

**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA**

**INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS  
ALIMENTOS**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA**



**ESTUDIO CONTROLADO DEL CINC COMO BIOMARCADOR  
DEL ESTADO CLÍNICO NUTRICIONAL DEL ENFERMO CRÍTICO  
CON SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA**

**DANIELA IOANA FLOREA**

Granada, 2011

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: Daniela Ioana Florea  
D.L.: GR 4032-2011  
ISBN: 978-84-694-5724-5



**ESTUDIO CONTROLADO DEL CINC COMO BIOMARCADOR DEL ESTADO  
CLÍNICO NUTRICIONAL DEL ENFERMO CRÍTICO CON SÍNDROME DE  
RESPUESTA INFLAMATORIO SISTÉMICA**

***Memoria que presenta para aspirar al Grado de Doctor con mención  
Europea por la Universidad de Granada la Licenciada D<sup>a</sup> Daniela Ioana  
Florea.***

**Esta Tesis Doctoral ha sido realizada bajo la dirección de:**

***Director: Dr<sup>a</sup> D<sup>a</sup> Elena Maria  
Planells del Pozo***

***Director: Dr D Antonio Pérez de  
la Cruz***

***Lda. D<sup>a</sup> Daniela Ioana Florea***

***Aspirante al Grado de Doctor con mención Europea***

**Granada, 2011**



**D<sup>a</sup> Elena María Planells del Pozo, Profesora Titular del Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada**

**D Antonio Pérez de la Cruz, Jefe de la Unidad de Nutrición y Dietética del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada**

**Directores de la Memoria de Tesis Doctoral Europea de título: “*ESTUDIO CONTROLADO DEL CINC COMO BIOMARCADOR DEL ESTADO CLÍNICO NUTRICIONAL DEL ENFERMO CRITICO CON SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIO SISTÉMICA*”, realizada por la Licenciada Daniela Ioana Florea, autorizan su presentación ante el tribunal que en su día se designe.**

**Y para que así conste, y en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firman la presente Tesis Doctoral a 1 de abril de 2011.**

**Fdo. Elena M<sup>a</sup> Planells del Pozo**

**Fdo. Antonio Pérez de la Cruz**





El trabajo de investigación que constituye esta Tesis Doctoral con mención Europea titulada *“ESTUDIO CONTROLADO DEL CINC COMO BIOMARCADOR DEL ESTADO CLÍNICO NUTRICIONAL DEL ENFERMO CRÍTICO CON SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIO SISTÉMICA”*, se engloba en el marco de los Proyectos de Investigación financiados por el Plan Propio de la Universidad de Granada y por el Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) del Instituto de Salud Carlos III, de referencias PI07/1228 y PI10/01993, realizados en las Unidades de Cuidados Intensivos de los Hospitales *Virgen de las Nieves, San Cecilio, General de Baza y Santa Ana* de Motril, de Granada, gestionado por el FIBAO, y en el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos *“José Mataix”* del Centro de Investigación Biomédica y el Departamento de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, en colaboración con la Unidad de Nutrición y Dietética del Hospital Virgen de las Nieves de Granada y el *King’s College* de Londres, UK.





## ***Agradecimientos***



## Agradecimientos

*¡Quiero agradecer a Dios!*

*Quiero agradecer a mis padres por la incondicionalidad en sus actos y sentimientos. Por todo el apoyo que me han dado. ¡Os quiero! También a toda mi familia.*

*Quiero agradecer a mis profesores del colegio (Profesora Stef Rafila) y de la universidad, por los conocimientos aprendidos, para poder empezar lo que ahora termino.*

*Quiero agradecer a mis amigos, que me dieron fuerza para "luchar".*

*Quiero agradecer a mis compañeras (ros), por su paciencia y comprensión.*

*Quiero agradecer a todas las personas de los hospitales, Dr. Manuel Rodríguez Elvira, Dr. Francisco González Díaz, Dr. José Castaño Pérez, Dra. Isabel Rodríguez Higuera, Dr. Javier Martín, como del Instituto de Nutrición, Dr. Emilio Martínez de Victoria, del Departamento de Fisiología de la Facultad de Farmacia, Dra. María López Jurado, Dra. Magdalena López Frías, Dra. Inmaculada López Aliaga, Dr. Francisco Lisboa, y a todo personal administrativo y de enfermería, porque me aceptaron y ayudaron para un buen fin en el desarrollo de este proyecto de investigación.*

