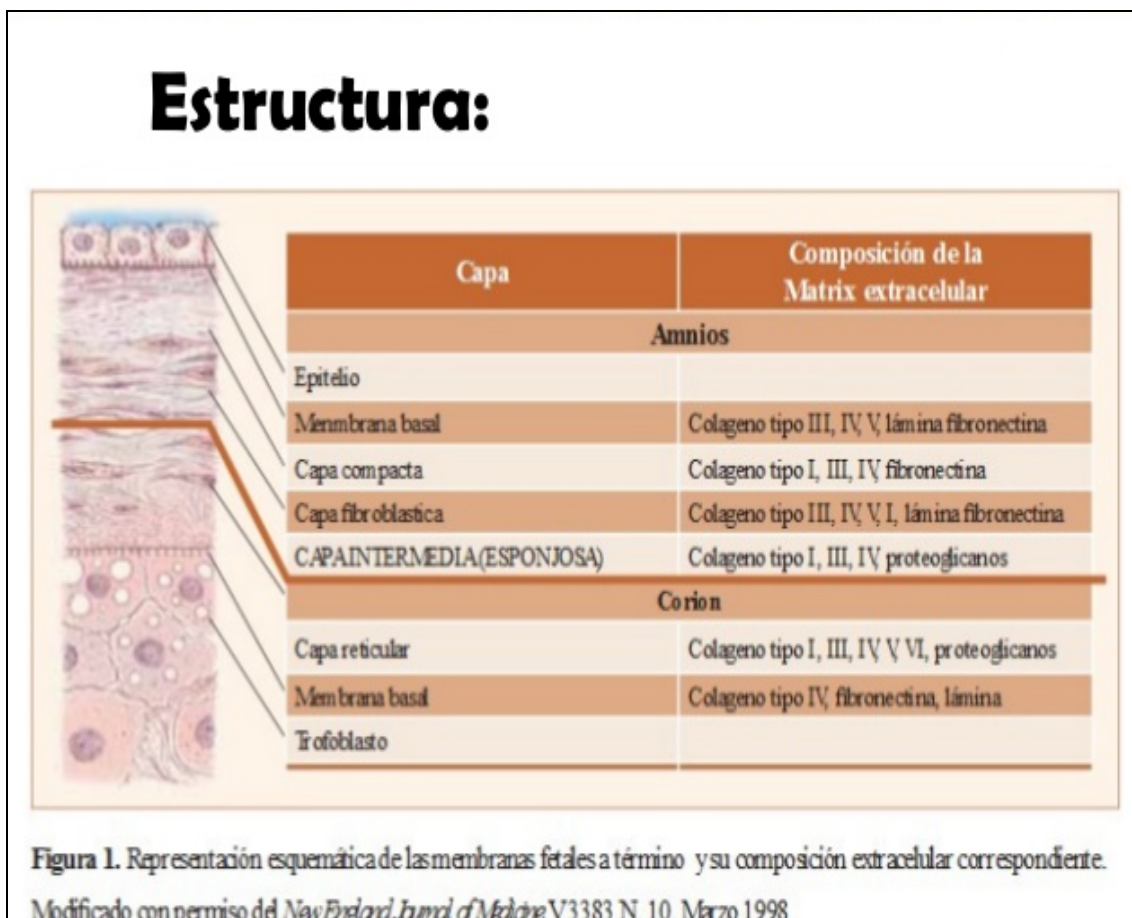


Figura 6. Representación esquemática de las membranas fetales a término (fuente: *N Engl J Med.* 1998;3383(10)).

2.4 Fisiopatogenia

Tanto el mecanismo normal que condiciona la rotura de las membranas corioamnióticas como el que promueve la RPM son aún pobremente entendidos. Sin embargo, a lo largo de los últimos años se ha conformado un panorama explicativo complejo que permite entender que la RPM tiene origen multifactorial, pero involucra un mecanismo central final en el que la matriz extracelular que mantiene la fuerza mecánica de las membranas pierde su integridad y se debilita (Parry y Strauss, 1998). Son varias las opciones documentadas que culminan en el desarrollo del defecto que explica la pérdida súbita de la continuidad de las membranas fetales en la RPM.

Como factores de riesgo de RPM se han descrito la reducción de concentraciones de colágeno, la alteración de los perfiles colágeno reticular, el incremento de las concentraciones de biomarcadores de daño oxidativo y los extensos cambios en el metabolismo del colágeno (Parry y Strauss, 1998; Stuart et al, 2005; Vadillo-Ortega et al, 1990).

Todas las investigaciones coinciden en que el evento causal final se relaciona con la pérdida de la fuerza mecánica tisular que debería ser soportada por las fibras de colágena altamente empaquetadas que conforman la matriz extracelular del corioamnios y que, bajo estas circunstancias, no son suficientes para amortiguar el peso del feto, del líquido amniótico y de las fuerzas generadas por la contracción del miometrio.

2.4.1 Fisiopatogenia física

Existen pruebas de que las membranas son más resistentes antes de término que a término (Kitzmilller, 1984). En la mayor parte de embarazos la rotura de las membranas fetales se produce espontáneamente a término durante la fase activa del parto. La rareza relativa de RPM hizo que los investigadores examinaran las propiedades físicas de las membranas fetales para aclarar si la rotura depende de una debilidad inherente del material membranoso o de defectos locales en la estructura de la membrana. Los primeros estudios demostraron que, si bien el amnios, en general tiene un espesor que es la tercera parte del espesor del corion, es cinco veces más fuerte en su capacidad de resistir tensiones (Polishuk et al, 1962).

Debido a su contenido de elastina, las membranas tienen la capacidad de adaptarse a deformaciones con recuperación de su estado original. Durante el embarazo las membranas corioamnióticas están sometidas a tensiones múltiples, por ejemplo las contracciones intermitentes de Braxton-Hicks son fisiológicas durante toda la segunda mitad del embarazo. Existe la tensión crónica normal resultante de la expansión fisiológica propia del crecimiento del feto y la acumulación de líquido amniótico. Estos autores señalaron cambios histológicos definidos en las membranas después de estiramientos repetitivos, en forma de pérdida de epitelio de superficie del amnios, separación y rotura de la capa compacta y separación entre el amnios y la capa esponjosa.

Existen estudios que se han dedicado a la energía superficial, presión de rotura y distensión global de las membranas en mujeres que sufrieron RPM. Hills y Cotton (1984) describieron que las membranas de pacientes con RPMP tienen una mayor energía superficial que las de grupos control. La menor energía superficial vuelve menos susceptibles a las membranas a la abrasión y el desgaste. Una elevada energía superficial con baja concentración de sustancia tensoactiva, que se observa en etapas tempranas de la gestación, quizá predisponga a la paciente a la rotura de membranas. Al-Zaid et al (1980) demostraron que la presión de ruptura es menor a la correspondiente a término, independientemente de que las membranas tienen el mismo contenido de colágena. Cabe la posibilidad de que un defecto local en el cuello uterino o cerca de él, predisponga a la rotura.

Lavery y Miller (1979) demostraron que las pacientes con RPM tenían membranas menos gruesas pero mayor tolerancia a la distensión, en comparación con el grupo control. Ellos plantearon la hipótesis según la cual, debido a que las membranas pretérmino pueden tolerar mayor presión, la RPMP debe ser secundaria a un defecto local, el cual produce disminución del grosor y aminora la tolerancia a la distensión en el punto de rotura.

Topozada et al (1970) describieron este hallazgo en un estudio de pacientes con trabajo de parto a término, observando un cambio histológico definitivo de las membranas después de la distensión repetida, con separación y fragmentación de la

capa compacta y desprendimiento del amnios de la capa esponjosa.

En un intento por definir mejor la alteración de las membranas fetales que pudiera explicar la producción de RPM, Bou-Resli et al (1981) compararon la ultraestructura de membranas rotas a término y membranas rotas prematuramente utilizando microscopios óptico y electrónico. Aunque el espesor del epitelio amniótico estaba disminuido en las membranas que se habían roto prematuramente, la principal diferencia se hallaba en la capa de tejido conectivo, donde láminas enteras de haces de colágena y de fibrillas estaban disueltas o sustituidas por material amorfo. A nivel de la rotura, la disposición laminar ya no era manifiesta, y sólo quedaban fibrillas aisladas dispersas al azar. Estos investigadores llegaron a la conclusión de que, si bien en la RPM se conserva la actividad celular, la matriz extracelular principalmente de colágena cambia por completo de orientación. Si este proceso tuviera lugar en fase temprana del embarazo podría originar RPM antes de término. Artal et al (1976) examinaron específicamente el lugar de rotura en la RPM a término, y comprobaron que el espesor de las membranas estaba disminuido cerca de las zonas de rotura.

2.4.2 Fisiopatogenia química

Alteraciones bioquímicas en el tejido conectivo de sostén del amnios podrían afectar sus propiedades biofísicas. Todavía no se ha determinado el papel exacto de la colágena y la integridad de las membranas en RPM. No obstante, parece que los cambios en el contenido de colágena, su producción y mantenimiento tal vez afecten la susceptibilidad a RPM. Es más, es posible que estos cambios ocurran sólo localmente en el sitio de rotura.

Skinner et al (1981) informaron que el contenido de colágena era mucho menor en pacientes con RPM que en quienes no tenían ese trastorno. La disminución del contenido de colágena y la conservación de su arquitectura puede predisponer a las mujeres a RPM. Como el contenido de colágena no estaba afectado por la duración de la RPM, consideraron que la disminución de colágena era causa, y no consecuencia, de la RPM y, muy probablemente, estaba mediada por cambios estrogénicos.

Kanayama et al (1985) notaron que la colágena subtipo 3 estaba muy disminuida en gestantes con RPM. Puesto que ésta es una colágena intersticial que sustenta tejidos, es posible que una disminución de su contenido debilite las propiedades tensoras de la membrana corioamniótica.

Artal et al (1979) presentaron más detalles que confirman que los cambios bioquímicos son la causa de alteraciones en las propiedades biofísicas. Otros investigadores han sugerido que, de hecho, no hay diferencia en el contenido de colágena entre pacientes con RPM y la población normal, sino que más bien hay un aumento de la actividad colagenolítica en las primeras (Topozada et al, 1970). Los autores llegaron a la conclusión de que algunas enzimas existentes en el corioamnios o en el líquido amniótico podían despolimerizar la colágena destruyendo las zonas de colágena de uniones cruzadas. Como algunos microorganismos existentes en la flora cervicovaginal también producen proteasa, la exposición de las membranas a la microflora de las vías genitales pudiera debilitar localmente la membrana y causar RPM.

Contamos con suficiente evidencia para sostener que la disminución en la cantidad de colágena se asocia en la mayor parte de los casos de RPM con incremento en la actividad de degradación de esta proteína.

2.4.3 Metaloproteasas de matriz extracelular

Diferentes autores han señalado la participación central de la inducción de degradación de tejido conectivo como un fenómeno que acompaña a muchos casos con RPM. Bajo condiciones fisiológicas, la degradación de la matriz extracelular se realiza de un modo altamente regulado, con la participación de un grupo de enzimas denominadas metaloproteinasas de matriz extracelular o MMP, de sus siglas en inglés '*matrix metalloproteinases*' (Woessner et al, 2000). Las MMP tienen características funcionales muy semejantes, todas ellas actúan en condiciones fisiológicas, dependen de Zn^{2+} y Ca^{2+} , y muestran gran especificidad por su sustrato. Todos los miembros de esta familia son secretados como proenzimas, las cuales son activadas por otros miembros de la familia o por diferentes proteasas extracelulares, como el activador de plasminógeno.

Las MMP hidrolizan al menos un componente de la matriz extracelular y, en la mayoría de los casos, el catabolismo de diferentes componentes de ésta es el resultado de la acción concertada entre varias enzimas. Por lo general, las MMP se pueden dividir en cuatro grupos:

- a) Colagenasas intersticiales (MMP-1 y MMP-8) que cortan la triple hélice de la colágena fibrilar (I y III), que es posteriormente degradado por el segundo grupo;
- b) Gelatinasas (MMP-2 y MMP-9), las cuales también degradan la colágena tipo IV, fibronectina y proteoglicanos;
- c) Estromelisininas (MMP-3, MMP-7 y MMP-10) que degradan específicamente proteoglicanos y fibronectina;
- d) Proteasas con secuencias de homología con las MMP mencionadas, pero contienen un dominio que permite su anclaje en la membrana celular y, por ello, se localizan en este compartimento celular.

El incremento de actividad de la MMP-9, podría tener relevancia fisiológica y fisiopatológica en el mecanismo de rotura de las membranas a través de la degradación de la colágena tipo IV, que se encuentra distribuida como un retículo en las distintas capas histológicas de las membranas y así conforma un contenedor tridimensional de las fibras de colágenas tipo I y III, que son más abundantes pero contenidas dentro del retículo mencionado. Al romper la MMP-9 la matriz de colágena tipo IV, no solamente se disgregan las colágenas fibrilares, sino que los proteoglicanos tenderán a hidratarse y disgregar aún más la estructura de la matriz extracelular.

La actividad de la MMP-9 o gelatinasa de 92 kDa se incrementa considerablemente en membranas fetales humanas alrededor del momento del parto normal y, en cambio, es indetectable en membranas de edades gestacionales antes del término (Vadillo-Ortega et al, 1995). Al analizar la expresión de esta enzima en las membranas con RPM, fue posible demostrar que la MMP-9 se sobreexpresa en estos casos de manera independiente a la edad gestacional. La actividad de las MMP es inhibida por los inhibidores tisulares (TIMP), los cuales forman un complejo estequiométrico (1:1) con las enzimas e impiden su actividad proteolítica.

Recientemente se ha objetivado que el incremento en la actividad de MMP-9 en líquido amniótico se presenta tanto en pacientes normales como en aquellas que desarrollaron rotura prematura. Sin embargo, en los casos de RPM, este incremento se encuentra acompañado de disminución en la actividad de TIMP-1, que inclinaría la balanza del metabolismo de colágena hacia su degradación aumentada (Vadillo-Ortega et al, 1996) y que la concentración de MMP-9 en líquido amniótico es dos veces mayor en aquellas mujeres con RPM pretérmino que en las que el embarazo llegó a término.

Toda esta información apoya la hipótesis de que la expresión anormal de la MMP-9 en el corioamnios se asocia directamente con la rotura prematura de membranas. A continuación, se hace necesario caracterizar la serie de mecanismos moleculares que acompañan e inducen esta sobreexpresión de MMP en el entorno del corioamnios durante la RPM.

2.5 Etiología

Aunque ningún factor aislado parece ejercer un papel singularmente prominente en la etiología de la RPM, es posible apuntar ciertos factores predisponentes para la aparición de la rotura prematura.

Resulta un tanto frustrante que uno de los principales factores predisponentes de RPMP sea el antecedente de este trastorno. En este sentido se han conseguido algunos avances en la prevención del inicio y la recidiva de RPMP en las embarazadas.

Así pues, todavía no se ha alcanzado una respuesta definitiva sobre “cómo” y “por qué” ocurre este trastorno. Lo que resulta evidente es que la integridad de las membranas se debilita permitiendo la rotura en zonas susceptibles locales. Es más, conforme se debilitan las membranas, cualquier factor que aumente el estrés mecánico en esa zona ciertamente predispone a la rotura temprana. En tanto continúa la investigación sobre las teorías antes postuladas, ha de persistirse en nuevos trabajos que estructuren la base del conocimiento de complicaciones obstétricas significativas. Desafortunadamente, el conocimiento actual de la etiología de RPM es inadecuado, según evidencia la alta tasa de recidivas (Alger et al, 1986). Los trabajos dedicados a

factores nutricionales maternos sugieren que estos esfuerzos quizá tengan impacto en el advenimiento de RPM.

A continuación, se presenta un breve recorrido por los factores potencialmente causantes de RPM para posteriormente centrarnos en la causa etiológica que nos mueve en este estudio, como es la rotura prematura de membranas y su relación con los oligoelementos.

Peso corporal. Estudios previos han informado de que el IMC de menos de 20 es un factor definido para la RPM en algunos pacientes (Gosselink et al, 1994; Kovavisarach et al, 2000). Otros estudios, sin embargo, muestran en madres obesas una mayor prevalencia de otras enfermedades y complicaciones como cesárea, diabetes, hipertensión y RPM (Kliegman et al, 1985; Tamura et al, 2004). Rahmanian et al (2014) no apoyan estos hallazgos y no encuentran relación entre IMC y RPM.

Edad. Se ha sugerido que la tasa más alta de RPM se observa en las mujeres embarazadas de 26 a 35 años de edad y el riesgo de RPM disminuye a medida que la edad de embarazo aumenta más allá de 35 años (Doody et al, 1997; Mahmoodi et al, 2010). Sin embargo, Gosselink et al (1994) y Rahmanian et al (2014) afirman en sus estudios que la edad no tiene ningún efecto sobre RPM.

Primiparidad. Investigaciones previas han demostrado una mayor frecuencia de RPM entre primíparas que entre multíparas (Doody et al, 1997; Ladfors et al, 2000; Trap et al, 1989). Además, se ha informado de que las mujeres con antecedentes de RPM tendrán otra RPM en su posterior embarazo en el 13,5% de los casos, mientras que en mujeres sin antecedentes sólo el 4,1% de los casos tendrán RPM (Poniedzialek-Czajkowska et al, 2000). No obstante, esta relación no pudo establecerse en otros estudios posteriores (Rahmanian et al, 2014).

Ph vaginal. Microorganismos como *Neisseria gonorrhoeae* y anaerobios se han asociado con RPM, y se ha demostrado que modifican el pH vaginal ácido. Los anaerobios lo aumentan por eliminación de lactobacilos (Ernest et al, 1989). La vaginosis bacteriana también puede producir incremento del pH por aumento en el número de anaerobios que suelen relacionarse con este trastorno. Ernest et al (1989)

comunicaron que mujeres con un pH vaginal mayor de 4,5 tenían un riesgo triple de RPMP en comparación con aquellas cuyo pH era de 4,5 o menor. Sin embargo, el valor predictivo fue bajo, lo cual sugiere que el pH vaginal elevado no es suficiente para causar por sí solo RPMP. Riedewald et al (1990) asimismo, informaron que la colonización vaginal atípica produce trabajo de parto pretérmino.

Tabaquismo y hemorragia. Se ha demostrado que el tabaquismo es un factor causal en RPMP. Hadley et al (1990) informaron de una investigación en la cual se demostró que el tabaquismo tiene una relación de dosis-respuesta. La explicación propuesta para la relación entre tabaquismo y RPMP en este estudio se consideró doble. En primer lugar, el tabaquismo afecta el estado nutricional global de la enferma, en particular por disminución de las cifras de ácido ascórbico. En segundo lugar, el tabaquismo también altera la inmunidad materna, produciendo una menor respuesta del sistema inmunitario materno a las infecciones virales y bacterianas. El tabaquismo reduce la capacidad del sistema inmunitario para activar inhibidores de proteasa, lo que hace a las membranas más susceptibles a infecciones. Nymand (1974) encontró una cifra muy disminuida de anticuerpos linfocitotóxicos en madres que fuman, y estas mujeres sufrían más infecciones en vías urinarias y virales durante su embarazo que las del grupo control.

Un segundo gran estudio multicéntrico, que apoyó los riesgos de tabaquismo y hemorragia, fue el que realizaron Harger et al (1990). El análisis de variables múltiples demostró que el antecedente de parto pretérmino, el tabaquismo y la hemorragia vaginal durante el embarazo tenían un vínculo significativo con RPMP. En concreto, se encontró un riesgo 2,1 veces mayor de RPMP en enfermas que continuaron fumando durante el embarazo.

Otros estudios han relacionado el riesgo creciente de RPMP cuando hay tabaquismo y hemorragia. Meyer y Tonascia (1977) en un análisis del *Ontario Perinatal Mortality Study*, demostraron un gran aumento de RPMP en presencia de estos dos factores. El riesgo de RPMP en fumadoras era tres veces mayor que en no fumadoras antes de las 34 semanas, y después se mantenía incrementado hasta el término. La fisiopatología propuesta entre tabaquismo y RPMP se consideró secundaria al ambiente hipóxico relativo del feto.

Evaldson et al (1980) encontraron que fumar más de 11 cigarrillos al día y sufrir hemorragia en cualquier momento del embarazo aumentaban el riesgo de RPMP. Underwood et al (1965) observaron una relación significativa entre RPMP y el tabaco.

Cuello uterino incompetente. Se cree que la incompetencia cervical también participa como causa de RPMP (Iams et al, 1988; Mercer et al, 1999). La presencia de dilatación cervical silente con una gran proporción de membranas expuestas a bacterias vaginales aumentaría el riesgo de infección de la paciente y, por tanto, la probabilidad de RPM. Sin embargo, los estudios realizados no han sido capaces de identificar de manera definitiva el cuello uterino incompetente como factor etiológico.

Charles y Edwards (1981) encontraron un aumento notorio de corioamnionitis en pacientes a quienes se realizó cerclaje tardiamente. De ellas, el 52,2% tuvieron RPMP subsiguiente. Tanto la presencia de material de sutura como la manipulación cervical aumentan el riesgo de RPMP secundaria a reacción de cuerpo extraño y a incremento de prostaglandinas, respectivamente. Bibby et al (1979) demostraron que el cerclaje puede elevar la producción de prostaglandinas durante el procedimiento, lo que incrementa la irritabilidad uterina y el riesgo de RPMP.

Variaciones anatómicas de las membranas, como la inserción marginal del cordón, pudieran constituir un defecto local que disminuyera la tolerancia de la tensión a dicho nivel. Brody et al (1953) señalaron una frecuencia de 47% de RPM en este trastorno.

Concentraciones de prolactina. Ron et al (1982) sugirieron que la prolactina tal vez participara en la etiología de RPM, pues observaron que las enfermas con este trastorno tenían una concentración mucho mayor de prolactina en las membranas coriónicas. Ellos postularon la participación de la prolactina en el medio fetal, la cual se asoció con regulación de osmolaridad, volumen y concentración de electrolitos en el líquido amniótico. La prolactina quizás participe después en cambios de las propiedades viscoelásticas de las membranas fetales a través de su efecto sobre el contenido de agua y electrolitos en las membranas. En embarazos con RPM la concentración de prolactina

en el corion es netamente mayor que en embarazos de control, aunque es posible que esto sea resultado de la rotura de la membrana, más que causa de ella.

Coito. El conducto vaginal está poblado por múltiples bacterias y, por tanto, la manipulación predispondría a mayor colonización y posible rotura de membranas. Una interrogante que persiste es: “¿aumenta el coito la posibilidad de RPM?” Teóricamente, el contacto sexual pudiera iniciar RPM por diversos mecanismos:

- 1) Bacterias de líquido seminal, o secreciones vaginales, pueden depositarse junto a la orificio cervical y, por tanto, cerca de las membranas fetales. La adherencia de bacterias y virus a los espermatozoides en algunos casos pudiera facilitar el transporte a las membranas y el comienzo de la corioamnionitis.
- 2) Contracciones uterinas estimuladas por el orgasmo, o la acción de prostaglandinas seminales, pueden causar parto prematuro.
- 3) Enzimas de líquido seminal pudieran tener una acción tóxica directa sobre las membranas.

Utilizando una preparación in vitro, Lavery y Miller (1981) llegaron a la conclusión de que los constituyentes bioquímicos del líquido seminal, incluyendo prostaglandinas, no ejercen una acción adversa directa sobre la resistencia de las membranas.

Naeye y Ross (1982) estudiaron la relación entre coito y corioamnionitis, comprobando que la rotura espontánea de membranas antes de iniciarse el parto aumentaba al doble en las pacientes con coito y orgasmo recientes. Estos datos contradicen los de Perkins, quien no pudo comprobar ninguna relación entre contacto sexual u orgasmo durante el embarazo, y producción de parto prematuro o RPM (Perkins, 1979).

Estos datos fueron apoyados por Klebanoff et al (1984), quienes también notaron que el coito durante el embarazo no se relacionaba con parto prematuro o aumento de RPMP. Describieron resultados similares Mills et al (1981).

En general, es difícil alcanzar conclusiones acerca de la actividad sexual y la incidencia de RPM o parto prematuro. Los datos todavía son equívocos, y se necesitan estudios adicionales bien controlados. Hasta que se establezca una relación de causa, cada caso debe seguirse considerando de modo individual. Parece prudente aconsejar la abstinencia sexual en presencia de un cuello dilatado mucho antes de término.

Infección intrauterina. Uno de los factores más fuertemente asociados a la RPM es la presencia de infección cervicovaginal e intrauterina durante la gestación (Goldenberg et al, 2000, 2008; Knox et al, 1950). Se ha propuesto que, de manera directa o indirecta, la existencia de un proceso infeccioso puede explicar el desarrollo de la RPM. La evidencia disponible permite suponer la existencia de especificidad, consistencia y temporalidad de asociación entre la infección y la RPM. Las hipótesis que vinculan la infección cervicovaginal y/o intrauterina con la RPM proponen tres posibilidades: que las manifestaciones sean efecto de los productos bacterianos, que sean consecuencia de la respuesta inmune o que sean una combinación de ambos.

Diversas observaciones apoyan la hipótesis de que la infección de las vías genitales maternas frecuentemente puede estar incluida en la RPM antes de término:

- 1) Factores de riesgo demográfico similares, como juventud o nivel socioeconómico bajo, guardan relación con el parto prematuro y con un aumento de la frecuencia de infecciones de transmisión sexual.
- 2) Las variaciones estacionales de la frecuencia de coitos son paralelas a las variaciones de infección de líquido amniótico y de mortalidad perinatal. Las tres variables alcanzan un máximo en primavera (Naeye, 1980).
- 3) La corioamnionitis comprobada clínica e histológicamente es más frecuente en casos de parto prematuro.
- 4) Tanto las madres como los neonatos tienen mayor tendencia a desarrollar más secuelas en la forma de infecciones tempranas después de un parto prematuro que de un parto a término.
- 5) La obtención directa de muestras de líquido amniótico por amniocentesis demuestra la presencia de gérmenes patógenos en una proporción importante de pacientes que están en curso de parto prematuro o con rotura de membranas antes de término. Pueden recuperarse bacterias en 20 a 30% de algunas muestras, comparadas con 2 a 4% de

muestras de líquido amniótico en embarazos no complicados durante el tercer trimestre.

6) Un número elevado de estudios demuestran relación entre gérmenes específicos y parto antes de término. Organismos relacionados con la premadurez son *Neisseria gonorrhoeae* (GC), estreptococos del grupo B (GBS), especies de *Bacteroides* (y quizá otros anaerobios), *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, y quizá micoplasmas.

Se ha propuesto un modelo general que pretende explicar cómo una infección materna cervicovaginal o hematógena puede predisponer a una mujer a desarrollar RPM. En primera instancia, el desarrollo de vaginosis bacteriana (disminución de lactobacilos y establecimiento de anaerobios facultativos), junto con una excesiva proliferación de la flora normal permitiría que los microorganismos patógenos se abran paso en una vía ascendente a través del cervix hasta establecerse y proliferar en la región coriodecidual, produciendo coriodecuiditis. El paso de estos patógenos a través de las membranas precede a la posterior e inmediata infección del líquido amniótico (corioamnionitis) y, consecuentemente, el neonato (ejemplo, neumonía congénita).

Varios son los microorganismos asociados en estudios epidemiológicos como agentes causales de cuadros infecciosos a nivel cervicovaginal y que se asocian con RPM. Los más frecuentes en la literatura son el estreptococo del grupo B, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* y los microorganismos que causan vaginosis bacteriana (anaerobios facultativos), *Gardnerella vaginalis* y micoplasmas genitales (Alger et al, 1986). Un cuadro infeccioso que afecte a las membranas corioamnióticas desde la porción cervicovaginal o de modo directo en el espacio coriodecidual, puede inducir una o varias respuestas que afecten la integridad de la matriz extracelular del corioamnios, llevando así a la RPM.

Existen algunas evidencias de que ciertos microorganismos asociados a infecciones cervicovaginales secretan proteasas capaces de degradar elementos de la matriz extracelular, provocando de manera directa reducción en la fuerza y elasticidad de las membranas. Así las bacterias que tienen actividad de colagenasa como GBS, estafilococo dorado, especies de *Bacteroides*, *Enterobacter* y cepas de bacterias aerobias y anaerobias parece que predisponen a RPM mediante el mecanismo de aumento de actividad de colagenasa. McGregor y colaboradores (McGregor, 1990)

apoyaron este concepto al estudiar los efectos del tratamiento antibiótico sobre la resistencia de las membranas.

La *G. vaginalis* secreta fosfolipasa A2 (FLA2) que hidroliza a los fosfolípidos de las membranas celulares locales produciendo incremento en el ácido araquidónico libre que, al ser capturado por células residentes, induce a su vez aumento en la síntesis de prostaglandinas y, como consecuencia, efecto uterotónico. Además, estas prostaglandinas inducen la expresión de MMP por células locales, por lo que la combinación del efecto mecánico mediado por las contracciones del miometrio, al actuar sobre membranas debilitadas por la degradación de su matriz extracelular, podrían explicar la rotura prematura.

Sin embargo, es poco probable que la actividad proteolítica derivada de bacterias cuente con proteínas con especificidad por los elementos de la matriz extracelular que, bajo condiciones fisiológicas, sean bastante resistentes a la actividad de proteasas diferentes a las MMP, que solamente son producidas por células eucariontes.

Al margen de la participación potencial de algunos productos bacterianos en la génesis de la RPM, es un hecho aceptado que la causa más plausible para explicar la patología asociada a la infección intrauterina y/o cervicovaginal, es la respuesta inflamatoria del huésped, que es mediada por una red de señalización compuesta por diferentes citoquinas. Las citoquinas son compuestos de naturaleza proteica secretadas por muchas estirpes celulares, aunque fueron inicialmente descritas como productos típicos de células del sistema inmunológico. Las citoquinas poseen un receptor específico sobre las células que actúan y en las que inducen diferentes cambios, dependiendo de la estirpe de que se trate. Actualmente contamos con suficiente información que sugiere que citoquinas como la interleuquina-1 β (IL-1 β), la interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-8 (IL-8) y el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), los cuales son producidos por macrófagos, polimorfonucleares, células epiteliales y células deciduales, aparecen en respuesta a una gran variedad de bacterias o productos bacterianos y median la patogénesis de la infección asociada a RPM (Goldenberg et al, 2000).

Por todo lo anterior, es posible aceptar que la presencia de microorganismos en el entorno de las membranas fetales puede resultar en la inducción de mecanismos que desembocan en RPM. Sin embargo, y considerando de nuevo la evidencia de comportamiento clínico, solamente encontramos infección documentable en el 40% de las pacientes afectadas por RPM. Esto podría ser explicado porque las metodologías que se han utilizado para demostrar infección son aún poco sensibles, pero también cabe la posibilidad de que la mayor parte de las pacientes afectadas por RPM no tenga una infección subyacente y debamos invocar una explicación fisiopatogénica diferente. Por otro lado, también existe evidencia de que pacientes en las que se documenta infección cervico-vaginal o intrauterina eventualmente no desarrollan RPM, lo que permitiría confirmar que, si bien la infección podría ser una causa de la patología obstétrica, no todos los casos podrían ser explicados así.

Factores ambientales. Un fenómeno que ha llamado la atención de los investigadores es la probable participación de elementos del ambiente en la génesis de la RPM. Se ha documentado que factores dietéticos, como el consumo deficiente de vitamina C, se asocian al desarrollo de RPM y, además, se ha demostrado que incrementar el consumo de esta vitamina a 100 mg por día, durante todo el embarazo previene contra RPM. La explicación para esta relación se ha centrado en el papel que tiene el ácido ascórbico en la síntesis de colágeno, como un cofactor de las enzimas que permiten la adecuada formación de las fibras de colágeno, un mecanismo fisiopatogénico ya descrito para el escorbuto. Así, podemos aceptar que la demanda extra que impone el embarazo al consumo de vitamina C, podría llevar a una condición de pseudoescorbuto, en la que los tejidos, como el corioamnios, que se encuentran realizando síntesis y depósito muy activo de colágeno, se resentirán de la deficiencia del cofactor que permite una adecuada maduración de las fibras de colágeno. Por añadidura, se ha demostrado también que la vitamina C en cantidades fisiológicas modula a la baja la expresión de enzimas que degradan colágeno y, por ello, su deficiencia no sólo se manifestará en biosíntesis defectuosa, sino que además existirá mayor degradación de la proteína formada.

Wideman et al (1964) estudiaron pacientes de clases socioeconómicas bajas y cuantificaron la concentración de ácido ascórbico. Al analizar sus datos, propusieron una relación entre la ingestión adecuada de vitamina C y RPM. Hadley et al (1990)

informaron de un aumento significativo de RPMP en mujeres con bajas concentraciones de ácido ascórbico.

En 2001 Woods et al (2001) propusieron especies reactivas de oxígeno (ROS) como un factor contribuyente de RPM. Los autores sugirieron que este proceso puede ser reversible a través de suplementos antioxidantes (vitaminas C y E). Aunque la evaluación inicial de la investigación (Casanueva et al, 2005) con suplementación de vitamina C parecía indicar prevención en la RPM pretérmino (7,6% vs. 24,5%, $p = .02$), investigaciones posteriores, incluyendo una publicación de Spinnato et al (Spinnato et al, 2008), sugieren un aumento del riesgo de RPM pretérmino con suplementación antioxidante. Esta hipótesis fue además refrendada por el hallazgo de un aumento de las concentraciones séricas de luteína (un potente antioxidante) entre las mujeres con bolsa rota pretérmino (Mathwes et al, 2005). La rutina para la suplementación con antioxidantes para prevenir la RPM pretérmino no es recomendable.

3. Oligoelementos y RPM

Existen muy pocos estudios a nivel mundial que incluyan la hipótesis de que bajos o altos niveles de determinados oligoelementos puedan estar asociados a RPM.

Las alteraciones de estos oligoelementos, como ocurre en animales, podrían interferir con el proceso de maduración del colágeno y elastina y causar un inadecuado crecimiento de las membranas corioamnióticas que podría causar su ruptura prematura (Artal et al, 1979).

Cinc. La menor concentración de cinc en suero materno puede inhibir la competencia inmunológica tanto para la madre como para el feto y, por lo tanto, aumentar el riesgo de infección amniótica y el inicio de RPM (Scholl et al, 1993). Se cree que el cinc posee un importante papel en la actividad antimicrobiana y antiviral del líquido amniótico. El cinc es un constituyente obligado del complejo cinc-polipéptido, inhibidor bacteriano que existe en el líquido amniótico (Schlievert et al, 1976). Se ha comprobado que el fosfato inorgánico entorpece esta actividad antibacteriana (Larsen et

al, 1974). Estos datos fueron confirmados por otro grupo de investigadores (Thadepalli et al, 1976). Tanto el cinc como el péptido parecen ser necesarios en este sistema para la actividad antibacteriana. Su interrelación no está aclarada, pero un enlace no peptídico de nitrógeno y el grupo carboxilo extra del ácido glutámico probablemente proporcionen electrones que atraigan el catión cinc (Schlievert et al, 1977). Sin embargo, este proceso ha de ser selectivo porque el cobre o el magnesio no son capaces de sustituir al cinc.

En el estudio de Kiilholma et al (1984) se han encontrado niveles más altos de cinc en el suero de cordón umbilical que en el suero materno. Este resultado está en concordancia con los informes previos de otros autores (Jameson, 1976; Kiilholma et al, 1980; Soltan et al, 1982).

Por otra parte, durante el último trimestre de gestación la acumulación de cinc en los tejidos fetales aumenta, especialmente en el hígado y el esqueleto. Esta acumulación explica los bajos niveles séricos de cinc en sangre de cordón de fetos a término en comparación con los pretérmino, un resultado documentado en el estudio de Kiilholma et al (1984), cuando se compararon los grupos de no RPM.

Algunas investigaciones han demostrado que un bajo estatus de cinc materno durante el embarazo o el parto se asocia con un aumento de $3,5 \pm 7$ veces en el riesgo de rotura prematura de membranas (Scholl et al, 1993; Sikorski et al, 1990). Sikorski et al (1990) postularon la deficiencia de cinc como mecanismo de la patogenia de RPM al señalar las siguientes causas: 1) producción deficiente de proteínas esenciales; 2) inducción de muerte celular; 3) alteración de la reacción mediada por células; 4) patrones anormales de contracción; 5) alteración de la síntesis de prostaglandinas, y 6) mayor susceptibilidad a infecciones vaginales. Encontraron que las pacientes con RPM presentaban concentraciones mucho menores de cinc que las del grupo control (Scholl et al, 1993; Sikorski et al, 1991).

En otros estudios, sin embargo, no se han encontrado diferencias en la concentración sérica de cinc entre las madres con RPM y madres con embarazos y partos normales donde no transcurrió RPM (Bro et al, 1988; Kiilholma et al, 1984; Kui-Li et al, 1990; Rahmanian et al, 2014; Shah et al, 2001).

Cobre. Artal et al (1978) encontraron valores significativamente más bajos de cobre en suero materno y fetal de gestantes a término en los casos con RPM. Sin embargo, en su población había una diferencia significativa entre los pesos medios de los recién nacidos cuando el grupo RPM ($2,922 \pm 141$ g) se comparó con el grupo de no-RPM ($3,528 \pm 140$ g). Fu (1989) y Artal et al (1979) también informaron de que el nivel de cobre en suero materno es significativamente menor en mujeres con RPM que en los controles. Zhang et al (2006), sin embargo, encontraron correlaciones positivas entre incrementos de cobre sérico, cobre amniótico y RPM.

Otros resultados sugieren que el cobre fetal puede desempeñar un papel en la RPM pretérmino (Kiilholma et al, 1980). Mientras que los niveles maternos de cobre y ceruloplasmina en el grupo RPM a término eran iguales a los respectivos niveles en otros grupos, éstos bajaron muy significativamente en el suero del cordón del grupo RPM pretérmino. Al considerar el papel del cobre en la formación de colágeno y elastina, estos resultados sugieren que los bajos niveles de cobre en embarazos prematuros pueden conducir a una disminución de la resistencia a la tracción de las membranas amnióticas (Artal et al, 1976).

Sin embargo, Mojgan et al (2014), en un estudio en el que los pesos al nacer de los respectivos grupos eran similares y las duraciones de los embarazos estaban bien evaluadas, no pudieron replicar este hallazgo. Tampoco había diferencia entre los niveles de ceruloplasmina. Por lo tanto, consideraron que la RPM a término no depende significativamente de la homeostasis del cobre.

Bro et al (1988) tampoco encontraron diferencias en los niveles de cinc y cobre en suero materno de aquellas madres con complicaciones en el parto y gestantes con embarazos y partos normales.

Calcio. Mojgan et al afirmaron en su estudio que la ruptura de las membranas no parece depender de la homeostasis del calcio (Rahmanian et al, 2014).

Hierro. Al-Saleh et al (1978) observaron un nivel de hierro significativamente menor en la sangre de cordón umbilical del grupo con RPM pretérmino que en los otros

grupos. Sin embargo, dado que las relaciones fetal/materna en todos los grupos eran iguales, no podemos sugerir por los últimos estudios que una disminución en la tasa de transferencia de hierro al feto sea factor productor de la RPM pretérmino.

Magnesio. El magnesio (Mg) es fundamental para la formación de hueso, la integridad celular, y múltiples funciones enzimáticas (Osada et al, 2002). El magnesio es uno de los macroelementos que actúa como cofactor catalizador del transporte de grupos fosfóricos (Opienska-Blauth et al, 1975) y es esencial en la síntesis de proteínas. La disminución de los niveles de magnesio afecta principalmente al déficit inmunológico a través de la reducción de la síntesis de inmunoglobulinas (Zemel et al, 1981) y esto podría explicar cierta predisposición a la RPM.

Selenio. El selenio tiene una función biológica como cofactor de la glutatión peroxidasa, que protege a las células del daño por radicales libres (Hambidge et al, 1986). El estrés oxidativo se ha asociado a una variedad de complicaciones en el embarazo, incluyendo el parto prematuro, retraso en el crecimiento, la preeclampsia y el aborto (Burton y Jauniaux, 2004; Myatt y Cui, 2004).

El selenio está presente en los sistemas biológicos como un componente de selenoproteínas conocidas por tener un efecto tanto antioxidante como antiinflamatorio. Selenoproteínas tales como el antioxidante glutatión peroxidasa y las reductasas de tiorredoxina están involucrados en la defensa contra la toxicidad de las especies reactivas y la regulación del estado redox de la célula (Arteel y Sies, 2001; Kryukov et al, 2003), mientras que la selenoproteína S ha sido implicada en la acción antiinflamatoria (Curran et al, 2005). Una fuerte relación existe entre polimorfismos en el gen de la selenoproteína S (SEPS1) y la liberación de tres importantes citoquinas proinflamatorias (IL-6, IL-1b y TNF- α) que confirman el papel de la selenoproteína S en la regulación de la respuesta inflamatoria (Curran et al, 2005). Por otra parte, el selenio posee una actividad antiinflamatoria debido a su efecto regulador sobre la expresión de genes proinflamatorios (e.g., la ciclooxigenasa-2, la COX-2, y el Factor alfa de necrosis tumoral, TNF- α ; Tirosh et al, 2007; Vunta et al, 2007, 2008).

El embarazo normal se asocia con un mayor estado de la peroxidación lipídica y estrés oxidativo (Arikan et al, 2001; Little y Gladen, 1999; Raijmakers et al, 2004).

Conforme a la literatura reciente, el aumento de la generación de especies reactivas de oxígeno, así como las deficiencias de antioxidantes, juegan un papel importante en la fisiopatología de la RPM, que es probablemente debido a la degradación del colágeno y el posterior daño a la integridad de la membrana fetal (Longini et al, 2007; Plessinger et al, 2000; Stuart et al, 2005; Wall et al, 2002; Woods et al, 2001).

Se sabe, por ejemplo, que anión superóxido puede aumentar la actividad de la matriz metaloproteinasas en las membranas fetales humanas resultando en un aumento de la actividad colagenolítica y ruptura de la membranas corioamnióticas (Buhimschi et al, 2000). Esta conclusión es apoyada por estudios in vitro en cultivo de amniocitos y membranas amnióticas que fueron expuestos a ROS (Masumoto et al, 1992; Sibille et al, 1986; Woods, 2001).

Aunque los antioxidantes se han propuesto como posibles agentes preventivos contra RPM (Plessinger et al, 2000; Woods, 2001), los resultados de ensayos clínicos que investigan la eficacia preventiva de la suplementación de vitaminas antioxidantes (vitaminas C y E) contra RPM han sido equívocos (Casanueva et al, 2005; Rumbold et al, 2006; Spinnato et al, 2008).

A la luz de las consideraciones anteriores, puede resultar problemático que el nivel de selenio en sangre y plasma caiga significativamente durante el embarazo. Esta disminución es progresiva a medida que avanza la gestación (Ferrer et al, 1999; Mihailovic' et al, 2000; Zachara et al, 1993). El estudio de Tara et al (2010) indicó que la suplementación con el selenio en 100 microgramos/día, se asocia con aproximadamente tres veces menor incidencia de RPM. Esta asociación puede atribuirse a las propiedades antiinflamatorias y antioxidantes de este importante elemento. Dado el aumento de los nacimientos prematuros en las últimas dos décadas, los enormes costes sanitarios asociados y la necesidad de agentes terapéuticos y profilácticos eficaces (Goldenberg y Rouse, 1998; Sawdy y Bennett, 1999), los resultados del presente estudio pueden ser de gran importancia. Se necesita, no obstante, la confirmación de estos resultados en ensayos multicéntricos más grandes.

Plomo. El plomo y el mercurio pueden atravesar fácilmente la placenta y se acumulan en los tejidos fetales (Iyengar y Rapp, 2001). Se ha informado de que algunos

resultados adversos del embarazo estaban asociados con la exposición a metales pesados, tales como plomo y cadmio (Cantonwine et al, 2010; Ronco et al, 2009).

Fahim et al (1976) señalaron aumentos subtóxicos de las concentraciones sanguíneas de plomo en mujeres con RPM. Así, encontraron que la concentración de plomo era más alta en las membranas que en ningún otro tejido, incluyendo placenta, suero materno y sangre del cordón.

Capítulo 2:

Justificación y Objetivos

1. Justificación

Los oligoelementos que hasta ahora se han relacionado con la salud humana, constituyen el grupo de elementos traza esenciales: Cobalto (Co), Cobre (Cu), Cromo (Cr), Yodo (I), Hierro (Fe), Manganeso (Mn), Molibdeno (Mo), Selenio (Se) y Zinc (Zn). Además, existen otros que se incluyen como candidatos a ser esenciales y aquéllos sobre los cuales no se conoce, hasta ahora, ninguna función fisiológica en el ser humano. Estos micronutrientes desempeñan una función particularmente importante en el crecimiento y desarrollo del organismo, estableciéndose su papel biológico a distintos niveles

La esencialidad de los oligoelementos en la nutrición viene determinada por el hecho de que su ingestión por debajo de las recomendaciones se traduce en una clara sintomatología de déficit. Hay elementos como el Cadmio (Cd) y el Mercurio (Hg) que sólo se conocen por sus efectos tóxicos. Sin embargo, no existen elementos tóxicos, sino dosis tóxicas o efectos tóxicos de un elemento.

Las cantidades diariamente requeridas de elementos traza son mínimas, por lo que habitualmente una dieta equilibrada es capaz de cubrir las necesidades. No obstante, es importante tener en cuenta que, durante algunos periodos de edad como, por ejemplo, la etapa de lactancia exclusiva, la leche humana o de fórmula es la única fuente nutricional de oligoelementos, ya que los suplementos habitualmente utilizados poseen, generalmente, concentraciones mínimas de estos elementos. Por su esencial papel nutricional hay un uso creciente en suplementos nutricionales.

Parece oportuno relacionar, en la medida de lo posible, la repercusión de los oligoelementos en el organismo humano, el estado de participación activa de dichos oligoelementos en los procesos metabólicos, las patologías de déficit y los signos tóxicos que ocasionalmente puedan afectar a la salud humana.

Los autores han informado como causas potenciales de efectos nocivos la exposición a largo plazo de antimonio (Sb), arsénico (As), berilio (Be), cadmio (Cd), cesio (Cs), cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), galio (Ga), oro (Au), hierro (Fe),

plomo (Pb), manganeso (Mn), mercurio (Hg), níquel (Ni), platino (Pl), plata (Ag), Trillium (Te), talio (Tl), estroncio (Sr), uranio (U), vanadio (V) y cinc (Zn) (Glanze, 1996).

La toxicidad de metales pesados puede afectar al estrés oxidativo celular (e.g., As, Cd), daño en el ADN (e.g., As, Cr, Cb), deterioro mental y funcionamiento del sistema nervioso central (e.g., Pb, Hg), alteraciones del metabolismo hidrocarbonado (e.g., As, Cr) o calcio (e.g., cadmio, plomo) e interferencias en el metabolismo de los elementos traza esenciales (e.g., Cd, Hg, Se). También pueden dañar órganos tales como la sangre, los riñones, el hígado o los tejidos reproductivos (Lewis et al, 1992; Tseng, 2007; Wirth et al, 2010).

El embarazo es un período de aumento de las demandas metabólicas, principalmente debido a los cambios en la fisiología de la mujer y requisitos del crecimiento fetal (Pathak et al, 2004). Durante este período, la deficiencia de oligoelementos tiene efectos perjudiciales sobre la salud, tanto de las mujeres como en el desarrollo del feto. Deficiencias de Zn, Cu, Mg y Se se han asociado con abortos, anomalías congénitas, hipertensión gestacional, ruptura prematura de membranas (RPM), desprendimiento de la placenta, parto prematuro, mortalidad fetal y una alta incidencia de retraso en el crecimiento intrauterino (Al-Saleh et al, 2004; Black, 2001; Borella et al, 1990; Osada et al, 2002; Pathak et al, 2004; Perveen et al, 2002; Scheplyagina, 2005; Srivastava et al, 2001).

Con el aumento mundial de la contaminación industrial y artificial o las actividades de combustión naturales, estamos expuestos, ya sea voluntaria o involuntariamente, a ciertos contaminantes ambientales tales como metales pesados, hidrocarburos orgánicos y pesticidas, a partir de diversas fuentes. La influencia de estos contaminantes en la salud pública se ha reconocido cada vez más, especialmente durante el período de crecimiento y desarrollo. El periodo prenatal se considera la etapa más delicada del desarrollo humano, debido al alto grado de división y diferenciación celular fetal. También, debido a las diferencias con el adulto en muchas rutas bioquímicas, ya que el feto es altamente susceptible a teratógenos a bajas dosis de exposición con unos niveles que no son dañinos para la madre (Wells et al, 2010). Esto puede conducir a enfermedades crónicas, ya sean de aparición temprana o tardía

(Silbergeld y Patrick, 2005).

La etapa de desarrollo en la que se produce la exposición tiene gran importancia en las consecuencias causadas. Si la exposición se produce durante el periodo de organogénesis, pueden ocurrir cambios estructurales permanentes. Alternativamente, las exposiciones después de la organogénesis completa podrían dar lugar a consecuencias funcionales. Los sistemas inmunológico, respiratorio y nervioso central son vulnerables a las exposiciones postnatales porque son inmaduros al nacer y tienen un período prolongado de maduración postnatal (Sly y Flack, 2008).

Por otra parte, variaciones en la toxicocinética con respecto al adulto, en especial en relación con el metabolismo hepático y la función renal podría aumentar la susceptibilidad del feto a los contaminantes (Ginsberg et al, 2004).

Aunque se ha estudiado la exposición intraútero a metales pesados en las últimas décadas, parece que hay una creciente preocupación por las amenazas que plantea sobre los resultados del embarazo y/o efectos adversos del desarrollo en los niveles inferiores a las directrices internacionales (Gardella, 2001; Holmesm et al, 2009; Schoeters et al, 2006).

Mattison (2010) sugirió que los impactos de las exposiciones medio ambientales sobre el resultado del embarazo y/o desarrollo pueden no tener umbrales, y el único enfoque razonable sería mantener éstas lo más bajas posible en todos los individuos. Existen algunos indicios de que los cambios en las concentraciones de algunos oligoelementos pueden ser claves en la etiología del parto prematuro y RPM (Artal et al, 1978).

La RPM es tal vez el diagnóstico aislado más frecuente que se asocia con trabajo de parto prematuro y complicaciones neonatales (Garite et al, 1987). La RMP pretérmino complica a casi el 3% de los embarazos y es la causa de una tercera parte de los nacimientos prematuros, provocando una serie de complicaciones perinatales y neonatales, incluyendo en torno al 1-2% de riesgo de muerte fetal. Su diagnóstico precoz y manejo apropiado son de gran importancia debido a que pueden mejorar el pronóstico (Iams , 1990).

Hay una mayor morbilidad materna y fetal o neonatal relacionada con RPM. La complicación materna más preocupante desde una perspectiva de tratamiento es la corioamnionitis, cuya incidencia en la población obstétrica general varía del 0,5 al 1%, mientras que en pacientes con RPM, la incidencia alcanza del 3 al 31 % (Gibbs et al, 1989).

2. Objetivos

El propósito de esta investigación se centró en un objetivo general que, a su vez, se vertebró en cuatro objetivos específicos.

El **objetivo general** fue investigar el perfil inflamatorio y de ciertos oligoelementos en sangre de mujeres gestantes a término con y sin rotura prematura de membranas. Se plantearon cuatro objetivos específicos en torno a este objetivo general:

Objetivo específico 1. En primer lugar, se pretendió determinar el perfil inflamatorio y las concentraciones de oligoelementos en sangre de gestantes a término, independientemente de si sufrieron o no una rotura prematura de membranas. Con este propósito se obtuvieron registros del análisis de bioquímica general (glucosa, creatinina, ácido úrico y calcio), ionograma (sodio, potasio y cloro), marcadores de inflamación (proteína C reactiva, procalcitonina), hematimetría-serie roja (hematíes, hemoglobina y hematocrito), hematimetría-serie plaquetar (plaquetas), hematimetría-serie blanca (leucocitos) y hematimetría-coagulación básica (tiempo de Protrombina, ratio tiempo de Protrombina, actividad de Protrombina, tiempo de Tromboplastina parcial activada, PTTA ratio, INR, Fibrinógeno derivado y Dímero D).

También se analizaron las concentraciones en sangre materna de los siguientes oligoelementos: aluminio, antimonio, arsénico, azufre, bario, bismuto, boro, bromo, cadmio, cinc, cobre, cromo, estaño, estroncio, fósforo, hierro, litio, magnesio, manganeso, plata, plomo, selenio y titanio.

Objetivo específico 2. Investigar las posibles relaciones entre variables sociodemográficas y clínicas de la gestante y del neonato con las concentraciones de los oligoelementos. Se consideraron como variables sociodemográficas y clínicas la edad de la gestante, el hecho de haber tenido partos previos o no, el hábito tabáquico y haber sufrido diabetes gestacional. En relación con el neonato, se consideraron su peso y sus puntuaciones Apgar al minuto y Apgar a los cinco minutos.

Dentro de este objetivo, se examinó la posible existencia de alteraciones en el metabolismo del calcio, investigando las correlaciones del calcio con los oligoelementos aluminio, cadmio, estroncio y plomo.

Objetivo específico 3. Un tercer objetivo se dirigió a examinar variables que pudieran utilizarse como marcadores para pronosticar el riesgo de RPM en gestantes. Para alcanzar este objetivo se compararon los perfiles inflamatorios y de oligoelementos en gestantes que sufrieron RPM (los casos) y gestantes que no sufrieron RPM (los controles). Las comparaciones se hicieron sobre las mismas variables que en el *Objetivo específico 1*: análisis de bioquímica general, ionograma, pruebas inflamatorias, marcadores de inflamación y hematimetría, así como de los oligoelementos antes mencionados.

Dentro de este objetivo, también se examinó la posible relación entre las concentraciones de los oligoelementos y el tiempo transcurrido entre la RPM y la expulsión fetal.

Objetivo específico 4. Proponer un modelo predictivo capaz de identificar los predictores, o factores de riesgo/protección, de la rotura prematura de membranas en gestantes a término, tomando en consideración el perfil inflamatorio y los oligoelementos analizados.

Capítulo 3:

Materiales y Método

Para la realización de esta investigación se aplicó un diseño retrospectivo de casos y controles. Los casos estuvieron formados por gestantes que sufrieron rotura prematura de membranas (RPM), mientras que los controles lo conformaron gestantes que no sufrieron RPM.

1. Descripción de la muestra

En nuestro estudio se realizó un reclutamiento de 101 mujeres, gestantes a término, seleccionadas de forma aleatoria en la Unidad de Parto del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca a lo largo de 3 meses (entre el 15 de octubre de 2014 y el 13 de enero de 2015).

Los criterios de inclusión en el estudio fueron: (1) mujeres con embarazo único de entre 37 y 42 semanas de gestación y feto vivo en presentación cefálica, sin hallazgos de anomalías ecográficas; (2) mujeres con edades comprendidas entre los 16 y 55 años; (3) pacientes primigestas o con un máximo de cinco gestaciones previas; (4) las pacientes podían tener cualquier etnia racial; (5) pacientes sin enfermedades concomitantes ni tratamientos crónicos; (6) no exposición ocupacional de las pacientes y con hábitos alimenticios similares; (7) ausencia de malformación uterina conocida; (8) tiempo transcurrido entre 0 y 12 horas desde la aparición de la ruptura prematura de membranas hasta su diagnóstico, y (9) las pacientes de este estudio podían ser tanto fumadoras como no fumadoras.

El estudio se llevó a cabo cumpliendo las normas éticas y legales imprescindibles para la realización de este tipo de investigación. En todo momento se respetó la normativa legal que regula el anonimato y la confidencialidad de los datos personales de las pacientes y su procesamiento automatizado (Ley 41/2002 de la autonomía del paciente y de los derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica; Ley 15/1999 de protección de datos de carácter personal). El protocolo de esta investigación fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de Murcia. En particular, se tuvo especial cuidado en garantizar la confidencialidad de los datos obtenidos en el estudio y en el almacenamiento informatizado de los datos,

evitando su inspección por personas ajenas a esta investigación. Todas las pacientes fueron informadas del propósito y procedimientos del estudio, firmando el consentimiento informado y siendo su participación plenamente voluntaria.

Del muestreo seleccionado, 51 de las pacientes presentaron RPM y conformaron el grupo de los casos, mientras que otras 50 pacientes constituyeron el grupo de control al no presentar RPM.

En el grupo de las pacientes que presentaron RPM, el diagnóstico se hizo siempre en Puerta de Urgencias del centro hospitalario, realizándolo bien de forma clínica, mediante la visualización directa a través de la especuloscopia de la salida de líquido amniótico, o bien mediante test bioquímico *Amnisure*® (detector de la PAMG-1, microglobulina alfa-1 placentaria).

De aquellas 50 mujeres que no presentaron RPM, un porcentaje fueron estimulaciones, es decir, pacientes que espontáneamente entraron en período activo de parto (dilatación mayor de 3 cms), o bien inducciones sin alcanzar período activo de parto (dilatación menor de 3 cms) por una causa distinta a la RPM, como podría ser embarazos en vías de prolongación, oligoamnios, condiciones obstétricas favorables, etc.

2. Materiales

2.1 Cuestionario de variables sociodemográficas y clínicas

Una vez realizada la selección de las dos muestras de pacientes, se les pidió que cumplimentaran un cuestionario diseñado específicamente para los propósitos de esta investigación, que recogió datos relativos a variables sociodemográficas y clínicas de las pacientes. La toma de datos se realizó cumplimentando un protocolo de recogida de datos e introduciéndolos en una base de datos. El Anexo presenta el modelo de cuestionario utilizado. El cuestionario incluyó preguntas relativas a la edad y raza de la paciente, semanas de gestación, gestaciones previas, partos previos, inducción del parto

(estimulación vs. inducción), líquido amniótico (normal vs. teñido), RPM previas, amenazas previas de parto prematuro, hábito tabáquico y diabetes gestacional.

Tras la expulsión fetal, se registró el sexo, peso fetal y Apgar al minuto y 5 minutos. Para aquellas pacientes que presentaron RPM, se contabilizó el número de horas desde la RPM y la expulsión fetal.

2.2 Parámetros analíticos generales en sangre

Las muestras de sangre materna de las 101 pacientes se recogieron posteriormente a la selección aleatoria de la paciente, información, firma del consentimiento informado, cumplimentación del cuestionario y previo al expulsivo de parto.

Las muestras sanguíneas se recogieron en cuatro tubos. Tres de los tubos fueron remitidos de forma urgente al Servicio de Análisis Clínico del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca para la obtención del perfil analítico de las pacientes en cuanto a parámetros del tipo hematimetría, bioquímica y coagulación. En hematimetría se utilizaron tubos BD Vacutainer de 4 ml no heparinizados. En bioquímica se utilizaron tubos Vacuette de 4 ml heparinizados y en coagulación se utilizaron tubos BD Vacutainer de 2,7 ml heparinizados. El cuarto tubo utilizado para el análisis de los elementos traza fue del tipo Venosafe de 9 ml heparinizados, los cuales fueron congelados a 0 grados para su posterior tratamiento y digestión de la muestra.

(1) Hemograma

El tubo Vacutainer para la realización del hemograma, se analizó en el equipo Sysmex XE5000 (Roche Diagnostic®). Este autoanalizador utiliza las tecnologías de citometría de flujo fluorescente y enfoque hidrodinámico.

La citometría de flujo tradicional combinada con el marcado fluorescente es el método comúnmente utilizado para el conteo y diferencial leucocitario. La medición de la fluorescencia revela la proporción núcleo-citoplasma de cada célula teñida individualmente, permitiendo diferenciar las distintas poblaciones de leucocitos. Mediante la proyección de un diodo láser sobre las células y el análisis combinado de su

dispersión lateral (en función de la complejidad interna), frontal (en función del volumen) y la fluorescencia del material de ácidos nucleicos, se determina la clasificación de cada leucocito.

Los eritrocitos y plaquetas son contados en un canal exclusivo que utiliza como método de detección la impedancia o corriente directa con la tecnología de enfoque hidrodinámico. Discriminadores automáticos separan las dos poblaciones tomando como base algoritmos complejos. La intensidad del pulso eléctrico de cada eritrocito analizado es proporcional al volumen celular. El hematocrito es determinado directamente tomando como base el recuento y detección de volumen de cada eritrocito.

El análisis de hemoglobina se lleva a cabo con lauril sulfato de sodio, que crea un producto estable con el grupo hemo de la hemoglobina y es analizado. La hemoglobina es determinada en un canal separado, minimizando la interferencia por concentraciones altas de leucocitos.

(2) Coagulación

El análisis de los parámetros derivados del estudio de la hemostasia se llevó a cabo en el tubo Vacutainer anticoagulado, en el equipo ACL TOP 300 CTS (Werfen® Group). Este analizador permite, de manera completamente automatizada, realizar todas las pruebas de coagulación requeridas en un laboratorio clínico, utilizando un método analítico foto-óptico coagulométrico, cromogénico o inmunológico, en función de la variable determinada.

Los parámetros de la coagulación que se tomaron como variables en este estudio fueron, como ya se ha comentado, el porcentaje de actividad de protrombina (ACTPR), el INR, el TTPAr y el fibrinógeno. A excepción del fibrinógeno, todos estos parámetros son calculados. El cálculo se realiza, a partir del tiempo de protrombina (TP) en el caso del porcentaje de actividad de protrombina y del INR, y a partir del tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) en el caso del TTPAr.

Las variables TP, TTPA y fibrinógeno se determinan por un método foto-óptico coagulométrico. Este método consiste en la irradiación con luz roja a una longitud de onda de 671 nm de una mezcla de plasma del paciente y reactivo (que será diferente en

función del analito), y la detección del cambio en la turbidez provocado por la formación del coágulo de fibrina, que se traduce en un cambio en la luz dispersada a 180°. Entonces se calcula el tiempo de coagulación, entendido como el tiempo requerido para alcanzar la cantidad de luz dispersada en la detección del punto de coagulación, tomando como 0% la cantidad de luz dispersada justo después del comienzo de la detección de la reacción, y 100% la cantidad de luz dispersada que está presente cuando la coagulación es del 100%.

El TP se calcula utilizando un reactivo que contiene factor tisular recombinante relipidado con un fosfolípido sintético, mezclado con cloruro cálcico, tampón y conservantes. La adición de plasma del paciente, en presencia de iones calcio, inicia la activación de la vía extrínseca de la coagulación, que resulta finalmente en la conversión del fibrinógeno en un coágulo de fibrina.

La ACTPR es el porcentaje de actividad con respecto a un plasma normal, al que se le supone una actividad del 100%. El resultado del TP, que se expresa en segundos, se convierte en un porcentaje de la actividad normal mediante una curva de referencia. Cada laboratorio debe realizar su propia curva, mediante la preparación y el análisis de diluciones de un pool de plasmas citratados normales pertenecientes a sujetos sanos.

El factor tisular utilizado para la determinación del TP es de origen humano, y en función del lote, puede originar resultados de actividad variables. Esto, junto con la variabilidad de los sistemas analíticos, da lugar a diferencias, que pueden ser significativas, en los resultados de TP. Por tanto, con el objeto de normalizar los resultados de TP, se desarrolló el INR, que se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$INR = \left[\frac{TP \text{ paciente}}{TP \text{ control}} \right]^{ISI}$$

El TP control debe calcularlo cada laboratorio, utilizando un pool de plasmas normales de individuos sanos. El valor de índice de sensibilidad internacional (ISI) viene asignado por el fabricante para cada lote de reactivo.

En el test del TTPA, el plasma del paciente es incubado con una cantidad óptima de fosfolípidos, una superficie de contacto cargada negativamente y tampón, lo que inicia la vía intrínseca de la coagulación. Después de una incubación a 37° durante un determinado período de tiempo, la adición de cloruro cálcico desencadena el proceso de la coagulación y se medirá el tiempo necesario para la formación del coágulo.

El TTPA también puede expresarse como un ratio entre el TTPA del paciente y TTPA control. Cada laboratorio debe establecer su propio TTPA control, utilizando un pool de plasmas de individuos sanos representativos de la población local.

El fibrinógeno se determina de manera cuantitativa mediante el método de Clauss, que utiliza un exceso de trombina (de origen bovino) para convertir el fibrinógeno en fibrina en el plasma diluido. A concentraciones altas de trombina y bajas de fibrinógeno el nivel de la reacción está en función de la concentración de fibrinógeno.

(3) Bioquímica

Todas las determinaciones bioquímicas se realizaron en la muestra recogida en el tubo Vacuette (tubo seco con silicona), cuyo contenido se había alicuotado y congelado a -80°C inmediatamente después de la centrifugación posterior a la extracción. Una vez concluido el proceso de recolección de las muestras, éstas fueron descongeladas para proceder al análisis de las magnitudes bioquímicas. Se realizó la descongelación a 37°C, invirtiendo el contenedor varias veces.

Así pues, los análisis realizados en el Servicio Clínico del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca permitieron obtener las concentraciones de los elementos de: (a) *Bioquímica general*, Glucosa (mg/dL), Creatinina (mg/dL), Ácido úrico (mg/dL) y Calcio (mg/dL); (b) *Ionograma*, Sodio (mEq/L), Potasio (mEq/L) y Cloro (mEq/L); (c) *Pruebas inflamatorias*, Proteína C reactiva (mg/dL), (d) *Marcadores de sepsis*, Procalcitonina (ng/ml), y (e) *Hematimetría*, Hematíes ($\times 10^6$ /uL), Hemoglobina (g/dL), Hematocrito (%), Plaquetas ($\times 10^3$ /uL), Leucocitos ($\times 10^3$ /uL), Tiempo de Protrombina (seg.), Ratio Tiempo de Protrombina, Actividad de Protrombina (%), Tiempo de Tromboplastina parcial activada (seg), PTTA ratio, INR, Fibrinógeno derivado (mg/dL) y Dímero D (ng/mL).

2.3 Determinación de oligoelementos

Los oligoelementos en sangre que se sometieron a análisis fueron: Aluminio, Antimonio, Arsénico, Azufre, Bario, Bismuto, Boro, Bromo, Cadmio, Cinc, Cobre, Cromo, Estaño, Estroncio, Fósforo, Hierro, Litio, Magnesio, Manganeso, Plata, Plomo, Selenio y Titanio. La determinación de las concentraciones en sangre materna de estos oligoelementos requirió tres fases: (1) desecado de las muestras sanguíneas, (2) digestión completa de las muestras objeto de análisis y (3) determinación, propiamente dicha, de las concentraciones de los oligoelementos analizados utilizando patrones y técnicas instrumentales adecuados.

(1) Desecado

Las muestras de sangre fueron desecadas durante 24 horas en un Horno D 6450 (Heraeus Holding GMBH, Alemania) a 80° C, para eliminar el contenido de agua de las muestras, reduciendo de este modo el error producido por diferencias en el contenido en agua. La Figura 1 presenta una imagen del horno utilizado.



Figura 1. Horno D 6450 Heraeus Holding GMBH.

(2) Digestión

Previa a la digestión, se pulverizaron las muestras utilizando nitrógeno líquido. Las muestras así tratadas fueron sometidas a una digestión húmeda en vasos cerrados de teflón. Para esta digestión se tomaron desde 0,0017g hasta 0,3925 g de muestra, según la disponibilidad, las cuales fueron transferidas a los vasos y a las que se añadió una mezcla de $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}:\text{H}_2\text{O}$ en una proporción 5:2:3. Posteriormente, se utilizó el método de digestión para muestras biológicas “organic up to 0,4” propio del horno microondas “Milestone. Modelo Ethos Sel” (Milestone Inc. USA), bajo condiciones de presión controlada (véase Figura 2). Las características de este equipo son las siguientes:

- Rotor de alta presión MPR 1000/6M en sistema cerrado, con capacidad para seis muestras.
- Vaso cerrado de teflón de 100 ml.
- Control de temperatura automático mediante el sensor de temperatura ATC-400.



Figura 2. Microondas Milestone Ethos Sel.

El programa de digestión “organic up to 0,4” utilizado fue el que se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Programa de digestión de muestras.

Paso	Tiempo (minutos)	Temperatura (° C)	Potencia (wattios)
	0	20	
1	5	85	700
2	3	145	500
3	10	210	1.000
4	20	210	1.000

Las soluciones transparentes resultantes de la digestión se llevaron hasta un volumen de 25 ml con agua bidestilada desionizada, para su posterior análisis.

(3) Análisis de los oligoelementos

Los análisis de los oligoelementos se realizaron en las dependencias del Servicio de Instrumentación Tecnológica (SIT) perteneciente al Servicio de Apoyo a la Investigación Tecnológica (SAIT) de la Universidad Politécnica de Cartagena. Con este propósito se utilizó la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) en el equipo “ICP-MS Agilent 7500a” (véase Figura 3). Las características de este equipo son:

- Nebulizador para alto contenido en sólidos.
- Fondo (para 5 u.m.a): ≤ 5 cps.
- Autoajuste.
- Rango de masas: 2-260 u.m.a.
- Sensibilidad: Li (7) ≥ 8 Mcps/ppm, Y (89) ≥ 20 Mcps/ppm, Tl (205) ≥ 12 Mcps/ppm.
- Automuestreados CETAC ASX-510 en 201 posiciones.
- Conos de níquel.
- Control de flujo másico de argón en el plasma, línea auxiliar, línea de ajuste y gas portador.
- Óxidos (en Ce O)⁺: $\leq 1,0\%$.
- Cationes divalentes (en Ce2⁺): $\leq 3,0\%$.
- Límite de detección (como 3 σ): Be (9) ≤ 2 ppt, In (115) ≤ 1 ppt, Bi (209) ≤ 1 ppt.



Figura 3. Espectrómetro de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) en el equipo “ICP-MS Agilent 7500^a”.

En los análisis de estos oligoelementos se utilizó el siguiente procedimiento de control de calidad:

- Introducción de una muestra duplicada, seleccionada aleatoriamente, durante los análisis.
- Introducción de los blancos al principio y cada 5 muestras.
- Análisis periódico de los patrones para la calibración.
- Comprobación del método de análisis usando de referencia certificado (SRM 1577b).

Los blancos se prepararon usando la mezcla de $\text{HNO}_3:\text{H}_2\text{O}:\text{H}_2\text{O}$ en una proporción 5:2:3.

Para la realización de la recta de calibrado, se prepararon siete patrones de cada uno de los oligoelementos a analizar, a partir de soluciones madre comerciales (Merck[®]), siendo estabilizados con 20 μL de ácido nítrico calidad Suprapur. Las concentraciones preparadas fueron: 1, 5, 10, 25, 50, 100 y 200 ppb. El índice de correlación obtenido en las rectas de calibrado fue de 0,999.

Se prepararon 34 muestras con el material de referencia certificado SRM 1577b, siguiendo los mismos procedimientos que para el resto, sufriendo un proceso de desecación durante 24 horas.

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad Suprapur[®] (Merck) en sus diluciones originarias de fabricación: HNO₃ 65%, H₂O₂ 30%. El agua utilizada en todo el procedimiento fue bidestilada y desionizada (Milli-Q).

Se utilizó el siguiente material de laboratorio:

- Material de disección.
- Contenedores de plástico.
- Tubos venosafe de 9 ml heparinizados.
- Matraces aforados de 50 ml.
- Micropipetas Finnpiptite (Termo Electrón Corporation, USA)
- Balanza analítica Type 1801 (Satorius AG, Alemania).
- Horno D 6450 (Heraeus Holding GMBH, Alemania).

Todo el material fue lavado para evitar posibles contaminaciones, dicho lavado se realizó en ácido nítrico al 10% durante al menos 24 horas, enjuagándolo posteriormente tres veces con agua bidestilada desionizada (Milli-Q) y procediéndose a un secado en horno a 70° C.

3. Análisis estadístico

Para alcanzar el primer objetivo de esta investigación, estudiar el perfil analítico de las gestantes sin tener en cuenta si habían sufrido RPM o no, se construyeron distribuciones de frecuencias para las variables cualitativas, mientras que para las variables continuas se calcularon los estadísticos descriptivos básicos (media, desviación típica, valores mínimo y máximo) y se estimó la media poblacional mediante la construcción de intervalos de confianza al 95%.

El segundo objetivo tenía como propósito investigar la posible asociación entre las concentraciones en sangre de los oligoelementos y ciertas variables sociodemográficas y clínicas de las gestantes, así como del neonato. Para las variables sociodemográficas dicotómicas, la comparación de las concentraciones de los oligoelementos se llevó a cabo mediante la prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney,

ya que se comprobó previamente que las distribuciones de las concentraciones de los oligoelementos incumplían el supuesto de normalidad. Para las variables sociodemográficas continuas, la posible asociación estadística con los elementos traza se llevó a cabo mediante el cálculo de coeficientes de correlación ordinal de Spearman (r_s), evitándose el cálculo de coeficientes de correlación de Pearson al incumplirse el supuesto de normalidad.

El tercer objetivo de esta investigación estaba dirigido a comparar los perfiles analíticos de los dos grupos de gestantes, con y sin RPM. Un primer análisis consistió en comprobar si los dos grupos de gestantes, con y sin RPM, estaban igualados en las variables de control (variables sociodemográficas y clínicas). Para las variables cualitativas se construyeron tablas de contingencia y sobre las frecuencias de las celdillas se aplicó la prueba Chi-cuadrado de Pearson para comprobar si las variables estaban estadísticamente asociadas. Cuando no se cumplieron los supuestos de aplicación de esta prueba, se aplicó la prueba de razón de verosimilitudes (RV). El tamaño del efecto se estimó con el coeficiente de asociación V de Cramer. Siguiendo el criterio de Cohen (1988), valores V en torno a 0,10, 0,30 y 0,50 (en valor absoluto) se consideraron como reflejando significación práctica baja, media y alta, respectivamente. Para las variables continuas esta comparación se efectuó con la prueba t de significación de diferencias entre medias de muestras independientes. Cuando se incumplió el supuesto de homogeneidad de varianzas se aplicó la corrección de Satterthwaite sobre la prueba t de comparación de medias. Si se incumplió el supuesto de normalidad, en lugar de la prueba t se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. El tamaño del efecto se estimó mediante el cálculo de la diferencia media tipificada (d). Siguiendo el criterio de Cohen (1988), valores d en torno a 0,20, 0,50 y 0,80 (en valor absoluto) pueden considerarse como reflejando significación práctica baja, media y alta, respectivamente.

Dentro del tercer objetivo, un análisis complementario consistió en clasificar a las gestantes según los valores de referencia de las diferentes variables analíticas examinadas (bioquímica general, ionograma, hematimetría y elementos traza). Para comparar los dos grupos de gestantes en función de su clasificación según los valores de referencia de cada variable analítica, se construyeron tablas de contingencia y las frecuencias de las celdillas se sometieron a pruebas Chi-cuadrado de Pearson para

comprobar la asociación estadística. Cuando se incumplieron los supuestos de la prueba Chi-cuadrado, se aplicó la prueba de razón de verosimilitudes (*RV*). El tamaño del efecto se estimó calculando los odds ratios y construyendo intervalos de confianza al 95%.

Finalmente, con objeto de identificar variables analíticas que pudieran actuar como posibles factores de riesgo/protección de la RPM (cuarto objetivo), se aplicaron modelos de regresión logística, tomando como variable dependiente los dos grupos de gestantes (RPM vs. no RPM) y como variables predictoras las concentraciones de elementos traza y variables analíticas en sangre. En el proceso de selección de predictores se aplicó el método de selección por pasos condicional hacia delante. La significación estadística de los predictores analizados en los modelos de regresión logística se contrastó con el estadístico de Wald. También se calculó el odds ratio ajustado de cada predictor y se estimó la varianza explicada con el coeficiente R^2 de Nagelkerke.

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS 19. La significación estadística se analizó asumiendo un nivel de significación del 5% ($p < .05$).

Capítulo 4:

Resultados

En este capítulo se presentan los resultados de esta investigación. La presentación de los mismos se estructuró en función de los cuatro objetivos específicos planteados. No obstante, se presentará en primer lugar una descripción de las características sociodemográficas y clínicas de la muestra total de gestantes, así como de los neonatos.

1. Características sociodemográficas y clínicas de la muestra

La muestra total estuvo formada por 101 gestantes a término que dieron a luz a un neonato sano. La Tabla 1 muestra las edades y el número de semanas de gestación. Las edades de las gestantes variaron entre los 16 y los 51 años, con una media de 31,43 años. El número de semanas de gestación osciló entre 37 y 42, con un número medio igual a 40,02 semanas.

Tabla 1. Características descriptivas continuas de la muestra total de gestantes.

Variable	Mín.	Máx.	Media	Md	DT
Edad	16	51	31,43	32,00	5,95
Semanas de gestación	37	42	40,02	40,00	1,34

Mín. y Máx. = valores mínimo y máximo, respectivamente. Md = mediana. DT = desviación típica. $N = 101$.

La Tabla 2 presenta otras características de la muestra total de gestantes. Hubo una ligera mayoría de gestantes nulíparas (56,4%) frente a multíparas; la mayoría de las gestantes eran de raza caucásica (86,1%). Hubo una ligera mayoría de gestantes que comenzaron de forma espontánea el parto (53,5%) frente a las que comenzaron mediante inducción. En su gran mayoría, el color del líquido amniótico fue normal (89,1%), no había sufrido roturas previas de membranas (83,2%), eran no fumadoras (83,2%) y en ningún caso habían tenido amenaza previa de parto prematuro. Tan sólo un pequeño porcentaje de las gestantes presentó diabetes gestacional (5,9%) y la franja de edad de las gestantes más frecuente fue 26 – 35 años (60,4%). Así pues, la muestra total de gestantes de esta investigación se caracterizó por, en su mayoría, ser su primer parto, ser de raza caucásica, presentar líquido amniótico normal, no ser fumadoras, no haber sufrido en ninguna ocasión amenaza previa de parto prematuro y no sufrir diabetes gestacional.

Tabla 2. Características descriptivas cualitativas de la muestra total de gestantes.

Variable	Frec.	%
Número de partos previos:		
Nulíparas	57	56,4
Multíparas	44	43,6
Raza:		
Caucásica	87	86,1
Otras	14	13,9
Comienzo de parto:		
Espontáneo	54	53,5
Inducción	47	46,5
Líquido amniótico:		
Normal	90	89,1
Teñido	11	10,9
RPM previa:		
No	84	83,2
Sí	17	16,8
Hábito tabáquico:		
No	84	83,2
Sí	17	16,8
Amenaza previa de parto prematuro:		
No	101	100
Sí	0	0
Diabetes gestacional:		
No	95	94,1
Sí	6	5,9
Edad (años):		
< 26	16	15,8
26 – 35	61	60,4
> 35	24	23,8
Sexo del neonato:		
Varón	52	51,5
Mujer	49	48,5

La Tabla 2 también recoge el porcentaje de neonatos varones y de mujeres, que fue muy equilibrado (51,5% vs. 48,5%, respectivamente). En relación con las características de los neonatos, la Tabla 3 recoge el peso al nacimiento, que osciló entre los 2190,0 y los 4625,0 gramos, con una media de 3332,1 gramos. Además, las puntuaciones obtenidas por los neonatos en las pruebas Apgar al minuto y a los cinco minutos variaron entre 3 y 9 en el primer caso, y entre 8 y 10 en el segundo, siendo las medias 8,9 y 9,9, respectivamente.

Tabla 3. Características descriptivas continuas de los neonatos.

Variable	Mín.	Máx.	Media	Md	DT
Peso al nacimiento	2190,0	4625,0	3332,1	3300,0	466,2
Apgar 1	3	9	8,9	9,0	0,64
Apgar 5	8	10	9,9	10,0	0,31

Mín. y Máx. = valores mínimo y máximo, respectivamente. Md = mediana. DT = desviación típica. $N = 101$.

2. Objetivo 1: Perfil inflamatorio y concentraciones de oligoelementos

El primer objetivo de esta investigación fue investigar el perfil inflamatorio y las concentraciones de oligoelementos en sangre de gestantes a término, independientemente de si sufrieron o no rotura prematura de membranas, y comprobar si se observaban desajustes respecto de los valores de referencia. Con este propósito, se ha analizado la muestra total de 101 gestantes como una muestra única, sin distinguir entre los grupos con y sin RPM. Los resultados relativos a este objetivo se presentan en dos secciones: (a) bioquímica general y hematimetría y (b) análisis de los oligoelementos.

2.1 Bioquímica general y hematimetría

Uno de los propósitos dentro de este primer objetivo fue conocer los niveles de determinados parámetros analíticos en sangre de gestantes a término. La Tabla 4 presenta los estadísticos básicos obtenidos en la muestra total de gestantes relativos a la bioquímica automatizada practicada en el momento del parto (media, desviación típica, valores mínimo y máximo e intervalo de confianza al 95% para la media). Dicha tabla también contiene los valores de referencia para los diferentes elementos analizados. Debe tenerse en cuenta que la mayoría de los valores de referencia que figuran en las Tablas 4 y 5 corresponden a población gestante. Se han señalado con un asterisco aquellas variables para las que no se dispone de valores de referencia en población gestante. En estos casos excepcionales, se han utilizado los valores de referencia en población general.

En lo que respecta a la bioquímica general, se observaron niveles medios que se encontraban dentro de los valores de referencia en glucosa (media = 91,17 mg/dL) y en calcio (media = 8,983 mg/dL), mientras que la creatinina presentó una media ligeramente por debajo del valor mínimo de referencia (media = 0,536 mg/dL) y el ácido úrico se situó claramente por debajo de su valor mínimo de referencia (media = 4,167 mg/dL). Los intervalos de confianza al 95% para los niveles medios de glucosa y calcio se situaron ambos dentro de los valores de referencia respectivos. Sin embargo, el ácido úrico presentó unos límites confidenciales que se situaron por debajo de sus valores de referencia, y la creatinina también exhibió un límite confidencial superior que se situó sólo ligeramente por encima de su valor mínimo de referencia (Tabla 4).

El examen de los valores mínimo y máximo indicó la presencia de casos por encima y/o por debajo de los valores de referencia en estos elementos. Con objeto de profundizar más en estos casos anómalos, se clasificaron los casos según los valores de referencia de cada elemento, obteniéndose los resultados que muestra la Tabla 5. En glucosa se observó un 6,9% de casos con niveles inferiores a los normales, y un 14,9% con niveles por encima de éstos. En cuanto al calcio, el 100% de la muestra se situó dentro de los valores de referencia. Más de la mitad de los casos (54,5%) presentó niveles de creatinina por debajo de los valores de referencia, y el 19,8% se situó por encima de dichos valores. El ácido úrico presentó también un elevado porcentaje de casos (65,3%) con niveles por debajo de los valores de referencia, y un 23,8% de ellos por encima.

El análisis del ionograma, tal como muestra la Tabla 4, indicó niveles medios normales tanto para el sodio (media = 136,84 mEq/L) como para el potasio (media = 4,094 mEq/L), pero no para el cloro, que se situó ligeramente por debajo de sus valores de referencia (media = 101,19 mEq/L). Así mismo, tanto el sodio como el potasio presentaron límites confidenciales para sus medias que se situaron dentro de los valores de referencia respectivos. No fue ése el caso del cloro, que presentó límites confidenciales por debajo de sus valores de referencia. Además, el análisis de los valores mínimo y máximo indicó la presencia de casos fuera de los valores de referencia de estos elementos. Así, como se aprecia en la Tabla 5, un 10,9% de las gestantes presentaron niveles de sodio por debajo de los niveles normales, y un 1% se situó por encima de éstos. El potasio estuvo por debajo de los valores de referencia en el 5% de

los casos y el 9,9% por encima, mientras que el cloro presentó una mayoría de gestantes con niveles por debajo de sus valores de referencia (59,4%), y sólo un 1% se situó por encima de dichos valores.

La Tabla 4 presenta también los estadísticos básicos para la proteína C reactiva y la procalcitonina. Debe tenerse en cuenta que los valores de referencia que figuran en dicha tabla corresponden a población general, debido a que no se dispone de dichos valores específicos para población gestante. La proteína C reactiva presentó un nivel medio por encima de los valores normales (media = 1,353 mg/dL). De hecho, los límites confidenciales del intervalo de confianza al 95% para la media se situaron fuera de los valores de referencia (1,089 y 1,617 mg/dL). Además, el 71,3% de las gestantes presentaron niveles de proteína C reactiva por encima de los valores de referencia (ver Tabla 5). La procalcitonina, por el contrario, presentó un nivel medio dentro de los valores normales (media = 0,051 ng/mL) y todas las gestantes se situaron dentro de estos niveles (ver Tabla 5).

Los resultados relativos al análisis de hematimetría se presentan en las Tablas 6 y 7. Tanto los hematíes (media = $3,951 \times 10^6$ /uL) como la hemoglobina (media = 11,711 g/dL) como el hematocrito (media = 35,201%) presentaron niveles medios que se situaron dentro de sus respectivos valores de referencia (Tabla 6). Además, sus intervalos de confianza presentaron límites confidenciales que también se situaron dentro de sus valores de referencia (con la ligera excepción del límite inferior para la hemoglobina). El examen de la clasificación de los casos según los valores de referencia presentados en la Tabla 7, indicó que el 9,9% de las gestantes exhibió niveles de hematíes por debajo de los valores de referencia, elevándose este porcentaje hasta el 35,6% para la hemoglobina y hasta el 26,7% para el hematocrito.

Las plaquetas presentaron una media dentro de los valores de referencia (media = $205,58 \times 10^3$ /uL), con un intervalo de confianza cuyos límites también se situaron dentro de dichos valores. El examen de los valores mínimo y máximo indicó la presencia de gestantes con niveles por debajo de los valores de referencia, siendo este porcentaje del 9,9% (Tabla 7). Por su parte, los leucocitos exhibieron una media que se situó dentro de sus valores de referencia (media = $14,113 \times 10^3$ /uL), con un intervalo de confianza que también se situó dentro de dichos valores. No obstante, el examen de los

valores máximo y mínimo para esta variable reveló un porcentaje considerablemente alto de gestantes (44,6%) con niveles de leucocitos por encima de los valores de referencia (Tabla 7).

La Tabla 6 también muestra los resultados relativos a coagulación. Es preciso hacer notar que los valores de referencia que figuran en dicha tabla para el Tiempo de Protrombina, Actividad de Protrombina y PTTA ratio corresponden a población general, debido a que no se dispone de valores de referencia específicos para población gestante. Tanto el tiempo medio de Protrombina como sus límites confidenciales se situaron dentro de los valores normales (media = 9,750 seg.), si bien una de cada cuatro gestantes (27,7%) presentó tiempos por debajo de los valores de referencia (Tabla 7). La ratio tiempo de Protrombina presentó una media de 0,858 con límites confidenciales 0,845 y 0,871 (Tabla 6). La actividad de Protrombina presentó un nivel medio muy por encima de los valores de referencia (media = 130,59%), con un intervalo de confianza que se situó por encima de dichos valores (127,69% y 133,49%). Además, como muestra la Tabla 7, el 97% de las gestantes presentó niveles por encima de los valores normales.

El tiempo medio de Tromboplastina parcial activada se situó dentro de los valores de referencia (media = 28,065 seg.), así como sus límites confidenciales. No obstante, el examen de los tiempos mínimo y máximo reveló la existencia de casos que se situaron fuera de los valores de referencia. En concreto, el 14,9% de las gestantes presentó tiempos por debajo de los de referencia, mientras que el 16,8% los presentó por encima (Tabla 7).

La PTTA ratio se situó, en promedio, dentro de los valores de referencia (media = 0,976), así como sus límites confidenciales. No obstante, se observaron casos fuera de dicho rango. En concreto, el 7,9% y el 2% de las gestantes se situaron por debajo y por encima de los valores de referencia, respectivamente (Tabla 7).

El indicador INR exhibió un nivel medio y unos límites confidenciales que se situaron dentro de los valores de referencia (media = 0,861), según muestra la Tabla 6. Además, un 6,9% de las gestantes presentaron niveles por debajo de sus valores de referencia, mientras que otro 6,9% se situaron por encima de dichos valores (Tabla 7).

El Fibrinógeno derivado presentó un nivel medio que se situó dentro de los valores de referencia (media = 472,91 mg/dL), así como sus límites confidenciales. Una tercera parte de las gestantes (33,7%) presentó niveles de Fibrinógeno derivado por debajo de los valores de referencia (Tabla 7).

Finalmente, como puede observarse en la Tabla 6, los niveles de Dímero D se situaron muy por encima de los valores de referencia (media = 885,07 ng/mL), con un intervalo de confianza claramente fuera de dichos valores (747,77 y 1022,36 ng/mL). De hecho, el 100% de las gestantes exhibió niveles en este elemento por encima de los valores de referencia (Tabla 7).

Tabla 4. Valores medios e intervalos de confianza de los datos relativos a la bioquímica automatizada y valores de referencia en población gestante.

Elemento	Referencia	Media	DT	Mínimo	Máximo	I. C. al 95%	
						Li	Ls
<i>Bioquímica General:</i>							
Glucosa	68 – 106 mg/dL	91,17	30,06	56	338	85,23	97,10
Creatinina	0,54 – 0,60 mg/dL	0,536	0,098	0,30	0,82	0,516	0,555
Ácido úrico	4,59 – 4,85 mg/dL	4,167	0,893	2,40	6,60	3,991	4,344
Calcio	3,92 – 11,18 mg/dL	8,983	0,501	7,40	10,60	8,884	9,082
<i>Ionograma:</i>							
Sodio	135 – 141 mEq/L	136,84	2,395	128	146	136,37	137,31
Potasio	3,6 – 4,5 mEq/L	4,094	0,343	3,40	5,10	4,026	4,162
Cloro	102 – 111 mEq/L	101,19	3,075	91	112	100,58	101,80
<i>Pruebas inflamatorias:</i>							
Proteína C reactiva*	0,00 – 0,50 mg/dL	1,353	1,338	0,09	6,58	1,089	1,617
<i>Marcadores de inflam.:</i>							
Procalcitonina*	0,00 – 0,50 ng/mL	0,051	0,022	0,02	0,12	0,047	0,055

DT = desviación típica. I. C. al 95% = intervalo de confianza para la media con un nivel de confianza del 95%. N = 101 casos. Los valores de referencia que figuran en la tabla pertenecen a población gestante. Las únicas excepciones fueron la Proteína C reactiva y la Procalcitonina (figuran marcadas con un asterisco). No se han encontrado valores de referencia específicos para población gestante para estas variables, por lo que figuran en esta tabla los valores de referencia correspondientes a población general.

Tabla 5. Datos relativos a la bioquímica automatizada agrupados según los valores de referencia en población gestante.

Elemento	Frec.	%	Elemento	Frec.	%
Glucosa (mg/dL):			Sodio (mEq/L):		
< 68	7	6,9	< 135	11	10,9
68 – 106	79	78,2	135 – 141	89	88,1
> 106	15	14,9	> 141	1	1
Creatinina (mg/dL):			Potasio (mEq/L):		
< 0,54	55	54,5	< 3,6	5	5
0,54 – 0,60	26	25,7	3,6 – 4,5	86	85,1
> 0,60	20	19,8	> 4,5	10	9,9
Ácido úrico (mg/dL):			Cloro (mEq/L):		
< 4,59	66	65,3	< 102	60	59,4
4,59 – 4,85	11	10,9	102 – 111	40	39,5
> 4,85	24	23,8	> 111	1	1
Calcio (mg/dL):			Proteína C reactiva*(mg/dL):		
< 3,92	0	0	0 – 0,5	29	28,7
3,92 – 11,18	101	100	> 0,5	72	71,3
> 11,18	0	0	Procalcitonina*(ng/mL):		
			0 – 0,5	101	100
			> 0,5	0	0

N = 101 casos. Frec. = número de casos. Los valores de referencia que figuran en la tabla pertenecen a población gestante. Las únicas excepciones fueron la Proteína C reactiva y la Procalcitonina (figuran marcadas con un asterisco). No se han encontrado valores de referencia específicos para población gestante para estas variables, por lo que figuran en esta tabla los valores de referencia correspondientes a población general.

Tabla 6. Valores medios e intervalos de confianza de los datos relativos al análisis de hematimetría y valores de referencia en población gestante.

Elemento	Valores de Referencia	Media	DT	Mínimo	Máximo	I. C. al 95%	
						Li	Ls
<i>Serie roja:</i>							
Hemáties	3,54 – 5,2 x10 ⁶ /uL	3,951	0,353	2,80	4,70	3,882	4,021
Hemoglobina	11,5 – 16,0 g/dL	11,711	1,120	8,20	14,10	11,490	11,932
Hematocrito	34 – 46%	35,201	3,052	23,50	41,00	34,599	35,803
<i>Serie plaquetar:</i>							
Plaquetas	140 – 370 x10 ³ /uL	205,58	50,99	89	347	195,52	215,65
<i>Serie blanca:</i>							
Leucocitos	5,8 – 15,1 x10 ³ /uL	14,113	4,360	6,12	27,79	13,25	14,97
<i>Coagulación básica:</i>							
Tiempo de Protrombina*	9,4 – 12,5 seg.	9,750	0,624	8,50	12,10	9,627	9,874
Ratio Tiempo de Protrombina	--	0,858	0,065	0,80	1,10	0,845	0,871
Actividad de Protrombina*	70 – 100%	130,59	14,68	91	165	127,69	133,49
Tiempo de Tromboplastina parcial activada	24,7 – 30,3 seg.	28,065	4,028	19,70	48,30	27,270	28,860
PTTA ratio*	0,8 – 1,3	0,976	0,133	0,69	1,69	0,949	1,002
INR	0,8 – 0,94	0,861	0,053	0,75	1,06	0,850	0,871
Fibrinógeno derivado	443,6–670,2 mg/dL	472,91	56,74	377	721	461,71	484,11
Dímero D	139 – 257 ng/mL	885,07	695,46	270	3760	747,77	1022,36

DT = desviación típica. I. C. al 95% = intervalo de confianza para la media con un nivel de confianza del 95%. N = 101 casos. Los valores de referencia que figuran en la tabla pertenecen a población gestante. Las únicas excepciones fueron el Tiempo de Protrombina, la Actividad de Protrombina y la PTTA ratio (figuran en la tabla señalados con un asterisco). No se dispone de valores de referencia específicos para población gestante para estas variables, por lo que figuran en esta tabla los valores de referencia correspondientes a población general.