*Quiero agradecer a los pacientes y personas que han participado en el estudio, sin ellos, sería imposible, llevar al cabo este estudio.*

*Quiero agradecer al Dr. Paul J. Porr por el apoyo ofrecido.*

*Quiero agradecer al Dr. Christer Hogsrtand y al Dr. Imre Lengyel por todo lo que me han enseñado.*

*Quiero agradecer al Dr. Antonio Pérez de la Cruz por los consejos y el ánimo.*

*No por último, quiero agradecer a mi Profesora Elena María Planells del Pozo, por la ayuda, los conocimientos aprendidos y el apoyo moral y espiritual.*



*“Dar las gracias por todo lo que has recibido de la vida (pasado)*

*Dar las gracias por todo lo que recibes de la vida (presente)*

*Dar las gracias por todo lo que quieres conseguir de la vida como si ya lo hubieras recibido (futuro)”*

*Rhonda Byrne (2010)*



## ***Abreviaturas***





## Abreviaturas

AC	Coeficiente de actividad
ACCP/SCCM	American College of Chest Physicians/Society of Critical Medicine
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APACHE	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
APS	Acute Physiology Score
ARN	Ácido ribonucleico
ASPEN	American Society for Parenteral and Enteral Nutrition
AMA	Association Medical Americana
CPR	Proteína C Reactiva
CPK	Creatinfosfoquinasa
DEC	Deficiencia de energía crónica
DOPA	Dihidroxifenilalanina
DMO	Disfunción multiorgánica
EDTA/K <sub>3</sub>	Ácido etilendiaminotetracético de tripotasio
FDA	Food and Drug Administration
FR	Factor reumatoide
FMO	Fallo multiorgánico
ESPEN	Sociedad Europea de Nutrición Enteral y Parenteral
GER	Gasto metabólico en reposo
GC	Grupo control
sGC	Subgrupo del grupo control
HBE	Ecuación de Harris Benedict
HPI	Indicador Pronóstico Hospitalario
HDL	High Density Lipoprotein Cholesterol
HVN	Hospital Virgen de la Nieve
HCY	Homocisteína
LDL	Low Density Lipoprotein Cholesterol
IA	Ingesta adecuada
IMC	Índice de masa corporal
IR	Ingesta Recomendada
ITC	Índice Creatinina-Altura
IZiNCG	Internacional Zinc Group
MCP	Malnutrición proteico-energética
NA	Nutrición Artificial
NE	Nutrición Enteral
NP	Nutrición Parenteral
OMS	Organización Mundial de la Salud
PC	Pacientes críticos
PCi, PCf	Pacientes críticos inicio y final
sPCi, sPCf	Subgrupo paciente críticos inicio y final
PCA	Perímetro cutáneo abdominal
PCT	Perímetro cutáneo tricípital
PCT	Procalcitonina sérica
PCS	Perímetro cutáneo subescapular
PMB	Perímetro muscular braquial
PPI	Peso ideal
RPB	Retinol Binding Protein
RDA	Recommended Dietary Allowances
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SCL30A	Solute Carrier Family 30 – ZnT

SCL39A	Solute Carrier Family 39 – Zip
SDMO	Síndrome de Disfunción Múltiple Orgánica
SDRA	Síndrome de Distress Respiratorio Agudo
SENPE	Sociedad Español de Nutrición Enteral y Parenteral
SHMT	Serin hidroximetil transferasa
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
SOD	Superóxido Dismutasa
SOFA	Sequential Organ Failure
TMR	Tasa Metabólica Basal
UCI	Unidad de Cuidados Intensivos
VEN	Valoración del Estado Nutricional
Zn	Cinc