Tabla 7. Datos relativos a la hematimetría clasificados según los valores de referencia en población gestante.

Elemento	Frec.	%
Hematíes ($\times 10^6/\text{uL}$):		
< 3,54	10	9,9
3,54 – 5,2	91	90,1
> 5,2	0	0
Hemoglobina (g/dL):		
< 11,5	36	35,6
11,5 – 16	65	64,4
> 16	0	0
Hematocrito ((%):		
< 34	27	26,7
34 – 46	74	73,3
> 46	0	0
Plaquetas ($\times 10^3/\text{uL}$):		
< 140	10	9,9
140 – 370	91	90,1
> 370	0	0
Leucocitos ($\times 10^3/\text{uL}$):		
< 5,8	0	0
5,8 – 15,1	56	55,4
> 15,1	45	44,6
Tiempo de Protrombina* (seg.):		
< 9,4	28	27,7
9,4 – 12,5	73	72,3
> 12,5	0	0
Actividad de Protrombina* (%):		
< 70	0	0
70 – 100	3	3
> 100	98	97
Tiempo Tromboplastina Parcial Activada (seg.):		
< 24,7	15	14,9
24,7 – 30,3	69	68,3
> 30,3	17	16,8
PTTA ratio*:		
< 0,8	8	7,9
0,8 – 1,3	91	90,1
> 1,3	2	2
INR:		
< 0,8	7	6,9
0,8 – 0,94	87	86,1
> 0,94	7	6,9
Fibrinógeno derivado (mg/dL):		
< 443,6	34	33,7
443,6 – 670,2	66	65,3
> 670,2	1	1
Dímero D (ng/mL):		
< 139	0	0
139 – 257	0	0
> 257	101	100

$N = 101$ casos. Frec. = número de casos. Los valores de referencia que figuran en la tabla pertenecen a población gestante. Las únicas excepciones fueron el Tiempo de Protrombina, la Actividad de

Protrombina y la PTTA ratio (figuran en la tabla señalados con un asterisco). No se dispone de valores de referencia específicos para población gestante para estas variables, por lo que figuran en esta tabla los valores de referencia correspondientes a población general.

2.2 Análisis de los oligoelementos

Dentro de este primer objetivo, otro propósito fue examinar las concentraciones de ciertos oligoelementos en sangre de gestantes a término. La Tabla 8 presenta los estadísticos básicos de los oligoelementos obtenidos en la muestra total (media, desviación típica, valores mínimo y máximo y límites confidenciales del intervalo de confianza al 95% para la media), así como los valores de referencia. La unidad de medida utilizada en todos los casos fue partes por millón (ppm ó mg/L) en sangre.

La mayoría de los valores de referencia que se presentan en la Tabla 8 se tomaron de Repetto y Repetto (2000). Para aquellos oligoelementos que Repetto y Repetto no aportaron valores de referencia se utilizaron otras fuentes. Dichas fuentes se identifican al pie de la Tabla 8. Aún así, hubo un oligoelemento para el que no encontramos valores de referencia: el azufre. La Tabla 9 presenta estos mismos datos, pero clasificados en función de los valores de referencia de cada oligoelemento. Así mismo, las Figuras 1-23 presentan las concentraciones de cada gestante de la muestra total ($N = 101$) para cada elemento traza, con objeto de poder observar de forma detallada los valores individuales.

Para facilitar la interpretación de los resultados, se han agrupado los oligoelementos en seis grupos, en función de dónde se situaron sus niveles medios respecto de los valores de referencia:

- (a) Por encima de los valores de referencia se situaron: bario, bismuto, cadmio, cromo, estaño, estroncio y titanio. En la Tabla 8 figuran estos oligoelementos marcados con color rojo.
- (b) Dentro de los valores de referencia, pero muy próximos a su valor máximo se situaron: cobre y plata. En la Tabla 8 estos oligoelementos figuran en color naranja.

(c) Dentro de los valores de referencia se situaron: aluminio, antimonio, arsénico y litio. En la Tabla 8 estos oligoelementos figuran en color normal (negro).

(d) Dentro de los valores de referencia, pero muy próximos a su valor mínimo, se situó el cinc. En la Tabla 8 este oligoelemento figura en color azul claro.

(e) Por debajo de los valores de referencia se situaron: boro, bromo, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, plomo y selenio. En la Tabla 8 estos oligoelementos figuran en color azul.

(f) Finalmente, se incluye en un grupo aparte un oligoelemento para el que no disponemos de valores de referencia: el azufre. En la Tabla 8 este oligoelemento aparece en color gris.

(a) El examen de los resultados de la Tabla 8 reveló un **primer bloque** formado por siete oligoelementos cuyos niveles medios en la muestra total de gestantes de este estudio se encontraban por encima de los valores de referencia: bario, bismuto, cadmio, cromo, estaño, estroncio y titanio (en color rojo en la Tabla 8).

El *bario* presentó un nivel medio igual a 0,025, situándose por encima del máximo de referencia (0,0024), con un intervalo de confianza cuyos límites también se situaron por encima de dicho máximo (IC95%: 0,015 y 0,036). Además, el 36,6% de las gestantes presentaron niveles de bario por encima del máximo de referencia (Tabla 9). Según los valores de referencia de Repetto y Repetto (2000), niveles por encima de 0,25 mg/L de este oligoelemento suponen una concentración tóxica. En nuestra muestra de gestantes, como puede apreciarse en la Tabla 8 y en la Figura 5, el valor máximo obtenido fue 0,243, ligeramente por debajo del valor tóxico de referencia. Puede descartarse, pues, la presencia de niveles tóxicos de bario en todas las gestantes de nuestra muestra.

El nivel medio de *bismuto* fue de 0,0026 (Tabla 8), muy por encima del valor máximo de referencia (0,0008), si bien este valor máximo se situó dentro de los límites confidenciales para la media (IC95%: 0 y 0,007). Es preciso apuntar, no obstante, que sólo el 4% de las gestantes presentó niveles de bismuto por encima del valor de

referencia, mientras que el 96% restante de la muestra presentó niveles iguales a 0 (Tabla 9). El elevado nivel medio se debió, pues, al efecto de 4 datos que se alejaron en exceso del valor nulo. Según los valores de referencia de Repetto y Repetto (2000), niveles por encima de 0,05 mg/L de este oligoelemento suponen una concentración tóxica. En nuestra muestra de gestantes, como puede apreciarse en la Tabla 8, el valor máximo obtenido fue 0,217, claramente por encima del valor tóxico de referencia. Este valor extremo corresponde a una gestante, de forma que el resto de gestantes de la muestra no alcanzaron el valor tóxico de referencia (véase Figura 6).

El *cadmio* presentó un nivel medio (media = 0,0015) por encima del valor máximo de referencia (0,0006), si bien éste quedó dentro de los límites confidenciales para la media (IC95%: 0 y 0,004). No obstante, todos los casos menos uno presentaron niveles nulos en este oligoelemento (Tabla 9), de forma que el nivel medio obtenido no fue representativo del conjunto de la muestra. El único valor no nulo de la muestra (0,153) superó el valor de referencia (véase Figura 9).

El *chromo* presentó un nivel medio igual a 0,0035, por encima del valor máximo de referencia (0,0004), situándose los límites confidenciales por encima de dicho valor de referencia (Tabla 9). Además, el 19,8% de las gestantes presentaron niveles de cromo por encima del valor de referencia (Tabla 9 y Figura 12).

El *estaño* obtuvo un nivel medio igual a 0,568, muy por encima del valor de referencia (0,05) recogido en un laboratorio italiano que nos fue proporcionado, mediante comunicación personal, por la Dra. M^a Luisa Gil del Castillo. Los límites confidenciales se situaron también muy por encima de dicho valor de referencia (Tabla 8). Además, el 90,1% de las gestantes presentaron niveles superiores al de referencia (Tabla 9 y Figura 13).

El *estroncio* presentó una concentración media igual a 0,043. Aunque la media se situó sólo ligeramente por encima del valor de referencia (0,03) recogido en Vallejo et al (2012), los límites confidenciales en torno a ella también se encontraron por encima de dicho valor (Tabla 8). Además, tres de cada cuatro gestantes (77,2%) obtuvieron niveles de estroncio por encima del valor de referencia (Tabla 9 y Figura 14).

El último oligoelemento que presentó una concentración media por encima del valor de referencia, recogido en Zheng et al (2014), fue el **titanio** (media = 0,207), situándose el 100% de las gestantes de nuestra muestra por encima de dicho valor (0,049) (véase Figura 23).

(b) Un **segundo bloque** de oligoelementos lo conformaron el cobre y la plata, que presentaron niveles medios dentro de los valores de referencia, pero cerca del límite superior (en color naranja en la Tabla 8). El nivel medio de **cobre** en nuestra muestra fue 1,5, siendo el valor máximo de referencia 1,6 (Tabla 8). El intervalo de confianza se situó dentro de los valores de referencia (IC95%: 1,433 y 1,568). Si bien la mayoría de las gestantes de la muestra obtuvieron niveles de cobre dentro de los valores de referencia (70,3%), una de cada cuatro (27,7%) superó dichos valores, mientras que un reducido número se situó por debajo (2%) del valor mínimo de referencia (Tabla 9 y Figura 11).

En cuanto a la concentración de **plata** en sangre, el nivel medio en la muestra se situó justo en el valor máximo de referencia (0,0006). Tan sólo una gestante de la muestra presentó un valor superior a 0 en este elemento, por lo que puede considerarse que los niveles de concentración de este oligoelemento en la muestra fueron prácticamente nulos (véase Figura 20).

(c) Un **tercer bloque** estaría conformado por cuatro oligoelementos que presentaron niveles medios dentro de los valores de referencia: aluminio, antimonio, arsénico y litio (en color negro en la Tabla 8). El **aluminio** presentó un nivel medio igual a 0,035, por debajo del valor máximo de referencia (0,198) recogido en Panhwar et al (2015), situándose sus límites confidenciales dentro de estos valores (IC95%: 0,012 y 0,058). La gran mayoría de las gestantes presentaron niveles por debajo del valor 0,198 (93,1%), con tan sólo un 6,9% situándose por encima (Tabla 9 y Figura 1).

El **antimonio** presentó un nivel medio igual a 0,00021, con un intervalo de confianza cuyos límites se situaron dentro de los valores de referencia. De la muestra total, tan sólo una gestante obtuvo un nivel de antimonio por encima del valor máximo

de referencia (0,021), presentando el resto un nivel nulo en este oligoelemento (véase Figura 2).

El nivel medio de *arsénico* (0,00031), así como sus límites confidenciales, se situaron dentro de los valores de referencia. Además, sólo dos gestantes obtuvieron niveles ligeramente superiores al valor de referencia (0,015 y 0,016), resultando nulos los niveles de este elemento en el resto de la muestra (véase Figura 3).

El *litio* presentó un nivel medio dentro de los valores de referencia (media = 2,888) recogidos en un laboratorio italiano y proporcionados, mediante comunicación personal, por la Dra. M^a Luisa Gil del Castillo. Sus límites confidenciales también se situaron dentro de los valores de referencia. Además, todas las gestantes de la muestra presentaron niveles dentro de los valores de referencia (Tabla 9 y Figura 17).

(d) Un **cuarto bloque** estuvo integrado exclusivamente por el *cinc* (en color azul claro en la Tabla 8), caracterizado por presentar un nivel medio dentro de los valores de referencia (4 – 7,6), pero muy próximo al valor inferior (media = 4,641). El intervalo de confianza presentó unos límites inferior y superior que se situaron ambos dentro de los valores de referencia (IC95%: 4,373 y 4,909). No obstante, una cuarta parte de la muestra (27,7%) presentó niveles de cinc por debajo de los valores de referencia, mientras que tan sólo el 3% se situó por encima de éstos (Tabla 9 y Figura 10).

(e) Un **quinto bloque** estuvo compuesto por ocho oligoelementos que presentaron concentraciones medias claramente por debajo de los niveles de referencia: boro, bromo, fósforo, hierro, magnesio, manganeso, plomo y selenio (en color azul en la Tabla 8). El *boro* presentó una concentración media igual a 0,081, con límites confidenciales 0,053 y 0,108. Aunque la concentración media se situó por debajo de los valores de referencia recogidos en Tulpar et al (2014), el límite confidencial superior se situó dentro de dichos valores. Además, tres de cada cuatro gestantes (72,3%) presentaron concentraciones por debajo de los valores de referencia (Tabla 9 y Figura 7).

El **bromo** presentó un nivel medio igual a 1,337, muy por debajo de los valores de referencia (3,9 – 6,7) recogidos en Olszowy et al (1998), con un intervalo de confianza cuyos límites también se situaron por debajo de los valores de referencia (IC95%: 1,167 y 1,507). Además, el 99% de la muestra presentó niveles de bromo por debajo de los valores de referencia y sólo una gestante se situó por encima (6,829) (véase Figura 8).

El **fósforo** obtuvo un nivel medio igual a 0,335, claramente por debajo de los valores de referencia recogidos en Prnjavorac et al (2015), con límites confidenciales 0,322 y 0,347, ambos situándose también por debajo de dichos valores (Tabla 8). Además, la mayoría de las gestantes (95%) presentaron concentraciones inferiores a los valores de referencia (Tabla 9 y Figura 15).

El nivel medio de **hierro** (media = 325,309) fue también inferior a los valores de referencia (380 – 625). Los límites confidenciales también se situaron por debajo de dichos valores de referencia (IC95%: 307,364 y 343,255). Además, el 82,2% de la muestra se situó por debajo de estos valores, siendo minoritario el grupo de gestantes con niveles de hierro normales (15,8%) y sólo el 2% presentó niveles por encima de los valores de referencia (Tabla 9 y Figura 16).

El **magnesio** presentó una concentración media de 0,022, con límites confidenciales 0,021 y 0,023, ambos muy por debajo de los valores de referencia recogidos en Asemi et al (2015). Además, la totalidad de las gestantes obtuvieron concentraciones por debajo de dichos valores de referencia (Tabla 9 y Figura 18).

El **manganeso** también se caracterizó por presentar un nivel medio (media = 0,0026) por debajo de los valores de referencia (0,007 – 0,01), como así también lo fueron sus límites confidenciales (IC95%: 0,001 y 0,004). De hecho, la mayoría de las gestantes (89,1%) se situaron por debajo de los valores de referencia, mientras que un pequeño porcentaje (10,8%) se situó por encima (Tabla 9 y Figura 19).

El **plomo** presentó un nivel medio (media = 0,025) claramente por debajo de los valores de referencia (0,04 – 0,3), así como sus límites confidenciales que también se situaron por debajo de dichos valores (IC95%: 0,018 y 0,032). Así, el 80,2% de la

muestra presentó niveles de plomo por debajo de los valores de referencia, situándose el resto de la muestra de gestantes en los niveles normales (19,8%; Tabla 9 y Figura 21).

Cierra este quinto bloque de oligoelementos el *selenio*, que presentó un nivel medio igual a 0,068, ligeramente por debajo de los valores de referencia (0,076 – 0,14). Los límites confidenciales para la media rozaron dichos valores (IC95%: 0,06 y 0,076). Más de la mitad de la muestra de gestantes presentó niveles de selenio por debajo de los valores de referencia (65,3%), situándose dentro de dichos valores el 30,7% y tan sólo un 4% de las gestantes se situó por encima de los valores de referencia (Tabla 9 y Figura 22).

(f) El **sexto bloque** lo conformó el único oligoelemento para el que no hemos encontrado valores de referencia: el azufre (en color gris en la Tabla 8; véase también Figura 4). El *azufre* presentó un nivel medio igual a 1,24, con límites confidenciales 1,191 y 1,289.

Tabla 8. Valores medios e intervalos de confianza de los oligoelementos y valores de referencia (ppm en sangre).

Oligoelemento	Valores de referencia	Media	Md	DT	Mín.	Máx.	Li	Ls
Aluminio	< 0,198 ^a	0,035	0	0,116	0	0,59	0,012	0,058
Antimonio	< 0,0035	0,00021	0	0,0021	0	0,021	0	0,001
Arsénico	< 0,01	0,00031	0	0,0022	0	0,016	0	0,001
Azufre	--	1,24	1,22	0,246	0,37	2,487	1,191	1,289
Bario	< 0,0024	0,025	0	0,053	0	0,243	0,015	0,036
Bismuto	< 0,0008	0,0026	0	0,022	0	0,217	0	0,007
Boro	0,095 – 0,177 ^g	0,081	0,02	0,139	0	0,888	0,053	0,108
Bromo	3,9 – 6,7 ^b	1,337	1,19	0,86	0,086	6,829	1,167	1,507
Cadmio	< 0,0006	0,0015	0	0,015	0	0,153	0	0,004
Cinc	4 – 7,6	4,641	4,57	1,355	1,44	10,359	4,373	4,909
Cobre	0,8 – 1,6	1,5	1,46	0,341	0,526	2,786	1,433	1,568
Cromo	< 0,0004	0,0035	0	0,0082	0	0,055	0,002	0,0052
Estañ	< 0,05 ^e	0,568	0,49	0,521	0	4,161	0,465	0,671
Estroncio	0,03 ^d	0,043	0,04	0,021	0	0,133	0,039	0,047
Fósforo	0,428 – 0,53 ^h	0,335	0,33	0,063	0,121	0,621	0,322	0,347
Hierro	380 – 625	325,309	324,49	90,9	97,266	708,806	307,364	343,255
Lítio	1,388 – 5,552 ^e	2,888	2,77	0,58	1,495	5,329	2,774	3,003
Magnesio	0,129 – 0,195 ⁱ	0,022	0,02	0,0052	0,004	0,046	0,021	0,023
Manganeso	0,007 – 0,01	0,0026	0	0,0083	0	0,055	0,001	0,004
Plata	< 0,0006	0,0006	0	0,0056	0	0,056	0	0,002
Plomo	0,04 – 0,3	0,025	0,02	0,036	0	0,218	0,018	0,032
Selenio	0,076 – 0,14	0,068	0,06	0,039	0	0,218	0,06	0,076
Titanio	0,049 ^f	0,207	0,20	0,046	0,115	0,385	0,198	0,216

DT = desviación típica. Md = mediana. ppm = partes por millón en sangre (mg/L). Li y Ls = límites confidenciales inferior y superior, respectivamente, del intervalo de confianza para la media ($n.c. = 95\%$). N = 101 casos. ^a Valor tomado de Panhwar et al (2015). ^b Valores tomados de Olszowy et al (1998). ^c Valores de referencia proporcionados por la Dra. M^a Luisa Gil del Castillo mediante comunicación personal (fecha: 13/05/2015). ^d Valor tomado de Vallejo et al (2012). ^e Valores de referencia tomados de un laboratorio italiano proporcionado mediante comunicación personal por la Dra. M^a Luisa Gil del Castillo (fecha: 13/06/2015). ^f Valor tomado de Zheng et al (2014). ^g Valor tomado de Culp et al (2014). ^h Valor tomado de Pnjavorac et al (2015). ⁱ Valor tomado de Asemi et al (2015).

Tabla 9. Datos relativos a los oligoelementos clasificados según los valores de referencia.

Oligoelemento	Frec.	%	Oligoelemento	Frec.	%
Aluminio:			Estaño:		
< 0,198	94	93,1	< 0,05	10	9,9
> 0,198	7	6,9	> 0,05	91	90,1
Antimonio:			Estroncio:		
< 0,0035	100	99	< 0,03	23	22,8
> 0,0035	1	1	> 0,03	78	77,2
Arsénico:			Fósforo:		
< 0,01	99	98	< 0,428	96	95
> 0,01	2	2	0,428 – 0,53	2	2
Bario:			> 0,53	3	3
< 0,0024	64	63,4	Hierro:		
> 0,0024	37	36,6	< 380	83	82,2
Bismuto:			380 – 625	16	15,8
< 0,0008	97	96	> 625	2	2
> 0,0008	4	4	Litio:		
Boro:			< 1,388	0	0
< 0,095	73	72,3	1,388 – 5,552	101	100
0,095 – 0,177	14	13,9	> 5,552	0	0
> 0,177	14	13,9	Magnesio:		
Bromo:			< 0,129	101	100
< 3,9	100	99	0,129 – 0,195	0	0
3,9 – 6,7	0	0	> 0,195	0	0
> 6,7	1	1	Manganeso:		
Cadmio:			< 0,007	90	89,1
< 0,0006	100	99	0,007 – 0,01	0	0
> 0,0006	1	1	> 0,01	11	10,8
Cinc:			Plata:		
< 4	28	27,7	< 0,0006	100	99
4 – 7,6	70	69,3	> 0,0006	1	1
> 7,6	3	3	Plomo:		
Cobre:			< 0,04	81	80,2
< 0,8	2	2	0,04 – 0,3	20	19,8
0,8 – 1,6	71	70,3	> 0,03	0	0
> 1,6	28	27,7	Selenio:		
Cromo:			< 0,076	66	65,3
< 0,0004	81	80,2	0,076 – 0,14	31	30,7
> 0,0004	20	19,8	> 0,14	4	4
			Titanio:		
			< 0,049	0	0
			> 0,049	101	100

Nota. Todas las unidades van en partes por millón (ppm, ó mg/L). N = 101.

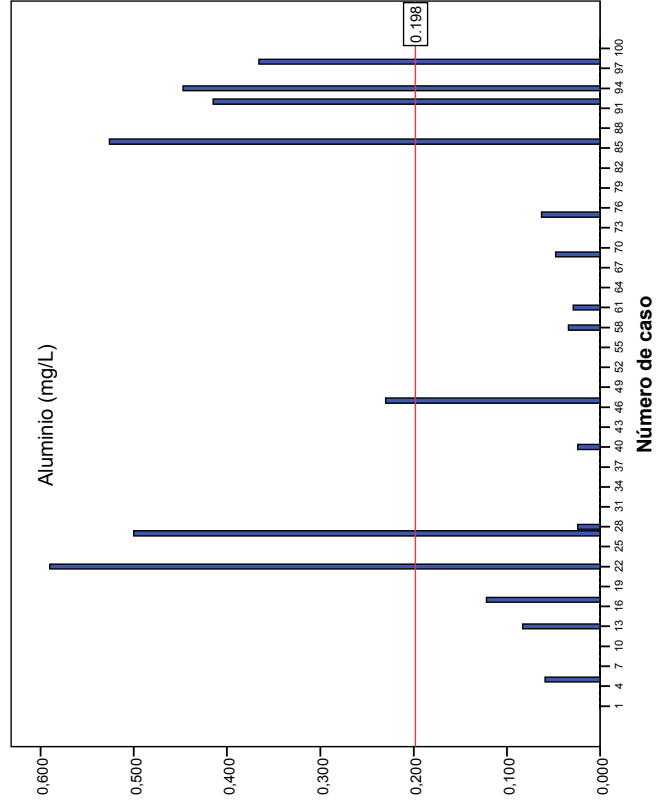


Figura 1. Concentraciones de Aluminio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal indica el valor máximo de referencia (tomado de Panhwar et al., 2015).

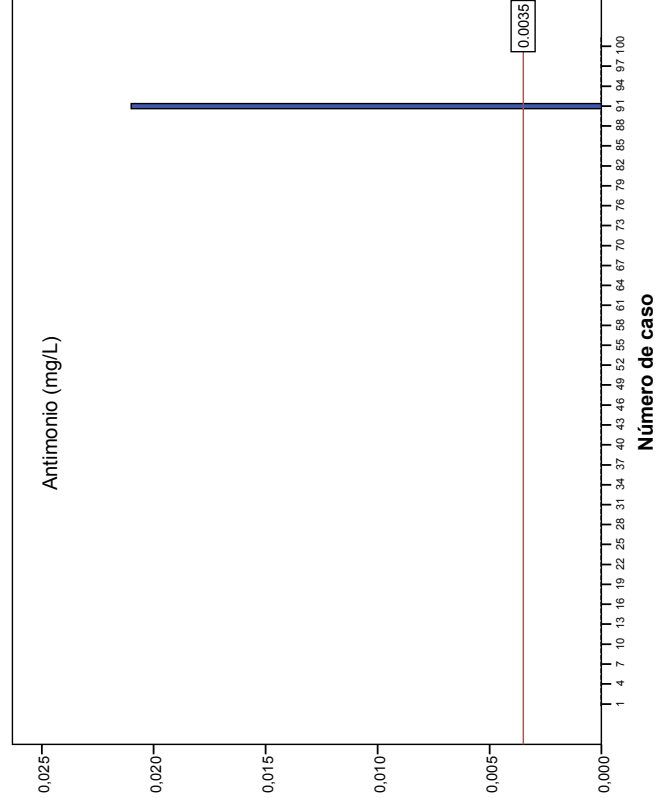


Figura 2. Concentraciones de Antimonio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal indica el valor máximo de referencia (tomado de Repetto y Repetto, 2000).

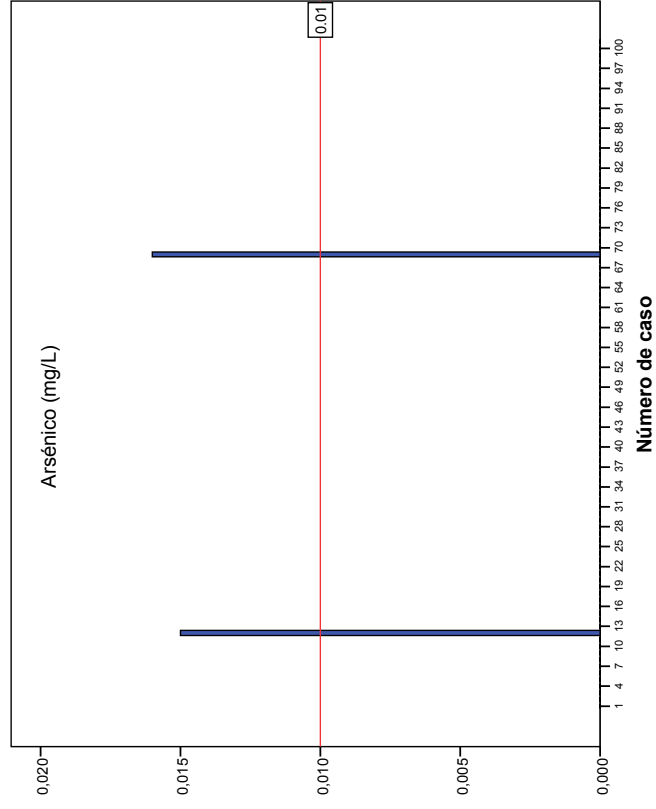


Figura 3. Concentraciones de Arsénico (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal indica el valor máximo de referencia (tomado de Repetto y Repetto, 2000).

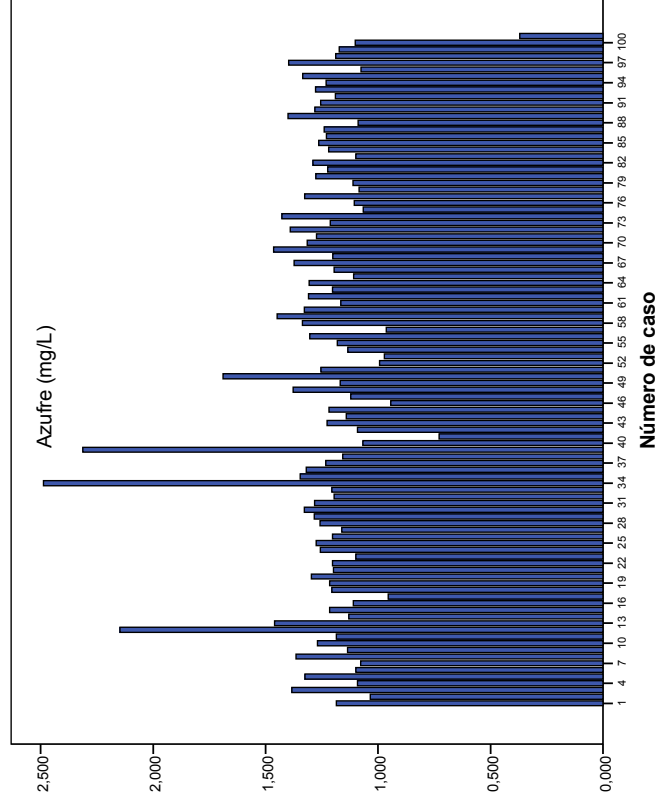


Figura 4. Concentraciones de Azufre (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Para este elemento no disponemos de valores de referencia.

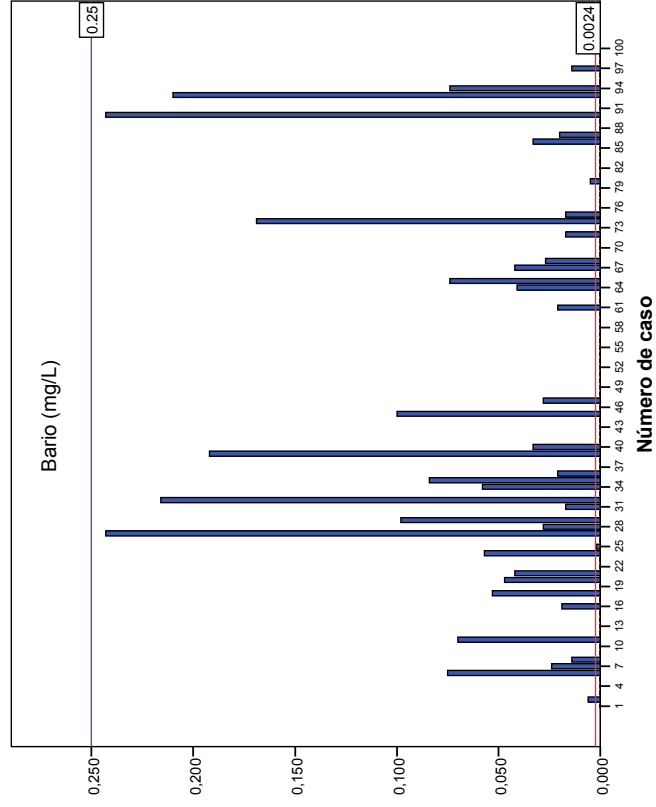


Figura 5. Concentraciones de Bario (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia, mientras que la de color azul indica concentraciones tóxicas (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

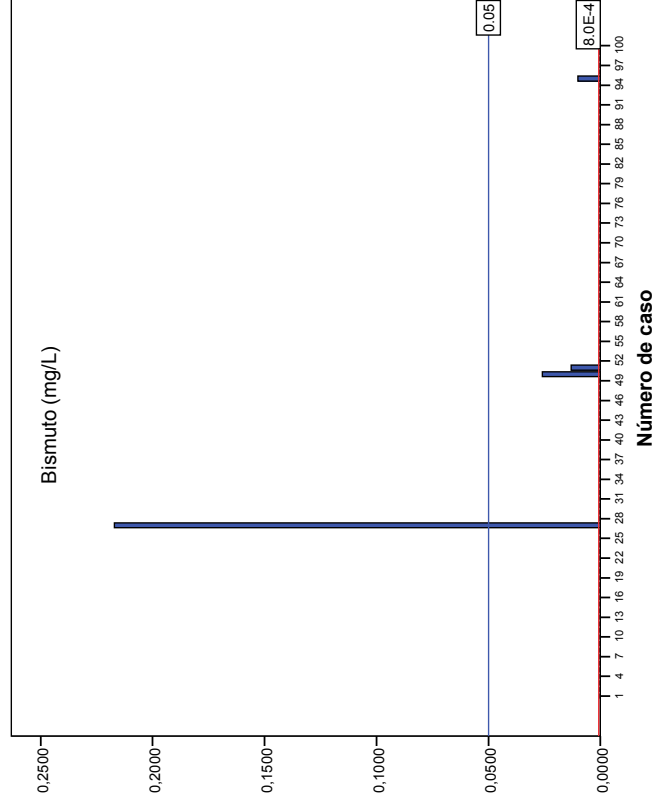


Figura 6. Concentraciones de Bismuto (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia, mientras que la de color azul indica concentraciones tóxicas (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

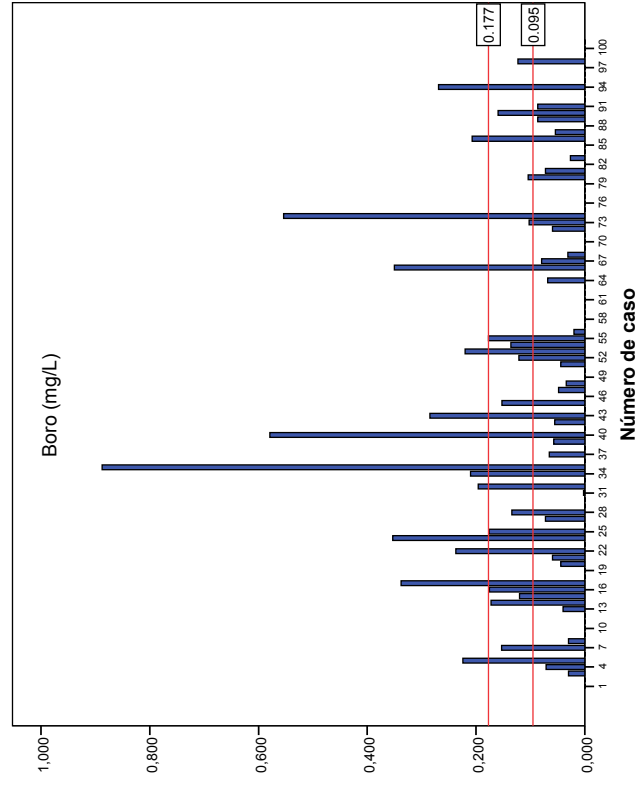


Figura 7. Concentraciones de Boro (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Culpar et al, 2014).

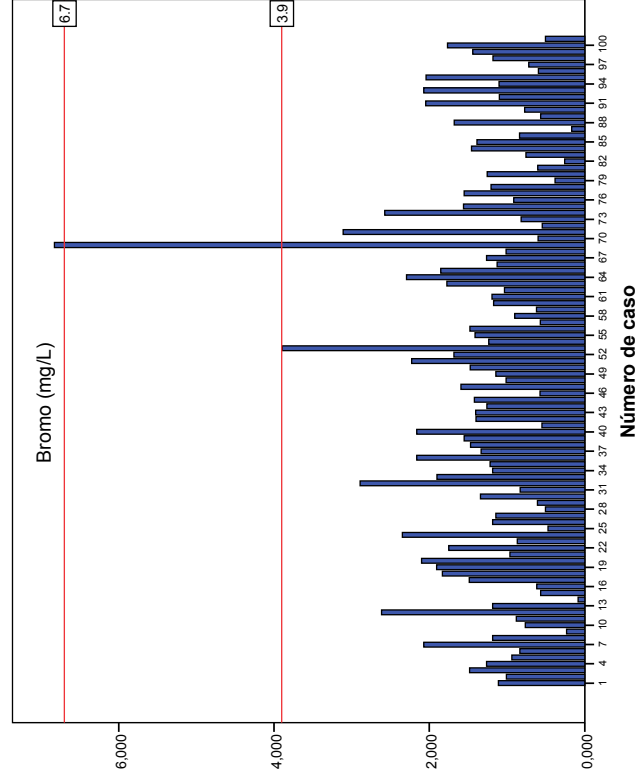


Figura 8. Concentraciones de Bromo (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Olszowy et al, 1998).

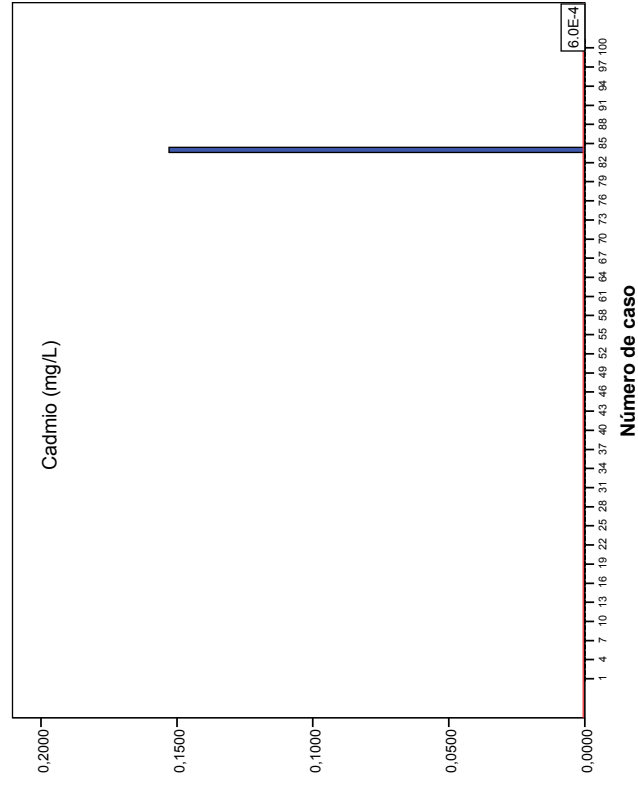


Figura 9. Concentraciones de Cadmio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia (tomado de Repetto y Repetto, 2000).

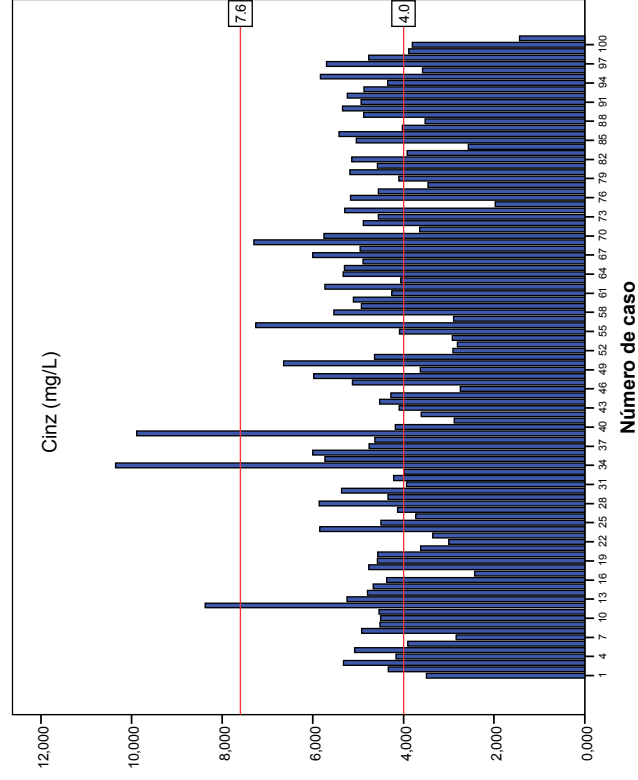


Figura 10. Concentraciones de Cinc (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

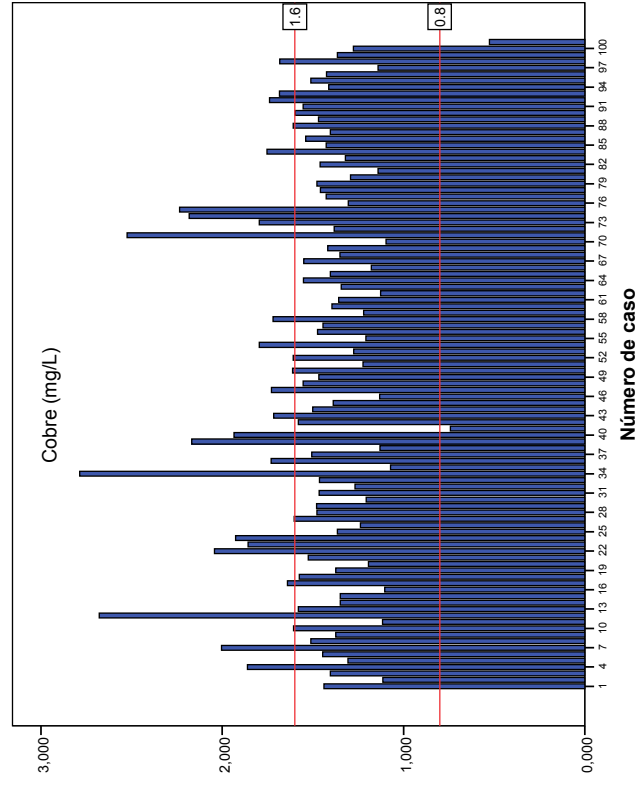


Figura 11. Concentraciones de Cobre (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

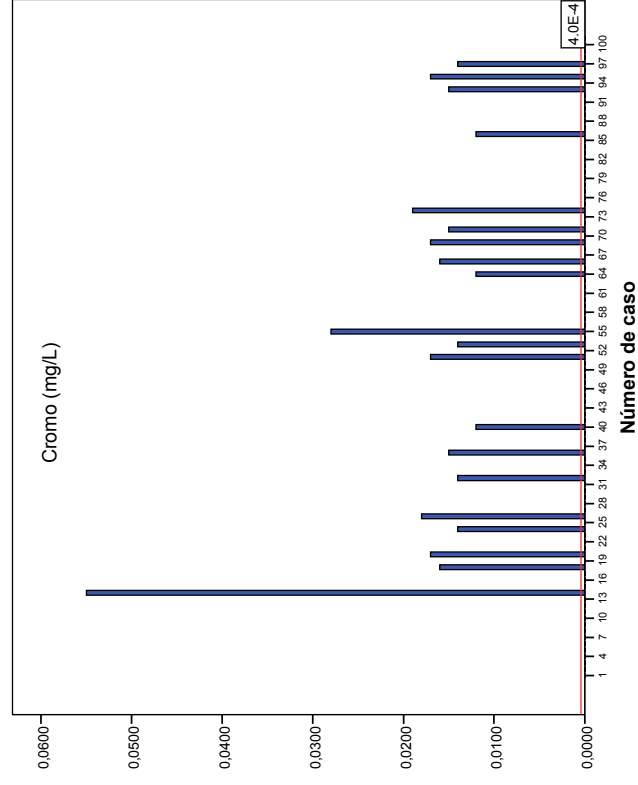


Figura 12. Concentraciones de Cromo (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia (tomado de Repetto y Repetto, 2000).

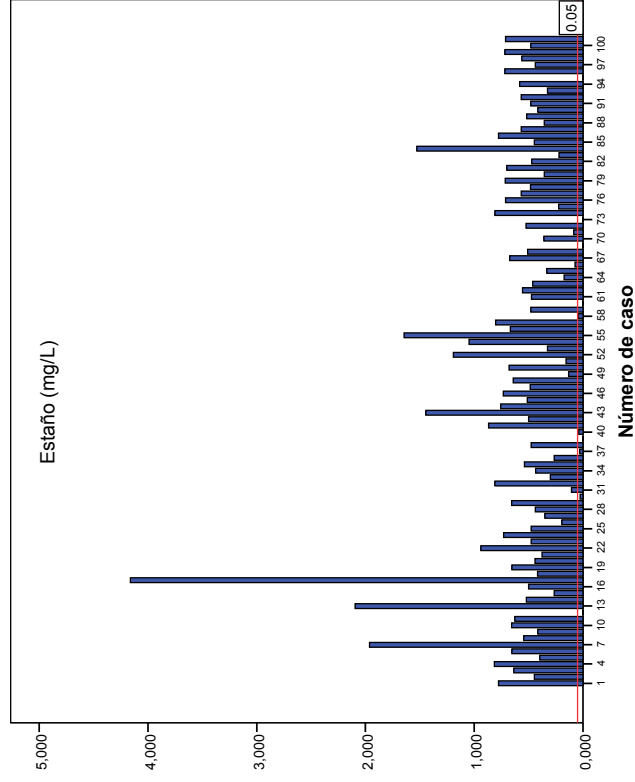


Figura 13. Concentraciones de Estaño (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia (proporcionado mediante comunicación personal con la Dra M^a Luisa Gil del Castillo).

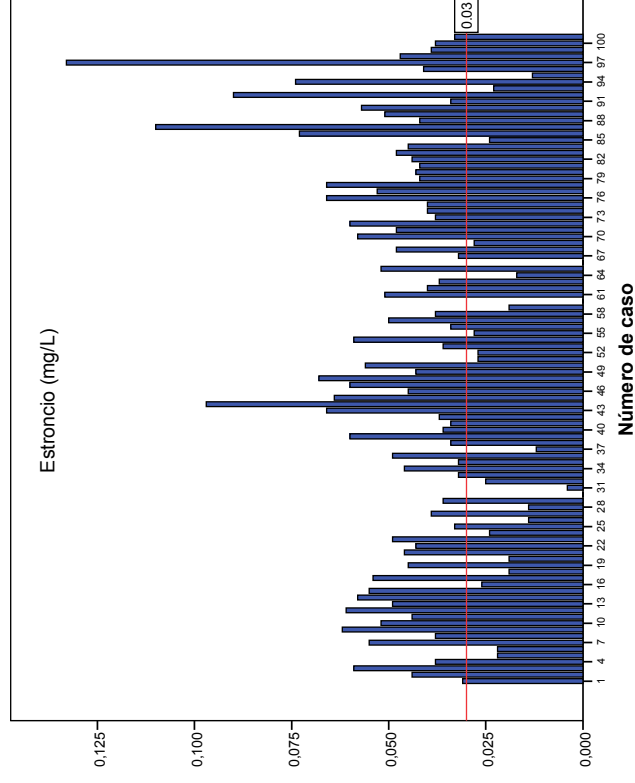


Figura 14. Concentraciones de Estroncio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia (tomado de Vallejo et al, 2012).

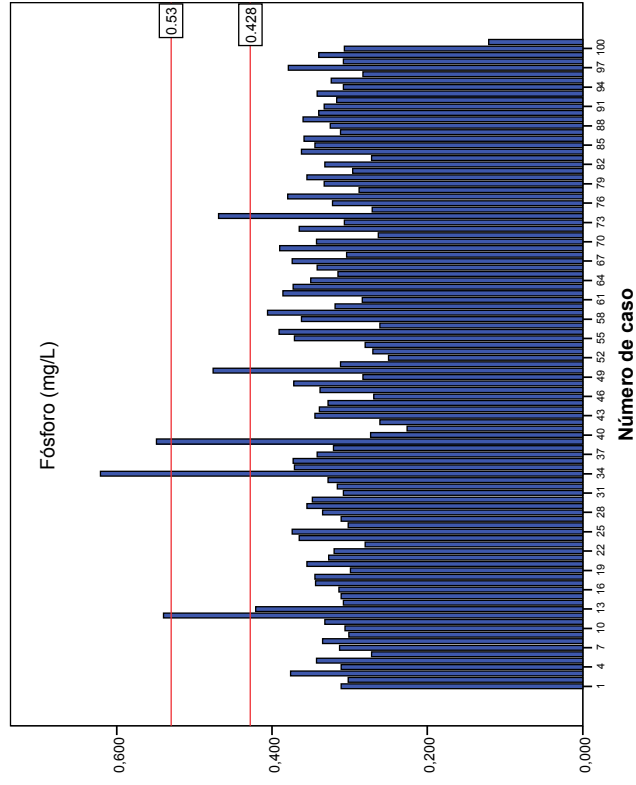


Figura 15. Concentraciones de Fósforo (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Prnjavorac et al, 2015).

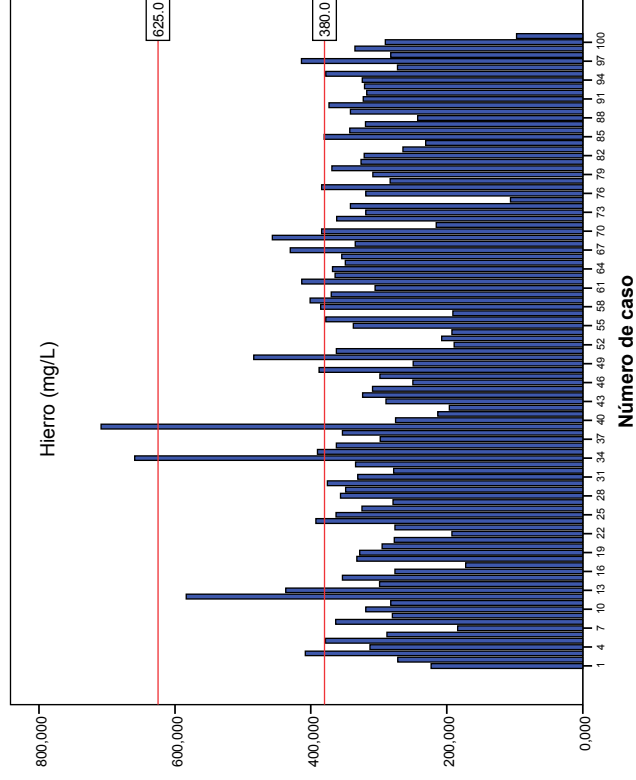


Figura 16. Concentraciones de Hierro (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

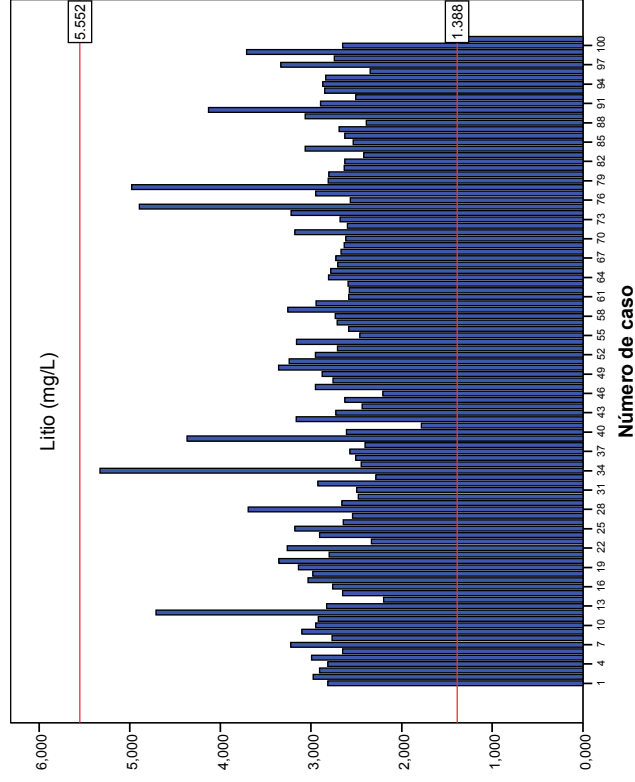


Figura 17. Concentraciones de Litio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (proporcionado mediante comunicación personal con la Dra M^a Luisa Gil del Castillo).

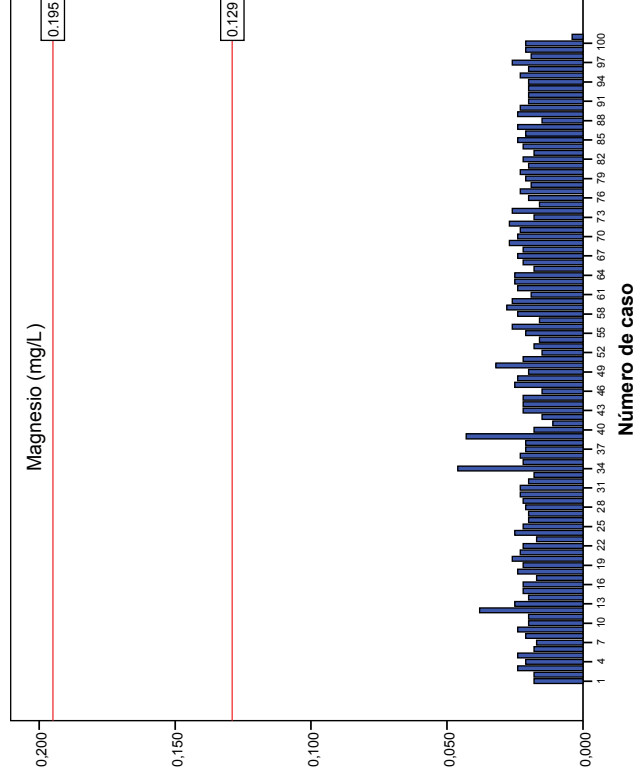


Figura 18. Concentraciones de Magnesio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Asemi et al, 2015).

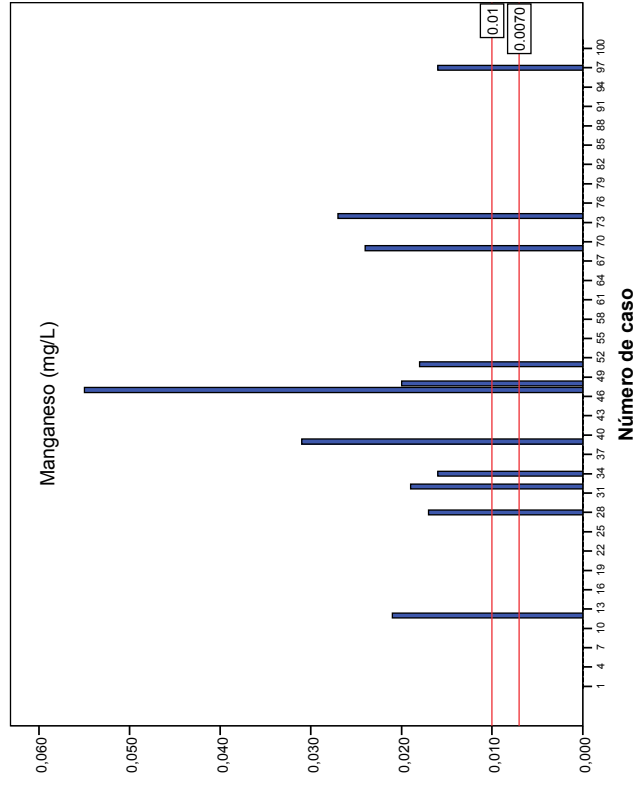


Figura 19. Concentraciones de Manganeso (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

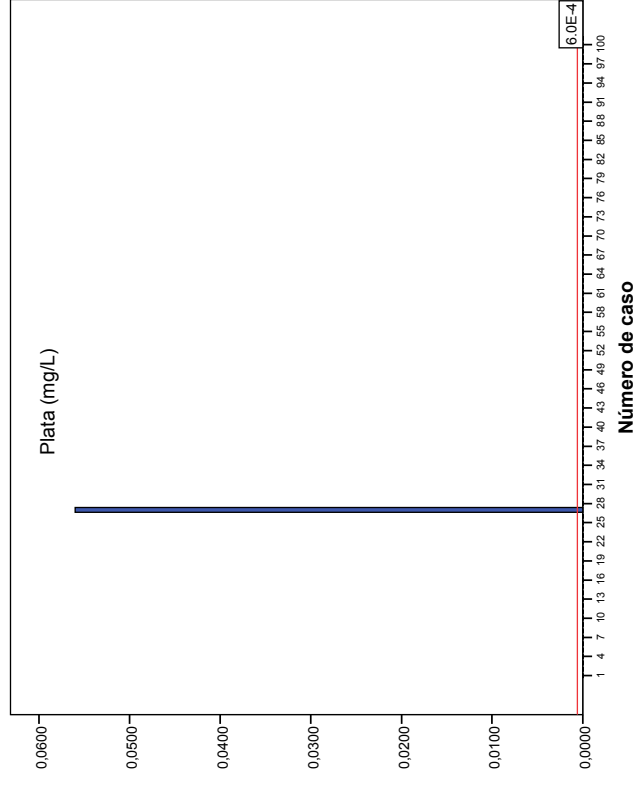


Figura 20. Concentraciones de Plata (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia (tomado de Repetto y Repetto, 2000).

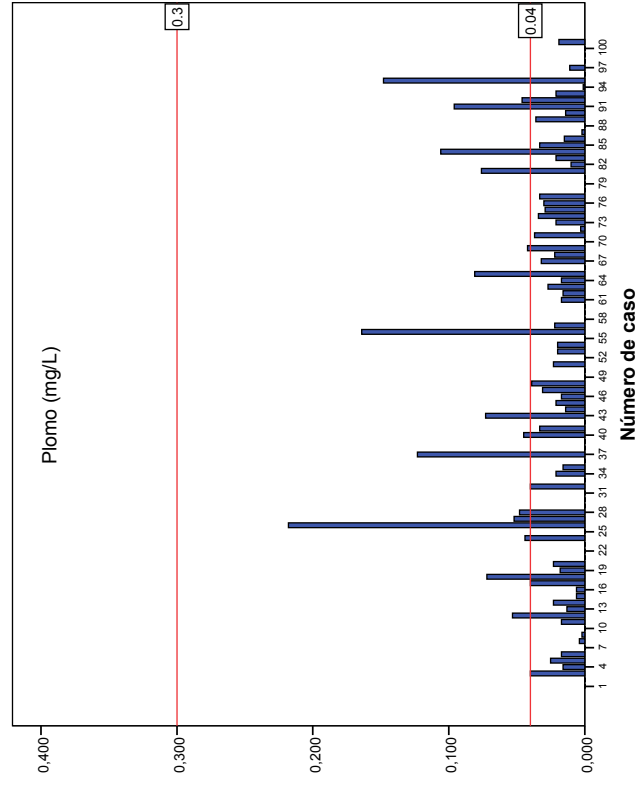


Figura 21. Concentraciones de Plomo (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

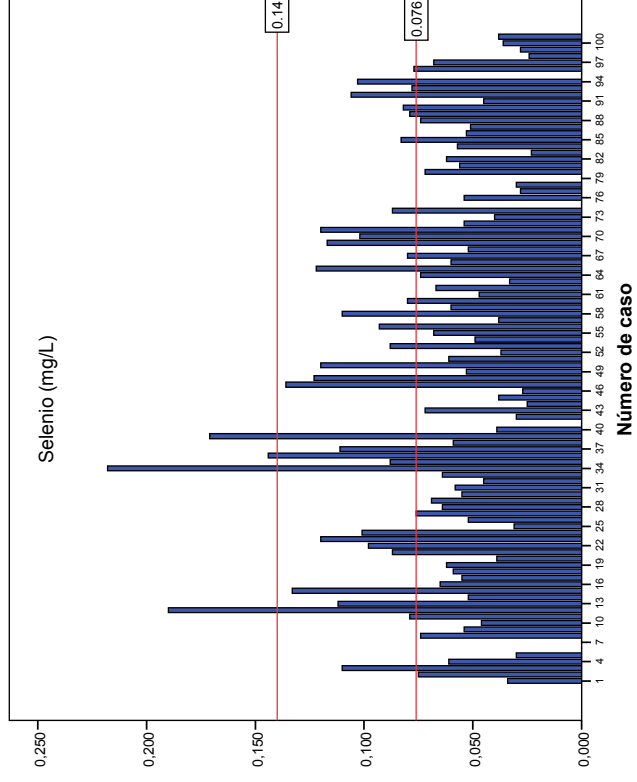


Figura 22. Concentraciones de Selenio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). Las dos líneas horizontales de color rojo indican los valores de referencia (tomados de Repetto y Repetto, 2000).

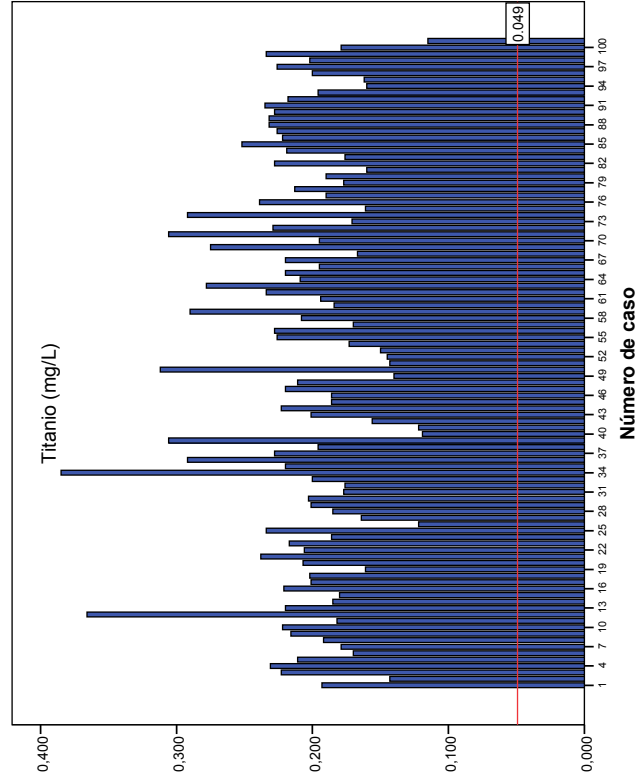


Figura 23. Concentraciones de Titanio (mg/L) de cada gestante ($N = 101$). La línea horizontal de color rojo indica el valor máximo de referencia (tomado de Zheng et al, 2014).

3. Objetivo 2: Oligoelementos y variables sociodemográficas

Otro objetivo de esta investigación fue examinar la posible relación entre las concentraciones de los oligoelementos y ciertas variables clínicas y sociodemográficas de la gestante y del neonato. Se presentan los resultados en dos secciones separadas: una para las características de las gestantes y otra para las de los neonatos.

3.1 Oligoelementos y variables de la gestante

En relación con las características de la gestante, esta sección presenta los resultados de los análisis realizados para comprobar las posibles asociaciones entre los oligoelementos y la edad de la gestante, el hecho de haber tenido partos previos, el hábito tabáquico y el sufrir diabetes gestacional.

En un primer análisis se compararon los niveles medios de cada oligoelemento en función de que la gestante fuera nulípara o multípara. Al incumplirse el supuesto de normalidad, estas comparaciones se efectuaron con la prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney. La Tabla 10 presenta los resultados. Se observó una concentración de **estroncio** significativamente mayor ($p = .004$; $d = -0,59$) en el grupo de multíparas (media = 0,050) que en el de nulíparas (media = 0,038). Una tendencia similar se observó en **manganeso**: las concentraciones de este oligoelemento fueron significativamente más altas ($p = .045$; $d = -0,36$) en multíparas (media = 0,0043) que en nulíparas (media = 0,0013). Por contra, los niveles de **boro** fueron significativamente más elevados ($p = .019$; $d = 0,28$) en el grupo de nulíparas (media = 0,0977) que en el de multíparas (media = 0,0586). Y esta misma tendencia ocurrió, aunque sólo de forma marginal ($p = .081$; $d = 0,42$), en las concentraciones de **calcio**, siendo superior el nivel medio en el grupo de nulíparas (media = 9,074) que en el de multíparas (media = 8,866). El resto de oligoelementos no presentaron una asociación estadísticamente significativa con los partos previos de las gestantes.

Tabla 10. Resultados de la comparación de las concentraciones de los oligoelementos agrupando a las gestantes en nulíparas y múltiparas.

Oligoelemento	Grupo Nulíparas		Grupo Múltiparas		Z	p	d
	Media	Mdn	Media	Mdn			
Aluminio	0,047	0,000	0,020	0,000	0,12	.906	0,23
Antimonio	0,0004	0,0000	0,0000	0,0000	0,88	.380	0,18
Arsénico	0,0000	0,0000	0,0007	0,0000	1,62	.106	-0,33
Azufre	1,220	1,227	1,266	1,192	0,03	.978	-0,19
Bario	0,0296	0,0000	0,0192	0,0000	0,67	.504	0,20
Bismuto	0,0040	0,0000	0,0009	0,0000	0,26	.792	0,14
Boro	0,0977	0,0540	0,0586	0,0000	2,35	.019	0,28
Bromo	1,282	1,185	1,409	1,213	0,35	.724	-0,15
Cadmio	0,0000	0,0000	0,0035	0,0000	1,14	.255	-0,23
Calcio	9,074	9,100	8,866	8,950	1,74	.081	0,42
Cinc	4,483	4,552	4,845	4,605	1,06	.288	-0,27
Cloro	100,77	101,00	101,73	101,00	1,59	.112	-0,31
Cobre	1,493	1,478	1,510	1,422	0,88	.379	-0,05
Cromo	0,0037	0,000	0,0033	0,000	0,88	.381	0,06
Estaño	0,574	0,477	0,559	0,529	1,10	.270	0,03
Estroncio	0,038	0,038	0,050	0,045	2,84	.004	-0,59
Fósforo	0,329	0,328	0,341	0,330	0,57	.565	-0,20
Hierro	319,27	324,89	333,13	321,50	0,68	.498	-0,15
Litio	2,799	2,726	3,004	2,814	1,32	.185	-0,36
Magnesio	0,0213	0,0220	0,0225	0,0220	0,73	.466	-0,23
Manganeso	0,0013	0,0000	0,0043	0,0000	2,00	.045	-0,36
Plata	0,0010	0,0000	0,0000	0,0000	0,88	.380	0,18
Plomo	0,0245	0,0130	0,0263	0,0185	1,27	.206	-0,05
Potasio	4,091	4,100	4,098	4,100	0,08	.940	-0,02
Selenio	0,0670	0,0640	0,0689	0,0580	0,27	.787	-0,05
Sodio	136,98	137,00	136,66	137,00	0,67	.505	0,13
Titanio	0,203	0,201	0,212	0,211	0,63	.531	-0,21

DT = desviación típica. Z = estadístico Z asintótico (en valor absoluto) correspondiente a la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney de comparación de las tendencias centrales. p = nivel de probabilidad de la prueba. d = índice del tamaño del efecto ‘diferencia de medias estandarizada’. La unidad de medida en todos los oligoelementos fue partes por millón (ppm = mg/L), con la excepción del calcio (mg/dL) y del cloro, potasio y sodio (todos ellos en mEq/L). Los tamaños muestrales de los grupos de nupíparas y multiparas fueron 57 y 44, respectivamente.

La Tabla 11 presenta los resultados de comparar las **concentraciones de los oligoelementos según que la gestante fuera fumadora o no fumadora**. Al incumplirse el supuesto de normalidad, estas comparaciones se efectuaron con la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. El único oligoelemento que presentó una relación estadísticamente significativa con el hábito tabáquico fue la concentración de **plata** ($p = .026$). Sin embargo, este resultado debe desestimarse, ya que, como se describió anteriormente, de la muestra total de 101 gestantes, todas menos una de ellas presentaron niveles de plata nulos. Tan sólo cabe comentar la presencia de una relación estadística marginalmente significativa para el **bismuto** ($p = .061$; $d = -0,62$), siendo superior la concentración de este oligoelemento en el grupo de fumadoras (media = 0,0135) que en el de no fumadoras (media = 0,00043). No obstante, en la misma línea que con la plata, sólo cuatro gestantes presentaron concentraciones no nulas de este oligoelemento.

Tabla 11. Resultados de la comparación de las concentraciones de los oligoelementos agrupando a las gestantes en fumadoras y no fumadoras.

Oligoelemento	Grupo no fumadoras			Grupo fumadoras			Z	p	d
	Media	Mdn	DT	Media	Mdn	DT			
Aluminio	0,036	0,0000	0,116	0,031	0,0000	0,121	0,50	.617	0,04
Antimonio	0,00025	0,0000	0,0023	0,0000	0,0000	0,0000	0,45	.653	0,12
Arsénico	0,0004	0,0000	0,0024	0,0000	0,0000	0,0000	0,64	.523	0,17
Azufre	1,247	1,219	0,266	1,206	1,203	0,105	0,55	.583	0,16
Bario	0,022	0,0000	0,048	0,038	0,0000	0,074	0,92	.356	-0,30
Bismuto	0,00043	0,0000	0,0030	0,0135	0,0000	0,052	1,83	.068	-0,62
Boro	0,087	0,023	0,149	0,049	0,0000	0,065	0,53	.596	0,27
Bromo	1,344	1,213	0,907	1,301	1,185	0,594	0,08	.939	0,05
Cadmio	0,0018	0,0000	0,0167	0,0000	0,0000	0,0000	0,45	.653	0,12
Calcio	9,001	9,000	0,509	8,894	9,000	0,460	0,70	.481	0,21
Cinc	4,719	4,605	1,430	4,257	4,261	0,824	1,46	.144	0,34
Cloro	101,37	101,00	2,758	100,29	100,00	4,312	0,85	.397	0,35
Cobre	1,516	1,464	0,354	1,425	1,365	0,257	1,16	.245	0,27
Cromo	0,0032	0,0000	0,0081	0,0053	0,0000	0,0090	1,19	.233	-0,26
Estaño	0,564	0,503	0,530	0,585	0,473	0,487	0,55	.583	-0,04
Estroncio	0,044	0,042	0,022	0,037	0,039	0,013	1,33	.183	0,36
Fósforo	0,335	0,328	0,067	0,331	0,332	0,036	0,28	.778	0,06
Hierro	326,48	324,13	96,57	319,54	324,89	56,74	0,13	.899	0,08
Litio	2,918	2,776	0,618	2,739	2,644	0,309	1,16	.245	0,31
Magnesio	0,022	0,022	0,0055	0,021	0,021	0,0030	0,53	.594	0,18
Manganeso	0,0029	0,0000	0,0089	0,0011	0,0000	0,0044	0,75	.450	0,22
Plata	0,0000	0,0000	0,0000	0,0033	0,0000	0,013	2,22	.026	-0,60
Plomo	0,024	0,016	0,033	0,029	0,017	0,051	0,17	.868	-0,12
Potasio	4,080	4,100	0,338	4,165	4,100	0,367	0,74	.457	-0,25
Selenio	0,069	0,060	0,041	0,062	0,068	0,028	0,05	.957	0,16
Sodio	136,98	137,00	2,222	136,18	137,00	3,107	0,68	.499	0,33
Titanio	0,207	0,202	0,048	0,205	0,209	0,040	0,48	.634	0,05

DT = desviación típica. Z = estadístico Z asintótico (en valor absoluto) correspondiente a la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney de comparación de las tendencias centrales. p = nivel de probabilidad de la prueba. d = índice del tamaño del efecto ‘diferencia de medias estandarizada’. La unidad de medida en todos los oligoelementos fue partes por millón (ppm = mg/L), con la excepción del calcio (mg/dL) y del cloro, potasio y sodio (todos ellos en mEq/L). Los tamaños muestrales de los grupos de fumadoras y no fumadoras fueron 17 y 84, respectivamente.

Con objeto de investigar posibles **alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono**, se examinó la relación existente entre los oligoelementos arsénico, cromo y cadmio con el hecho de que la gestante sufriera, o no, diabetes gestacional. De las 101 gestantes de nuestra muestra, sólo 6 padecían diabetes gestacional, mientras que las 95 restantes no la padecían. El incumplimiento del supuesto de normalidad de los oligoelementos, junto con el marcado desequilibrio de los dos tamaños muestrales objeto de comparación, nos llevó a comparar las concentraciones medias de estos tres oligoelementos entre los dos grupos de gestantes (con y sin diabetes gestacional) aplicando la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. La Tabla 12 presenta los resultados. Como puede observarse, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de estos tres oligoelementos de las gestantes con y sin diabetes gestacional. Los tamaños del efecto tampoco fueron relevantes. Debe tenerse en cuenta, además, que la inmensa mayoría de las gestantes de la muestra presentaron concentraciones nulas de arsénico y de cadmio. El fuerte desequilibrio entre los dos tamaños muestrales, no obstante, invita a una interpretación cautelosa de estos resultados.

Tabla 12. Resultados de la comparación de las concentraciones de los oligoelementos agrupando a las gestantes según que sufrieran o no diabetes gestacional.

Oligoelemento	Grupo sin diabetes gestacional		Grupo con diabetes gestacional		Z	p	d
	Media	Mdn	Media	Mdn			
Arsénico	0,00033	0,0000	0,00000	0,0000	0,36	.721	0,15
Cromo	0,0036	0,0000	0,0023	0,0000	0,30	.765	0,15
Cadmio	0,0016	0,0000	0,00000	0,0000	0,25	.802	0,10

DT = desviación típica. *Z* = estadístico *Z* asintótico (en valor absoluto) correspondiente a la prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney de comparación de las tendencias centrales. *p* = nivel de probabilidad de la prueba. *d* = índice del tamaño del efecto ‘diferencia de medias estandarizada’. La unidad de medida en todos los oligoelementos fue partes por millón (ppm = mg/L). Los tamaños muestrales de los grupos sin y con diabetes gestacional fueron 95 y 6, respectivamente.

Para comprobar las posibles **asociaciones entre las concentraciones de los oligoelementos y la edad de las gestantes**, se calcularon coeficientes de correlación ordinal de Spearman entre cada oligoelemento y la edad. La Tabla 13 presenta estos resultados. Como puede observarse en dicha tabla, dos oligoelementos presentaron una asociación estadísticamente significativa con la edad de la gestante: cromo ($p < .05$) y estroncio ($p < .01$).

El **cromo** presentó una relación negativa con la edad ($r_s = -.242$), de forma que a mayor edad de la gestante las concentraciones de este oligoelemento tendieron a disminuir. Por otra parte, el **estroncio** presentó una correlación positiva con la edad ($r_s = .272$), de forma que a mayor edad de la gestante se observó un incremento en las concentraciones de este oligoelemento.

Tabla 13. Coeficientes de correlación ordinal de Spearman entre cada oligoelemento y la edad de la gestante.

Oligoelemento	r_s	Oligoelemento	r_s	Oligoelemento	r_s
Aluminio	-.037	Calcio	-.062	Litio	-.024
Antimonio	.019	Cinc	.122	Magnesio	.008
Arsénico	-.114	Cloro	.064	Manganeso	.061
Azufre	.028	Cobre	.102	Plata	-.167
Bario	.033	Cromo	-.242*	Plomo	.048
Bismuto	-.107	Estaño	.167	Potasio	.007
Boro	-.027	Estroncio	.272**	Selenio	-.007
Bromo	-.075	Fósforo	.039	Sodio	-.040
Cadmio	.065	Hierro	.067	Titanio	.038

* $p < .05$. ** $p < .01$. r_s = coeficiente de correlación ordinal de Spearman. $N = 101$.

Dentro del objetivo dirigido a analizar las relaciones entre el perfil analítico y las concentraciones de oligoelementos en la sangre materna con variables clínicas de las pacientes, nos planteamos comprobar la posible existencia de **alteraciones en el metabolismo del calcio**. Con este propósito, se comprobó si existía asociación estadística entre las concentraciones de calcio y las de los oligoelementos aluminio, cadmio, estroncio y plomo. Dado que las concentraciones de los oligoelementos incumplieron el supuesto de normalidad, en lugar de calcular coeficientes de correlación de Pearson, se calcularon coeficientes de correlación ordinal de Spearman (r_s). La Tabla 14 presenta las correlaciones obtenidas para el grupo completo y para cada grupo de gestantes por separado (No RPM y RPM). En relación con el aluminio,

se obtuvo una correlación positiva y estadísticamente significativa con el calcio tanto para la muestra total ($r_s = .288$; $p = .018$) como para el grupo de gestantes sin RPM ($r_s = .288$; $p = .042$). También se observó una correlación marginalmente significativa entre las concentraciones de calcio y plomo en el grupo de gestantes que no sufrió RPM ($r_s = .274$; $p = .055$), siendo dicha correlación de signo positivo. Así pues, concentraciones altas de calcio se asociaron a concentraciones altas de aluminio y de plomo en el grupo sin RPM, así como con el aluminio para la muestra total. El resto de correlaciones no presentó una asociación estadísticamente significativa. Debe tenerse en cuenta, además, que las concentraciones de cadmio fueron nulas para todas excepto una gestante del grupo RPM, lo que dificultó la posibilidad de encontrar relaciones con este oligoelemento.

Tabla 14. Correlaciones ordinales de Spearman entre el calcio y los oligoelementos aluminio, cadmio, estroncio y plomo.

Grupo	Oligoelemento				N
	Aluminio	Cadmio	Estroncio	Plomo	
No RPM	.288*	--	-.216	.274 ^a	50
RPM	.122	.048	-.054	.109	51
Total	.235*	.031	-.117	.090	101

* $p < .05$. ^a $p = .055$.

3.2 Oligoelementos y variables del neonato

Dentro de este segundo objetivo, se investigó las posibles asociaciones entre las concentraciones de los oligoelementos y las características del neonato. La Tabla 15 presenta las correlaciones de Spearman obtenidas entre cada oligoelemento y tres variables relacionadas con el neonato: su peso al nacer y las puntuaciones en Apgar al minuto y Apgar a los 5 minutos.

En lo que respecta al **peso del neonato**, tan sólo el *estroncio* presentó una correlación estadísticamente significativa, siendo ésta de signo positivo ($r_s = .226$, $p < .05$), de forma que mayores concentraciones de este oligoelemento se asociaron con un mayor peso del neonato.

La Tabla 15 también presenta las correlaciones de Spearman entre los oligoelementos y las puntuaciones de los neonatos en **Apgar al minuto y Apgar a los 5 minutos**. En relación con el **Apgar al minuto**, se observaron dos oligoelementos con una correlación estadísticamente significativa: bismuto ($p < .05$) y cadmio ($p < .01$). El *bismuto* presentó una correlación de signo negativo ($r_s = -.219$), así como también el *cadmio* ($r_s = -.482$). Sin embargo, como ya se ha descrito anteriormente, todas las concentraciones de cadmio fueron nulas, con la excepción de una gestante, por lo que la correlación obtenida debe considerarse irrelevante. Algo similar ocurre con el bismuto, ya que sólo cuatro de las 101 gestantes de la muestra total presentaron concentraciones no nulas, por lo que esta correlación debe considerarse irrelevante.

Tabla 15. Correlaciones de Spearman entre los oligoelementos y el peso del recién nacido y las puntuaciones en Apgar al minuto y Apgar a los 5 minutos.

Oligoelemento	Peso	Apgar 1	Apgar 5
Aluminio	-.051	.088	.088
Antimonio	.014	.020	.020
Arsénico	.031	.029	.029
Azufre	-.065	-.135	-.064
Bario	.150	.079	.080
Bismuto	-.053	-.219*	.041
Boro	.152	.076	.139
Bromo	.060	-.137	-.132
Cadmio	-.168	-.482**	-.502***
Calcio	.192	.150	.040
Cinc	-.060	.050	.156
Cloro	-.140	-.059	-.091
Cobre	.162	-.015	-.134
Cromo	.006	-.038	-.020
Estaño	.052	-.055	-.082
Estroncio	.226*	.014	-.013
Fósforo	-.102	-.100	.002
Hierro	-.110	-.073	.078
Litio	-.151	-.145	-.181
Magnesio	-.035	-.033	-.012
Manganeso	.134	-.087	.071
Plata	.172	.020	.020
Plomo	.082	-.128	-.051
Potasio	-.080	-.118	.063
Selenio	.073	.057	-.013
Sodio	-.098	-.126	-.206*
Titanio	-.097	.106	-.137

* $p < .05$. ** $p < .01$. *** $p < .001$. $N = 101$.

En relación con el **Apgar a los 5 minutos**, dos oligoelementos presentaron una correlación estadísticamente significativa: cadmio ($p < .001$) y sodio ($p < .05$). El *sodio* presentó una correlación negativa ($r_s = -.206$), de forma que a mayor concentración de este oligoelemento la puntuación en Apgar a los 5 minutos tendió a disminuir. En cuanto a la correlación encontrada para el *cadmio*, por las razones antes descritas, debe considerarse irrelevante.

4. Objetivo 3: Perfil inflamatorio y oligoelementos en gestantes con y sin RPM

El tercer objetivo de esta investigación fue comparar los dos grupos de gestantes (con y sin RPM) en cuanto a sus concentraciones en sangre de diversos elementos, con objeto de identificar concentraciones de determinados oligoelementos que pudieran dar lugar a un mayor riesgo de sufrir rotura prematura de membranas. Antes de presentar los resultados relativos a este objetivo, se presentan las comparaciones entre los dos grupos de gestantes en las variables sociodemográficas y clínicas, con objeto de comprobar si los dos grupos estaban equiparados en tales variables. Una vez presentadas estas comparaciones, se presentan los resultados obtenidos mediante la bioquímica automatizada y de hematimetría, seguidos de los correspondientes análisis de los oligoelementos.

4.1 Equiparación de los grupos

Se realizaron comparaciones entre los dos grupos de gestantes (sin RPM vs. con RPM) para determinar si éstos se encontraban equilibrados en las variables potencialmente confusoras de los resultados de interés. Con este propósito se analizaron los datos clínicos de los dos grupos de gestantes y de los neonatos.

La Tabla 16 presenta los resultados de la comparación de los dos grupos de gestantes en cuanto a los promedios de la edad en el momento del parto y en cuanto al número de semanas de gestación. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad media ($p = .966$; $d = -0,008$) y sí las hubo en cuanto al

número de semanas de gestación ($p = .011$; $d = 0,52$), siendo inferior las semanas de gestación en el grupo RPM (media = 39,69 semanas) respecto del grupo no RPM (media = 40,36).

Tabla 16. Comparación de los dos grupos en las variables de control continuas.

Variable	No RPM		RPM		t	p	d
	Media	DT	Media	DT			
Edad (años)	31,40	5,96	31,45	6,00	-0,043	.966	-0,008
Semanas de gestación	40,36	1,17	39,69	1,42	2,595	.011	0,52

RPM = Rotura Prematura de Membranas. DT = desviación típica. t = prueba t de comparación de medias independientes. p = nivel de probabilidad de la prueba t . d = índice del tamaño del efecto 'diferencia media tipificada'. Los tamaños muestrales de los grupos No RPM y RPM fueron 50 y 51 casos, respectivamente.

El registro de las variables clínicas de las gestantes incluyó una serie variables cualitativas, de forma que la comparación entre los dos grupos de gestantes se realizó mediante la aplicación de la prueba Chi-cuadrado de Pearson. Como puede apreciarse en la Tabla 17, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en cuanto al número de partos previos ($p = .373$), la raza, dicotomizada en 'caucásicos' vs. 'otros' ($p = .538$), color del líquido amniótico ($p = .103$), roturas prematuras de membranas previas ($p = .199$), hábito tabáquico ($p = .825$), amenazas previas de parto prematuro y diabetes gestacional ($p = .075$).

La única variable en la que se encontraron diferencias estadísticamente significativas fue en el modo de inicio del parto ($p < .001$; $V = 0,408$), siendo más frecuente la inducción del parto en el grupo RPM (66,7%) que en el no RPM (26%).

Se ha documentado la existencia de mayor frecuencia de RPM entre las gestantes con edades comprendidas entre los 26 y los 35 años. Para comprobar si nuestros datos replicaban este hallazgo, clasificamos los dos grupos de gestantes en tres categorías: por debajo de 26 años, entre 26 y 35 años y por encima de 35 años. Como puede observarse en la Tabla 17, no se encontró una relación estadísticamente significativa entre la edad y RPM ($p = .669$). De hecho, en el grupo RPM el porcentaje de gestantes con edades comprendidas en el rango de edades 26-35 años fue inferior (56,9%) al del grupo de gestantes que no sufrieron RPM (64%). Además, como se presentó en la Tabla 16, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las edades medias de los dos grupos de gestantes.

Tabla 17. Comparación de los dos grupos en las variables de control cualitativas.

Variable	No RPM	RPM	$\chi^2(gl)$	<i>p</i>	<i>V</i>
Número de partos previos:			0,792(1)	.373	0,089
Nulíparas	26(52%)	31(60,8%)			
Multíparas	24(48%)	20(39,2%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
Raza:			0,379(1)	.538	0,061
Caucásica	42(84%)	45(88,2%)			
Otras	8(16%)	6(11,8%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
Inicio del parto:			16,782(1)	< .001	0,408
Espontáneo	37(74%)	17(33,3%)			
Inducción	13(26%)	34(66,7%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
Líquido amniótico:			2,663(1)	.103	0,162
Normal	42(84%)	48(94,1%)			
Teñido	8(16%)	3(5,9%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
RPM previa:			1,651(1)	.199	0,128
No	44(88%)	40(78,4%)			
Sí	6(12%)	11(21,6%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
Hábito tabáquico:			0,049(1)	.825	0,022
No	42(84%)	42(82,4%)			
Sí	8(16%)	9(17,6%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
Amenaza previa parto premat.:			--	--	--
No	50(100%)	51(100%)			
Sí	0(0%)	0(0%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
Diabetes gestacional:			3,164(1) ^a	.075	0,170
No	45(90%)	50(98%)			
Sí	5(10%)	1(2%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			
Edad (años):			0,804(2)	.669	0,089
< 26	8(16%)	8(15,7%)			
26 – 35	32(64%)	29(56,9%)			
> 35	10(20%)	14(27,5%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			

^a Se aplicó la prueba de razón de verosimilitudes por incumplirse los supuestos de la prueba Chi-cuadrado de Pearson. Entre paréntesis figuran los porcentajes condicionales por grupo. *gl* = grados de libertad de la prueba estadística. *p* = nivel crítico de probabilidad. *V* = coeficiente de asociación *V* de Cramer. RPM = Rotura Prematura de Membranas.

La Tabla 18 presenta los resultados relativos a la comparación del estado de los neonatos en el momento del nacimiento en los dos grupos de gestantes. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los pesos medios de los dos grupos de neonatos (*p* = .577). En lo que respecta a las pruebas Apgar al minuto y Apgar a los 5 minutos, tampoco se observaron diferencias estadísticamente

significativas en ninguna de las dos pruebas ($p = .124$ y $p = .207$, respectivamente), si bien conviene resaltar la existencia de tamaños del efecto que aportan indicios de un estado general del neonato ligeramente inferior en el grupo de gestantes con RPM, en comparación con el de gestantes sin RPM ($d = 0,31$ y $0,25$ para Apgar 1 y Apgar 5, respectivamente).

Tabla 18. Comparación de los dos grupos en cuanto al peso al nacer del neonato.

Variable	No RPM		RPM		<i>t</i>	<i>p</i>	<i>d</i>
	Media	<i>DT</i>	Media	<i>DT</i>			
Peso al nacer (gr.)	3358,40	497,47	3306,27	436,71	0,560	.577	0,11
Apgar 1	9,00	0,00	8,80	0,89	1,56 ^a	.124	0,31
Apgar 5	9,98	0,14	9,90	0,41	1,27 ^a	.207	0,25

RPM = Rotura Prematura de Membranas. *DT* = desviación típica. *t* = prueba *t* de comparación de medias independientes. *p* = nivel de probabilidad de la prueba *t*. *d* = índice del tamaño del efecto 'diferencia media tipificada'. Los tamaños muestrales de los grupos No RPM y RPM fueron 50 y 51 casos, respectivamente. ^aSe aplicó la corrección de Satterthwaite por incumplirse el supuesto de homogeneidad de varianzas.

Finalmente, como muestra la Tabla 19, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución por sexo de los neonatos de los dos grupos de gestantes ($p = .488$).

Tabla 19. Comparación de los dos grupos según el sexo del neonato.

Variable	No RPM	RPM	$\chi^2(gl)$	<i>p</i>	<i>V</i>
Sexo del neonato:			0,481	.488	0,069
Varón	24(48%)	28(54,9%)			
Mujer	26(52%)	23(45,1%)			
Totales	50(100%)	51(100%)			

Entre paréntesis figuran los porcentajes condicionales por grupo. *gl* = grados de libertad de la prueba estadística. *p* = nivel crítico de probabilidad. *V* = coeficiente de asociación *V* de Cramer. RPM = Rotura Prematura de Membranas.

4.2 Análisis de la bioquímica automatizada y hematimetría

Se compararon los dos grupos de gestantes en función de los niveles de los parámetros de la bioquímica general y hematimetría. La Tabla 20 presenta los resultados relativos a la bioquímica automatizada. La comparación de las medias de los dos grupos de gestantes no reveló diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las variables relativas a la bioquímica general, al ionograma, a las pruebas

inflamatorias ni a los marcadores de inflamación. Los tamaños del efecto (diferencias de medias estandarizadas, d), calculados para cuantificar la magnitud de las diferencias entre los dos grupos, arrojaron valores clínicamente irrelevantes, según el criterio orientativo de Cohen (1988) que considera valores d relevantes a partir de 0,20 (en valor absoluto). Tan sólo superó ligeramente este valor el tamaño del efecto relativo a las concentraciones medias de potasio ($d = -0,22$), apuntando hacia la posible existencia de niveles superiores de potasio en el grupo RPM (media = 4,131 mEq/L) que en el grupo no RPM (media = 4,056 mEq/L).

Como complemento a los análisis presentados en la Tabla 20, para cada variable de la bioquímica general se clasificaron las gestantes de los dos grupos según los valores de referencia habituales en gestantes. De esta forma, se obtuvieron las tablas de contingencia que se muestran en la Tabla 21. En la tabla también se muestran los odds ratios y sus intervalos de confianza al 95%, calculados para la relación entre los dos grupos de gestantes (casos y controles) y cada variable dependiente agrupada según sus valores de referencia. Además, para examinar la significación estadística global de aquellas variables con más de dos categorías, se aplicó la prueba Chi-cuadrado (o la prueba de razón de verosimilitudes, RV).

Como se muestra en la Tabla 21, ninguno de los odds ratios calculados alcanzó la significación estadística. Además, las pruebas Chi-cuadrado (o las pruebas de RV) también resultaron ser estadísticamente no significativas para la glucosa [$RV(2) = 1,499, p = .473$], la creatinina [$\chi^2(2) = 0,969, p = .616$], el ácido úrico [$\chi^2(2) = 0,808, p = .668$], el sodio [$RV(2) = 2,306, p = .316$], el potasio [$RV(2) = 4,308, p = .116$] y el cloro [$RV(2) = 1,476, p = .478$]. Para el calcio y la procalcitonina no fue posible realizar estos análisis al situarse todas las gestantes de los dos grupos dentro de los valores de referencia. La ausencia de resultados estadísticamente significativos en todas estas variables apunta hacia la existencia de niveles similares en los dos grupos de gestantes en las variables analizadas. Además, el examen de los porcentajes de gestantes en los dos grupos a través de las diferentes categorías de cada variable indicó que, en general, la mayoría de las gestantes en ambos grupos obtuvieron niveles normales. En concreto, ése fue el caso de la glucosa, el calcio, el sodio, el potasio y la procalcitonina. A diferencia de estos indicadores, hubo tres en los que la mayoría de las gestantes de ambos grupos obtuvieron niveles por debajo de los normales: creatinina, ácido úrico y

cloro. Finalmente, el nivel de proteína C reactiva se situó para ambos grupos de gestantes por encima de los valores de referencia en la mayoría de los casos (78% y 64,7%, respectivamente). No obstante, es preciso apuntar que los valores de referencia para la proteína C reactiva utilizados en esta investigación corresponden a población general, ya que no se han encontrado en la literatura valores de referencia para población gestante.

Tabla 20. Resultados de la comparación de los datos relativos a la bioquímica automatizada.

Medida	No RPM		RPM		t	p	d
	Media	DT	Media	DT			
<i>Bioquímica General:</i>							
Glucosa (mg/dL)	92,80	38,57	89,57	18,56	0,36 ^a	.592	0,11
Creatinina (mg/dL)	0,528	0,088	0,543	0,107	-0,79	.434	-0,16
Ácido úrico (mg/dL)	4,120	0,826	4,214	0,960	-0,53	.601	-0,11
Calcio (mg/dL)	8,936	0,539	9,029	0,462	-0,94	.351	-0,19
<i>Ionograma:</i>							
Sodio (mEq/L)	136,70	2,675	136,98	2,102	-0,59	.559	-0,12
Potasio (mEq/L)	4,056	0,404	4,131	0,269	-1,10 ^b	.274	-0,22
Cloro (mEq/L)	101,38	3,551	101,00	2,546	0,62	.537	0,12
<i>Pruebas inflamatorias:</i>							
Proteína C reactiva (mg/dL)	1,255	0,947	1,449	1,639	-0,92 ^a	.469	-0,15
<i>Marcadores de inflamación:</i>							
Procalcitonina (ng/ml)	0,050	0,027	0,052	0,017	-1,60 ^a	.664	-0,09

RPM = Rotura Prematura de Membranas. DT = desviación típica. t = prueba t de comparación de medias independientes. p = nivel de probabilidad de la prueba t. d = índice del tamaño del efecto 'diferencia media tipificada'.^a En lugar de la prueba t de comparación de medias, se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney por incumplirse el supuesto de normalidad.^b Se aplicó la corrección de Satterthwaite por incumplirse el supuesto de homogeneidad de varianzas. Los tamaños muestrales de los grupos No RPM y RPM fueron 50 y 51, respectivamente.

Tabla 21. Resultados de la comparación de los casos y controles en función de los elementos de la bioquímica automatizada clasificados según los valores de referencia en población gestante.