## ***Índice***

## Índice

1. Justificación, Hipótesis y Objetivos .....	1
2. Antecedentes bibliográficos .....	9
2.1. Valoración Nutricional en poblaciones .....	9
2.1.1. Composición corporal .....	11
2.1.2. Situación de exceso nutricional .....	14
2.1.3. Situación de déficit nutricional .....	14
2.2. Características Generales de una población sana y enferma .....	15
2.2.1. Características de la población sana .....	15
2.2.2. Características clínicas del paciente críticamente enfermo .....	16
2.3. Pasos a seguir en una valoración nutricional .....	23
2.3.1. Valoración antropométrica .....	23
2.3.1.1. Valoración antropométrica en población sana .....	23
2.3.1.2. Valoración antropométrica en pacientes .....	31
2.3.1.2.1. Evaluación antropométrica en pacientes críticos .....	34
2.3.1.3. Equipo Instrumental .....	38
2.3.1.4. Ventajas de la exploración antropométrica ... ..	39
2.3.2. Valoración de la ingesta .....	40
2.3.2.1. Necesidad de la evaluación de la ingesta en la evaluación del estado nutricional .....	40
2.3.2.2. Determinación de la ingesta de nutrientes .....	41
2.3.2.3. Determinación de la ingesta en un individuo sano .....	42
2.3.2.3.1. Determinación de la ingesta actual de nutrientes .....	42
2.3.2.3.2. Determinación de la ingesta de nutrientes en el pasado .....	44
2.3.2.3.3. Otros métodos .....	46
2.3.2.4. En pacientes críticos.....	46
2.3.2.4.1. Nutrición enteral .....	51
2.3.2.4.2. Nutrición parenteral .....	54
2.3.2.4.3. Requerimientos y recomendaciones nutricionales .....	56
2.3.2.4.4. Pacientes críticos: calculo el GEB.....	60
2.3.2.4.5. ¿Nutrición enteral o parenteral? .....	61
2.3.2.4.6. Valoración de aporte de nutrientes en nutrición enteral y parenteral.....	61
2.3.3. Valoración bioquímica.....	62
2.3.4. Valoración inmunológica.....	64
2.3.5. Genomica nutricional .....	71
2.4. El Cinc como nutriente .....	74
2.4.1. Histórico .....	74
2.4.2. Ingesta dietética recomendada e cinc .....	74

2.4.2.1.	Población sana .....	74
2.4.2.2.	En pacientes .....	78
2.4.3.	Fuentes dietéticas de cinc .....	80
2.4.4.	Biodisponibilidad del cinc .....	82
2.4.5.	Absorción del cinc .....	83
2.4.6.	Distribución corporal del cinc .....	86
2.4.7.	Metabolismo del cinc .....	88
2.4.8.	Homeostasis del cinc .....	89
2.4.9.	Excreción del cinc .....	91
2.4.10.	Funciones del cinc .....	92
2.4.10.1.	El cinc y el metabolismo intermediario .....	94
2.4.10.2.	El cinc y la proliferación celular y el crecimiento .....	95
2.4.10.3.	El cinc y el sistema inmune.....	96
2.4.10.4.	El cinc y los sentidos .....	99
2.4.10.5.	El cinc en la piel y las uñas.....	99
2.4.10.6.	El cinc y los ácidos nucleicos.....	100
2.4.10.7.	Propiedades antioxidantes del cinc .....	102
2.4.11.	El déficit de cinc .....	105
2.4.12.	Toxicidad del cinc .....	108
2.4.13.	Biomarcadores del estatus de cinc .....	110
2.4.14.	Relación del cinc con otros minerales.....	117
2.4.15.	El cinc en la enfermedad.....	118
2.4.15.1.	El cinc en el paciente crítico .....	120
2.5.	Los Transportadores de Cinc.....	122
2.5.1.	Las familias de los transportadores de cinc .....	123
2.5.2.	Revisión de los estudios de transportadores de cinc .....	126
3.	Sujetos y metodología .....	148
3.1.	Diseño del estudio.....	149
3.2.	Selección de la muestra y población objeto de estudio .....	150
3.2.1.	Población de estudio.....	150
3.2.1.1.	Grupo control.....	150
3.2.1.2.	Pacientes críticos.....	150
3.2.2	Tipo de muestreo.....	152
3.3.	Recogida de datos específicos para cada grupo .....	152
3.4.	Recogida de datos comunes de ambos grupos .....	155
3.4.1	Antropometría .....	155
3.4.1.1.	Grupo control (GC) .....	155
3.4.1.2.	Pacientes Críticos (PC).....	156
3.4.2	Valoración Nutricional .....	160