Elemento	No RPM	RPM	OR	Li	Ls
Glucosa (mg/dL):					
< 68	2(4%)	5(9,8%)	0,371	0,068	2,026
68 – 106	41(82%)	38(74,5%)	--	--	--
> 106	7(14%)	8(15,7%)	1,233	0,408	3,728
Creatinina (mg/dL):					
< 0,54	26(52%)	29(56,9%)	0,657	0,257	1,685
0,54 – 0,60	15(30%)	11(21,6%)	--	--	--
> 0,60	9(18%)	11(21,6%)	1,667	0,515	5,399
Ácido úrico (mg/dL):					
< 4,59	34(68%)	32(62,7%)	0,885	0,246	3,188
4,59 – 4,85	6(12%)	5(9,8%)	--	--	--
> 4,85	10(20%)	14(27,5%)	1,680	0,399	7,075
Calcio (mg/dL):					
< 3,92	0(0%)	0(0%)	--	--	--
3,92 – 11,18	50(100%)	51(100%)	--	--	--
> 11,18	0(0%)	0(0%)	--	--	-
Sodio (mEq/L):					
< 135	7(14%)	4(7,8%)	1,872	0,512	6,848
135 – 141	43(86%)	46(90,2%)	--	--	--
> 141	0(0%)	1(2%)	--	--	--
Potasio (mEq/L):					
< 3,6	4(8%)	1(2%)	4,821	0,517	44,922
3,6 – 4,5	39(78%)	47(92,2%)	--	--	--
> 4,5	7(14%)	3(5,9%)	0,356	0,086	1,468
Cloro (mEq/L):					
< 102	30(60%)	30(58,8%)	1,105	0,496	2,462
102 – 111	19(38%)	21(41,2%)	--	--	--
> 111	1(2%)	0(0%)	--	--	--
Proteína C reactiva* (mg/dL):					
0 – 0,5	11(22%)	18(35,3%)	0,517	0,214	1,249
> 0,5	39(78%)	33(64,7%)			
Procalcitonina* (ng/mL):					
0 – 0,5	50(100%)	51(100%)	--	--	--
> 0,5	0(0%)	0(0%)			

OR = odds ratio. Li y Ls = límites confidenciales al 95% para el odds ratio. RPM = Rotura Prematura de Membranas. *Con la excepción de la Proteína C reactiva y la Procalcitonina (señalados con un asterisco en la tabla), los valores de referencia proceden de población gestante.

El segundo bloque de resultados relativos al *Objetivo 3* se refiere a los análisis de hematimetría. La Tabla 22 presenta las comparaciones entre los dos grupos de gestantes para los niveles de dichas variables. En lo que respecta a la serie roja, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de gestantes en los niveles de ninguna de las tres variables analizadas: hematíes ($p = .528$),

hemoglobina ($p = .143$) y hematocrito ($p = .137$). No obstante, los tamaños del efecto (índices d) obtenidos para hemoglobina ($d = 0,29$) y hematocrito ($d = 0,30$) apuntan hacia la presencia de concentraciones superiores en el grupo no RPM, según el criterio de Cohen.¹

En lo que respecta a las plaquetas, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p = .007$), indicando concentraciones medias superiores en el grupo no RPM (media = $219,320 \times 10^3/\mu\text{L}$) que en el grupo RPM (media = $192,118 \times 10^3/\mu\text{L}$). Además, el tamaño del efecto a favor del grupo no RPM fue de magnitud media ($d = 0,55$).

El nivel medio de leucocitos en los dos grupos de gestantes fue muy similar, lo que llevó a un resultado estadísticamente no significativo ($p = .723$).

En cuanto a los análisis de coagulación, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en las variables ‘ratio tiempo de Protrombina’ ($p = .030$) y ‘actividad de Protrombina’ ($p = .026$). La ratio tiempo de Protrombina fue superior en el grupo no RPM (media = $0,872$) que en el grupo RPM (media = $0,845$), con un tamaño del efecto de magnitud media ($d = 0,42$). La actividad de Protrombina fue superior en el grupo RPM (media = $133,80$) en comparación con el grupo no RPM (media = $127,32$), alcanzando un tamaño del efecto de magnitud media ($d = -0,45$).

El resto de variables relativas a los análisis de coagulación no alcanzaron la significación estadística. No obstante, cabe mencionar dos variables que obtuvieron diferencias que podrían considerarse ‘marginamente’ significativas por obtener un nivel p menor que $0,10$: el tiempo de Protrombina ($p = .075$) y el índice INR ($p = .056$). El tiempo de Protrombina fue, en promedio, superior en el grupo no RPM (media = $9,862$ seg.) respecto del grupo RPM (media = $9,641$ seg.), alcanzando un tamaño del efecto de magnitud media-baja ($d = 0,36$). El índice INR también fue mayor en el grupo

¹ Recuérdese que, según se describió en el capítulo Materiales y Método, el criterio de Cohen (1988) consiste en valorar los índices d en torno a $0,20$, $0,50$ y $0,80$ (en valor absoluto) como representando magnitudes de relevancia práctica o clínica baja, media y alta, respectivamente.

no RPM (media = 0,871) que en el grupo RPM (media = 0,851), con un tamaño del efecto de magnitud baja-media ($d = 0,39$).

Al igual que con los análisis de bioquímica general, los resultados de la hematimetría se sometieron a análisis complementarios a los presentados en la Tabla 22, consistentes en clasificar a las gestantes de los dos grupos según los valores de referencia. La Tabla 23 presenta las tablas de contingencia obtenidas para la relación entre el grupo de pertenencia (no RPM vs. RPM) y cada variable de la hematimetría, junto con los odds ratios y sus intervalos de confianza al 95%.

En la serie roja, no se observó una relación estadísticamente significativa en ninguna de las tres variables analizadas: hematíes, hemoglobina y hematocrito. No obstante, el hematocrito presentó una asociación estadísticamente significativa al aplicar la prueba Chi-cuadrado [$\chi^2(1) = 3,855$, $p = .050$]. Este resultado reflejó un mayor porcentaje de gestantes en el grupo RPM con niveles de hematocrito por debajo de los valores de referencia en comparación con el grupo no RPM (35,3% vs. 18%, respectivamente). El odds ratio obtenido fue 2,487 (IC95%: 0,988 y 6,250) y, aunque no alcanzó la significación estadística, indicó que en el grupo no RPM la ventaja de situarse dentro de los valores de referencia respecto de situarse por debajo de éstos fue casi 2,5 veces mayor que dicha ventaja en el grupo RPM.

En lo que respecta a los niveles de plaquetas, el grupo RPM presentó un mayor porcentaje de gestantes (15,7%) por debajo de los valores de referencia que el grupo no RPM (4%). Con la prueba Chi-cuadrado de Pearson se obtuvo una relación estadísticamente significativa [$\chi^2(1) = 3,865$, $p = .049$]. El odds ratio obtenido fue 4,464 (IC95%: 0,898 y 22,222) y, aunque no alcanzó la significación estadística, indicó que en el grupo no RPM la ventaja de encontrarse dentro de los valores de referencia frente a situarse por debajo de éstos fue unas 4,5 veces mayor que dicha ventaja en el grupo RPM.

En cuanto al nivel de leucocitos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de gestantes, con un odds ratio igual a 0,957 (IC95%: 0,436 y 2,096).

Los análisis relativos a las variables de coagulación indicaron la ausencia de asociación estadística con la RPM. Tal como puede apreciarse en la Tabla 23, los odds ratios y sus intervalos de confianza al 95% no alcanzaron la significación estadística en ninguna de estas variables. Además, tampoco se obtuvo un resultado estadísticamente significativo con las pruebas Chi-cuadrado (o de Razón de Verosimilitud, *RV*) para las variables: Tiempo de Tromboplastina parcial Activada [$\chi^2(2) = 3,360, p = .186$], PTTA ratio [$RV(2) = 4,955, p = .084$], INR [$RV(2) = 0,288, p = .866$] y Fibrinógeno [$RV(2) = 4,249, p = .120$]. No obstante, cabe mencionar el resultado ‘marginamente’ significativo alcanzado por la PTTA ratio, donde se observó un mayor porcentaje de gestantes del grupo no RPM por debajo de los valores de referencia (12%) que en el grupo RPM (3,9%). El odds ratio resultante fue 0,312 (IC95%: 0,614 y 16,724), indicando que en el grupo no RPM la ventaja de encontrarse dentro de los valores de referencia frente a situarse por debajo de ellos se redujo en un 68,8% respecto de dicha ventaja en el grupo RPM.

Como puede observarse en la Tabla 23, la actividad de Protrombina presentó niveles por encima de los normales (70 – 100) en la mayoría de las gestantes, tanto en el grupo no RPM (94%) como en el grupo RPM (100%). La presencia de una celdilla con frecuencia 0 imposibilitó el cálculo del odds ratio. No obstante, la prueba *RV* alcanzó la significación estadística: $RV(1) = 4,312, p = .038$. Este resultado debe tomarse con mucha precaución, habida cuenta la baja frecuencia de dos de las cuatro celdillas. Por último, para el Dímero D no fue posible realizar estos análisis, al situarse por encima de los valores de referencia todas las gestantes, tanto las del grupo RPM como las del grupo no RPM.

Tabla 22. Resultados de la comparación de los datos relativos al análisis de hematimetría.

Medida	No RPM		RPM		<i>t</i>	<i>p</i>	<i>d</i>
	Media	DT	Media	DT			
<i>Serie roja:</i>							
Hemáties (x10 ⁶ /uL)	3,974	0,331	3,929	0,375	0,634	.528	0,13
Hemoglobina (g/dL)	11,876	1,101	11,549	1,126	1,475	.143	0,29
Hematocrito (%)	35,658	2,857	34,753	3,195	1,500	.137	0,30
<i>Serie plaquetar:</i>							
Plaquetas (x10 ³ /uL)	219,320	53,566	192,118	44,874	2,769	.007	0,55
<i>Serie blanca:</i>							
Leucocitos (x10 ³ /uL)	14,269	3,593	13,960	5,032	0,356 ^b	.723	0,07
<i>Coagulación básica:</i>							
Tiempo de Protrombina (seg.)	9,862	0,644	9,641	0,589	1,799	.075	0,36
Ratio Tiempo de Protrombina	0,872	0,067	0,845	0,061	2,174 ^a	.030	0,42
Actividad de Protrombina (%)	127,32	14,776	133,80	13,993	-2,265	.026	-0,45
Tiempo de Tromboplastina parcial activada (seg.)	27,656	3,719	28,467	4,307	-1,011	.314	-0,20
PTTA ratio	0,963	0,120	0,987	0,144	-0,909	.366	-0,18
INR	0,871	0,055	0,851	0,050	1,937	.056	0,39
Fibrinógeno derivado (mg/dL)	468,18	56,027	477,55	57,602	-0,828	.409	-0,16
Dímero D (ng/mL)	890,98	790,704	879,27	595,444	0,428 ^a	.669	0,02

RPM = Rotura Prematura de Membranas. DT = desviación típica. *t* = prueba *t* de comparación de medias independientes. *p* = nivel de probabilidad de la prueba *t*. *d* = índice del tamaño del efecto 'diferencia media tipificada'. ^a En lugar de la prueba *t* de comparación de medias, se aplicó la prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney por incumplirse el supuesto de normalidad. ^b Se aplicó la corrección de Satterthwaite por incumplirse el supuesto de homogeneidad de varianzas. Los tamaños muestrales de los grupos No RPM y RPM fueron 50 y 51 casos, respectivamente.

Tabla 23. Resultados de la comparación de los casos y controles en función de los elementos de la hematimetría clasificados según los valores de referencia.

Elemento	No RPM	RPM	OR	Li	Ls
Hematíes (x10 ⁶ /uL):					
< 3,54	6(12%)	4(7,8%)	0,624	0,165	2,358
3,54 – 5,2	44(88%)	47(92,2%)			
Hemoglobina (g/dL):					
< 11,5	14(28%)	22(43,1%)	1,949	0,851	4,464
11,5 – 16	36(72%)	29(56,9%)			
Hematocrito ((%):					
< 34	9(18%)	18(35,3%)	2,487	0,988	6,250
34 – 46	41(82%)	33(64,7%)			
Plaquetas (x10 ³ /uL):					
< 140	2(4%)	8(15,7%)	4,464	0,898	22,222
140 – 370	48(96%)	43(84,3%)			
Leucocitos (x10 ³ /uL):					
5,8 – 15,1	28(56%)	28(54,9%)	0,957	0,436	2,096
> 15,1	22(44%)	23(45,1%)			
Tiempo de Protrombina*(seg.):					
< 9,4	11(22%)	17(33,3%)	0,564	0,730	4,310
9,4 – 12,5	39(78%)	34(66,7%)			
Actividad Protrombina*(%):					
70 – 100	3(6%)	0(0%)	--	--	--
> 100	47(94%)	51(100%)			
T. Trombopl. Parc. Act. (seg.):					
< 24,7	10(20%)	5(9,8%)	2,600	0,803	8,413
24,7 – 30,3	30(60%)	39(76,5%)	--	--	--
> 30,3	10(20%)	7(13,7%)	0,538	0,183	1,581
PTTA ratio*:					
< 0,8	6(12%)	2(3,9%)	0,312	0,614	16,724
0,8 – 1,3	44(88%)	47(92,2%)	--	--	--
> 1,3	0(0%)	2(3,9%)	--	--	--
INR:					
< 0,8	3(6%)	4(7,8%)	0,767	0,162	3,633
0,8 – 0,94	43(86%)	44(86,3%)	--	--	--
> 0,94	4(8%)	3(5,9%)	0,733	0,155	3,470
Fibrinógeno derivado (mg/dL):					
< 443,6	21(42%)	13(25,5%)	2,061	0,885	4,800
443,6 – 670,2	29(58%)	37(72,5%)	--	--	--
> 670,2	0(0%)	1(2%)	--	--	--
Dímero D (ng/mL):					
< 139	0(0%)	0(0%)	--	--	--
139 – 257	0(0%)	0(0%)			
> 257	50(100%)	51(100%)			

OR = odds ratio. Li y Ls = límites confidenciales al 95% para el odds ratio. RPM = Rotura Prematura de Membranas. *Con la excepción del Tiempo de Protrombina, la Actividad de Protrombina y la PTTA ratio (señalados con un asterisco en la tabla), los valores de referencia proceden de población gestante.

4.3 Análisis de los oligoelementos

El *Objetivo 3* tenía como propósito comparar las concentraciones de ciertos oligoelementos entre los dos grupos de gestantes. Se comprobó que prácticamente la totalidad de las distribuciones de los oligoelementos incumplían el supuesto de normalidad. En consecuencia, la comparación de las tendencias centrales de dichas concentraciones entre los dos grupos de gestantes se realizó con la prueba no paramétrica *U* de Mann-Whitney. La Tabla 24 presenta los resultados de estas comparaciones, junto con el índice del tamaño del efecto ‘diferencia de medias estandarizada’ (*d*).

La inspección de los valores de probabilidad de los 23 oligoelementos analizados reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas sólo para el *bario* ($p = .040$), siendo superior la concentración media en el grupo no RPM (media = 0,038) que el grupo RPM (media = 0,013), y un tamaño del efecto de magnitud media ($d = 0,47$).

Aunque el resto de oligoelementos no alcanzó diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones medias de los dos grupos de gestantes, la inspección de los tamaños del efecto (índices *d* en la Tabla 24) reveló varios de ellos que exhibieron valores *d* por encima de 0,20 (en valor absoluto), apuntando hacia la existencia de cierta tendencia en los datos. Tal fue el caso del estaño, el bromo, el cobre, el bismuto, el antimonio, el cadmio y la plata.

En lo que respecta al *estaño*, el grupo no RPM presentó una concentración media inferior (media = 0,479) a la del grupo RPM (media = 0,654), con un tamaño del efecto $d = -0,34$, de magnitud media-baja, si bien no se observaron diferencias significativas ($p = .603$).

Otro elemento traza con un tamaño del efecto relevante fue el *bromo*, $d = 0,31$, presentando una concentración media mayor en el grupo no RPM (media = 1,47) que en el grupo RPM (media = 1,207), aunque sin alcanzar la significación estadística ($p = .277$).

El **cobre** fue otro elemento que presentó un tamaño del efecto de magnitud baja pero relevante, $d = -0,26$, siendo superior su concentración media en el grupo RPM (media = 1,545) que en el grupo no RPM (media = 1,455), y sin alcanzar significación estadística ($p = .279$).

El **bismuto** también presentó un tamaño del efecto relevante, $d = 0,22$. Sin embargo, como ya se mencionó anteriormente, la mayoría de las concentraciones de este oligoelemento en las gestantes de las dos muestras fue nula (96%).

En una situación similar al bismuto se encontraron el **antimonio**, el **cadmio** y la **plata**. Aunque se observaron tamaños del efecto justo en el límite para ser considerados relevantes, $d = 0,20$, del total de gestantes todas menos una obtuvieron concentraciones nulas en estos tres oligoelementos.

Como complemento a la comparación de los dos grupos de gestantes en los oligoelementos, las Tablas 25 y 26 presentan las tablas de contingencia resultantes de clasificar a las gestantes de los dos grupos (no RPM vs. RPM) en función de los valores de referencia de cada oligoelemento. Dichas tablas también recogen los odds ratios y sus límites confidenciales al 95%. Debe precisarse que estos análisis se llevaron a cabo para los 22 oligoelementos de los que disponíamos de valores de referencia, quedando al margen de estos análisis el azufre. Además, estos valores de referencia corresponden a población general, ya que no se dispone de valores de referencia específicos para población gestante.

Como puede apreciarse en las Tablas 25 y 26, no se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre el grupo de pertenencia y la clasificación de cada oligoelemento según los valores de referencia.

Tabla 24. Resultados de la comparación de los datos relativos a los oligoelementos.

Elemento	Grupo no RPM		Grupo RPM		Z	p	d
	Media	Mdn	Media	Mdn			
Aluminio	0,037	0	0,033	0	0,10	.923	0,04
Antimonio	0,0004	0	0	0	1,01	.313	0,20
Arsénico	0,00032	0	0,00029	0	0,03	.978	0,01
Azufre	1,216	1,21	1,263	1,216	0,41	.681	-0,19
Bario	0,038	0	0,013	0	2,05	.040	0,47
Bismuto	0,0051	0	0,0002	0	1,04	.296	0,22
Boro	0,083	0	0,079	0,02	1,06	.290	0,03
Bromo	1,47	1,2385	1,207	1,193	1,09	.277	0,31
Cadmio	0	0	0,003	0	0,99	.322	-0,20
Cinc	4,66	4,8845	4,622	4,569	1,09	.274	0,03
Cobre	1,455	1,4325	1,545	1,46	1,08	.279	-0,26
Cromo	0,0033	0	0,0038	0	0,36	.718	-0,06
Estaño	0,479	0,4805	0,654	0,486	0,52	.603	-0,34
Estroncio	0,043	0,0395	0,043	0,042	0,47	.639	0,02
Fósforo	0,332	0,3325	0,337	0,328	0,02	.984	-0,09
Hierro	325,38	331,07	325,24	324,495	0,77	.443	0
Litio	2,871	2,7585	2,905	2,77	0,40	.689	-0,06
Magnesio	0,021	0,022	0,022	0,022	0,56	.573	-0,19
Manganeso	0,0025	0	0,0027	0	0,80	.421	-0,03
Plata	0,0011	0	0	0	1,01	.313	0,20
Plomo	0,022	0,017	0,029	0,017	0,44	.661	-0,19
Selenio	0,065	0,063	0,071	0,061	0,31	.757	-0,14
Titanio	0,205	0,2045	0,208	0,202	0,16	.870	-0,06

RPM = Rotura Prematura de Membranas. DT = desviación típica. Z = estadístico Z asintótico correspondiente a la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney de comparación de las tendencias centrales. p = nivel de probabilidad de la prueba Z. d = índice del tamaño del efecto 'diferencia de medias estandarizada'. La unidad de medida en todos los casos es partes por millón (ppm = mg/L). Los tamaños muestrales de los grupos No RPM y RPM fueron 50 y 51, respectivamente.

Tabla 25. Resultados de la comparación de los casos y controles en función de los oligoelementos clasificados según los valores de referencia.

Elemento	No RPM	RPM	OR	Li	Ls
Aluminio:					
< 0,198	46(92%)	48(94,1%)	0,719	0,152	3,388
> 0,198	4(8%)	3(5,9%)			
Antimonio:					
< 0,0035	49(98%)	51(100%)	--	--	--
> 0,0035	1(2%)	0(0%)			
Arsénico:					
< 0,01	49(98%)	50(98%)	0,980	0,060	16,110
> 0,01	1(2%)	1(2%)			
Bario:					
< 0,0024	28(56%)	36(70,6%)	0,530	0,233	1,206
> 0,0024	22(44%)	15(29,4%)			
Bismuto:					
< 0,0008	47(94%)	50(98%)	0,313	0,031	3,119
> 0,0008	3(6%)	1(2%)			
Boro:					
< 0,095	38(76%)	35(68,6%)	0,368	0,106	1,282
0,095 – 0,177	4(8%)	10(19,6%)	--	--	--
> 0,177	8(16%)	6(11,8%)	3,333	0,693	16,129
Bromo:					
< 3,9	49(98%)	51(100%)	--	--	--
> 3,9	1(2%)	0(0%)			
Cadmio:					
< 0,0006	50(100%)	50(98%)	--	--	--
> 0,0006	0(0%)	1(2%)			
Cinc:					
< 4	14(28%)	14(27,5%)	0,944	0,393	2,269
4 – 7,6	36(72%)	34(66,7%)	--	--	--
> 7,6	0(0%)	3(5,9%)	--	--	--
Cobre:					
< 0,8	1(2%)	1(2%)	0,868	0,052	14,435
0,8 – 1,6	38(76%)	33(64,7%)	--	--	--
> 1,6	11(22%)	17(33,3%)	1,780	0,731	4,335
Cromo:					
< 0,0004	39(78%)	42(82,4%)	0,760	0,284	2,030
> 0,0004	11(22%)	9(17,6%)			

OR = odds ratio. Li y Ls = límites confidenciales al 95% para el odds ratio. RPM = Rotura Prematura de Membranas.

Tabla 26. Resultados de la comparación de los casos y controles en función de los oligoelementos clasificados según los valores de referencia.

Elemento	No RPM	RPM	OR	Li	Ls
Estaño:					
< 0,05	3(6%)	7(13,7%)	0,401	0,098	1,649
> 0,05	47(94%)	44(86,3%)			
Estroncio:					
< 0,03	11(22%)	12(23,5%)	0,917	0,361	2,325
> 0,03	39(78%)	39(76,5%)			
Fósforo:					
< 0,428	48(96%)	48(94,1%)	--	--	--
0,428 – 0,53	2(4%)	0(0%)			
> 0,53	0(0%)	3(5,9%)	--	--	--
Hierro:					
< 380	40(80%)	43(84,3%)	0,558	0,186	1,677
380 – 625	10(20%)	6(11,8%)	--	--	--
> 625	0(0%)	2(3,9%)	--	--	--
Litio:					
< 1,388	0(0%)	0(0%)	--	--	--
1,388 – 5,552	50(100%)	51(100%)			
> 5,552	0(0%)	0(0%)			
Magnesio:					
< 0,129	50(100%)	51(100%)	--	--	--
0,129 – 0,195	0(0%)	0(0%)			
> 0,195	0(0%)	0(0%)	--	--	--
Manganeso:					
< 0,007	46(92%)	44(86,3%)	1,830	0,501	6,687
> 0,01	4(8%)	7(13,7%)			
Plata:					
< 0,0006	49(98%)	51(100%)	--	--	--
> 0,0006	1(2%)	0(0%)			
Plomo:					
< 0,04	41(82%)	40(78,4%)	1,253	0,469	3,347
0,04 – 0,3	9(18%)	11(21,6%)			
Selenio:					
< 0,076	30(60%)	36(70,6%)	0,526	0,220	1,256
0,076 – 0,14	19(38%)	12(23,5%)	--	--	--
> 0,14	1(2%)	3(5,9%)	4,750	0,441	51,106
Titanio:					
< 0,049	0(0%)	0(0%)	--	--	--
> 0,049	50(100%)	51(100%)			

OR = odds ratio. Li y Ls = límites confidenciales al 95% para el odds ratio. RPM = Rotura Prematura de Membranas.

4.4 Oligoelementos y tiempo RPM-expulsión fetal

Dentro del tercer objetivo, se investigó la relación existente entre el tiempo transcurrido entre la RPM y la expulsión fetal y las concentraciones de los oligoelementos analizados. Estos análisis se limitaron a la muestra de casos, es decir, a las 51 gestantes que sufrieron RPM. En nuestra muestra, los tiempos mínimo y máximo que transcurrieron entre la RPM y la expulsión fetal fueron una hora y 48 horas, respectivamente, con un tiempo medio de 14,3 horas ($DT = 10,9$ h.; $Mdn = 11$ h.). Dado el incumplimiento del supuesto de normalidad en las concentraciones de los oligoelementos, se calcularon coeficientes de correlación ordinal de Spearman entre cada oligoelemento y el tiempo RPM-expulsión fetal. La Tabla 27 presenta los resultados. Tan sólo se encontró una correlación estadísticamente significativa con el aluminio ($r_s = .337$, $p < .05$), siendo positiva dicha relación, de forma que mayores concentraciones de aluminio en sangre se asociaron a tiempos RPM-expulsión fetal más prolongados. Cabe también destacar la correlación marginalmente significativa obtenida para el bario ($r_s = .268$, $p = .058$), también de signo positivo.

Tabla 27. Coeficientes de correlación ordinal de Spearman entre cada oligoelemento y el tiempo (en horas) transcurrido entre la RPM y la expulsión fetal.

Oligoelemento	r_s	Oligoelemento	r_s	Oligoelemento	r_s
Aluminio	.337*	Calcio	-.159	Litio	.113
Antimonio	--	Cinc	.112	Magnesio	-.015
Arsénico	-.087	Cloro	-.067	Manganeso	-.061
Azufre	.133	Cobre	.176	Plata	--
Bario	.268 ^a	Cromo	-.135	Plomo	-.127
Bismuto	-.202	Estaño	-.134	Potasio	-.004
Boro	.040	Estroncio	.027	Selenio	.128
Bromo	.058	Fósforo	-.113	Sodio	-.182
Cadmio	.029	Hierro	.013	Titanio	-.090

* $p < .05$. ^a $p = .058$. r_s = coeficiente de correlación ordinal de Spearman. Estas correlaciones se calcularon sobre la muestra de gestantes que sufrieron RPM, con un tamaño muestral de 51 casos.

5. Objetivo 4: Modelo predictivo de los factores de riesgo de la RPM

Los análisis realizados hasta aquí para examinar la relación entre RPM y oligoelementos y variables bioquímicas de la sangre han sido todos ellos de naturaleza bivariada. El *Objetivo 4* pretendía encontrar un modelo predictivo de la relación existente entre RPM y ciertos oligoelementos y variables analíticas de la sangre materna. Con este propósito, aplicamos modelos de regresión logística que permitieran identificar aquellos predictores, o factores de riesgo/protección, que mejor discriminen entre las gestantes con RPM y sin RPM.

Dado que el tamaño muestral no era muy elevado, fue necesario seleccionar previamente el subconjunto de variables, de todas las analizadas en esta investigación, que podrían ofrecer una contribución relevante para discriminar entre los dos grupos de gestantes. Para seleccionar dicho grupo de potenciales predictores nos basamos en criterios estadísticos: seleccionamos aquellas variables que, en los análisis previos, habían alcanzado una relación estadísticamente significativa con el grupo de pertenencia. Tal fue el caso de las plaquetas, el tiempo de Protrombina, la ratio tiempo de Protrombina, la actividad de Protrombina, el índice INR y, como único oligoelemento relevante, el bario. La variable dependiente dicotómica fue el grupo de pertenencia: grupo RPM (casos, etiquetados con el valor 1) y grupo no RPM (controles, etiquetados con el valor 0).

Un primer análisis consistió en aplicar modelos de regresión logística simples, tomando en cada caso uno solo de los seis predictores seleccionados. La Tabla 28 presenta los resultados. Como puede observarse en dicha tabla, tomando como referencia el pseudo-porcentaje de varianza explicada (R^2 de Nagelkerke), el predictor que alcanzó la relación más fuerte con el grupo de pertenencia fue la concentración de plaquetas en sangre, con casi un 10% de varianza explicada y una asociación estadísticamente significativa ($R^2 = .096$; $p = .010$). En segundo lugar, se situó la concentración de bario, con casi un 8% de varianza explicada y una asociación estadísticamente significativa ($R^2 = .079$; $p = .037$). El tercer lugar lo ocupó la actividad de Protrombina, con un 6,6% de varianza explicada y una asociación estadísticamente

significativa ($R^2 = .066$; $p = .029$). En cuarto lugar figuró la ratio tiempo de Protrombina, con un 5,7% de varianza explicada y una asociación estadísticamente significativa ($R^2 = .057$; $p = .042$). El quinto lugar correspondió al índice INR, con casi un 5% de varianza explicada y un resultado sólo marginalmente significativo ($R^2 = .049$; $p = .061$). Y el último lugar lo ocupó el tiempo de Protrombina, con un 4,2% de varianza explicada y un resultado marginalmente significativo ($R^2 = .042$; $p = .080$).

Tabla 28. Resultados de los modelos de regresión logística simple de cada predictor con el grupo de pertenencia (no RPM vs. RPM).

Predictor	<i>B</i>	<i>ET</i>	Wald	<i>p</i>	<i>OR</i>	R^2
Plaquetas	-0,011	0,004	6,711	.010	0,989	.096
Tiempo de Protrombina	-0,598	0,342	3,069	.080	0,550	.042
Ratio Tiempo de Protrombina	-6,713	3,297	4,147	.042	0,001	.057
Actividad Protrombina	0,032	0,015	4,740	.029	1,032	.066
INR	-7,581	4,039	3,523	.061	0,001	.049
Bario	-11,159	5,345	4,358	.037	$1,4 \times 10^{-5}$.079

B = coeficiente de regresión del predictor. *ET* = error típico del predictor. Wald = estadístico Chi-cuadrado con un grado de libertad para contrastar la significación estadística del predictor. *p* = nivel de probabilidad asociado al estadístico de Wald. *OR* = odds ratio de cada predictor (no ajustado). R^2 = pseudo-proporción de varianza explicada por el predictor (R^2 de Nagelkerke).

Este primer análisis reveló que las seis variables preseleccionadas como potenciales predictores, o covariables, del grupo de pertenencia podían ejercer este papel de forma relevante. El paso siguiente consistió en aplicar un modelo de regresión logística múltiple incorporando los seis predictores conjuntamente. La Tabla 29 presenta los resultados. El modelo completo alcanzó un resultado estadísticamente significativo ($p < .001$), con un 27,1% de varianza explicada por el conjunto de los seis predictores. Sin embargo, al examinar la contribución de cada predictor al modelo, tan sólo dos predictores alcanzaron una relación estadísticamente significativa con el grupo de pertenencia, una vez controlado el influjo de los demás predictores del modelo: los niveles de plaquetas ($p = .014$; $OR_{aj} = 0,988$) y de bario ($p = .013$; $OR_{aj} = 1,3 \times 10^{-6}$). Los otros cuatro predictores no obtuvieron una asociación estadísticamente significativa. El signo negativo de los coeficientes de regresión parcial de estos dos predictores indicó la presencia de niveles más altos de plaquetas y de bario en el grupo no RPM que en el grupo RPM.

Tabla 29. Resultados del modelo de regresión logística múltiple de los seis predictores con el grupo de pertenencia (no RPM vs. RPM).

Predictor	<i>B</i>	<i>ET</i>	Wald	<i>p</i>	<i>OR_{aj}</i>
Plaquetas	-0,012	0,005	6,101	.014	0,988
Tiempo de Protrombina	7,075	6,021	1,381	.240	1182,026
Ratio Tiempo de Protrombina	-12,193	7,966	2,342	.126	5×10^{-6}
Actividad Protrombina	0,033	0,067	0,243	.622	1,033
INR	-70,517	66,920	1,110	.292	2×10^{-31}
Bario	-13,583	5,490	6,121	.013	$1,3 \times 10^{-6}$
Constante	0,646	23,385	0,001	.978	--
Modelo completo:		$\chi^2(6) = 22,944, p < .001; R^2 = .271$			

B = coeficiente de regresión parcial del predictor. *ET* = error típico del predictor. Wald = estadístico Chi-cuadrado con un grado de libertad para contrastar la significación estadística del predictor. *p* = nivel de probabilidad asociado al estadístico de Wald. *OR_{aj}* = odds ratio ajustado de cada predictor. *R*² = pseudo-proporción de varianza explicada por el modelo completo (*R*² de Nagelkerke).

Finalmente, aplicamos un modelo de regresión logística por pasos condicional hacia delante, con objeto de obtener un modelo parsimonioso que contuviera sólo el conjunto de predictores que realmente ofrecieron una contribución estadísticamente significativa a la hora de discriminar entre los dos grupos de gestantes. La Tabla 30 presenta los resultados de este análisis. Al aplicar este proceso de selección automática de predictores, el modelo final estuvo conformado por tres predictores: el nivel de plaquetas, la ratio tiempo de Protrombina y la concentración de bario. El modelo con estos tres predictores alcanzó la significación estadística ($p < .001$) y exhibió un 24,8% de varianza explicada; un porcentaje que, si se compara con el obtenido con los seis predictores ($R^2 = .271$) supuso una pérdida del 2,3%. Esta pérdida de varianza explicada quedó sobradamente compensada con la ganancia en parsimonia, al reducir a la mitad el número de predictores del modelo.

Como no podía ser de otra forma, los tres predictores obtuvieron una asociación estadísticamente significativa con el grupo de pertenencia, una vez controlado el influjo de los otros dos predictores ($p < .05$). En términos de ganancia predictiva del modelo (ΔR^2 en la Tabla 29), el bario fue el predictor que ofreció la mayor contribución al modelo, una vez que ya estaban dentro del mismo los otros dos predictores, con un 10,3% incremental de varianza explicada. Le siguió la ratio tiempo de Protrombina, con un 8% de varianza explicada incremental; y el nivel de plaquetas supuso un incremento del 7,9% de varianza explicada. El signo negativo de los coeficientes de regresión parcial de estos tres predictores reveló niveles más altos de ellos en el grupo no RPM que en el grupo RPM.

Tabla 30. Resultados del modelo de regresión logística por pasos condicional hacia delante con el grupo de pertenencia (no RPM vs. RPM).

Predictor	<i>B</i>	<i>ET</i>	Wald	<i>p</i>	<i>OR_{aj}</i>	ΔR^2
Plaquetas	-0,012	0,005	6,267	.012	0,988	.079
Ratio Tiempo de Protrombina	-9,049	3,535	6,553	.010	1,2x10 ⁻⁴	.080
Bario	-13,835	5,414	6,529	.011	9,8x10 ⁻⁷	.103
Constante	10,523	3,269	10,362	.001	--	--
Modelo completo:	$\chi^2(3) = 20,754, p < .001; R^2 = .248$					

B = coeficiente de regresión parcial del predictor. *ET* = error típico del predictor. Wald = estadístico Chi-cuadrado con un grado de libertad para contrastar la significación estadística del predictor. *p* = nivel de probabilidad asociado al estadístico de Wald. *OR_{aj}* = odds ratio ajustado de cada predictor. ΔR^2 = incremento en la pseudo-proporción de varianza explicada por cada predictor una vez que el resto de predictores ya estaban dentro del modelo (*R*² de Nagelkerke).

El modelo predictivo presentado en la Tabla 30 permite establecer predicciones acerca de dónde se situaría cada mujer gestante en función del modelo, y contrastar esas predicciones con la pertenencia real de las mismas. La Tabla 31 presenta los resultados de tales predicciones. Se observó un porcentaje global de aciertos del 67,3%.

Tabla 31. Resultados de contrastar la pertenencia a grupo observada y pronosticada

		Pronosticado		% correcto
		No	Sí	
Observado	No	32	18	64,0%
	Sí	15	36	70,6%
				67,3%

Para finalizar con la presentación de los resultados del modelo predictivo, la Tabla 32 recoge la significación estadística alcanzada por cada uno de los tres predictores que quedaron excluidos del modelo predictivo final. La ausencia de significación estadística justificó su exclusión del modelo final.

Tabla 32. Significación estadística de los predictores excluidos del modelo de regresión logística por pasos condicional hacia delante.

Predictor	Wald	<i>P</i>
Tiempo de Protrombina	0,245	.621
Actividad Protrombina	0,060	.807
INR	0,069	.793

Wald = estadístico Chi-cuadrado con un grado de libertad para contrastar la significación estadística del predictor una vez que ya están dentro del modelo los predictores plaquetas, ratio tiempo de Protrombina y bario. *p* = nivel de probabilidad asociado al estadístico de Wald.

Capítulo 5:

Discusión

En la actualidad, en medicina clínica cada vez se están realizando mayor número de investigaciones dirigidas hacia las áreas de bioquímica nutricional y de bioacumulación de sustancias tóxicas y su impacto en la salud humana y las enfermedades crónicas. Un estado nutricional óptimo, incluyendo niveles saludables de minerales esenciales, es necesario para que las funciones fisiológicas sean adecuadas; por el contrario, la bioacumulación de elementos tóxicos afecta negativamente a la fisiología correcta.

El propósito de esta investigación fue examinar las concentraciones de elementos inorgánicos y elementos traza, así como los parámetros analíticos en sangre de gestantes a término y explorar posibles marcadores que pudieran actuar como factores de riesgo que permitieran pronosticar la rotura prematura de membranas durante la gestación. Para ello se seleccionaron dos muestras de gestantes, una que sufrió RPM (grupo de los casos) y otro que no sufrió RPM (grupo de los controles), sobre las que se obtuvieron datos analíticos sanguíneos y también se les administró un cuestionario que recogió variables clínicas y sociodemográficas de la gestante y del neonato. A continuación, se discuten los resultados obtenidos en esta investigación con los revisados previamente, se ofrecen recomendaciones para la práctica clínica, se describen las limitaciones de este estudio y se apuntan líneas de investigación futura en este campo.

1. Objetivo 1: Perfil inflamatorio y concentraciones de oligoelementos

El primer objetivo se dirigió a determinar las concentraciones de oligoelementos y los parámetros analíticos generales en sangre de gestantes a término. La Tabla 1 resume los resultados obtenidos en esta investigación al clasificar las concentraciones medias de los parámetros analíticos según se situasen dentro de los valores de referencia, por encima o por debajo de dichos valores. Como puede observarse, la mayoría de las variables analizadas presentaron concentraciones en sangre que se situaron dentro de los valores de referencia. No obstante, presentaron concentraciones por encima de dichos valores la proteína C reactiva, la actividad de Protrombina y el

Dímero D. Por el contrario, presentaron concentraciones inferiores a los valores de referencia la creatinina, el ácido úrico y el cloro.

En nuestra muestra de gestantes, la creatinina obtuvo una media de 0,536 mg/dL, prácticamente en el límite inferior de los valores de referencia para población gestante (0,54 – 0,60 mg/dL). Además, si se compara con los valores de referencia en población general (0,5 – 0,9 mg/dL), nuestra media se sitúa dentro de dichos valores, por lo que esta discrepancia puede considerarse irrelevante. Algo similar ocurrió con el cloro, que arrojó una media en nuestra muestra de 101,19 mEq/L, situándose ligeramente por debajo del límite inferior de los valores de referencia para población gestante (102 – 111 mEq/L); pero si se compara con los valores de referencia para población general (98 – 107 mEq/L), entonces la media queda dentro de dichos valores. Del mismo modo, el ácido úrico presentó una media en nuestra muestra de 4,167 mg/dL, ligeramente por debajo de los valores de referencia para población gestante (4,59 – 4,85 mg/dL), pero comparada con los valores de referencia para población general (2,4 – 5,7 mg/dL), la media se sitúa dentro de los valores normales.

Tabla 1. Resumen de las concentraciones de la analítica general de la sangre, según que las medias se sitúen dentro de los valores de referencia, por encima o por debajo de dichos valores.

Dentro de los valores de referencia	Por debajo de los valores de referencia	Por encima de los valores de referencia
Glucosa	Creatinina	Proteína C reactiva
Calcio	Ácido úrico	Actividad de Protrombina
Sodio	Cloro	Dímero D
Potasio		
Procalcitonina		
Hematíes		
Hemoglobina		
Hematocrito		
Plaquetas		
Leucocitos		
Tiempo de Protrombina		
Tiempo de Tromboplastina parcial activ.		
PTTA ratio		
INR		
Fibrinógeno derivado		

En lo que respecta a la Serie Roja, los niveles de hematíes, hemoglobina y hematocrito se situaron dentro de los niveles normales para población gestante. Sin embargo, si se comparan con los valores de referencia para población general, los niveles medios para estas tres variables se situaron por debajo de dichos valores. Así, el nivel medio de hematíes en nuestra muestra fue de $3,951 \times 10^6/\mu\text{L}$, mientras que los valores de referencia en población general son $4 - 5,2 \times 10^6/\mu\text{L}$; nuestra media en hemoglobina fue $11,711 \text{ g/dL}$, frente a los valores de referencia $12 - 16 \text{ g/dL}$, y en hematocrito nuestra media fue $35,201\%$, frente a los valores $36 - 46\%$. La razón de estos descensos respecto de la población general está en que durante el embarazo, fisiológicamente, tiene lugar un aumento del volumen de plasma y de la cantidad de glóbulos rojos, siendo proporcionalmente mayor el incremento del volumen de plasma, por lo que se produce una anemia dilucional. Esta circunstancia se traduce analíticamente en un descenso de la hemoglobina y del valor del hematocrito, lo cual explica nuestros resultados. El aumento del volumen de plasma es del $40-60\%$, pudiendo llegar hasta los 1500 cm^3 . Esto ocurre principalmente durante el primer y segundo trimestres. Los glóbulos rojos aumentan un $20-30\%$ al principio del primer trimestre y después su aumento es paulatino. Este incremento se produce gracias a la presencia de altas cantidades de eritropoyetina y de lactógeno placentario humano.

En cuanto a los resultados de la Serie Blanca, el nivel medio de leucocitos obtenido en nuestra muestra fue de $14,113 \times 10^3/\mu\text{L}$, situándose dentro de los valores de referencia para población gestante ($5,8 - 15,1 \times 10^3/\mu\text{L}$). Pero si se compara nuestra media con los valores de referencia en población general ($4,5 - 11 \times 10^3/\mu\text{L}$), entonces se observa un nivel medio por encima de dichos valores. Ello se debe a que durante el embarazo, fisiológicamente, se produce una leucocitosis, muy probablemente debido a los altos niveles de cortisol que se producen durante la gestación. Se consideran cifras normales entre $9.000-11.000 \text{ mm}^3$, cifras que son superadas por un 20% de las gestantes. Este efecto se produce a expensas de leucocitos polimorfonucleares.

Está confirmado que el recuento de plaquetas durante la gestación disminuye, pudiendo llegar hasta el 20% , pero siempre dentro de los límites de la normalidad, de forma que son muy poco frecuentes los descensos por debajo de $150.000 \text{ plaquetas/mm}^3$. Estos valores son acordes a los resultados de nuestro estudio.

En lo que respecta al Sistema de Coagulación, hemos obtenido niveles medios por encima de los valores de referencia para población general en Actividad de Protrombina (media = 130,59%; valores de referencia: 70 – 100%) y en Dímero D (media = 885,07; valores de referencia: 139 – 257 ng/mL). El Fibrinógeno derivado presentó un nivel medio dentro de los valores de referencia para población gestante (media = 472,91 mg/dL; valores de referencia: 443,6 – 670,2 mg/dL), pero si se compara con los valores de referencia para población general, la media está por encima de dichos valores (276 – 471 mg/dL). Es sabido que durante la gestación se produce de forma fisiológica un estado de hipercoagulabilidad, es decir, la balanza entre la coagulación y la fibrinólisis se desplaza hacia la formación de coágulos. Los cambios se producen en preparación al momento del parto y el alumbramiento. Esta situación de hipercoagulabilidad disminuye el riesgo de sangrado en el momento del parto, pero incrementa el riesgo de trombosis durante la gestación y el postparto inmediato. Por tanto, los factores que favorecen la hemostasia aumentan su concentración (fibrinógeno, dímero-D, protrombina) tal y como ocurre en nuestro estudio, mientras que aquellos factores que evitan la formación de coágulos disminuyen (antitrombina III, proteína C y proteína S), el sistema fibrinolítico está menos activo y su respuesta frente a estímulos es menos enérgica (Carrera Maciá, 1996; Duffy, 1996). Es destacable el aumento de la actividad de Protrombina y el descenso del INR, lo cual sustenta la tendencia a la hipercoagulabilidad sanguínea de nuestras pacientes gestantes. Téngase en cuenta que el nivel medio de INR en nuestra muestra de gestantes se situó dentro de los valores de referencia para población gestante (media = 0,861; valores de referencia: 0,8 – 0,94), pero si se compara con los valores de referencia para población general, la media queda por debajo de dichos valores (0,9 – 1,2).

Siguiendo con este primer objetivo, se analizaron las concentraciones en la sangre de las gestantes de diversos oligoelementos. Los niveles de estos elementos fueron clasificados en función de que sus concentraciones medias se encontraran dentro de los valores de referencia, superiores o inferiores a los mismos. Los resultados se muestran en la Tabla 2. Debe tenerse en cuenta que los valores de referencia utilizados en esta investigación proceden de población general, ya que no se dispone de valores de referencia para población gestante. Se observaron concentraciones medias por encima de los valores de referencia en bario, cromo, estaño, estroncio, titanio, bismuto y

cadmio. No obstante, los niveles de bismuto y cadmio fueron superiores a los de referencia solamente en 4 y 1 mujeres, respectivamente. Por el contrario, se observaron concentraciones medias por debajo de los valores de referencia en bromo, hierro, manganeso, plomo y selenio.

Algunos de los elementos analizados por nosotros, como el cobre (Cu), cromo (Cr), hierro (Fe), magnesio (Mg), manganeso (Mn), selenio (Se) y cinc (Zn), han sido identificados como nutrientes esenciales para distintas funciones bioquímicas y fisiológicas. El suministro inadecuado de estos micronutrientes produce una gran variedad de enfermedades o síndromes por sus deficiencias.

Tabla 2. Resumen de las concentraciones medias en sangre de los oligoelementos analizados, según que se sitúen dentro de los valores de referencia, por encima o por debajo de dichos valores.

Dentro de los valores de referencia	Por debajo de los valores de referencia	Por encima de los valores de referencia
Aluminio	Bromo	Bario
Antimonio	Hierro	Bismuto (¿?)
Arsénico	Manganeso	Cadmio (¿?)
Cinc	Plomo	Cromo
Cobre	Selenio	Estaño
Litio		Estroncio
Plata		Titanio

Nota. Bismuto y cadmio figuran con una interrogante porque sólo en unos pocos casos (n=4 y n=1, respectivamente) se detectaron concentraciones de dichos oligoelementos, por lo que los niveles medios no fueron representativos de la muestra. Hubo un oligoelemento para el que no fue posible obtener valores de referencia: el azufre.

Llama la atención que siete elementos inorgánicos en la población gestante presentan concentraciones por encima de los valores de referencia. Un objetivo clave para la mejoría de los resultados gestacionales a corto y largo plazo, tanto maternos como fetales, es lograr un mayor conocimiento de la acción de estos elementos. Todavía son escasos los estudios que se centran en su distribución ambiental, su bioacumulación, así como sus efectos sobre la salud gestacional. Nuestros esfuerzos han de ir encaminados al desarrollo de estrategias de mitigación y prevención para minimizar los efectos negativos para la salud de la población gestacional, la cual posee fisiológicamente unas características distintas a la población general, identificándose como población sensible, al igual que niños, ancianos, etc. Los principales estudios realizados sobre estos elementos se han realizado en animales, siendo necesarios más

estudios en población humana, y particularmente realizarlos de forma observacional con exposiciones crónicas a bajas dosis.

En nuestro estudio el 36,6% (n=37) de las gestantes presentan niveles por encima de los valores de referencia de bario en sangre. El **Bario** (Ba) es un metal alcalinotérreo que está presente en bajas a moderadas concentraciones en el entorno natural. Aunque el Ba siempre ha estado presente como un elemento traza en los alimentos y el agua potable, el uso industrial (por ejemplo, la industria del petróleo, industria del acero, gas, lodos de perforación, pirotecnia) y el uso medicinal (por ejemplo, agente de contraste en radiografías del tracto gastrointestinal), hay escasos estudios publicados que analizan su impacto en la salud.

El Ba puede incorporarse al organismo a través de ingestión por vía oral, inhalación, o vectores dérmicos. A pesar de esto, no se considera un elemento esencial (Schroeder et al, 1972). Las principales vías de exposición humana no ocupacional al Ba son la ingestión de alimentos (70-80%) y el consumo de agua (20%) (Moffett et al, 2007; WHO, 2004). En áreas geográficas con niveles elevados de Ba en el agua potable, el porcentaje de contribución a la exposición puede aumentar (WHO, 2004). Además de la dieta, el agua potable y exposiciones ocupacionales, el Ba es también un contaminante común en el aire urbano (Skornik, 1988). En el aire, predominantemente se presenta en forma de partículas que resultan de la combustión del carbón, el petróleo diesel y la incineración de residuos (WHO, 2004). Una vez en el organismo, aproximadamente el 5-30% de la dosis administrada se absorbe del tracto gastrointestinal al torrente sanguíneo (Moffett et al, 2007). La mayoría de las exposiciones humanas a sales de Ba tóxicas se producen a través de ingestión por vía oral o por inhalación (Dean, 1950; Gould et al, 1973; Lewi y Bar-Khayim, 1964; Morton, 1945).

Los efectos sobre la salud del bario descritos en la literatura incluyen enfermedades cardiovasculares, renales, metabólicas, neurológicas y trastornos mentales. La edad, la raza, los hábitos alimentarios, fumar, el uso de medicamentos y estados fisiológicos específicos (por ejemplo, embarazo) pueden modificar los efectos de éste sobre la salud. Se ha observado una mayor prevalencia de obesidad y autismo en las comunidades con mayores niveles de Ba en agua potable (Blaurock-Busch et al, 2011, 2012; Padilla et al, 2010). Hasta la fecha, no tenemos constancia de estudios que

hayan encontrado evidencias de que el Ba actúe como un disruptor endocrino (Moffett et al, 2007), pero se ha especulado que puede ser un imitador funcional de estrógeno (Choe et al, 2003).

Además de los estudios en población general, se debe evaluar el impacto en aquellos sujetos que puedan ser más susceptibles a los efectos adversos de la exposición, como aquellas personas con enfermedad cardiovascular, enfermedades pulmonares, insuficiencia renal, hipertensión arterial, pacientes que toman diuréticos y distintos medicamentos, los niños, las mujeres embarazadas y los fumadores de tabaco (Moffett et al, 2007). Los patrones dietéticos también desempeñan un papel importante. Por ejemplo, la lactosa puede aumentar la absorción de Ba.

Los resultados tóxicos más comunes incluyen fracaso cardíaco y/o renal, edema pulmonar, parálisis respiratoria y hemorragias gástricas e intestinales. $BaCl_2$, que ha sido reconocido como un tóxico en humanos desde la década de 1940, causa vómitos, diarrea, arritmia cardíaca, insuficiencia hepática y renal, trastornos del sistema nervioso (temblores), ansiedad, disnea y, en casos graves, fibrilación ventricular, edema cerebral y parálisis (OMS, 2001). $BaCO_3$ puede también causar reacciones tóxicas agudas (Genter, 2001).

Debido a su baja solubilidad, $BaSO_4$ tiene mínima toxicidad como compuesto y, por lo tanto, se utiliza como un contraste radiológico (por ejemplo, de la parte superior e inferior del tracto gastrointestinal). No obstante, $BaSO_4$ puede inducir efectos tóxicos. Con menos frecuencia surgen complicaciones como la aspiración de agentes de contraste de Ba que producen reacciones inflamatorias pulmonares graves que se han conocido al tener resultados letales en los ancianos, disfagia, y una alta probabilidad de inducir encefalopatía.

La mayoría de los estudios que examinan el impacto del Ba en la salud humana involucran exposiciones ocupacionales agudas, tales como la exposición laboral. Entre estas poblaciones ocupacionalmente expuestas, los efectos sobre la salud para trabajadores expuestos a $BaSO_4$ y $BaCO_3$ incluyen baritosis y neumoconiosis.

En comparación con las exposiciones a altas dosis de forma aguda, los efectos de las exposiciones a bajas dosis de forma crónica sobre población no ocupacionalmente expuesta han sido poco estudiados.

Bajo las directrices revisadas de la Agencia de Protección Ambiental (EPA) para evaluación del riesgo cancerígeno, el Ba se considera un improbable cancerígeno a través de la exposición oral (Moffett et al, 2007), no pudiendo integrar con precisión los datos de las exposiciones por vía inhalatoria.

Sólo en una mujer de nuestro estudio se detectó niveles de cadmio en sangre, siendo éstos tóxicos. El **Cadmio** (Cd) es un metal pesado, contaminante ubicuo en el medio ambiente. Se puede encontrar en niveles elevados en alimentos como los mariscos, patés, cereales, tubérculos y algas secas, siendo la principal fuente de exposición en personas no fumadoras. La mayor fuente de exposición al Cd es a través del tabaco en personas fumadoras.

Se desconoce si el Cd tiene algún efecto beneficioso en la salud humana, pero los efectos que pueden ser causados por su sobreexposición son diarreas, dolor de estómago y vómitos severos, debilitamiento óseo, daño al sistema nervioso central, daño al sistema inmunológico y trastornos psicológicos. En modelos animales, el Cd es embriotóxico y teratogénico. En los seres humanos, el Cd es un conocido cancerígeno pulmonar y, recientemente, en un estudio se ha comprobado su relación con el cáncer de mama en mujeres con alto contenido de Cd en la orina (Wei et al, 2015). Por otra parte, existe una creciente evidencia de asociaciones entre Cd y resultados gestacionales adversos, tales como nacimiento prematuro y restricción del crecimiento. El Cd es un modificador de la epigenética establecida, por lo que existe la posibilidad de que la exposición prenatal a Cd también puede tener implicaciones a largo plazo sobre el desarrollo del neonato.

Johnston et al (2014) encontraron asociaciones significativas entre los niveles de Cd y bajo peso al nacimiento neonatal. El peso al nacimiento puede estar influido negativamente por los niveles de Cd como resultado de los efectos tóxicos indirectos de este metal en la placenta o directos sobre el feto. Es por ello que se ha planteado la hipótesis de que los niveles de Cd más altos pueden provocar una insuficiencia en la

transferencia de cinc al feto, lo que puede afectar al crecimiento intrauterino. Otro mecanismo posible es a través de la alteración de genes en el periodo fetal intrauterino que posteriormente afecten a la expresión de proteínas ligadas al crecimiento fetal.

En el estudio de Sakamoto et al (2013) la concentración de Cd en la placenta presentó una correlación moderada y significativa con la concentración de los eritrocitos en sangre de cordón, lo que sugiere que la placenta es un biomarcador útil para predecir la exposición fetal. La gran fuerza protectora de la placenta contra los metales pesados la ejercería en un gran porcentaje contra el Cd.

El 20% de las mujeres gestantes de nuestro estudio presentaban concentraciones superiores a los niveles de referencia de Cromo. En principio se considera al **Cromo** (en su estado de oxidación +3) un elemento esencial, aunque no se conocen con exactitud sus funciones. Parece participar en el metabolismo de los lípidos, en el de los hidratos de carbono, así como en otras funciones. La cantidad diaria recomendada de cromo es de 50-200 µg/día, pero en altas concentraciones resulta tóxico.

El cromo se utiliza principalmente en metalurgia para aportar resistencia a la corrosión. Así mismo, los compuestos de cromo son utilizados en curtidos de cuero, fabricación de colorantes y pigmentos, utensilios de cocina y como conservantes de la madera.

Los efectos clínicos de una intoxicación aguda con cromo son vómitos, diarrea, hemorragia del tracto gastrointestinal provocando shock cardiovascular. También se ha descrito necrosis hepática y renal (necrosis tubular aguda), ulceraciones y perforaciones del tabique nasal. La experiencia ha demostrado que el cromo, en exposiciones excesivas, puede actuar como irritante cutáneo, como carcinógeno y como alérgeno en el ser humano. Se ha relacionado su exposición con cáncer senonasal y pulmonar. La inhalación de cromo hexavalente también puede dar lugar a cáncer de hueso, próstata, estómago, riñón y vejiga urinaria, además de en el sistema hematopoyético. Se han informado de casos de rinitis, broncoespasmo y neumonía en exposición laboral.

Los suplementos dietéticos de cromo durante el período periparto tienen efectos beneficiosos sobre el rendimiento reproductivo en animales. Estos resultados podrían

interpretarse como una mejora en la condición corporal, la respuesta metabólica, la utilización de nutrientes y la eficiencia en la producción de leche (Deka et al, 2015). La exposición materna a niveles elevados de cromo durante el embarazo puede aumentar potencialmente el riesgo de niños de bajo peso al nacimiento, especialmente en el caso de las niñas (Xia et al, 2015).

Cuatro de las gestantes de nuestra investigación presentaban concentraciones superiores a los niveles de referencia de bismuto en sangre. Recientemente, el uso de **Bismuto** (Bi) en diversas industrias ha ido creciendo rápidamente debido a sus propiedades físicas y químicas específicas. Se utiliza con frecuencia en medicina, por ejemplo, en compuestos astringentes, en la industria cosmética, semiconductores, aleaciones y aditivos para la metalurgia. Debido a sus numerosas aplicaciones las posibilidades de contaminación ambiental se han incrementado de forma permanente. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, el Bi no es un elemento esencial para los seres humanos. En la actualidad, existe un número creciente de evidencias de sus efectos tóxicos para las personas, animales y plantas (Pamphlett et al, 2000; Magalhaes et al, 2003).

El 99% del bismuto ingerido no es absorbido y pasa inalterado a través de las heces. El pequeño porcentaje que se absorbe en el cuerpo a través del tracto gastrointestinal se distribuye por todos los tejidos, con concentraciones ligeramente más altas en el hígado y los riñones. En la mayoría de los pacientes, el bismuto puede causar una intoxicación con progresiva afectación neurológica. Las características principales de la toxicidad del bismuto incluyen confusión, inestabilidad postural, mioclonías y problemas con el lenguaje. En casos de exposición crónica, el Bi causa nefropatía, osteoartropatía y hepatitis (Slikkerveer y de Wolf, 1989).

El 100% de las mujeres gestantes alcanzaron concentraciones de titanio en sangre superiores a los niveles establecidos por Zheng et al (2014). El **Titanio** es el noveno elemento más abundante en la corteza terrestre. Debido a sus excelentes propiedades y resistencia a la corrosión, el titanio se ha utilizado en la industria aeroespacial, en la industria química y nuclear, en plantas de desalinización, equipos marinos, fabricación de coches, deportes, joyería y la industria médica, en particular, en

el campo de la ortopedia e implantes dentales. Aproximadamente el 95% del Ti se utiliza como dióxido de Ti (TiO_2). Es el pigmento blanco más utilizado en la industria.

El TiO_2 PN es ampliamente utilizado en productos cosméticos y en el cuidado de la piel, sobre todo en la protección solar, donde ayuda a proteger la piel de los rayos UV. El uso generalizado de este elemento podría aumentar la posibilidad de exposición de estas personas a través de diversas rutas, como la inhalación, la ingestión, el contacto con la piel y la inyección intravenosa.

Tanto el titanio como el dióxido de titanio tienen un nivel bajo de toxicidad. La sobreexposición al polvo de titanio puede ocasionar dolor en el pecho, tos o dificultad para respirar. En contacto con la piel o los ojos puede generar irritación. Respecto a su carcinogenicidad, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) mantiene que el titanio no es clasificable como elemento cancerígeno para los humanos.

Los resultados del reciente estudio realizado por Zheng et al (2014) indicaron que la exposición ambiental al Ti puede aumentar el riesgo de resultados adversos en gestantes chinas sin exposición ocupacional. La asociación entre los niveles de titanio y el riesgo de resultados adversos en el embarazo permanecieron significativos después de ajustar aquellos posibles factores de confusión, incluyendo el peso del recién nacido, mostrando una relación dosis-respuesta. Sin embargo, es necesario realizar más estudios epidemiológicos con mayor número de casos, así como estudios sobre el mecanismo de acción de este elemento para confirmar estos hallazgos.

Además, la exposición del TiO_2 PN a los ratones demostró una reducción en la fertilidad, la inflamación de los anexos y la atresia folicular de manera dosis-dependiente.

El 90,1% de las gestantes de nuestra investigación presentaron concentraciones en sangre de estaño por encima de los niveles de referencia. El **Estaño** es un metal plateado, maleable, que se oxida fácilmente y muy resistente a la corrosión. Se usa como recubrimiento de otros metales. El estaño se encuentra en las plantas, el suelo y su relación con las funciones biológicas del organismo todavía se desconoce. El estudio realizado por Huang et al (2011) mostró que cuando el suelo cultivado tiene alto

contenido de estaño (2,5 a 3,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$), la prevalencia de defectos del tubo neural fetal aumenta.

El 77,2% de las mujeres de nuestra muestra presentó niveles de estroncio por encima de los valores de referencia. El **Estroncio** (Sr) es un metal blando de color plateado brillante, algo maleable, que rápidamente se oxida en presencia de aire. Una dieta normal contiene 2-4 mg Sr/día, obtenidos la gran mayoría de vegetales y cereales. Los niveles medios de Sr en personas sanas oscilan desde 5,7 hasta 15,6 $\mu\text{g}/\text{l}$, que puede variar en función del tipo de bebida y alimentos consumidos (Pérez-Cárceles et al, 2008).

El cuerpo humano absorbe el estroncio al igual que el calcio. Debido a su similitud química, las formas estables del estroncio pudieran no constituir una amenaza significativa para la salud. En nuestro conocimiento los síntomas tóxicos debido a una sobredosis de Sr no han sido descritos en el hombre. Sin embargo, la administración intravenosa de altas dosis de Sr induce hipocalcemia debido al aumento de la excreción renal de calcio. También, el Sr-90 radiactivo se acumula en el organismo, prolongando la exposición a la radiación y provocando diversos desórdenes, incluido el cáncer óseo primario. Es destacable también el hecho de que la incidencia de caries está inversamente relacionada con el nivel de Sr en agua potable.

Un estudio in-vitro realizado por el New York College of Dental Sciences utilizó estroncio en osteoblastos, mostrando una marcada mejoría en la regeneración de éstos (Beuttenmuller et al, 2007)

El ranelato de estroncio, compuesto de la combinación de estroncio con ácido ranélico, ha mostrado efectos en el crecimiento óseo, con ganancias en la densidad ósea en vértebras debilitadas y en fracturas. Mujeres receptoras del compuesto mostraron un 12,7% de incremento en la densidad ósea, mientras que las que recibieron placebo tuvieron un 1,6% de decremento. La mitad del incremento en la densidad ósea (medida por densitometría de rayos X) se atribuyó al mayor peso atómico del estroncio comparado con el calcio, y la otra mitad al verdadero incremento de masa ósea.

Recientemente Zheng et al (2014) en un estudio realizado en mujeres chinas no

encontró niveles de estroncio en sangre significativamente más elevados en mujeres con riesgos gestacionales frente a un grupo control.

En nuestro estudio era fundamental comprobar si el nivel en sangre materna de algunos oligoelementos se modifica durante la gestación de forma fisiológica. Está documentado un descenso en los niveles maternos de cinc, hierro y calcio a lo largo de la gestación (Brandes et al, 1980; Jameson, 1976; Pitkin et al, 1979; Puolakka et al, 1980; Rahmanian et al, 2014).

El déficit de hierro es la deficiencia nutricional más extendida en el mundo, siendo la causa más común de anemia durante el embarazo. En nuestro estudio se constata el déficit de hierro, así como los descensos en los valores de la hematimetría.

La concentración de cinc en suero comienza a declinar en el embarazo precoz y sigue disminuyendo hasta término cuando el nivel de concentración de cinc en suero es casi un 35% menor del nivel de concentración que en mujeres no embarazadas (Izquierdo Alvarez et al, 2007; Zimmerman et al, 1984). La disminución del cinc en la concentración sérica con el embarazo parece ser un ajuste fisiológico normal y no es necesariamente indicativo de insuficiencia nutritiva de cinc (Tamura et al, 2000). La disminución en el nivel de cinc se ha atribuido a hemodilución, a disminución en el nivel de unión cinc-proteínas o a cambios hormonales durante el embarazo, (Swanson et al, 1983) y transporte activo de cinc desde la madre al feto (Flynn et al, 1971; Soltan et al, 1982; Zimmerman et al, 1984). Con respecto al cinc, sus concentraciones en nuestra muestra no se modificaron con respecto a los valores de referencia normales.

En general, se reconoce una disminución del calcio sérico durante el embarazo, aunque todavía se desconoce la naturaleza de los ajustes fisiológicos en el metabolismo del calcio materno (Pitkin et al, 1979). Khattab y Forfar (1970) encontraron que la concentración de calcio materno disminuye hasta las 32-36 semanas de gestación y luego se eleva a partir de estos plazos, lo cual es realmente acorde a nuestros hallazgos, ya que los niveles de calcio en suero materno de gestantes a término de nuestra muestra están dentro de los valores de referencia.

El cobre (Cu) es un oligoelemento que interviene en la función de varios cuproenzimas que son esenciales para la vida, y sus requerimientos son mayores durante el embarazo. Se ha comprobado que los niveles maternos de cobre se incrementan hacia el final del embarazo (Prenia et al, 1980; Rahmanian et al, 2014; Vir et al, 1981). Se han sugerido como posibles causas un aumento de la afinidad de unión con ceruloplasmina, aumento en la producción de ceruloplasmina como resultado de nivel elevado de estrógenos y transferencia pasiva de ceruloplasmina a través de la placenta (Bro et al, 1988; Henkin et al, 1971; Solomons, 1979; Sultana et al, 2011; Vukelic et al, 2012). En nuestro estudio no se verificó este hallazgo, ya que los valores de cobre se mantuvieron dentro de los valores de referencia.

Se tiene evidencia de que la disminución de selenio es progresiva a medida que avanza la gestación (Ferrer et al, 1999; Mihailovic et al, 2000; Zachara et al, 1993). Nuestros resultados van en esta misma línea, ya que se observó una alta proporción de gestantes con concentraciones de este elemento por debajo de sus valores de referencia.

Ciertos oligoelementos esenciales como el selenio, presentan un amplio rango de concentración normal. En este caso es preferible hablar de valores de referencia, siendo muy críticos con los valores utilizados en la bibliografía y definiendo muy bien la población de estudio utilizada. En nuestro estudio las concentraciones son significativamente inferiores a los valores de referencia (Mertz, 1991).

2. Objetivo 2: Oligoelementos y variables sociodemográficas

Nuestro segundo objetivo se dirigió a investigar la posible relación existente entre los oligoelementos y ciertas variables clínicas y sociodemográficas de las gestantes. Cuando las gestantes se clasificaron según que fueran nulíparas o múltiparas, se observaron dos oligoelementos cuyas concentraciones fueron superiores en las nulíparas: boro y calcio; y otros dos oligoelementos presentaron concentraciones más elevadas en las múltiparas: estroncio y manganeso. Actualmente en la literatura científica no existe evidencia que constata la existencia de diferencias en las concentraciones de oligoelementos entre nulíparas y múltiparas. Aunque se necesitan

más estudios con un tamaño muestral más amplio, el estudio de Lazer et al (2012) mostró que los oligoelementos pueden desempeñar un papel importante en el proceso del parto a término. En concreto, se encontraron niveles significativamente más altos de manganeso y selenio en plasma venoso materno en el grupo de trabajo activo de parto, en contraposición con el de cesárea electiva. Aunque la media general de selenio y manganeso de nuestra muestra estaban disminuidas, sí que podemos apreciar que las gestantes multíparas presentaron niveles de manganeso más altos que el grupo de nulíparas.

Al agrupar a las gestantes según que fueran fumadoras o no fumadoras, no se encontraron diferencias entre ambos grupos en las concentraciones de ninguno de los oligoelementos analizados. Las concentraciones de plomo y cadmio fueron un 15% y 22% mayores, respectivamente, en los recién nacidos de madres que fumaron durante el embarazo, ya que los niveles de éstos se encuentran elevados en las gestantes fumadoras (Kippler et al, 2010). Es destacable que en nuestro estudio los niveles de estos oligoelementos en sangre de gestantes fumadoras se mantuvieron dentro de los valores de referencia.

En cuanto a la edad de la gestante, se observó una correlación positiva con las concentraciones de estroncio, y una correlación negativa con las de cromo. Actualmente en la literatura científica no existe evidencia que constata una relación entre las concentraciones de oligoelementos y la edad de la gestante, más allá de las variaciones individuales de cada persona. Aunque existen escasas evidencias, estudios recientes en otras matrices biológicas han referenciado una correlación positiva entre estroncio y edad (Kumagai et al, 2012).

Dentro del segundo objetivo, se analizaron las asociaciones entre los oligoelementos analizados y ciertas variables del neonato. En lo que respecta a la relación entre el peso del neonato y los oligoelementos, tan sólo el estroncio presentó una asociación significativa y positiva, de forma que mayores concentraciones de este elemento se asociaron con un mayor peso del neonato. No hemos encontrado trabajos previos con este hallazgo. Numerosos estudios han documentado cómo deficiencias de cinc, cobre, magnesio y selenio se asocian a mortalidad fetal y a una alta incidencia de retraso en el crecimiento intrauterino (Al-Saleh et al, 2004; Black, 2001; Borella et al,

1990; Pathak et al, 2004; Osada et al, 2002; Perveen et al, 2002; Scheplyagina, 2005; Srivastava et al, 2001; Tsuzuki et al, 2013).

Por otra parte, no existe consenso en la literatura en cuanto a si el estado nutricional materno de cinc se asocia con el crecimiento fetal en seres humanos. De 46 estudios que informaron una asociación entre la concentración de cinc en plasma materno y el crecimiento fetal (ya sea expresado como peso promedio al nacer o como proporciones con bajo peso al nacer por debajo del décimo percentil), veintitrés (50%) informaron una relación positiva. Sin embargo, la otra mitad de estudios no encontró tal relación (Biadioli et al, 1997; George et al, 1998; Roungsipragarn et al, 1999; Tamura y Goldenberg, 1996, 1997, 2000; Ugwuja et al, 2010). Nuestros resultados van más en la línea de estos últimos, ya que no encontramos una asociación estadísticamente significativa entre el peso neonatal y este oligoelemento. En el estudio de Tamura et al. (2000) tampoco se encontró una asociación significativa entre la concentración de cinc en plasma y el crecimiento fetal, incluyendo el peso al nacer, la prematuridad, la circunferencia de la cabeza y la longitud corona-talón (Tamura et al., 2000).

En los estudios de Tsuzuki et al (2013) y Sun et al (2014) los autores concluyeron que la concentración de selenio en suero materno se correlacionaba positivamente con el peso al nacimiento. Estos hallazgos no fueron replicados en nuestro estudio, siendo más acordes con los resultados obtenidos por Al- Saleh et al (2004) y Hu et al (2015), en los que no hubo correlación entre los niveles sanguíneos maternos de selenio y el peso neonatal ni de la placenta.

Vigeh et al (2013) evidenciaron que la concentración de manganeso en sangre de madres cuyos hijos habían presentado un crecimiento intrauterino restringido era un 13% más baja que la de aquellas madres cuyos hijos habían tenido normopeso. Otros estudios como el de Chen et al (2014) también señalan la posible asociación entre altas concentraciones de manganeso en sangre materna y la restricción del crecimiento fetal. Ninguno de los dos hallazgos fue replicado en nuestro estudio.

En cuanto al cobre, algún estudio ha documentado una asociación entre déficit de cobre y bajo peso al nacimiento (Giles et al, 2007). Otros autores encontraron correlaciones positivas entre el peso neonatal y la concentración de cobre en tejido

placentario (Ozdemir et al, 2009). Sin embargo, otros estudios realizados en gestantes a término no encuentran tal asociación (Ugwuja et al, 2010). Aunque la información sobre el efecto de los elementos traza, en el crecimiento fetal es escasa, se ha observado en algunos estudios una asociación negativa entre las concentraciones de Cu en el cordón umbilical y la sangre materna y el peso al nacer se ha observado anteriormente.

Una serie de estudios recientes han puesto de manifiesto que los niveles de plomo en sangre inferiores a 10 µg/dl pueden estar asociados con retraso en el desarrollo/crecimiento de aquellos fetos expuestos intraútero o en niños durante la primera infancia (Atabek et al, 2007; Gump et al, 2005; Hu et al, 2006; Jelliffe-Pawlowski et al, 2006; Patel et al, 2006; Schnaas et al, 2006).

En aquellas zonas con un aumento en 10 veces la concentración de metilbromuro en un radio de 5 km, se observó un aplanamiento del crecimiento fetal durante el segundo trimestre de gestación. Al nacimiento se documentó una disminución de peso significativa (21,8 gramos de media) y una disminución también en parámetros de crecimiento como la longitud al nacimiento y la circunferencia de la cabeza, de 0,16 cm y 0,08 cm, respectivamente (Environmental Health Perspectives, 2013).

No encontramos en nuestro estudio significación estadística para el cobre, plomo ni bromo en relación al peso neonatal.

Algún estudio documenta que se puede encontrar cadmio en la sangre del cordón y que ello se asocia con una disminución de peso al nacimiento (Al-Saleh et al 2014; Johnston et al, 2014; Lin et al, 2011; Sun et al, 2014), mientras que otros estudios no han encontrado tal evidencia (Durska, 2001; Hu et al, 2015; Loiacono et al, 1992; Odland et al, 1999; Thomas et al, 2015). En el nuestro tampoco se encontró significación estadística entre concentraciones de cadmio y peso al nacimiento, ya que solamente en un caso se detectaron concentraciones de cadmio. En este caso los niveles de cadmio eran tóxicos y el recién nacido fue de bajo peso.

Se ha evidenciado que las mujeres que toman suplementos de hierro tienen menos probabilidades de tener recién nacidos con bajo peso al nacimiento (por debajo

de 2.500 gr) en comparación con los controles ($RR = 0,81$; $IC95\%$: 0,68 y 0,97), y un mayor peso medio al nacimiento de 30,81 gr de forma significativa (Pena-Rosas et al, 2012). También se ha encontrado evidencia de que la deficiencia de magnesio puede estar posiblemente asociada con parto pretérmino y, posiblemente, bajo peso al nacer (Chien et al, 1996; Fawcett et al, 1999). Sin embargo, para ninguno de los dos últimos elementos traza se encontró una asociación estadísticamente significativa con el peso al nacimiento.

Los resultados del estudio de Bermudez et al (2015) demuestran que las concentraciones de Ba y Mg en sangre materna están inversa y significativamente correlacionadas con todos los parámetros antropométricos y peso de los recién nacidos. Actualmente carecíamos de ningún estudio que estableciera una asociación entre el peso neonatal y la exposición gestacional al Bario.

Los análisis relativos a las relaciones entre los oligoelementos y las puntuaciones obtenidas por los neonatos en las pruebas Apgar al minuto y Apgar a los 5 minutos, revelaron la existencia de una correlación significativa y de signo negativo para las concentraciones de sodio en la prueba Apgar a los 5 minutos, de forma que mayores concentraciones de este oligoelemento se asociaron a puntuaciones más bajas en Apgar a los 5 minutos. No hemos encontrado resultados previos en esta línea. También, encontramos correlaciones significativas inversas entre las concentraciones de cadmio y las puntuaciones de la prueba Apgar al minuto y a los 5 minutos. Estudios recientes han demostrado que la exposición al cadmio produce trastornos de hiperactividad, alteraciones de la capacidad verbal y disminución del coeficiente intelectual. Un estudio reciente realizado por Al-Saleh et al (2011), basado en 1.578 bebés con una concentración media de cadmio en sangre de cordón de 0,78 g/L, mostró que los recién nacidos con bajas puntuaciones en el test de Apgar a los 5 minutos tenían niveles más altos de cadmio en la sangre del cordón umbilical. Estos hallazgos volvieron a ser replicados por el mismo autor en el año 2014. Nuestros hallazgos concuerdan con los obtenidos en estos estudios. Aunque los mecanismos biológicos subyacentes que explican esta asociación no están claros, las posibles implicaciones clínicas de este hallazgo aconsejan la realización de más estudios.

Dentro de este segundo objetivo también se pretendió investigar la existencia de

posibles alteraciones en el metabolismo del calcio. Con ese propósito se calcularon las correlaciones entre las concentraciones del calcio con los oligoelementos aluminio, cadmio, estroncio y plomo. Encontramos una correlación marginalmente significativa, y de signo positivo, entre el calcio y el plomo en el grupo de gestantes que no sufrieron RPM, además de una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el aluminio y el calcio tanto para la muestra total como para el grupo de gestantes sin RPM. Con respecto al plomo, este resultado es acorde con la literatura actual, ya que el hueso es reservorio del plomo (95% del plomo corporal total está en el tejido óseo) y puede aumentar en sangre cuando existan procesos fisiológicos o patológicos que provoquen resorción ósea como embarazo, lactancia, hipertiroidismo, inmovilización, sepsis, etc. (Cremer, 1959; Robbins, 2004). No ocurre lo mismo con respecto al aluminio, ya que el aluminio interfiere en la correcta calcificación ósea, suprime la función de la hormona paratiroidea y altera la función de los osteoblastos, disminuyendo tanto el número de osteoblastos como el de osteoclastos. Se ha sugerido en varios estudios que esta interacción tiene lugar durante la absorción intestinal (Adler et al, 1985), siendo ésta incrementable en situaciones de bajos niveles de calcio. La presencia de soluciones de perfusión de aluminio en sangre reduce la absorción duodenal de calcio en un 33%.

3. Objetivo 3: Perfil inflamatorio y oligoelementos en gestantes con y sin RPM

El tercer objetivo de esta investigación fue comparar gestantes que no sufrieron RPM con gestantes que sí sufrieron RPM en cuanto a los parámetros analíticos sanguíneos y a las concentraciones de oligoelementos. Un paso previo a la realización de comparaciones entre los dos grupos de gestantes fue comprobar si los dos grupos estaban igualados en potenciales factores de confusión. En concreto, no encontramos diferencias entre los dos grupos de pacientes en cuanto a la edad, número de partos previos, raza, color del líquido amniótico, RPM previas, hábito tabáquico, amenazas previas de parto prematuro y diabetes gestacional. Es de destacar la ausencia de gestantes con amenazas previas de parto pretérmino en ambos grupos. Tan sólo se observaron diferencias en cuanto al número de semanas de gestación y al modo de

comienzo del parto. El hecho de que las gestantes del grupo con RPM presentara un número inferior de semanas de gestación respecto del grupo sin RPM, y que el grupo con RPM presentara con mayor frecuencia inducción del parto, tiene una clara explicación. La RPM es una condición patológica que precede al parto y que, cuando se presenta, lleva al ginecólogo a la decisión de finalizar la gestación. Por otra parte, el grupo sin RPM está formado por gestantes que, o bien se ha esperado a que se pongan de parto por sí solas (inicio espontáneo), o bien se les ha inducido, siendo la principal causa ‘embarazo en vías de prolongación’, es decir, gestantes que han alcanzado la semana 41+6. Respecto de los neonatos, no se observaron diferencias entre los dos grupos de pacientes en cuanto a su peso al nacimiento y a sus puntuaciones Apgar al minuto y a los cinco minutos.

Antes de pasar a discutir los resultados de este objetivo son dignos de mención los resultados obtenidos en nuestro estudio en relación a la posible relación entre la edad de la gestante y riesgo de RPM. En concreto, Doody et al (1997) han documentado la existencia de un mayor riesgo de RPM en el grupo de gestantes de edades comprendidas entre los 26 y los 35 años. Por el contrario, Gosselink et al (1992) no encontraron tal relación. Nuestros resultados van en la línea de estos últimos autores, ya que encontramos porcentajes similares de gestantes con y sin RPM dentro de esa franja de edad, siendo incluso ligeramente mayor dicho porcentaje en las gestantes sin RPM.

Otro hallazgo digno de mención en relación a la comparación entre las gestantes con y sin RPM tiene que ver con resultados de estudios previos que documentan una mayor frecuencia de RPM en nulíparas que en múltiparas. Aunque nuestro grupo de gestantes con RPM presentó un porcentaje ligeramente superior de nulíparas que el grupo sin RPM, no se encontró una relación estadísticamente significativa, por lo que nuestros resultados no replican este hallazgo. Estos resultados van en consonancia a la literatura revisada, ya que si bien Rahmanian et al (2014) no encontraron una asociación estadísticamente significativa, otros autores como Doody et al (1997), Ladfors et al (2000) y Trap et al (1989) sí la encontraron.

En lo que respecta a los resultados de la bioquímica general, el ionograma, las pruebas inflamatorias y los marcadores de inflamación, no se observaron diferencias significativas entre las gestantes con y sin RPM.

Uno de los factores más fuertemente asociados a la RPM es la presencia de infección cervicovaginal e intrauterina durante la gestación (Goldenberg et al, 2000, 2008; Hoerner et al, 1950). Se ha propuesto que de manera directa o indirecta, la existencia de un proceso infeccioso puede explicar el desarrollo de la RPM. La evidencia disponible permite suponer la existencia de especificidad, consistencia y temporalidad de asociación entre la infección y la RPM. Las hipótesis que vinculan la infección cervicovaginal y/o intrauterina con la RPM proponen tres posibilidades: que las manifestaciones sean efecto de los productos bacterianos, que sean consecuencia de la respuesta inmune o que sean una combinación de ambos. Actualmente, se dispone de abundante evidencia que sugiere que citoquinas como la interleuquina-1 β (IL-1 β), la interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-8 (IL-8) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), los cuales son producidos por macrófagos, polimorfonucleares, células epiteliales y células deciduales, aparecen en respuesta a una gran variedad de bacterias o productos bacterianos y median la patogénesis de la infección asociada a RPM (Goldenberg et al, 2000).

Por todo lo anterior, es posible aceptar que la presencia de microorganismos en el entorno de las membranas fetales puede resultar en la inducción de mecanismos que desembocan en RPM. Sin embargo, y considerando de nuevo la evidencia de comportamiento clínico, solamente encontramos infección documentable en el 40% de las pacientes afectadas por RPM. Esto podría ser explicado porque las metodologías que se han utilizado para demostrar infección son aún poco sensibles, pero también cabe la posibilidad de que la mayor parte de las pacientes afectadas por RPM no tenga una infección subyacente y debamos invocar una explicación fisiopatogénica diferente. Por otro lado, también existe evidencia de que pacientes en las que se documenta infección cervico-vaginal o intrauterina eventualmente no desarrollan RPM. Esto permitiría confirmar que, si bien la infección podría ser una causa de la patología obstétrica, no todos los casos podrían ser explicados así. De hecho, en nuestro estudio no encontramos significación estadística entre la RPM y marcadores de infección como son PCR y procalcitonina.

Dentro de este objetivo se incluyeron también los resultados de la hematimetría. El análisis de la hematimetría sí reveló la existencia de diferencias estadísticamente

significativas entre los dos grupos de gestantes. En concreto, el grupo que sufrió RPM presentó niveles medios significativamente inferiores al grupo sin RPM en las plaquetas, el tiempo de Protrombina, la ratio tiempo de Protrombina y el índice INR. Por el contrario, el grupo con RPM presentó una concentración media significativamente superior al grupo sin RPM en la actividad de Protrombina. El resto de variables de la hematimetría no presentó diferencias significativas entre los dos grupos. Estos resultados van en la misma línea argumental que lo anteriormente comentado en el apartado sobre la relación entre la RPM y la infección como causa de ésta. En nuestro estudio no se logró una significación estadística entre la RPM y leucocitosis sanguínea, lo que apoyaría otra etiología distinta a la infección en el proceso de RPM. No existe en la literatura científica hasta la actualidad evidencia de una asociación entre los niveles plaquetarios y las alteraciones de los parámetros de la coagulación con RPM. Los mecanismos están todavía por dilucidar, pero un factor probable es la isquemia/hipoxia placentaria. Una explicación podría ser que la lesión provocada por la isquemia-reperusión podría contribuir a aumentar el estrés oxidativo y, por ende, la liberación de especies reactivas del oxígeno (ROS) a la circulación materna, favoreciendo de este modo la ruptura prematura de membranas, además de otras patologías como la preeclampsia y el retraso del crecimiento intrauterino (Biri et al, 2007).

Tabla 3. Resumen de las comparaciones entre los dos grupos de gestantes que resultaron significativas en la hematimetría.

Variable	Resultado
Plaquetas	No RPM > RPM
Tiempo de Protrombina	No RPM > RPM
Ratio tiempo de Protrombina	No RPM > RPM
Actividad de Protrombina	No RPM < RPM
INR	No RPM > RPM

Dentro del tercer objetivo se compararon los dos grupos de gestantes en cuanto a sus concentraciones en sangre de diversos oligoelementos. El único oligoelemento que obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de gestantes fue el bario, siendo superior la concentración media en el grupo sin RPM. No obstante, cabe mencionar otros tres oligoelementos que, aunque no alcanzaron la significación estadística, presentaron tamaños del efecto que apuntan hacia la existencia de cierta tendencia en los datos. Tal fue el caso del estaño, el cobre y el bromo. El estaño y el

cobre presentaron concentraciones más elevadas en el grupo de gestantes con RPM, mientras que el bromo exhibió el resultado opuesto. La Tabla 4 resume estos resultados.

Tabla 4. Resumen de las comparaciones más relevantes entre los dos grupos de gestantes en los oligoelementos.

Variable	Resultado
Bario	No RPM > RPM
Estaño	No RPM < RPM (¿?)
Bromo	No RPM > RPM (¿?)
Cobre	No RPM < RPM (¿?)

Los resultados para estaño, bromo y cobre figuran con una interrogante, ya que estas comparaciones no alcanzaron la significación estadística.

Numerosos estudios han encontrado una ausencia de diferencias en la concentración sérica de cinc entre las madres con RPM y madres con embarazos y partos normales donde no aconteció RPM (Bro et al, 1988; Kiilholma et al, 1984; Kui Li et al, 1990; Rahmanian et al, 2014; Shah et al, 2001). Nuestros resultados avalan los resultados de estos estudios al no encontrar diferencias estadísticamente significativas en los valores de cinc.

En un estudio en el que los pesos al nacer de los respectivos grupos eran similares y las duraciones de los embarazos estaban bien evaluadas, Rahmanian et al (2014) consideraron que la RPM a término no dependía significativamente de la homeóstasis del cobre. Sin embargo, Zhang et al (2006) encontraron correlaciones positivas entre incrementos de cobre sérico, cobre amniótico y RPM. Ambos estudios estarían en consonancia con nuestros resultados, ya que aunque no hallamos diferencias significativas entre los valores de cobre y RPM, sí se apreció una cierta tendencia a la RPM con valores aumentados de cobre, un hallazgo que merecería ser investigado en mayor profundidad. Sin embargo, Bakhshande-Nosrat et al (2014) sugieren que la caída en la concentración sérica de cobre en gestantes a término puede asociarse a la ruptura prematura de membranas.

Rahmanian et al (2014) afirmaron en su estudio que la ruptura de las membranas no parecía depender de la homeóstasis del calcio, lo que va en la línea de nuestros resultados.

Rayman y colaboradores en el año 2011 ya apuntaban una asociación entre los bajos niveles sanguíneos maternos de selenio con parto pretérmino y ruptura prematura de membranas. Además, en un estudio realizado por Tara et al (2010) en el que aportaron suplementos de selenio a mujeres gestantes, se observó en este grupo una menor tasa de ruptura prematura de membranas. Estos hallazgos no fueron reproducidos en nuestro estudio.

Hemos de destacar un único estudio en el que se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la elevación del cadmio en sangre materna de gestantes fumadoras y la ruptura prematura de membranas (Milnerowicz et al, 2000). Aunque en nuestra investigación sólo una mujer presentó niveles tóxicos de cadmio, ésta era fumadora y presentó ruptura prematura de membranas.

Otro resultado que tampoco fue replicado en nuestro estudio fue el de Vige et al (2010), según el cual las mujeres embarazadas con niveles maternos de plomo en torno a los 5 g/dl son susceptibles de tener un mayor riesgo de RPM.

Otro objetivo complementario al discutido en este epígrafe fue analizar las características de las gestantes que sufrieron RPM. En concreto, se comprobó si se observaban asociaciones entre los oligoelementos analizados y el tiempo transcurrido entre el momento de la RPM y la expulsión fetal. El único oligoelemento que presentó una correlación estadísticamente significativa, y de signo positivo, con el tiempo RPM-expulsión fetal fue el aluminio, si bien el bario alcanzó una significación estadística marginal, también de signo positivo. Estos resultados no son comparables con hallazgos de otros estudios, ya que éstos no han sido documentados en la bibliografía actual.

4. Objetivo 4: Modelo predictivo de los factores de riesgo de la RPM

Finalmente, mediante modelos de regresión logística encontramos que las concentraciones en sangre de bario, las plaquetas y la ratio tiempo de Protrombina presentaron una asociación estadística con la RPM. En concreto, se observaron

concentraciones mayores de estas tres variables en el grupo de gestantes sin RPM en comparación con el grupo con RPM. El único elemento inorgánico implicado en la ruptura prematura de membranas en nuestro estudio ha sido el Bario, siendo un factor asociado a la no rotura de membranas. Probablemente otros factores sea necesario tener en cuenta para valorar este resultado, ya que estudios recientes han demostrado que las mayores concentraciones de bario en sangre materna se asocian con bajo peso al nacimiento (Bermudez et al, 2015). Se necesitan más investigaciones futuras para conocer su bioacumulación, con el fin de mitigar sus potenciales impactos en la salud, especialmente en grupos vulnerables, como es el caso de las gestantes o los niños, que se encuentran en una situación de mayor riesgo de exposición por consumo de agua potable y alimentos.

5. Limitaciones del estudio

Como cualquier investigación empírica, nuestro estudio tiene ciertas limitaciones. Una de ellas es que hubiera sido deseable disponer de un tamaño muestral más grande para alcanzar conclusiones más sólidas.

Además del tamaño muestral, hubiera sido también deseable una clasificación de las pacientes por áreas geográficas. De esa forma, hubiera sido posible indagar la influencia de factores ambientales propios de cada zona geográfica sobre la gestante.

La evaluación de la exposición a contaminantes medioambientales intraútero se ha logrado principalmente mediante la determinación de muestras sanguíneas maternas y de cordón umbilical fetal. La exposición del feto se produce a través del líquido amniótico, la placenta y el cordón umbilical. En nuestro estudio nos limitamos a la toma y análisis de muestras sanguíneas maternas, tal y como se ha realizado en la gran mayoría de los estudios en el ámbito internacional.

Una variable que resultó ser negativa en la totalidad de la muestra fue el antecedente de parto pretérmino. En consecuencia, no fue posible examinar la relación entre los niveles de oligoelementos ni de los parámetros analíticos con esta variable.

Como contrapartida, la ausencia de gestantes con antecedentes de parto pretérmino nos permitió descartar esta variable como posible factor de confusión al comparar los dos grupos de gestantes (con y sin RPM).

Finalmente, es preciso apuntar que los valores de referencia que se han utilizado en esta investigación para compararlos con los obtenidos en nuestras muestras de gestantes no siempre procedían de población gestante, sino de población general. En el caso de los análisis de bioquímica general y de hematimetría sí hemos podido disponer de valores de referencia establecidos de forma generalizada en población gestante. Sin embargo, los valores de referencia utilizados con los oligoelementos no proceden de población gestante. Además, nos hemos visto obligados a utilizar múltiples fuentes bibliográficas para encontrar valores de referencia que pudieran servir como marco de comparación para los diferentes oligoelementos. Esta heterogeneidad en las fuentes bibliográficas consultadas también supone una limitación sobre el alcance de nuestros resultados.

6. Recomendaciones para la investigación futura

La bibliografía observada en nuestro estudio nos alienta a seguir investigando en esta dirección, ya que la gran mayoría de estos estudios mostraron un tamaño muestral escaso.

Nuestros esfuerzos han de ir encaminados al desarrollo de estrategias de mitigación y prevención (orientación nutricional exclusiva, apoyo con complejos multivitamínicos) para minimizar los efectos negativos de la carencia de oligoelementos esenciales para la salud de la población gestacional, la cual posee fisiológicamente unas características distintas a la población normal, y evitar la exposición a determinados metales pesados en aquellas gestantes no ocupacionalmente expuestas.

Capítulo 6:

Conclusiones

Las conclusiones más importantes del estudio, a tenor de los resultados obtenidos, fueron las siguientes:

1. Las gestantes de nuestra muestra presentaron concentraciones superiores a los valores de referencia de elementos inorgánicos, como son el bario, cromo, estaño, estroncio y titanio y niveles por debajo de los valores de referencia en elementos esenciales como el hierro, manganeso y selenio. Numerosos estudios han documentado que deficiencias de algunos oligoelementos se asocian mortalidad fetal y a un aumento en la incidencia de retraso en el crecimiento intrauterino.

2. Las gestantes nulíparas presentaron concentraciones superiores de boro y calcio, y concentraciones inferiores de estroncio y manganeso en comparación con gestantes multíparas. La edad de la gestante presentó una correlación positiva con las concentraciones de estroncio y una correlación negativa con las de cromo. Aunque existen pocas evidencias, estudios recientes en otras matrices biológicas han referenciado una correlación positiva entre estroncio y edad.

3. Las concentraciones de plomo y cadmio fueron un 15% y 22% mayores, respectivamente, en los recién nacidos de madres que fumaron durante el embarazo, ya que los niveles séricos de éstos se encuentran elevados en las gestantes fumadoras.