3.4.1. Grupo control .....	160
3.4.2. Paciente crítico .....	165
3.4.3. Ingesta de cinc .....	162
3.4.3 Valoración bioquímica .....	164
3.4.1. Determinación de parámetros bioquímicos población sana.....	164
3.4.2. Determinación de parámetros bioquímicos en paciente crítico.....	164
3.4.3. Técnicas analíticas .....	165
3.5. Expresión génica de los transportadores de cinc .....	169
3.5.1. Método PAXgene™ RNA tubes y kit de extracción PAXgene™ Blood .....	169
3.5.2. Técnica de síntesis del c-DNA.....	174
3.5.3. Síntesis de los primer´s .....	174
3.5.4. Metodología q-PCR.....	176
3.5.5. Técnica de gel de agarosa .....	180
3.6. Análisis estadístico de los datos.....	180
3.7. Limitaciones del estudio.....	181
4. Resultados .....	185
4.1. Características Generales de la muestra .....	187
4.2. Valoración antropométrica .....	189
4.2.1. Grupo control .....	189
4.2.2. Pacientes críticos.....	190
4.3. Valoración de la ingesta.....	192
4.3.1. Ingesta de macro nutrientes.....	192
4.3.2. Ingesta de cinc .....	193
4.3.2.1. Grupo control.....	193
4.3.2.2. Pacientes críticos.....	195
4.4. Valoración bioquímica .....	199
4.4.1. Resultados en los niveles analíticos de parámetros relacionados con el cinc .....	199
4.4.2. Valores hematológicos .....	200
4.5. Niveles analíticos de cinc.....	201
4.5.1. En plasma, células sanguíneas, y sangre total.....	201
4.5.2. Deficiencia en plasma.....	203
4.5.3. Deficiencia en sangre total.....	204
4.6. Correlación entre los valores de cinc .....	205
4.7. Correlación entre los valores de cinc y otros parámetros bioquímicos .....	206
4.8. Resultados de Expresión génica .....	207
4.8.1. Características basales del subgrupo.....	208
4.8.2. Valoración Nutricional de Cinc del subgrupo .....	208
4.8.3. Valoración bioquímica de cinc del subgrupo.....	209

4.8.4.	Determinación de los transportadores de cinc ZnT y Zip.....	210
4.8.4.1.	Pureza e integridad del ARN .....	210
4.8.4.2.	Expresión de los transportadores de Cinc en muestras de sangre.....	213
4.9.	Análisis de regresión logística.....	219
5.	Discusión .....	225
5.1.	Discusión del método.....	227
5.2.	Discusión de la antropometría .....	233
5.3.	Discusión de la ingesta.....	230
5.3.1.	Ingesta de macronutrientes .....	230
5.3.2.	Ingesta de cinc .....	231
5.3.2.1.	Grupo control .....	231
5.3.2.2.	Pacientes críticos.....	233
5.4.	Discusión de la valoración bioquímica.....	238
5.4.1.	Valores hematológicos.....	238
5.4.2.	Valores plasmáticos de cinc.....	238
5.4.3.	Valores de cinc en las células sanguíneas.....	239
5.4.4.	Valores de cinc en sangre total.....	240
5.4.5.	Deficiencia de cinc en plasma.....	241
5.4.6.	Deficiencia de cinc en sangre total.....	243
5.4.7.	El cinc en sangre total.....	244
5.5	Discusión estudio de expresión génica.....	248
5.5.1.	Discusión sobre los transportadores de cinc ZnT y Zip.....	249
5.6.	Discusión sobre análisis multivariante de regresión logística.....	259
6.	Conclusiones .....	261
7.	Abstract and conclusions .....	267
8.	Referencia Bibliográficas.....	285
9.	Anexos.....	311
10.	Índice de tablas, graficas, y figuras .....	332



## ***Justificación, hipótesis y objetivos***



## **1. Justificación, hipótesis y objetivos**

Sabemos que la Nutrición es la ciencia que trata de definir los requerimientos cualitativos y cuantitativos de la alimentación necesarios para conservar la salud. La valoración del estado nutricional de una persona o grupo de la población debe hacerse desde una perspectiva dietética, antropométrica, bioquímica, inmunológica y clínica.