4. Se observó una correlación positiva entre las concentraciones de estroncio en sangre materna y el peso del neonato, lo que podría deberse a que sales de este elemento pueden estar implicadas en una mejora del metabolismo de los osteoblastos.

5. La prueba de Apgar neonatal a los 5 minutos presentó una correlación negativa con las concentraciones de sodio, un hallazgo que no fue replicado en ningún otro estudio. Aunque los mecanismos biológicos subyacentes que explican esta asociación no están claros, las posibles implicaciones clínicas de este hallazgo aconsejan la realización de más estudios.

6. En la hematimetría el grupo de pacientes con rotura prematura de membranas presentó mayores niveles de actividad de Protrombina y menores niveles en la concentración de plaquetas, el tiempo de Protrombina, la ratio tiempo de Protrombina y

el índice INR. Las microlesiones provocadas por la isquemia-reperusión podrían contribuir a un aumento del estrés oxidativo y, por tanto, la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) a la circulación materna y, así, favorecer la rotura prematura de membranas.

7. Se observó una correlación positiva, en el grupo de rotura prematura de membranas, entre aluminio y tiempo de expulsión. La relación entre estos parámetros no ha sido evidenciada en ningún estudio previo y no existe en principio ningún mecanismo biológico subyacente en la actualidad que explique estos resultados.

8. Según los modelos de regresión logística aplicados, las variables que mejor discriminaron entre gestantes que han sufrido y no han sufrido rotura prematura de membranas son las concentraciones en sangre materna de bario, plaquetas y la ratio tiempo de Protrombina. Es necesario realizar más investigaciones para conocer la bioacumulación de este elemento, con el fin de mitigar su potencial impacto en la salud, especialmente en grupos vulnerables, como es el caso de las gestantes o los niños, que se encuentran en una situación de mayor riesgo de exposición por consumo de agua potable y alimentos.

9. Un mayor conocimiento de los elementos inorgánicos y elementos traza es una estrategia clave para mejorar resultados gestacionales a largo y corto plazo, tanto maternos como fetales. Sería necesario un adecuado control de las deficiencias de determinados elementos traza esenciales y la exposición a metales tóxicos en pacientes gestantes no ocupacionalmente expuestas, ya que estas variaciones en sangre materna podrían ser factores asociados a patologías gestacionales como la rotura prematura de membranas, parto pretérmino, preeclampsia, restricción del crecimiento fetal que constituyen la principal causa de morbi-mortalidad neonatal.

Bibliografía

1. Abu-Hamdan DK, Mahajam SK, Migdal SD et al. Zinc tolerance tests in uremia. Effect of ferrous sulfate and aluminum hydroxide. *Ann Int Med.* 1986;104:50.
2. Acikgoz S, Harma M, Harma M, Mungan G, Can M, Demirtas S. Comparison of angiotensin-converting enzyme, malonaldehyde, zinc, and copper levels in preeclampsia. *Biol Trace Elem Res.* 2006;113:1-8.
3. Adeniyi AFF. The implication of hypozincemia in pregnancy. *Acta Obstet Gyn Scan.* 1987;66:579-81.
4. Adler AJ, Berlyne GM. Duodenal aluminum absorption in the rat: effect of vitamin D. *Am J Physiol.* 1985;249:209.
5. Agency for Toxic Substances Disease Registry (ATSDR). *Toxicological profile for mercury.* ATSDR, U.S. Department for Human Health Services. Atlanta, GA, 1999.
6. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Case studies in environmental medicine: Cadmium toxicity.* Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, ATSDR, Junio, 1990.
7. Akesson A, Berglund M, Schultz A, Bjellerup P, Bremme K, Vahter M. Cadmium exposure in pregnancy and lactation in relation to iron status. *Am J Public Health.* 2002;92:284-7.
8. Alger L, Pupkin M. Etiology of preterm premature rupture of the membranes. *Clin J Obstet Gynaecol.* 1986;29:758.
9. Al-Jameil N, Tabassum H, Al-Mayouf H, Aljohar HI, Alenzi ND, Hijazy SM, Khan FA. Analysis of serum trace elements-copper, manganese and zinc in preeclamptic pregnant women by inductively coupled plasma optical emission spectrometry: a prospective case controlled study in Riyadh, Saudi Arabia. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7:1900-10.

10. Allen LH. Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr.* 2000;71(5 suppl):1280S-4S.
11. Alliende F, Villa L, Antillón F. Copper deficiency and persistence of the dustus arteriosus. *Develop Pharmac Therap.* 1991;17:172-9.
12. Al-Saleh E, Nandakumaran M, Al-Shammari M, Al-Falah F, Al-Harouny A. Assessment of maternal-fetal status of some essentials trace elements in pregnant women in the late gestation: relationship with birth weight and placental weight. *J Matern-Fetal Neo M.* 2004;16:9–14.
13. Al-Saleh E, Nandakumaran M, Al-Harmi J, Sadan T, Al-Enezi H. Maternal-fetal status of copper, iron, molybdenum, selenium and zinc in obese pregnant women in late gestation. *Biol Trace Elem Res.* 2006;113:113-23.
14. Al-Saleh I, Al-Rouqi R, Obsum CA, Shinwari N, Mashhour A, Billedo G, Al-Sarraaj Y, Rabbah A. Interaction between cadmium (Cd), selenium (Se) and oxidative stress biomarkers in healthy mothers and its impact on birth anthropometric measures. *Int J Hyg Environ Health.* 2015; 218:66-90.
15. Al-Saleh I, Shinwari N, Mashhour A, Mohamed GED, Rabah A. Heavy metals (lead, cadmium and mercury) in maternal, cord blood and placenta of healthy women. *Int J Hyg Environ Health.* 2011;214:79–101.
16. Al-Zaid N, Bou-Resli M, Goldspink G. Bursting pressure and collagen content of fetal membranes and their relation to premature rupture of the membranes. *Brit J Obstet Gynaec.* 1980;87:227.
17. American Academy of Pediatrics (AAP). Committee on Nutrition. Zinc. *Pediatrics.* 1978;62:408-12
18. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). *Premature rupture of membranes.* Washington, DC: American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG); 2007. ACOG Practice Bulletin; no. 80.

19. Anda EE, Nieboer E, Dudarev AA, Sandanger TM, Odland JO. Intra- and intercompartmental associations between levels of organochlorines in maternal plasma, cord plasma and breast milk, and lead and cadmium in whole blood, for indigenous peoples of Chukotka, Russia. *J Environ Monitor*. 2007;9:884–93.
20. Anke M, Groppe B, Grun M. *Essentiality, toxicity, requirement and supply of molybdenum in humans and animals*. En: Mills CF, Bremner I, Chesters JK (eds). Trace elements in man and animals. Slough: United Kingdom Commonwealth Agricultural Bureaux; 1985. p. 154-7.
21. Arikan GM, Panzitt T, Gucer F, Scholz HS, Reinisch S, Haas J et al. Course of maternal magnesium levels in low risk gestations and in preterm labor and delivery. *Fatal Diagn Ther*. 1999;14:332-6.
22. Arikan S, Konukoglu D, Arikan C, Akcay T, Davas I. Lipid peroxidation and antioxidant status in maternal and cord blood. *Gynecol Obstet Inves*. 2001;51:145–9.
23. Artal R, Sokol RJ, Newman M, Burstein AH, Stojkov J. The mechanical properties of prematurely and non-prematurely ruptured membranes. *Am J Obstet Gynec*. 1976;125:655-9.
24. Artal R, Burgeson R, Fernandez FJ, Hobel CJ. Fetal and maternal copper levels in patients at term with and without premature rupture of membranes. *Obstet Gynecol*. 1979;53:608-10.
25. Artal R, Burgeson RE, Hobel CJ, Hollister D. An in vitro model for the study of enzymatically mediated biomechanical changes in the chorioamniotic membranes. *Am J Obstet Gynec*. 1979;133:656-9.
26. Arteel GE, Sies H. The biochemistry of selenium and the glutathione system. *Environ Toxicol Phar*. 2001;10:153–8.

27. Asemi Z, Karamali M, Jamilian M, Foroozanfard F, Bahmani F, Heidarzadeh Z, Benisi-Kohansal S, Surkan P, Esmailzadeh A. Magnesium supplementation affects metabolic status and pregnancy outcomes in gestational diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2015;102:222-9.
28. Atabek ME, Kurtoglu S, Pirgon O, Uzum K, Saraymen R. Relation of in utero lead exposure with insulin-like growth factor-I levels and neonatal anthropometric parameters. *Int J Hyg Envir Heal.* 2007;210:91–5.
29. Auckett MA, Parks YA, Scott PH, Wharton BA. Treatment with iron increases weight gain and psychomotor development. *Arch Dis Child.* 1986;61:849-57.
30. Babish JG, Stoewsand GS, Scarlett Krantz JM, Boyd JN, Ahrens VD, Lisk DJ. Toxicologic studies associated with the agricultural use of municipal sewage sludge and health effects among sewage treatment plant workers. *Regul Toxicol Pharm.* 1984;4:305-21.
31. Bakhshande-Nosrat S, Ghaemi A, Ahmadi A, Behnampour N, Marjani, Mansourian AR. Maternal serum copper concentration in premature rupture of membrane: a case-control study. *J Biol Sci.* 2014;14:73-6.
32. Barceloux DG. Manganese. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1999;37:293-307.
33. Barr DB, Bishop A, Needham LL. Concentrations of xenobiotic chemicals in the maternal-fetal unit. *Reprod Toxicol.* 2007;23:260–6.
34. Beaumont C, Simon M, Fauchet R et al. Serum ferritin as a possible marker of the hemochromatosis allele. *N Engl J Med.* 1979;307:169-74.
35. Begum R, Begum A, Bullough CH, Johanson RB. Reducing maternal mortality from eclampsia using magnesium sulphate. *Eur J Obstet Gyn R B.* 2000;92:222-3.

36. Belton NR. Essential element deficiency and toxicity: Iron. En: McLaren DS, Burman D, Belton NR, Williams AF (eds). *Textbook of paediatric nutrition*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1991. p. 451-9.
37. Berglund M, Elinder CG, Jarup L. *Humans exposure assessment: An introduction*. WHO/SDE/OEH; 2001.
38. Bermúdez L, García-Vicent C, López J, Torró MI, Lurbe E. Assessment of ten trace elements in umbilical cord blood and maternal blood: association with birth weight. *J Transl Med*. 2015;13:291.
39. Beuttenmuller A, Dziak R. The effects of strontium citrate on osteoblast proliferation and differentiation. SDM College of Dental Sciences. Buffalo, NY; 2007.
40. Biadaioli R, Bandinelli R, Boddi V, Bonferraro G, Fimiani R, Parretti E, La Torre P, Chieffi O. Zinc blood levels in 75 puerperal women: correlation with obstetric and neonatal complications. *Minerva Ginecol*. 1997;49:371-5.
41. Bibby JG, Brunt J, Mitchell MD, Anderson ABM, Turnbull AC. The effect of cervical encercelage on plasma prostaglandin concentrations during early human pregnancy. *Brit J Obstet Gynaec*. 1979;86:19-22.
42. Biri A, Bozkurt N, Turp A, Kavutcu M, Himmetoglu O, Durak I. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. *Gynecol Obstet Inves*. 2007;64:187–92.
43. Black RE. Micronutrients in pregnancy. *Brit J Nutr*. 2001;85(Suppl 2):S193–7.
44. Black MM, Quigg AM, Hurley KM, et al. Iron deficiency and iron-deficiency anemia in the first two years of life: strategies to prevent loss of developmental potential. *Nutr Rev*. 2011;69(Suppl 1):S64–S70.
45. Blaurock-Busch E, Amin OR, Dessoki HH, Rabah T. Toxic metals and essential elements in hair and severity of symptoms among children with autism. *Maedica*

- (*Buchar*). 2012;7:38-48.
46. Blaurock-Busch E, Amin OR, Rabah T. Heavy metals and trace elements in hair and urine of a sample of Arab children with autistic spectrum disorder. *Maedica (Buchar)*. 2011;6247-57.
47. Toxic metals and essential elements in hair and severity of symptoms among children with autism. *Maedica (Buchar)*. 2012;7:38-48.
48. Bleichrodt N, Born MP. A metaanalysis of research on iodine and its relationship to cognitive development. En: Stanbury JB, ed. *The damaged brain of iodine deficiency*. Nueva York: Cognizant Communication Corporation; 1994. p. 195–208.
49. Borella P, Szilagyi A, Than G, Csaba I, Giardino A, Facchinetti F. Maternal plasma concentrations of magnesium, calcium, zinc and copper in normal and pathological pregnancies. *Sci Total Environ*. 1990;99:67–76.
50. Borja-Aburto VH, Hertz-Picciotto I, Rojas LM, Farias P, Rios C, Blanco J. Blood lead levels measured prospectively and risk of spontaneous abortion. *Am J Epidemiol*. 1999;150:590–7.
51. Bou-Resli MN, Al-Zaid NS, Ibrahim MEA. Full-term and prematurely ruptured fetal membranes: an ultrastructural study. *Cell Tissue Res*. 1981;220:263-78.
52. Bowen JM, Chamley L, Mitchell MD, Keelan JA. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis secretion and roles in establishment of pregnancy in women. *Placenta*. 2002;23:239-56 .
53. Brandes JM, Lightman A, Itskovitz J, Zinder O. Zinc concentration in grávida's serum and amniotic fluid during pregnancy. *Biol Neonate*. 1980;38:66-70.
54. Breese MW. Spontaneous premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynec*. 1961;81:1086.

55. Bro S, Berendtsen H, Norgaard J, Host A, Jorgensen PJ. Serum zinc and copper concentrations in maternal and umbilical cord blood. Relation to course and outcome of pregnancy. *Scand J Clin Lab Inv.* 1988;48:805-11.
56. Brody S, Frenkel DA. Marginal insertion of the cord and premature labor. *Am J Obstet Gynec.* 1953;65:1305-12.
57. Brown KH, Rivera JA, Bhutta Z, et al. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG). Technical document #1: Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull.* 2004;25(Suppl 2):S199–203.
58. Bryant-Greenwood GD. The extracellular matrix of the fetal membranes: structure and function. *Placenta.*1998;19:1-11.
59. Buhimschi IA, Kramer WB, Buhimschi CS, Thompson LP, Weiner CP. Reduction-oxidation (redox) state regulation of matrix metalloproteinase activity in human fetal membranes. *Am J Obstet Gynec.* 2000;182:458–64.
60. Burton GJ, Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. *J Soc Gynecol Invest.* 2004;11:342–52.
61. Cantonwine D, Hu H, Sánchez BN, Lamadrid-Figueroa H, Smith D, Ettinger AS, Mercado-García A, Hernández-Avila M, Wright RO, Téllez-Rojo MM. Critical windows of fetal lead exposure: adverse impacts on length of gestation and risk of premature delivery. *J Occup Environ Med.* 2010;52:1106–11.
62. Carbajal A. Ingestas recomendadas de energía y nutrientes. En: García-Arias MG-FE (ed). *Nutrición y dietética.* Secretariado de Publicaciones y Medios Audiovisuales. Universidad de León; 2003. p. 27-44.
63. Carrera Maciá JM. *Anemia. Protocolos de obstetricia y medicina perinatal del instituto Universitario Dexeus* 3ª ed. Barcelona: Masson; 1996.

64. Carter AM. Evolution of factors affecting placental oxygen transfer. *Placenta*. 2009;30 (Suppl. A):S19–25.
65. Casanueva E, Ripoll C, Tolentino M, Morales RM, Pfeffer F, Vilchis P, et al. Vitamin C supplementation to prevent premature rupture of the chorioamniotic membranes: a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2005;81:859–63.
66. Caserta D, Maranghi L, Mantovani A, Marci R, Maranghi F, Moscarini M. Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology. *Hum Reprod Update*. 2008;14:59–72.
67. Caserta DA, Mantovani F, Ciardo A, Fazi M, Baldi MT, Sessa C, la Rocca A, Ronchi M, Moscarini, Minoia C. Heavy metals in human amniotic fluid: a pilot study. *Prenatal Diag*. 2011;31:792–6.
68. Castillo-Durán C, Uauy R. Copper deficiency impairs growth of infants recovering from malnutrition. *Am J Clin Nutr*. 1988;47:710-4.
69. Charles D, Edwards W. Infectious complications of cervical cerclage. *Am J Obstet Gynec*. 1981;141:1065-71.
70. Chen L, Ding G, Gao Y, Wang P, Shi R, Huang H, Tian Y. Manganese concentrations in maternal–infant blood and birth weight. *Environ Sci Pollut R*. 2014;21:6170–5.
71. Cherian MG, Rodgers K. Chelation of cadmium from metallothionein in vivo and its excretion in rats repeatedly injected with cadmium chloride. *J Pharmacol Exp Ther*. 1982;222:669-704.
72. Chien PFW, Khan KS, Arnott N. Magnesium sulphate in the treatment of eclampsia and pre-eclampsia: an overview of the evidence from randomized trials. *Brit J Obstet Gynaec*. 1996;103:1085-91.

73. Chisolm JJ. Lead and other metals: a hypothesis of interaction. En: Singhal RL, Thomas JA (eds). *Lead toxicity*. Baltimore MD: Urban and Schwarzenberg; 1980. p. 461-82.
74. Chisolm JC, Handorf CR. Zinc, cadmium, metallothionein, and progesterone: do they participate in the etiology of pregnancy induced hypertension? *Med Hypotheses*. 1985;17:231-42.
75. Choe S-Y, Kim S-J, Kim H-G, Lee JH, Choi Y, Lee H, et al. Evaluation of estrogenicity of major heavy metals. *Sci Total Environ*. 2003;312:15–21.
76. Christian P, Murray-Kolb LE, Khattry SK, et al. Prenatal micronutrient supplementation and intellectual and motor function in early school-aged children in Nepal. *JAMA*. 2010;304:2716–23.
77. Combs GF, Combs SB. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann Rev Nutr*. 1984;4:257-80.
78. Conradt A, Weidinger H, Algayer H. Magnesium therapy decreased the rate of intrauterine fetal retardation and premature delivery in risk pregnancies treated with betamimetics. *Magnesium*. 1985;4:20-8.
79. Cordano A. Copper deficiency in clinical medicine. En: Hambidge KM, Nichols BL (eds). *Zinc and copper in clinical medicine*. Nueva York: Spectrum Publications; 1978. p. 119.
80. Cowett RM, Hakanson DO, Kocon RW, et al. Untoward neonatal effect of intraamniotic administration of methylene blue. *Obstet Gynecol*. 1976;48(Suppl):74s, 1976.
81. Cox C, Clarkson TW, Marsh DO, Amin-Zaki L, Tikriti S, Myers GG. Dose-response analysis of infants prenatally exposed to methylmercury: an application of single compartment model to singlestrand hair analysis. *Environ Res*. 1989;49:318-32.

82. Cremer JE. Biochemical studies in the toxicity of tetraethyl lead and other organolead compounds. *Brit J Ind Med*. 1959;16:191.
83. Cross JC. Placental function in development and disease. *Reprod Fert Develop*. 2006;18:71–6.
84. Cunningham G, Leveno KJ, et al. Williams obstetrics. 23^a ed. McGraw-Hill, Medical Publishing Division. pp 261–277; 2010.
85. Curran JE, Jowett JB, Elliott KS, Gao Y, Gluschenko K, Wang J, et al. Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. *Nat Genet*. 2005;37:1234–41.
86. Da Cunha RMC, Rodríguez JL, Monreal I et al. Changes in fetal tibial growth plate secondary to maternal zinc deficiency in the rat: a histological and histochemical study. *Teratology*. 1991;44:441-51.
87. D'Alton M. Premature labor. En: Oxom H, ed. *Human labor and birth*, 5^a ed. Norwalk: Appleton-Century-Crofts; 1986. p. 748.
88. Danks DM, Campbell PE, Stevens BJ et al. Menkes' kinky hair syndrome: an inherited defect in copper absorption with widespread effects. *Pediatrics*. 1972;50:188.
89. Dean G. Seven cases of barium carbonate poisoning. *Brit Med J*. 1950;2(4683):817.
90. De Benoist B, McLean E, Andersson M, et al. Iodine deficiency in 2007: global progress since 2003. *Food Nutr Bull*. 2008;29:195–202.
91. Deka RS, Mani V, Kumar M, Zade SS, Upadhaya RC, Kaur H. Effect of additional chromium supplementation on health status, metabolic responses, and performance traits in periparturient murrah buffaloes (*bubalus bubalis*). *Biol Trace Elem Res*. 2015;63:132-43.

92. Dewey KG, Chaparro CM. Session 4: mineral metabolism and body composition iron status of breast-fed infants. *Proc Nutr Soc.* 2007;66:412–22.
93. Diaz E, Halhali A, Luna C, Diaz L, Avila E, Larrea F. Newborn birth weight correlates with placental zinc, umbilical insulin-like growth factor I, and leptin levels in preeclampsia. *Arch Med Res.* 2002;33:40-7.
94. Diplock AT. Ultra trace elements and selenium. En: Chandra RK (ed). *Trace elements in nutrition of children.* Nueva York: Nestle Nutrition Workshop Series n° 8. Raven Press; 1985. p. 263-70.
95. Doisy EA. Effects of deficiency in manganese upon plasma levels of clotting proteins and cholesterol in man and chick. En: Hoekstra WE, Sultie JW, Ganther HE et al (eds). *Trace element metabolism in animals* vol 2. Baltimore MD: University Park Press; 1974. p. 668-70.
96. Doody DR, Patterson MQ, Voigt LF, Mueller BA. Risk factors for the recurrence of premature rupture of the membranes. *Paediatr Perinat Ep.* 1997;11(Suppl 1):96-106.
97. Doyle W, Crawford MA, Wynn AH, Wynn SW. Maternal magnesium intake and pregnancy outcome. *Magnesium Res.* 1989;2:205-10.
98. Duffy TP. Aspectos hematológicos del embarazo. En: *Complicaciones Médicas durante el embarazo.* Burrow GN, Ferris TF 4ª ed. Buenos Aires: Panamericana. Buenos Aires; 1996. p. 62-82.
99. Durá T, Da Cunha RMC, Monreal I et al. Zinc concentration of amniotic fluid in the course of pregnancy and its relationship to fetal weight and length. *Gynecol Obst Inv.* 1984;18:152-5.
100. Durá T, Da Cunha RMC, Puig I, et al. Zinc concentration in amniotic fluid of zinc deficient rats and its relation to fetal weight. *Biol Neonate.* 1985;47:230-4.

101. Durska G. Levels of lead and cadmium in pregnant women and newborns and evaluation of their impact on child development. *Annales Academiae Medicae Stetinensis*. 2001;47:49–60.
102. Elliott PM, Inman WHW. Volume of liquor amniotic in normal and abnormal pregnancy. *Lancet*. 1961;2:835–40.
103. EPA. U.S. Environmental Protection Agency. Air quality criterio for lead, vols. I-IV. EPA-600/8-83/020F. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC; 1986.
104. EPA. U.S. Environmental Protection Agency. Evaluation of the Potential Carcinogenicity of Lead and Lead Compounds. EPA-600/8-89/045A. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC; 1989.
105. Ernhart CB. A critical review of low-level prenatal lead exposure in the human. I. Effects on the fetus and newborn. *Reprod Toxicol*. 1992;6:9–19.
106. Ernest JA, Meis P, Moore M et al. Vaginal pH: a marker of preterm premature rupture of the membranas. *Obstet Gynecol*. 1989;74:734-8.
107. Ernst JA, Neal PR. Mineral and trace elements. En: Polin RA, Fox WW (eds). *Fetal and neonatal physiology*. Philadelphia: WB Saunders Co; 1992. p. 239-47.
108. Esteban M, Castaño A. Non-invasive matrices in human biomonitoring: a review. *Environ Int*. 2009;35:438–49.
109. Ettinger AS, Howard H, Hernandez-Avila M. Dietary calcium supplementation to lower blood lead levels in pregnancy and lactation. *J Nutr Biochem*. 2007;18:172–8.
110. European Food Information Council. European Food Safety Authority; 2008.

111. Evaldson G, Lagrelius A, Wimarski J. Premature rupture of the membranes. *Acta Obstet Gyn Scan.* 1980;59:385-93.
112. Fahim MS, Fahim Z, Hall DG. Effects of subtoxic lead levels on pregnant women in the State of Missouri. *Res Commun Chem Path.* 1976;13:309-31.
113. Fawcett WJ, Haxby EJ, Male DA. Magnesium: physiology and pharmacology. *Brit J Anaesth.* 1999;83:302-20.
114. Fayed JA, Basan AA, Joñas HS, et al. Management of premature rupture of the membranes. *Obstet Gynecol.* 1978;52:17-21.
115. Ferrer E, Alegria A, Barbera R, Farre R, Lagarda MJ, Monleon J. Whole blood selenium content in pregnant women. *Sci Total Environ.* 1999;227:139-43.
116. Ferri A, Duffard R, Sturtz N, et al. Iron, zinc and copper levels in brain, serum and liver of neonates exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic. *Neurotoxicol Teratol.* 2003;25:607-13.
117. Finkelstein Y, Markowitz M, Rosen J. Low-level lead-induced neurotoxicity in children: an update on central nervous system effects. *Brain Res Rev.* 1998;27:168-76.
118. Flynn A, Pories WJ, Strain WH, Hill OA, Fratianne RB. Rapid serum-zinc depletion associated with corticosteroid therapy. *Lancet.* 1971;298:1169-72.
119. Food and Drug Administration (FDA). 2001/2003.
120. Fraker PJ, Haas SM, Luecke RW. Effect of zinc deficiency on the immune response of the young adult A/J mouse. *J Nutr.* 1977;107:1889-95.
121. Friberg L, Kjellstrom T, Nordberg G (eds). Cadmium. En: Friberg L, Nordberg G, Vouk V (eds). *Handbook on the toxicology of metals.* Amsterdam: Elsevier; 1986.

122. Fu YH. Serum copper levels and pathologic changes in the fetal membranes in cases of premature rupture of the membranes. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 1989;24:276-8.
123. Gardella C. Lead exposure in pregnancy: a review of the literature and argument for routine prenatal screening. *Obstet Gynecol Surv*. 2001;56:231-8.
124. Garite TJ, Keegan KA, Freeman RK, et al. A randomized trial of ritodrine tocolysis versus expectant management in patients with premature rupture of membranes at 25 to 30 weeks gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 1987;157:388-93.
125. Ge K, Xue A, Bai J et al. Keshan disease an endemic cardiomyopathy in China. *Virchows Arch (Pathol Anal)*. 1983;401:1-15.
126. Geier DA, Geier MR. A case series of children with apparent Mercury toxic encephalopathies manifesting with clinical symptoms of regressive autistic disorders. *J Toxicol Env Health*. 2007;70:837-51.
127. Geier DA, Kern JK, Geier MR. A prospective study of prenatal mercury exposure from maternal dental amalgams and autism severity. *Acta Neurobiol Exp*. 2009;69:189-97.
128. Genter M. Magnesium, calcium, strontium, barium, and radium. En: Bingham A, Cohressen B, Powell C, eds. *Patty's toxicology*, 5^a ed. Nueva York: Wiley; 2001. pp. 221-52.
129. George SS, Swaminathan S, Kanagasabapathy AS, Seshadri L. Maternal zinc indices and small babies. *Natl Med J India*. 1998;11:120-1.
130. Germain AM, Smith J, Casey ML, MacDonald PC. Human fetal membrane contribution to the prevention of parturition: uterotonic degradation. *J Clin Endocr Metab*. 1994;78:463-70.

131. Gibbs RS, Sweet RL. Maternal and fetal infections: Clinical disorders. En: Creasy RK, Resnik R, eds. *Maternal-fetal medicine: principles and practice*, 2ª ed. Philadelphia, PA: WB Saunders; 1989. p. 656.
132. Giles E, Doyle LW. Copper in extremely low-birth weight or very preterm infants. *Am Acad Pediatr*. 2007;8:159-64.
133. Ginsberg G, Slikker W, Bruckner J, Sonawane B. Incorporating children's toxicokinetics into a risk framework. *Environ Health Persp*. 2004;112:272-83.
134. Glanze W. *Mosby Medical Encyclopedia* (ed rev). St Louis: C.V. Mosby; 1996.
135. Goldenberg RL, Rouse DJ. Prevention of premature birth. *New Engl J Med*. 1998;339:313-20.
136. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet*. 2008;371:75-84.
137. Goldenberg RL, Hauth JC, Andrews WW. Intrauterine infection and preterm delivery. *N Engl J Med*. 2000;342:1500-7.
138. Golub MS, Keen CL, Gershwin ME, et al. Developmental zinc deficiency and behavior. *J Nutr*. 1995;125(Suppl 8):2263S-2271S.
139. González de Agüero R, Sobreviela M, Torrijo C, Fabre E. Alimentación y nutrición materna durante el embarazo. En Fabre González E (ed). *Manual de Asistencia al Embarazo Normal*, 2ª ed. Editorial Ino Reproducciones; 2001. p. 265-313.
140. Gosselink CA, Ekwo EE, Woolson RF, Moawad A, Long CR. Dietary habits, prepregnancy weight, and weight gain during pregnancy. Risk of preterm rupture of amniotic sac membranes. *Acta Obstet Gyn Scan*. 1992;71:425-38.
141. Gould DB, Sorrell MR, Lupariello AD. Barium sulfide poisoning: Some factors

- contributing to survival. *Arch Intern Med.* 1973;132:891.
142. Grandjean P, Budtz-Jorgensen E, White RF, Jorgensen PJ, Weihe P, Debes F, et al. Methylmercury exposure biomarkers as indicators of neurotoxicity in children aged 7 years. *Am J Epidemiol.* 1999;150:301-5.
143. Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F. Cognitive performance of children prenatally exposed to «safe» levels of methylmercury. *Environ Res.* 1998;77:165-72.
144. Grandjean P, Weihe P. Neurobehavioral effects of intrauterine mercury exposure: potential sources of bias. *Environ Res.* 1993;61:176-83.
145. Greger JL, Davis CD, Suttie JW, Lyle BJ. Intake, serum concentrations, and urinary excretion of manganese by adult males. *Am J Clin Nutr.* 1990;51:457-61.
146. Gruskin AB. Aluminum: A pediatric overview. *Adv Pediatr.* 1988;35:281-330.
147. Guan H, Wang M, Li X, Piao F, Li Q, Xu L, Kitamura F, Yokoyama K. Manganese concentrations in maternal and umbilical cord blood: related to birth size and environmental factors. *Eur J Public Health.* 2013;24:150-7.
148. Gump BB, Stewart P, Reihman J, Lonky E, Darvill T, Matthews KA, Parsons PJ. Prenatal and early childhood blood lead levels and cardiovascular functioning in 9(1/2) year old children. *Neurotoxicol Teratol.* 2005;27:655–65.
149. Gundacker C, Frohlich S, Graf-Rohrmeister K, Eibenberger B, Jessenig V, Gicic D, Prinz S, Wittmann KJ, Zeisler H, Vallant B, et al. Perinatal lead and mercury exposure in Austria. *Sci Total Environ.* 2010;408:5744–9.
150. Gunn GC, Mishell DR Jr, Morton DG. Premature rupture of the fetal membranes. *Am J Obstet Gynec.* 1970;106:469-83.
151. Gupta RC. Placental toxicity. En: Gupta RC, DVM, MVSC, PHD, DABT, FACT,

- eds. *Veterinary Toxicology*. Oxford: Academic Press; 2007. p. 245–272.
152. Gurer OH, Ozgunes H, Beksac MS. Correlation between plasma malondialdehyde and ceruloplasmin activity values in preeclamptic pregnancies. *Clin Biochem*. 2001;34:505-6.
153. Gurson, O, Saner, G. Effect of chromium on glucose utilization in marasmic protein caloric malnutrition. *Am J C Nutr*. 1971;24:1313-9.
154. Hadley C, Main D, Gabbe S. Risk factors for preterm premature rupture of the fetal membranes. *Am J Perinat*. 1990;7:374-9.
155. Haider BA, Bhutta ZA. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012;11:CD004905.
156. Hall GS, Carr MJ, Cummings E, et al. Aluminium, barium, silicon, and strontium in amniotic fluid by emission spectrometry. *Clinical Chem*. 1983;29:13–8.
157. Halldorsson TI, Meltzer HM, Thorsdottir I, Knudsen V, Olsen SF. Is high consumption of fatty fish during pregnancy a risk factor for fetal growth retardation? A study of 44,824 Danish pregnant women. *Am J Epidemiol*. 2007;166:687–96.
158. Hambidge, KM. Chromium nutrition in man. *Am J Clin Nutr*. 1974;27:505-14.
159. Hambidge KM. Papel del zinc y otros oligometales en la nutrición y la salud de los niños. *Pediatr Clin North Amer* (ed esp). 1977;7:99-111.
160. Hambidge KM. Trace elements in human nutrition. En: Alian Walker W, Watkins JB (eds). *Nutrition in pediatrics*. Boston: Little, Brown and Co; 1985. p. 17-28.
161. Hambidge KM. Zinc deficiency in the premature infant. *Pediatr Rev*. 1985;6: 209-16.

162. Hambidge KM. Mild human zinc deficiency. En: Mills CF (ed). *Zinc in human biology*, ILSI Human nutrition reviews. Londres: Springer-Verlag; 1988. p. 281-96.
163. Hambidge KM. Essential element deficiency and toxicity: Trace elements: zinc, copper, selenium, manganese, chromium and molybdenum. En: McLaren DS, Burman D, Belton NR, Williams AF (eds). *Textbook of paediatric nutrition*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1991. p. 451-9.
164. Hambidge KM, Droegemueller W. Changes in plasma and hair concentrations of zinc, copper, chromium and manganese during pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1974;44:666-72.
165. Hambidge KM, Neldner KH, Walravens PA. Zinc, acrodermatitis enteropathica and congenital malformation. *Lancet*. 1975;i:577-8.
166. Hambidge K, Casey C, Krebs N. Zinc. En: Mertz W (ed.): *Trace elements in human and animal nutrition*. Orlando: Academic Press; 1986. p. 1–137.
167. Hampel G, Watanabe K, Weksler BB et al. Selenium deficiency inhibits prostacyclin release and enhances production of platelet activating factor by human endothelial cells *Biochem Biophys Acta*. 1989;1006:151-8.
168. Hannah ME, Ohlsson A, Farine D, Hewson SA, Hodnett ED, Myhr TL, et al. Induction of labor compared with expectant management for prelabor rupture of the membranes at term. TERMPROM Study Group. *N Engl J Med*. 1996;334:1005–10.
169. Harger JH, Hsing A, Tuomola R, et al. Risk factors for preterm premature rupture of fetal membranes: A multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1990;163:130-7.
170. Hastings L, Miller ML. Developmental neurotoxicity of cadmium. En: Slikker W, Chang LW, eds. *Handbook of developmental neurotoxicology*. Academic Press;

- 1998.
171. Henkin RI, Marshail JR, Meret S. Maternal-fetal metabolism of copper and zinc at term, *Am J Obstet Gynec.* 1971;110:131-4.
172. Hernández R, Peris A. Zinc. *Actualidad Nutricional.* 1992;70:5-13.
173. Hills B, Cotton D. Premature rupture of membranes and surface energy: Possible role of surfactant. *Am J Obstet Gynecol.* 1984;149:896.
174. Hofmeyr GT, Duley L, Atallah A. Dietary calcium supplementation for prevention of preeclampsia and related problems: a systematic review and commentary. *Br J Obstet Gynaec.* 2007;114:933-43.
175. Holmesm P, James KA, Levy LS. Is low-level environmental mercury exposure of concern to human health? *Sci Total Environ.* 2009;408:171–82.
176. Holtzman NA. Menkes' kinky hair syndrome: a genetic disease involving copper. *Fed Proc.* 1976;35:2276-80.
177. Hossn E, Mokhtar G, El-awady M, et al. Environmental exposure of the pediatric age groups in Cairo City and its suburbs to cadmium pollution. *Sci Total Environ.* 2001;273:135–46.
178. Hu H, Tellez-Rojo MM, Bellinger D, Smith D, Ettinger AS, Lamadrid-Figueroa H, Schwartz J, Schnaas L, Mercado-Garcia A, Hernandez-Avila M. Fetal lead exposure at each stage of pregnancy as a predictor of infant mental development. *Environ Health Persp.* 2006;114:1730–5.
179. Hu X, Zheng T, Cheng Y, Holford T, Lin S, Leaderer B, Qiu J, Bassig BA, Shi K, Zhang Y, Niu J, Zhu Y, Li Y, Guo H, Chen Q, Zhang J, Xu S. Distributions of heavy metals in maternal and cord blood and the association with infant birth weight in China. *J Reprod Med.* 2015;60:21-9.

180. Huang J, Wu JL, Li TJ, Song XM, Zhang BZ, Zhang PW, 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;24:94-101.
181. Hurley LS. Trace elements in prenatal and neonatal development: zinc and manganese. En: Chandra RK (ed). *Trace elements in nutrition of children*. Nueva York: Nestle Nutrition Workshop Series n.º 8. Raven Press; 1985. p. 121-35.
182. Hurley LS, Keen CL. Manganese. En: Mertz W (ed). *Trace elements in human and animal nutrition-1*. Orlando FL: Academic Press; 1987. p. 185-223.
183. IARC. International Agency for Research on Cancer. *Monograph on the evaluations of carcinogenicity: An Update of IARC Monographs*, vols 1-42, Suppl 7. Lyon: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer; 1987.
184. Iams J, Johnson FF, Creasy RK. Prevention of preterm birth. En: Pitkin RM, ed. *Clinical obstetrics and gynecology*. Philadelphia: JB Lippincott; 1988. p. 599-615.
185. Imdad A, Bhutta ZA. Routine iron/folate supplementation during pregnancy: effect on maternal anaemia and birth outcomes. *Paediatr Perinat Ep*. 2012;26(suppl 1):168-77.
186. Institute of Medicine. (IoM). (2011). *Tolerable upper intake levels*. Washington DC: National Academy Press; 2011; disponible en <http://www.nap.edu>.
187. Institute of Medicine. (IoM). (2011). *Dietary reference intakes for vitamins and elements*. Washington DC: National Academy Press; 2011; disponible en <http://www.nap.edu>
188. Iyengar GV, Rapp A. Human placenta as a 'dual' biomarker for monitoring fetal and maternal environment with special reference to potentially toxic trace

- elements. Part 3. Toxic trace elements in placenta and placenta as a biomarker for these elements. *Sci Total Environ*. 2001;280:221–38.
189. Izquierdo Alvarez S, Castañón SG, Ruata ML, Aragüs EF, Terraz PB, Irazabal YG, et al. Updating of normal levels of copper, zinc and selenium in serum of pregnant women. *J Trace Elem Med Biol*. 2007;21(Suppl 1):49-52.
190. Jaiser SR, Winston GP. Copper deficiency myelopathy: review. *J Neurol*. 2010;257:869-81.
191. Jameson S. Zinc and copper in pregnancy, correlations to fetal and maternal complications. *Acta Med Scan*. 1976;539(Suppl):5-20.
192. Jameson S. Effects of zinc deficiency in human reproduction. *Acta Med Scan*. 1976; 539(suppl.):1- 89.
193. Jameson S. Zinc status in pregnancy: the effect of zinc therapy on perinatal mortality, prematurity, and placental ablation. *Ann N Y Acad Sci*. 1993;678:178-92.
194. Järup L, Åkesson A. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharm*. 2009;238:201–8.
195. Jedrychowski W, Perera F, Jankowski J, Rauh V, Flak E, Caldwell KL, Jones RL, Pac A, Lisowska-Miszczuk I. Fish consumption in pregnancy, cord blood mercury level and cognitive and psychomotor development of infants followed over the first three years of life: Krakow epidemiologic study. *Environ Int*. 2007;33:1057–62.
196. Jelliffe-Pawlowski LL, Miles SQ, Courtney JG, Materna B, Charlton V. Effect of magnitude and timing of maternal pregnancy blood lead (Pb) levels on birth outcomes. *J Perinatol*. 2006;26:154–62.
197. Jin L, Zhang L, Li Z, Liu JM, Ye R, Ren A. Placental concentrations of mercury,

- lead, cadmium, and arsenic and the risk of neural tube defects in a Chinese population. *Reprod Toxicol*. 2013;35:25–31.
198. Johnston JE, Valentiner E, Maxson P, Miranda ML, Rebecca C. Maternal cadmium levels during pregnancy associated with lower birth weight in infants in a North Carolina cohort fry. *PLoS ONE*. 2014;9(10):e109661.
199. Jones EAJ, Wright M, Rice JM, Buckley BT, Magsumbol MS, Barr DB, Williams BL. Metal exposures in an inner-city neonatal population. *Environ Int*. 2010;36:649–54.
200. Kakita A, Wakabayashi K, Su M, Yoneoka Y, Sakamoto M, Ikuta F, et al. Intrauterine methylmercury intoxication. Consequence of the inherent brain lesions and cognitive dysfunction in maturity. *Brain Res*. 2000;877:322-30.
201. Kanayama N, Terao T, Kawashima Y. Collagen types in normal and prematurely ruptured amniotic membranes. *Am J Obstet Gynec*. 1985;153:899-903.
202. Kaneshige E. Serum ferritin as an assessment of iron stores and other hematologic parameters during pregnancy. *Obstet Gynec*. 1981;57:238-42.
203. Katz O, Paz-Tal O, Lazer T, Aricha-Tamir B, Mazor M, Wiznitzer A, Sheiner E. Severe pre-eclampsia is associated with abnormal trace elements concentrations in maternal and fetal blood. *J Matern-Fetal Neo M*. 2012;25:1127-30.
204. Kein CL, Ganther HE. Manifestations of chronic selenium deficiency in a child receiving total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr*. 1983;37:319-28.
205. Kennedy DA, Woodland C, Koren G. Lead exposure, gestational hypertension and pre-eclampsia: a systematic review of cause and effect. *J Obstet Gynaecol*. 2012;32:512–7.
206. Khattab AK, Forfar IO. Interrelationship of calcium, phosphorus and glucose levels in mother and newborn infant. *Biol Neonate*. 1970;15:26-36.

207. Kiilholma P, Gronroos M, Kleimola V, Pakarinen P, Dahlbacka P, Nanto V. Trace elements in the serum of newborns and their mothers. En: *Mineral Elements 80, Proc. Nordic Symp.* Hanasaari, Helsinki; 1980, pp. 259-261.
208. Kiilholma P, Gronroos M, Erkkola R, Pakarinen P, Nanto V. The role of calcium, copper, iron and zinc in preterm delivery and premature rupture of fetal membranes. *Gynecol Obstet Inves.* 1984;17:194-201.
209. King E, Shih G, Ratnapradipa D, Quilliam DN, Morton J, Magee SR. Mercury, lead, and cadmium in umbilical cord blood. *J Environ Health.* 2013;75:38–43.
210. Kippler M, Hoque AM, Raqib R, Ohrvik H, Ekström EC, Vahter M. Accumulation of cadmium in human placenta interacts with the transport of micronutrients to the fetus. *Toxicol Lett.* 2010;192:162–8.
211. Kiremidjan-Schumacher L, Roy M, Wishe HI et al. Selenium and immune cell functions. I. Effect on lymphocyte proliferation and production of interleukin 1 and interleukin 2. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1990;193:136-42.
212. Klaassen CD, Liu J, Diwan BA. Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicol Appl Pharm.* 2009;238:215–20.
213. Klebanoff M, Nugent R, Rhoads G. Coitus during pregnancy: Is it safe? *Lancet.* 1984;2:914-7.
214. Kliegman RM, Gross T. Perinatal problems of the obese mother and her infant. *Obstet Gynecol.* 1985;66:299-306.
215. Knipp GT, Audus KL, Soares MJ. Nutrient transport across the placenta. *Adv Drug Deliv Rev.* 1999;38:41–58.
216. Knox IC Jr, Hoerner JK. The role of infection in premature rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1950;59:190 – 4.

217. Kosanovic M, Jokanovic M, Jevremovic M, et al. Maternal and fetal cadmium and selenium status in normotensive and hypertensive pregnancy. *Biol Trace Elem Res.* 2002;89:97–103.
218. Kovavisarach E, Sermsak P. Risk factors related to premature rupture of membranes in term pregnant women: a case-control study. *Aust NZ J Obstet Gyn.* 2000;40:30-2.
219. Krachler M, Rossipal E, Micetic-Turk D. Trace element transfer from the mother to the newborn investigations on triplets of colostrum, maternal and umbilical cord sera. *Eur J Clin Nutr.* 1999;53:486-94.
220. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigo' R, et al. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science.* 2003;300:1439–43.
221. Kui Li YW, Haiyan Li, Huixia Yang. Zinc status in women with premature rupture of membranes at term. *Obstet Gynaecol.* 1990;112:675-7.
222. Kumagai A, Fujita Y, Endo S, Itai K. Concentrations of trace element in human dentin by sex and age. *Forensic Sci Int.* 2012;219:29-32.
223. Kumru S, Aydin S, Simnek M, Sahin K, Yaman M, Ay G. Comparison of serum copper, zinc, calcium, and magnesium levels in preeclamptic and healthy pregnant women. *Biol Trace Elem Res.* 2003;94:105-12.
224. Kynast G, Saling K. The relevance of zinc in pregnancy. *J Perinat Med.* 1980;8:171-82.
225. Ladfors L, Mattsson LA, Eriksson M, Milsom I. Prevalence and risk factors for prelabor rupture of the membranes (PROM) at or nearterm in an urban Swedish population. *J Perinat Med.* 2000;28:491-6.

226. Landrigan PJ. Toxicity of lead at low dose. *Br J Ind Med*. 1989;46:593-6.
227. Larsen B, Snyder IS, Galask RP. Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. II. Reversal of amniotic fluid inhibition by addition of a chemically defined medium. *Am J Obstet Gynecol*. 1974;119:497-501.
228. Lavery J, Miller C. Deformation and creep in the human chorioamniotic sac. *Am J Obstet Gynecol*. 1979;134:366-75.
229. Lavery JP, Miller CE. Effect of prostaglandin and seminal fluid on human chorioamniotic membranes. *JAMA*. 1981;245:2425-7.
230. Lazer T, Paz-Tal O, Katz O, Aricha-Tamir B, Sheleg Y, Maman R, Silberstein T, Mazor M, Wiznitzer A, Sheinner E. Trace elements' concentrations in maternal and umbilical cord plasma at term gestation: a comparison between active labor and elective cesarean delivery. *J Matern-Fetal Neo M*. 2012;25:286-9.
231. Levander OA. Selenium: biochemical actions, interactions and some human health implications. En: Prasad AS, Liss AR (eds). *Clinical, biochemical and nutritional aspects on trace elements. Current topics in nutrition and disease* vol 6. Nueva York; 1982. p. 345-68.
232. Lewi Z, Bar-Khayim Y. Food-poisoning from barium carbonate. *Lancet*. 1964;284:342-3.
233. Lewis M, Worobey J, Ramsay DS, et al. Prenatal exposure to heavy metals: effect on childhood cognitive skills and health status. *Pediatrics*. 1991;89:1010-5.
234. Li Q, Yan H, Zeng L, et al. Effects of maternal micronutrient supplementation on the mental development of infants in rural western China: follow-up evaluation of a double-blind, randomized, controlled trial. *Pediatrics*. 2009;123:e685-e692.
235. Lin CM, Doyle P, Wang D, Hwang YH, Chen PC. Does prenatal cadmium exposure affect fetal and child growth? *Occup Environ Med*. 2011;68:641-6.

236. Lin-Fu JS. Vulnerability of children to lead exposure and toxicity. *N Engl J Med.* 1973;289:1289-93.
237. Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. *Reprod Toxicol.* 1999;13:347-52.
238. Lockitch G, Jacobson B, Quigley G et al. Selenium deficiency in low birth weight neonates: an unrecognized problem. *J Pediatr.* 1989;114:865-70.
239. Loiacono NJ, Graziano JH, Kline JK, Popovac D, Ahmed X, Gashi E, Mehmeti A, Rajovic B. Placental cadmium and birth weight in women living near a lead smelter. *Arch Environ Health.* 1992;47:250-5.
240. Longini M, Perrone S, Vezzosi P, Marzocchi B, Kenanidis A, Centini G, et al. Association between oxidative stress in pregnancy and preterm premature rupture of membranes. *Clin Biochem.* 2007;40:793-7.
241. Lou GS, Amirabi A, Yazdian M, Pashapour N. Evaluation of serum calcium, magnesium, copper and zinc levels in women with pre-eclampsia. *Iran J Med Sci.* 2008;33:231-4.
242. Lozano J, García-Algar O, Vall O, et al. Biological matrices for the evaluation of in utero exposure to drugs of abuse. *Ther Drug Monit.* 2007;29:711-34.
243. Lu JF, Nightingale CH. Magnesium sulphate in eclampsia and pre-eclampsia: pharmacokinetic principles. *Clin Pharmacokinet.* 2000;38:304-14.
244. Lucchi L, Govoni S, Memo M, Missale C, Spano PF, Trabucchi M. Chronic lead exposure alters dopaminergic mechanisms in rat pituitary. *Toxicol Lett.* 1986;32:255-60.
245. Lynch SR. Iron. En: Solomons NW y Rosenberg IH (eds). *Absorption and malabsorption of mineral nutrients.* Nueva York: Alan R Liss; 1984.

246. Magalhaes CG, Nunes BR, Giacomelli MBO, da Silva JBB. Direct determination of bismuth in urine samples by electrothermal atomic absorption spectrometry: study of chemical modifiers. *J Analyt Atomic Spectrometry*. 2003;18:787–9.
247. Mahmoodi Z, Sadeghi H.I Shahr. A, Ghodsi Z, Amini L. The association between maternal factors and preterm birth and premature rupture of membranes. *Fam Reprod Health*. 2010;4:135-9.
248. Mahomed K. Zinc supplementation in pregnancy. En: Neilson JP, Crowther CA, Hodnett ED, Hofmeyr GJ, eds. *Pregnancy and childbirth module of the Cochrane Database of Systematic Reviews*, Issue I. Oxford, Reino Unido: The Cochrane Collaboration; 1998.
249. Mahomed K, Williams MA, Woelk GB, Mudzamiri S, Madzime S, King IB, Bankson DD. Leckocyte selenium, zinc and copper concentrations in preeclampsia and normotensive pregnant women. *Biol Trace Elem Res*. 2004;75:107-18.
250. Main DM, Main EK. Preterm birth. En: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, eds. *Obstetrics: Normal and problem pregnancies*, 2^a ed. Nueva York: Churchill Livingstone; 1991. p. 829.
251. Makhoul IR, Sammour RN, Diamond E, Shohat I, Tamir A, Shamir R. Selenium concentrations in maternal and umbilical cord blood at 24–42 weeks of gestation: basis for optimization of selenium supplementation to premature infants. *Clin Nutr*. 2004;23:373–81.
252. Makrides M, Crowther CA. Magnesium supplementation in pregnancy. *Cochrane DB Syst Rev*. 2000 CD000937; 2.
253. Masumoto N, Tasaka K, Mizuki J, Miyake A, Tanizawa O. Regulation of intracellular Mg²⁺ by superoxide in amnion cells. *Biochem Bioph Res Co*. 1992;182:906–12.

254. Mataix J, Aranda P. Nutrición en situaciones fisiológicas II. En: *Nutrición para educadores* 2ª ed. Madrid: Díaz de Santos; 2005.
255. Mathwes F, Niel A. Antioxidants and preterm prelabour rupture of the membranes. *BJOG-Int J Obstet Gy.* 2005;12:588-94.
256. Mattison DR. Environmental exposures and development. *Curr Opin Pediatr.* 2010;22:208-18.
257. McGregor J, Schoonmaker J, Hunt D. Antibiotic inhibition of bacterially induced fetal membrane weakening. *Obstet Gynecol.* 1990;76:124-8.
258. Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, Meis PJ, Iams JD, Das AF, et al. The preterm prediction study: effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstetr Gynecol.* 1999;181:1216-21.
259. Merrit RJ. Nutritional requeriments. En: Walker WA, Durie PR, Hamilton JR et al. (eds). *Pediatric gastrointestinal disease II*. Filadelfia: BC Decker; 1991. p. 1579-96.
260. Mertz, W. Chromium occurrence and function in byolog cal systems. *Physiol Rev.* 1969;49:163-239.
261. Mertz W. General considerations regarding requierements and toxicity of trace elements. En: Chandra RJ, ed. *Trace elements in nutrition of children II*. Nueva York: Raven Press; 1991. p. 1-14.
262. Meyer M, Tonascia J. Maternal smoking, pregnancy complications, and perinatal mortality. *Am J Obstet Gynecol.* 1977;128:494-502.
263. Mihailovic M, Cvetkovic M, Ljubic A, Kosanovic M, Nedeljkovic S, Jovanovic I,

- et al. Selenium and malondialdehyde content and glutathione peroxidase activity in maternal and umbilical cord blood and amniotic fluid. *Biol Trace Elem Res.* 2000;73:47–54.
264. Milnerowicz H, Zalewski J, Geneja R, Milnerowicz-Nabzdyk E, Zasławski R, Woytoń J. Effects of exposure to tobacco smoke in pregnancies complicated by oligohydramnios and premature rupture of the membranes. I. Concentration of Cd and Pb in blood and Zn, Cu, Cd and Pb in amniotic fluid. *Int J Occup Med Environ Health.* 2000;13:185-93.
265. Moffett D, Smith C, Stevens Y, Ingerman L, Swarts S, Chappell L. *Toxicological profile for barium and barium compounds.* Agency for toxic substances and disease registry. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; 2007.
266. Morales WJ, Angel JL, O'Brien WF, et al. Use of ampicillin and corticosteroids in premature rupture of membranes: A randomized study. *Obstet Gynecol.* 1989;73:721-6.
267. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. *Tablas de composición de alimentos.* 15ª ed. Madrid; 2011.
268. Morgan DL, Chanda SM, Price HC, Fernando R, Liu J, Brambila E, O'Connor RW, Beliles RP, Barone Jr S. Disposition of inhaled mercury vapor in pregnant rats: maternal toxicity and effects on developmental outcome. *Toxicol Sci.* 2002;66:261–73.
269. Morisi G, Patriarca M, Marañón G et al. Age and sex specific reference serum selenium levels estimated for the Italian population. *Ann Ist Super Sanita.* 1989;25:393- 403.
270. Morley JE, Gordon J, Herschman JM. Zinc deficiency, chronic starvation and hypothalamic-pituitary-thyroid function. *Am J Clin Nutr.* 1980;33:1767-70.

271. Morrison JN, Quaterman J. The relationship between iron status and lead absorption in rats. *Biol Trace Elem Res.* 1987;14:115.
272. Morton W. Poisoning by barium carbonate. *Lancet.* 1945;246:738–9.
273. Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol.* 2004;122:369–82.
274. Myers GJ, Thurston SW, Pearson AT, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Cernichiari E, Clarkson TW. Postnatal exposure to methyl mercury from fish consumption: a review and new data from the Seychelles Child Development Study. *Neurotoxicol.* 2009;30:338–49.
275. Naeye R. Factors that predispose to premature rupture of the fetal membranes. *Obstet Gynecol.* 1982;60:93-8.
276. Naeye RL, Ross S. Coitus and chorioamnionitis: a prospective study. *Early Hum Dev.* 1982;6:91-7.
277. Naeye RL. Seasonal variations in coitus and other risk factors, and the outcome of pregnancy. *Early Hum Dev.* 1980;4:61-8.
278. Naeye R, Blane W, Paul C. Effects of maternal nutrition on human fetus. *Pediatr.* 1973;52:494-503.
279. National Research Council (NRC). Medical and biological effects of environmental pollutants: copper. *Report of the Committee on medical and biological effects of environmental pollutants*, Division of Medical Sciences. Assembly of Life Sciences. National Academy of Sciences, Washington DC; 1977.
280. National Research Council (NRC). Committee on Diet and Health. Trace elements. En: *Diet and Health. Implications for reducing chronic disease risk.* Washington: National Academy Press, 1989. p. 367-411.

281. National Research Council. *Raciones dietéticas recomendadas*. 1ª ed española de la 10ª ed original. Washington, DC: Ed. Nat Acad Sci Nati Res Counc; 1991.
282. National Research Council. *Methyl bromide risk characterization in California*. Washington, DC: National Academy Press; 2000.
283. Needleman HL, Rabinowitz M, Leviton A, Linn S, Schoenbaum S. The relationship between prenatal exposure to lead and congenital anomalies. *JAMA*. 1984;251:2956–9.
284. Needleman HL, Schell A, Bellinger D et al. Long-term effects of childhood exposure to lead at low dose, an eleven-year follow-up report. *New Engl J Med*. 1990;322:83-8.
285. Needleman ID, Sewell E, Shapiro I. Subclinical lead exposure in Philadelphia school children: identification by dentine lead analysis. *N Engl J Med*. 1979;290:245-50.
286. Negretti de Bratter V, Bratter P, Mohn L et al. *Minerales y oligoelementos. Aspectos generales y análisis clínico*. Fundación Bertelsmann, ed. Gütersloh; 1995. p. 3-13.
287. Nielsen FH. Trace and ultratrace elements in health and disease. *Compr Ther*. 1991;77:20-6.
288. Nishijo M, Nakagawa H, Honda R, Tanebe K, Saito S, Teranishi H, Tawara K. Effects of maternal exposure to cadmium on pregnancy outcome and breast milk. *Occup Environ Med*. 2002;59:394–6.
289. Noura AJ, Tabassum H, Farah AK, Ansar S, Ali MN. Relationship between dietary factors and risk of Preeclampsia: A systematic review. *S Asian J Exp Biol*. 2013;3:1-9.

290. Noura Al-Jameil, Hajera Tabassum, Huda Al-Mayouf, Haya Ibrahim Aljohar, Naif Dakhil Alenzi, Sereen Mahmoud Hijazy, Farah Aziz Khan. Analysis of serum trace elements-copper, manganese and zinc in preeclamptic pregnant women by inductively coupled plasma optical emission spectrometry: a prospective case controlled study in Riyadh, Saudi Arabia. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7:1900-10.
291. Nymand G. Maternal smoking and immunity. *Lancet.* 1974;2:1379.
292. Odland JO, Nieboer E, Romanova N, Thomassen Y, Brox J, Lund E. Concentrations of essential trace elements in maternal serum and the effect on birth weight and newborn body mass index in sub-arctic and arctic populations of Norway and Russia. *Acta Obstet Gyn Scan.* 1999;78:605-14.
293. Odland JO, Nieboer E, Romanova N, Thomassen Y, Hofoss D, Lund E. Factor analysis of essential and toxic elements in human placentas from deliveries in arctic and subarctic areas of Russia and Norway. *J Environ Monit.* 2001;3:177-84.
294. O'Donnell KJ, Rakeman MA, Zhi-Hong D, et al. Effects of iodine supplementation during pregnancy on child growth and development at school age. *Dev Med Child Neurol.* 2002;44:76-81.
295. Ohad K, Tal OP, Lazer T, Tamir BA, Mazor M, Witnitzer A, Sheiner E. Severe preeclampsia is associated with abnormal trace elements concentrations in maternal and foetal blood. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201:280-1.
296. Oken E, Kleinman KP, Olsen SF, Rich-Edwards JW, Gillman MW. Associations of seafood and elongated n-3 fatty acid intake with fetal growth and length of gestation: results from a US pregnancy cohort. *Am J Epidemiol.* 2004;160:774-83.
297. Oken OE, Bellinger DC. Fish consumption, methylmercury and child development. *Curr Opin Pediatr.* 2008;20:178-83.

298. OMS. Organización Mundial de la Salud. Environmental health criterio 3. Lead. Geneva: World Health Organization; 1977.
299. OMS/FAO. Organización Mundial de la Salud / Food and Agricultural Organization. *Evaluation of food additives*. WHO Technical Report Series n.º 462. OMS, Geneva; 1971.
300. Opienska-Blauth J, Stankiewicz Z, Kulesza S. Magnez w biologii i medycynie. *Post Hig Med Dosw*. 1975;29:665 – 717.
301. Ortega García JA, Ferrís i Tortajada J, Cánovas Conesa A, García Castell J. Unidad de Pediatría Ambiental. Paediatric Environmental Health Speciality Unit (PEHSU-Valencia). Neurotóxicos medioambientales (y II). Metales: efectos adversos en el sistema nervioso fetal y postnatal. *Acta Pediatr Esp*. 2005;63:182-92.
302. Ortega García JA, Ferrís i Tortajada J, López Andreu JA, García i Castell J, Cánovas Conesa A, Berbel Tornero O, et al. El pediatra y la incineración de residuos sólidos. Conceptos básicos y efectos adversos en la salud humana. *Rev Esp Pediatr*. 2001;57:473-90.
303. Ortega García JA, Ferrís i Tortajada J, López Andreu JA, Marco Macián A, García i Castell J, Cánovas Conesa A, et al. Hospitales sostenibles (II). Mercurio: exposición pediátrica. Efectos adversos en la salud humana y medidas preventivas. *Rev Esp Pediatr*. 2003;59:274-91.
304. Osada H, Watanabe Y, Nishimura Y, Yukawa M, Seki K, Sekiya S. Profile of trace element concentrations in the feto-placental unit in relation to fetal growth. *Acta Obstet Gynec Scan*. 2002;81:931–7.
305. Osendarp SJM, van Raaij JMA, Arifeen SE, Wahed MA, Baqui AH, Fuchs GJ. A randomised, placebo controlled trial of the effect of zinc supplementation during pregnancy on pregnancy outcome in Bangladeshi urban poor. *Am J Clin Nutr*.

- 2000;71:114-9.
306. Osman K, Akesson A, Berglund M, Bremme K, Schutz A, Ask K, Vahter M. Toxic and essential elements in placentas of Swedish women. *Clin Biochem.* 2000;33:131–8.
307. Ottlecz A, Walker S, Conrad M, Starcher B. Neutral metalloendopeptidase associated with the smooth muscle cells of pregnant rat uterus. *J Cell Biochem.* 1991;45:401–11.
308. Ozdemir Y, Borekci B, Levet A, Kurudirek M. Assessment of trace element concentration distribution in human placenta by wavelength dispersive X-ray fluorescence: effect of neonate weight and maternal age. *Appl Radiat Isotopes.* 2009;67:1790–5.
309. Packman S. Disorders of metal metabolism. En: Rudolph AM (ed). *Rudolph's pediatrics.* Norwalk: Appleton Lange; 1991. p. 387-92.
310. Padilla MA, Elobeid M, Ruden DM, Allison DB. An examination of the association of selected toxic metals with total and central obesity indices: NHANES 99-02. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7:3332-47.
311. Pahren HR, Lucas JB, Ryan JA, Dotson GK. Health risks associated with land application of municipal sludge. *J Water Pollut Control Fed.* 1979;51:1588-98.
312. Pamphlett R, Stottenberg M, Rungby J, Danscher G. Uptake of bismuth in motor neurons of mice after single oral doses of bismuth compounds. *Neurotoxicol and Teratol.* 2000;22:559–63.
313. Pan J, Song H, Pan XC. Reproductive effects of occupational exposure to mercury on female workers in China: a meta-analysis. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2007;28:1215–8.
314. Parry S, Strauss JF. Premature Rupture of the fetal membranes. *N Engl J Med.*

- 1998;338:663-8.
315. Patel AB, Mamtani MR, Thakre TP, Kulkarni H. Association of umbilical cord blood lead with neonatal behavior at varying levels of exposure. *Behav Brain Funct.* 2006;2:22.
316. Pathak P, Kapil U, Kapoor SK, Saxena R, Kumar A, Gupta N, Dwivedi SN, Singh R, Singh P. Prevalence of multiple micronutrients deficiencies amongst pregnant women in a rural area of Haryana. *Indian J Pediatr.* 2004;71:1007–14.
317. Pena-Rosas J, De-Regil L, Dowswell T, Viteri F. Daily oral iron supplementation during pregnancy. *Cochrane DB Syst Rev.* 2012;12:CD004736.
318. Pena-Rosas JP, Viteri FE. Effects and safety of preventive oral iron or iron+folic acid supplementation for women during pregnancy. *Cochrane DB Syst Rev.* 2009;4:CD004736.
319. Pérez-Cárceles MD, Sibón A, Gil Del Castillo ML, Vizcaya MA, Osuna E, Casas T, Romero JL, Luna A. *Biol Trace Elem Res.* 2008;126:27-37.
320. Perrone L, Gialnella G, Giordiano V et al. Impaired zinc metabolic status in children affected by idiopathic nephrotic syndrome. *Eur J Pediatr.* 1990;749:438-40.
321. Perveen S, Altaf W, Vohra N, Bautista ML, Harper RG, Wapnir RA. Effect of gestational age on cord blood plasma copper, zinc, magnesium and albumin. *Early Hum Dev.* 2002;69:15–23.
322. Pharoah POD, Butfield IH, Hetzel BS. Neurological damage to the fetus resulting from severe iodine deficiency during pregnancy. *Lancet.* 1971;1:308–310.
323. Pitkin RM. Calcium metabolism in pregnancy: a review. *Am J Obstet Gynec.* 1975;121:724-37.

324. Pitkin RM, Reynolds WA, Williams GA, Hargis GK. Calcium metabolism in normal pregnancy: a longitudinal study. *Am J Obstet Gynec.* 1979;133:781-90.
325. Plessinger MA, Woods JR Jr, Miller RK. Pretreatment of human amnion-chorion with vitamins C and E prevents hypochlorous acid-induced damage. *Am J Obstet Gynec.* 2000;183:979-85.
326. Polishuk WZ, Kohane S, Peranio A. The physical properties of fetal membranes. *Obstet Gynecol.* 1962;20:204-10.
327. Poniedziałek-Czajkowska E, Leszczynska-Gorzela B, Oleszczuk J. The relationship of maternal serum levels of Il-6 and TNF-alpha with fertility and parity of women with pregnancies complicated by PROM. *Ginekol Pol.* 2000;71:752-7.
328. Prasad AS. Diagnostic approaches to trace element deficiencies. En: Chandra RK (ed). *Trace elements in nutrition of children.* Nueva York: Raven Press; 1985. p. 17-39.
329. Prasher D. Heavy metals and noise exposure: health effect. *Noise Health.* 2009;11:141-4.
330. Prenia K, Ramalakshmi BA, Madhavapeddi R, Babu S. Immune status of anaemic pregnant women. *BJOG-Int J Obstet Gy.* 1982;89:222-5.
331. Prenia K, Ramaíakshm, BA, Neelakumari S. Serum copper and zinc in pregnancy, *Indian J Med Res.* 1980;71:547-53.
332. Prnjavorac B, Irejiz Z, Krajina K, Deljkic A, Sinanovic A, Fejzic J. Analysis of adequacy of 25-Hidroxi vitamin D3 supplementation in patients on hemodialysis and parathormone, calcium and phosphorus level in the blood of these patients. *Mater Sociomed.* 2015;27:83-6.
333. Protocolos SEGO “Anemia y embarazo” en [www. Prosego.com](http://www.Prosego.com).

334. Puolakka J, Jann, O, Pakarinen A, Vihko R. Serum ferritin in the diagnosis of anemia during pregnancy. *Acta Obstet Gynec Scand*. 1980;suppl 95:57-63.
335. Puolakka J, Janne O, Pakarinen A, Jirvinen PA, Vihko R. Serum ferritin as a measure of iron stores during and after normal pregnancy with and without iron supplements. *Acta Obstet Gynec Scand*. 1980;suppl 95:43-51.
336. Raghunath RM, Tripathi VN, Sastry, Krishnamoorthy YM. Heavy metals in maternal and cord blood. *Sci Total Environ*. 2000;250:135–41.
337. Rahmanian M, Jahed FS, Yousefi B, Ghorbani R. Maternal serum copper and zinc levels and premature rupture of the foetal membranes. *J Pak Med Assoc*. 2014;64:770-4.
338. Raijmakers MTM, Dechend R, Poston L. Oxidative stress and preeclampsia: rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension*. 2004;44:374–80.
339. Ramon R, Ballester F, Aguinagalde X, Amurrio A, Vioque J, Lacasana M, Rebagliato M, Murcia M, Iniguez C. Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain. *Am J Clin Nutr*. 2009;90:1047–55.
340. Rayman MP, Wijnen H, Vader H, Kooistra L, Pop V. Maternal selenium status during early gestation and risk for preterm birth. *CMAJ*. 2011;183:549-55.
341. Reeves JD, Vichinsky E, Addiego J et al. Iron deficiency in health and disease. En: Bamess LA (ed). *Advances in pediatrics* 30. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1984. p. 281-320.
342. Reis MF, Sampaio C, Brantes A, Aniceto P, Melim M, Cardoso L, Gabriel C, Simao F, Segurado S, Miguel JP. Human exposure to heavy metals in the vicinity of Portuguese solid waste incinerators – Part 2: biomonitoring of lead in

- maternal and umbilical cord blood. *Int J Hyg Environ Health*. 2007;210:447–54.
343. Reichlmayr-Lais AM, Kirchgessner M. Lead. En: Frieden E (ed). *Biochemistry of the essential ultra trace elements*. Nueva York: Plenum Press; 1984. p. 367-87.
344. Ribas-Fito N, Ramón R, Ballester F, et al. Child health and the environment: the INMA Spanish Study. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2006;20:403–10.
345. Riedewald S, Krentzman I, Heinze T, et al. Vaginal and cervical pH- in normal pregnancy and pregnancy complicated labor. *J Perinat Med*. 1990;18:181-6.
346. Robbins. *Patología Humana*. Ed. Elsevier. 7ª ed; 2004.
347. Roe D, Pease W, Florini K, Silbergeld E. *Toxic ignorance: The continuing absence of basic health testing for top-selling Chemicals in the United States*. Washington DC: Environmental Defense Fund; 1997.
348. Rogers I, Emmett P, Ness A, Golding J. Maternal fish intake in late pregnancy and the frequency of low birth weight and intrauterine growth retardation in a cohort of British infants. *J Epidemiol Commun H*. 2004;58:486–92.
349. Röllin HB, Rudge CV, Thomassen Y, Mathee A, Odland JØ. Levels of toxic and essential metals in maternal and umbilical cord blood from selected areas of South Africa—results of a pilot study. *J Environ Monit*. 2009;11:618–27.
350. Ron M, Beller U, Ori J, et al. Prolactin concentrations in the fetal membranes in pregnancies with premature rupture of the membranes and control pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 1982;143:482-3.
351. Ronco A, Urrutia M, Montenegro M, Llanos M. Cadmium exposure during pregnancy reduces birth weight and increases maternal and foetal glucocorticoids. *Toxicol Lett*. 2009;188:186–91.

352. Rossipal E, Krachler M, Li F, Micetic-Turk D. Investigation of the transport of trace elements across barriers in humans, Studies of placental and mamary transfer. *Acta Paediatr.* 2000;89:1190-5.
353. Rossouw J, Offermeier J, van Rooyen JM. Apparent central neurotransmitter receptor changes induced by low-level lead exposure during different developmental phases in the rat. *Toxicol Appl Pharm.* 1987;91:132-9.
354. Roungsipragarn R, Borirug S, Herabutya Y. Plasma zinc level and intrauterine growth retardation: a study in pregnant women in Ramathibodi Hospital. *J Med Assoc Thailand.* 1999;82:178-81.
355. Rudge CV, Röllin HB, Nogueira CM, Thomassen Y, Rudge MC, Odland JO. The placenta as a barrier for toxic and essential elements in paired maternal and cord blood samples of South African delivering women. *J Environ Monitor.* 2009;11:1322–30.
356. Rumbold AR, Crowther CA, Haslam RR, Dekker GA, Robinson JS. Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications. *New Engl J Med.* 2006;354:1796–806.
357. Sakamoto M, Yasutake A, Domingo JL, Chan HM, Kubota M, Murata K. Relationships between trace element concentrations in chorionic tissue of placenta and umbilical cord tissue: potential use as indicators for prenatal exposure. *Environ Int.* 2013;60:106-11.
358. Sandstead HH, Frederickson CJ, Penland JG. History of zinc as related to brain function. *J Nutr.* 2000;130(Suppl 2):496S–502S.
359. Sarricolea ML, Villa I, López J. Respiratory distress syndrome in copper deficiency: an experimental model developed in rats. *Biol Neonate.* 1993;63:14-25.
360. Saugstad OD. Neonatal oxigen radical disease. En: David TJ (ed). *Recent advances*

- in pediatrics 10*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1992. p. 173-87.
361. Sawdy RJ, Bennett PR. Recent advances in the therapeutic management of preterm labour. *Curr Opin Obstet Gyn.* 1999;11:131–9.
362. Sawhney H, Aggarwal N, Biswas R, Vasishta K, Gopalan S. Maternal mortality associated with eclampsia and severe preeclampsia of pregnancy. *J Obstet Gynaecol Res.* 2000;26:351–6.
363. Scheplyagina LA. Impact of mother's zinc deficiency on the woman's and newborn's health status. *J Trace Elem Med Bio.* 2005;19:29–35.
364. Schlievert P, Johnson W, Galask RP. Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. VI. Evidence for a zinc-peptide antibacterial system. *Am J Obstet Gynecol.* 1976;125:906-10.
365. Schlievert P, Johnson W, Galask RP. Isolation and characterization of a low molecular weight inhibitor of bacterial growth from amniotic fluid. *Infect Immun.* 1976;14:1156.
366. Schlievert P, Johnson W, Galask RP. Bacterial inhibition by amniotic fluid. V. Phosphate to zinc ratio as a predictor of bacterial inhibitory activity. *Am J Obstet Gynecol.* 1976;125:988.
367. Schlievert P, Johnson W, Galask RP. Amniotic fluid antibacterial mechanisms: newer concepts. *Semin Perinatol.* 1977;1:59-70.
368. Schnaas L, Rothenberg SJ, Flores MF, Martinez S, Hernandez C, Osorio E, Velasco SR, Perroni E. Reduced intellectual development in children with prenatal lead exposure. *Environ. Health Perspect.* 2006;114:791–7.
369. Schoeters G, Den Hond E, Zuurbier M, Naginiene R, van den Hazel P, Stilianakis N, Ronchetti R, Koppe JG. Cadmium and children: exposure and health effects. *Acta Paediatr.* 2006;Suppl. 95:50–5.

370. Scholl TO, Hediger ML, Schall JI, Fischer RL, Khoo CS. Low zinc intake during pregnancy: its association with preterm and very preterm delivery. *Am J Epidemiol.* 1993;137:1115-24.
371. Scholl TO, Hediger ML, Fischer RL, Shearer JW. Anemia vs iron deficiency: increased risk of preterm delivery in a prospective study. *Am J Clin Nutr.* 1992;55:985-8.
372. Schroeder HA, Tipton IH, Nason AP. Trace metals in man: strontium and barium. *J Chronic Dis.* 1972;25:491-517.
373. Sedman AB, Miller NL, Warady BA et al. Aluminum loading in children with chronic renal failure. *Kidney Int.* 1984;26:201-4.
374. Semenovskaya EM. Pregnancy, pre-eclampsia. [Cited January 17, 2014]: Available from <http://medicine.medscape.com/article/796690-overview>.
375. Shah D, Sachdev HP. Effect of gestational zinc deficiency on pregnancy outcomes: summary of observation studies and zinc supplementation trials. *Br J Nutr.* 2001;85(Suppl 2): S101-8.
376. Sibai BM, Villar MA, Bray E Am. Magnesium supplementation during pregnancy: a double blind randomized controlled clinical trial. *J Obstet Gynecol.* 1989;161:115-9.
377. Sibille Y, Lwebuga-Mukasa JS, Polomskii L, Merrill WW, IngbarDH, Gee JBL. An in vitro model for polymorphonuclear leukocyte-induced injury to an extracellular matrix. *Am Rev Respir Dis.* 1986;134:134-40.
378. Sikorski R, Juskieowicz T, Paszkowski T. Zinc status in women with premature rupture of membranes at term. *Obstet Gynecol.* 1990;76:675-7.

379. Sikorski R, Milart P, Kapec E. Essential metal and immunoglobulin levels in women and neonates with PROM Zent.bl. *Gynakol.* 1991;103-13.
380. Silbergeld EK. Mechanisms of lead neurotoxicity, or looking beyond the lamppost. *FASEB J.* 1992;6:3201-6.
381. Silbergeld EK, Patrick TE. Environmental exposures, toxicologic mechanisms and adverse pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192:S11-12.
382. Skinner S, Campos G, Higgins G. Collagen content of human amniotic membranes: effect of gestational length and premature rupture. *Obstet Gynecol.* 1981;57:487-9.
383. Skornik W. Inhalation toxicity of metal particles and vapors. *Pathophysiol Treat Inhal Injuries.* 1988;34:123.
384. Slikkerveer A, de Wolf FA. Pharmacokinetics and toxicity of bismuth compounds. *Med Toxicol Adverse Drug Experience.* 1989;4:303-23.
385. Sly PD, Flack F. Susceptibility of children to environmental pollutants. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1140:163-83.
386. Smith HA. Cadmium. En: Frieden E (ed). *Biochemistry of the essential ultratrace elements.* Nueva York: Plenum Press; 1984. p. 341-66.
387. Smolders R, Schramm KW, Nickmilder M, Schoeters G. Applicability of non-invasively collected matrices for human biomonitoring. *Environ Health-Glob.* 2009;8:8-18.
388. Solomons NW. On the assessment of zinc and copper nutriture in man. *Am J Clin Nutr.* 1979;32:856-71.
389. Soltan, Jenkins DM. Maternal and fetal plasma zinc concentration and fetal abnormality. *Br J Obstet Gynaec.* 1982;89:56-5.

390. Spatling L, Spatling G. Magnesium supplementation in pregnancy: A double blind study. *Br J Obstet Gynaec.* 1988;95:120-5.
391. Spinnato II JA, Freire S, Pinto e Silva JL, Rudge MVC, Martins-Costa S, Koch MA, et al. Antioxidant supplementation and premature rupture of the membranes: a planned secondary analysis. *Obstet Gynecol.* 2008;199:433.e1-433.e8.
392. Srivastava S, Mehrotra PK, Srivastava SP, Tandon I, Siddiqui MK. Blood lead and zinc in pregnant women and their offspring in intrauterine growth retardation cases. *J Anal Toxicol.* 2001;25: 461–5.
393. Steuerwald U, Weihe P, Jorgensen PJ, Bjerve K, Brock J, Heinzow B, et al. Maternal seafood diet, methylmercury exposure, and neonatal neurologic function. *J Pediatr.* 2000;136:599-605.
394. Stuart EL, Evans GS, Lin YS, Powers HJ. Reduced collagen and ascorbic acid concentrations and increased proteolytic susceptibility with prelabor foetal membrane rupture in women. *Biol Reprod.* 2005;72:230–5.
395. Stoltzfus R, Dreyfuss M. *Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anaemia.* ILSI Press; 1998.
396. Stoltzfus R, Mullany L, Black R. Iron deficiency anemia. En: Ezzati M, Lopez A, Rodgers A, Murray C, eds. *Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors.* World Health Organization; 2004. p. 163-209.
397. Sultana M, Jahan N, Sultana N, Ali Md. L, Sunya D K, Al Masud MA. Serum copper level in term women. *J Dhaka Nat Med Coll Hos.* 2011;17:18-20.

398. Sun H, Chen W, Wang D, Jin Y, Chen X, Xu Y. The effects of prenatal exposure to low-level cadmium, lead and selenium on birth outcomes. *Chemosphere*. 2014;108:33-9.
399. Swanson CA, King JC. Reduced serum zinc concentration during pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1983;62:313-8.
400. Tagliaferro P, Ramos AJ, López EM, et al. Comparative neurotoxic effects of serotonin depletion in adult and neonatal rat brain. *Neurotoxicol*. 1998;19:473.
401. Takako M, Toshiyuki T. Reduced zinc levels in pregnant women with premature rupture of membrane and preeclampsia. *Yonago Acta Med*. 1996;39:65-71.
402. Tamura T, Goldenberg RL. Zinc nutriture and pregnancy outcome. *Nutr Res*. 1996;16:139-81.
403. Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, Cliver SP, Hoffman HJ. Serum concentrations of zinc, folate, vitamin A and E, and proteins, and their relationships to pregnancy outcome. *Acta Obstet Gyn Scan*. 1997;165:63-70.
404. Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, DuBard M. Maternal plasma zinc concentrations and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr*. 2000;71:109-13.
405. Tamura T, Goldenberg RL, Johnston KE, Chapman VR. Relationship between pre-pregnancy BMI and plasma zinc concentrations in early pregnancy. *Br J Nutr*. 2004;91:773-7.
406. Tara T, Rayman MP, Boskabadi H, Ghayour-Mobarhan M, Sahebkar A, Yazarlu O, Ouladan S, Tavaillae S, Azimi-Nezhad M, Shakery MT, Teymoory MS, Razavi BS, Oladi M, Ferns G. Selenium supplementation and premature (pre-labour) rupture of membranes: A randomised double-blind placebo-controlled trial *J Obstet Gynaec*. 2010;30:30-4.

407. Thadepalli H, Gangopadhyay PK, Maidman J. Amniotic fluid analysis for antimicrobial factors. *Int J Obstet Gynecol.* 1976;20:65.
408. Thakur S, Gupta N, Kakkar P. Serum copper and zinc concentrations and their relation to superoxide dismutase in severe malnutrition. *Eur J Pediatr.* 2004;163:742-4.
409. Than NG, Romero R, Tarca AL, Draghici S, Erez O, Chaiworapongsa T, Kim YM, Kim SK, Vaisbuch E, Tromp G. Mitochondrial manganese superoxide dismutase mRNA expression in human chorioamniotic membranes and its association with labor, inflammation, and infection. *J Matern-Fetal Neon Med.* 2009;22:1000–13.
410. Thomas S, Arbuckle TE, Fisher M, Fraser WD, Ettinger A, King W. Metals exposure and risk of small-for-gestational age birth in a Canadian birth cohort: The MIREC study. *Environ Res.* 2015;140:430–9.
411. Tilson HUS. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). *Environmental influences on children, brain development & behavior conference.* Nueva York: NY Academy of Medicine; 1999.
412. Tirosh O, Levy E, Reifen R. High selenium diet protects against TNBS-induced acute inflammation, mitochondrial dysfunction, and secondary necrosis in rat colon. *Nutrition.* 2007;23:878–86.
413. Topozada M, Sallam N, Gaafar A, et al. Role of repeated stretching in the mechanism of timely rupture of the membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1970;108:243.
414. Trap R, Helm P, Lidegaard O, Helm E. Premature rupture of the fetal membranes, the phases of the moon and barometer readings. *Gynecol Obstet Invest.* 1989;28:14-8.

415. Tseng CH. Arsenic methylation, urinary arsenic metabolites and human diseases: current perspective. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2007;25:1–22.
416. Tsuzuki S, Morimoto N, Hosokawa S, Matsushita T. Associations of maternal and neonatal serum trace element concentrations with neonatal birth weight. *PLoS ONE.* 2013;8(9):e75627.
417. Tulpar S, Gunduz Z, Sahin U, Poyrazoglu MH, Dursun I, Dusunsel R, Bastug F. Trace elements in children suffering from idiopathic nephrotic síndrome. *Eurasian J Med.* 2014;46:187-91.
418. Turnlund JR, Copper. En: Shils ME, Olson JA, Shike M, eds. *Modern nutrition in health and disease* 8^a ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1994. p. 231-41.
419. Ugwuja E, Akubugwo E, Ibiom UA, Obidoa O. Impact of maternal copper and zinc status on pregnancy outcomes in a population of pregnant nigerians. *Pak J Nutr.* 2010;9:678-82.
420. Underwood P, Hester L, Laffitte T. The relationship of smoking to the outcome of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1965;91:270.
421. Underwood EJ. *Trace elements in human and animal nutrition.* Nueva York: Academic Press; 1977.
422. U.S. Center for Disease Control and Prevention (CDC). 1999/2005.
423. U.S. Environmental Protection Agency. Mercury Study Report to Congress. US Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards and Office of Research and Development. Washington, DC, USEPA; 1997.
424. Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Karchmer S, Cruz NM, Ayala- Ruiz A, Lama MS. Collagen metabolism in premature rupture of amniotic membranes. *Obstet Gynecol.* 1990;75:84-8.

425. Vadillo-Ortega F, González-Ávila G, Furth EE, Lei H, Muschel RJ, Stetler-Stevenson WG, Strauss JF. 92-kDa type IV collagenase (Matrix Metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor. *Am J Pathol.* 1995;146:148-56.
426. Vadillo-Ortega F, Hernández A, González G, Bermejo L, Iwata K, Strauss TF. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinases-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;174:1371-6.
427. Vahakangas K, Myllynem P. Drug transports in the human blood placental barrier. *Br J Pharm.* 2009;158:665-78.
428. Vallee B, Falchuk K. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev.* 1993;73:79-118.
429. Van Rij AM, Thomson CD, McKenzie JM et al. Selenium deficiency in total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr.* 1979;32:2076-85.
430. Vige M, Yokoyama K, Ohtani K, Shahbazi F, Matsukawa T. Increase in blood manganese induces gestational hypertension during pregnancy. *Hypertens Pregnancy.* 2013;32:214-24.
431. Vige M, Yokoyama K, Shinohara A, Afshinrokh M, Yunesian M. Early pregnancy blood lead levels and the risk of premature rupture of the membranes. *Reprod Toxicol.* 2010;30:477-80.
432. Villa I, Da Cunha RMC. Zinc, pregnancy and parturition. *Acta Paediatr Scand.* 1985;319:150-7.
433. Villa I, Quintero J, Martín A. Serum copper levels in low weight newborn. *Biol Neonate.* 1995;67:305.

434. Villa I, Sarricolea ML. Ductus arteriosus in copper deficiency. *Biol Neonate*. 1991;59:394-5.
435. Villa I, Sarricolea ML, López J. Ultrastructural study of lung of copper deficient newborn rats. *Biol Neonate*. 1992;62:167.
436. Vir SC, Love AHG, Thompson W. Serum and hair concentrations of copper during pregnancy. *Am J Clin Nutr*. 1981;34:2382-8.
437. Vu TD, Yun Feng, Placido J, Reznik SE. Placental matrix metalloproteinase-1 expression is increased in labor. *Reprod Sci*. 2008;15:420-4.
438. Vukelic J, Kapamadzija A, Petrovic D, Grujic Z, Novakov-Mikic A, Kopitovic V, et al. Variations of serum copper values in pregnancy. *Srp Arh Celok Lek*. 2012;140:42-6.
439. Vunta H, Belda BJ, Arner RJ, Reddy CC, Vanden Heuvel JP, Prabhu KS. Selenium attenuates pro-inflammatory gene expression in macrophages. *Mol Nutr Food Res*. 2008;52:1316-23.
440. Vunta H, Davis F, Palempalli UD, Bhat D, Arner RJ, Thompson JT, et al. The anti-inflammatory effects of selenium are mediated through 15-deoxy-D12,14-prostaglandin J2 in macrophages. *J Biol Chem*. 2007;282:17964-73.
441. Wagner LK. Diagnosis and management of preeclampsia. *Am Fam Physician*. 2004;70:2317-24.
442. Wall PD, Pressman EK, Woods JR Jr. Preterm premature rupture of the membranes and antioxidants: the free radical connection. *J Perinat Med*. 2002;30:447-57.
443. Webster A. Management of premature rupture of the fetal membranes. *Obstet Gynecol Surv*. 1969;24:485.

444. Wei Z, Song X, Shaikh ZA. Cadmium promotes the proliferation of triple-negative breast cancer cells through EGFR-mediated cell cycle regulation. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2015;15:30080-6.
445. Weiss A, Goldman S, Shalev E. The matrix metalloproteinases (MMPs) in the decidua and fetal membranes. *Front Biosci.* 2007;12:649–59.
446. Wells PG, Lee CJ, McCallum GP, Perstin J, Harper PA. Receptor- and reactive intermediate-mediated mechanisms of teratogenesis. *Handbook Exp Pharmacol.* 2010;196:131–62.
447. Wideman G, Baird A, Bolding D. Ascorbic acid deficiency and premature rupture of fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1964;88:592.
448. Wigle DT, Arbuckle TE, Walker M, et al. Environmental hazards: evidence for effects on child health. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2007;10:3–39.
449. Williams JH, Ross L. Consequences of prenatal toxin exposure for mental health in children and adolescents: a systematic review. *Eur Child Adolesc Psychiat.* 2007;16:243–53.
450. Wirth JJ, Mijal RS. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Syst Biol Reprod Med.* 2010;56:147–67.
451. World Health Organization, Centers for Disease Control and Prevention. *Worldwide Prevalence of Anaemia 1993–2005. WHO Global Database on Anaemia.* Ginebra, Suiza: World Health Organization; 2008.
452. WHO. *Barium in drinking-water.* Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Ginebra, Suiza: World Health Organization; 2004.
453. WHO. *Micronutrient deficiencies: iron deficiency anaemia.* www.who.int/nutrition/topics/ida/en.

454. WHO. *Nutritional anemias*. Report of a WHO group of experts. Tech. Rep, Ser. Wld Hlth Org. No. 503; 1972.
455. WHO. *Prevalence of anemia in women: A tabulation of available information*. 2^a ed, Ginebra, Suiza: OMS; 1992.
456. WHO. Task group on environmental health criteria for methylmercury (IPCS/WHO). *Methylmercury, Environmental Health Criteria 101*. Ginebra, Suiza: OMS; 1990.
457. WHO/FAO/IAEA. *Trace Elements in Human Nutrition and Health*. Ginebra, Suiza: OMS; 1996.
458. Woessner F, Nagase H. *Matrix metalloproteinases and TIMPs*. Londres: Oxford University Press; 2000.
459. Woods JR Jr, Plessinger MA, Miller RK. Vitamins C and E missing links in preventing preterm premature rupture of membranes? *Am J Obstet Gynec*. 2001;185:5–10.
460. Woods JR Jr. Reactive oxygen species and preterm premature rupture of membranes. A review. *Placenta*. 2001;22(Suppl A):S38–S44.
461. Wynn R. Development and morphology of the amnion. En: Watelson S, Scommegna A, Epstein M, eds. *Amniotic fluid: physiology, biochemistry, and clinical chemistry*. Nueva York: Wiley; 1974. p. 5-21.
462. Xia W, Hu J, Zhang B, Li Y, Wise JP Sr, Bassig BA, Zhou A, Savitz DA, Xiong C, Zhao J, Du X, Zhou Y, Pan X, Yang J, Wu C, Jiang M, Peng Y, Qian Z, Zheng T, Xu S. A case-control study of maternal exposure to chromium and infant low birth weight in China. *Chemosphere*. 2015;144:1484-9.
463. Xiong X, Buekens P, Alexander S, Demianczuk N, Wollast E. Anemia during

- pregnancy and birth outcome: a meta-analysis. *Am J Perinatol.* 2000;17:137-46.
464. Yoshida M. Placental to fetal transfer of mercury and fetotoxicity. *Tohoku J Exp Med.* 2002;196:79-88.
465. Yakoob M, Bhutta Z. Effect of routine iron supplementation with or without folic acid on anemia during pregnancy. *BMC Public Health.* 2011;11(3):s21.
466. Zachara BA, Wardak C, Didkowski W, Maciag A, Marchaluk E. Changes in blood selenium and glutathione concentrations and glutathione peroxidase activity in human pregnancy. *Gynecol Obstet Inves.* 1993;35:12-7.
467. Zemel MB, Linkswiler HM. Calcium metabolism in the young adult male as detected by level and form of phosphorus intake and level of calcium intake. *Nutrition.* 1981;111:315-24.
468. Zhang HD, Chen CH, Shan LF. Study on the relationship between copper, lysyl oxidase and premature rupture of membranes. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2006;41:7-11.
469. Zheng G, Zhong H, Guo Z, Wu Z, Zhang H, Wang C, Zhou Y, Zuo Z. Levels of heavy metals and trace elements in umbilical cord blood and the risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Biol Trace Elem Res.* 2014;160:437-44.
470. Zhou SJ, Gibson RA, Crowther CA, et al. Effect of iron supplementation during pregnancy on the intelligence quotient and behavior of children at 4 y of age: long-term follow-up of a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:1112-7.
471. Ziael S, Ranjkesh F, Faghihzadeh S. Evaluation of 24-hour copper in pre-eclamptic vs normotensive pregnant and nonpregnant women. *Int J Fertil Steril.* 2008;2:9-12.

472. Zimmerman AW, Dunham BS, Nochimson DJ, Kaplan BM, Clive JM, Kunkel SL.
Zinc transport in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1984;149:523-9.

ANEXO

Cuestionario de Variables Sociodemográficas y Clínicas de la Gestante y del Neonato

Nº de historia	Número
RPM	0: No; 1: Sí
Edad	Número
Gestaciones	Número
Paridad	0: Primípara 1: Multípara
Raza	0: Caucásica; 1: Sudamericana; 2: Árabe; 3: Asiática; 4: Afroamericana
Inducción	0: Estimulación; 1: Inducción
Líquido amniótico	0: Normal; 1: Teñido
RPM previas	0: No; 1: Si
Hábito tabáquico	0: No; 1: Si
Amenazas de parto prematuro previas	0: No; 1: Si
Diabetes gestacional	0: No; 1: Si
Sexo del neonato	0: Hombre; 1: Mujer
Peso del neonato	Número
APGAR al minuto del neonato	Número
APGAR a los 5 minutos del neonato	Número