La Sociedad Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (ASPEN), define la valoración nutricional como un método que intenta definir el estado nutricional de una persona utilizando los antecedentes clínicos, nutricionales y farmacológicos, la exploración física, la medición de las variables antropométricas y las pruebas de laboratorio y define la malnutrición como cualquier trastorno del estado nutricional incluyendo los derivados de deficiencias en la ingesta de nutrientes, de trastornos del metabolismo y del aporte nutricional excesivo.

Saber cuál es la situación nutricional de los distintos grupos poblacionales es básico para posibles intervenciones de salud pública (ASPEN, 2005) (1).

En las últimas investigaciones realizadas sobre la influencia que en la salud ejerce la el Cinc, se demuestra una relación entre la ingesta o niveles corporales del mineral con ciertas patologías como determinadas afecciones del sistema inmune e inflamatorio e interviene en la homeostasis de la sangre y forma parte del componente genético celular. Se requiere de un nivel adecuado de cinc para una salud óptima debido a que participa como cofactor de enzimas antioxidantes como la Superóxido Dismutasa, participando reacciones bioquímicas de importantes rutas metabólicas del organismo.

La deficiencia de cinc asociada a una dieta insuficiente, debería de ser poco frecuente, teniendo en cuenta que se encuentra en gran variedad de alimentos. La deficiencia también suele aparecer debido a alteraciones en su absorción o

eliminación asociada a diversas patologías, a interacciones con fármacos o al aumento de sus requerimientos en determinadas situaciones. Pero actualmente, existe un 20% de deficiencia de cinc e el mundo.

El paciente crítico presenta una situación hipercatabólica y de alto grado de estrés quirúrgico, traumático o shock séptico, que puede derivar en malnutrición y complicarse con otras enfermedades o disfunciones.

La lesión o la aparición de complicaciones pueden dar lugar a la generalización del proceso iniciándose el conocido Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS), donde la generación de radicales libres de oxígeno es intensa. Esta reacción metabólica de mantenerse consume la reserva proteica orgánica determinando la disfunción de múltiples órganos que conlleva una altísima mortalidad.

Es, por tanto, necesario la aplicación de un tratamiento a partir de un soporte nutricional que aporte la energía y nutrientes esenciales como el cinc, en cantidad suficiente debido a sus mayores necesidades, para el mantenimiento de la vida en este tipo de enfermo.

#### Hipótesis del estudio

Los pacientes críticos con SRIS presentan deficiencia de cinc desde el ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos, y empeoran durante su estancia por el aporte insuficiente de cinc y su asociación con otros minerales, así como por la situación inflamatoria, inmunológica, y por la alteración de transportadores celulares específicos.

Según lo anteriormente comentado, los objetivos del presente estudio son:

- Valorar el estado nutricional general de pacientes críticos ingresados en la UCI, comparando con un grupo de personas sanas.
  
- Valorar el estado nutricional en Cinc de pacientes críticos ingresados en la UCI, comparando con un grupo de personas sanas.
  
- Evaluar la evolución del estado nutricional en Cinc durante su estancia de 7 días en UCI, y comparar con el grupo control.
  
- Estudiar la implicación de otros minerales y de factores inflamatorios, inmunológicos, de riesgo cardiovascular y antioxidantes asociados, con el metabolismo del Cinc, comparando con un colectivo de adultos sanos.
  
- Definir el perfil de expresión de los genes que determinan los transportadores de cinc en sangre total en un grupo de personas sanas y pacientes críticos.
  
- Estudiar la alteración de los transportadores celulares de Cinc, como biomarcadores del estatus del mineral, mediante estudio de expresión génica, comparando con un grupo control de adultos sanos



## ***Antecedentes bibliográficos***





***Que tu alimento sea tu medicina y que tu medicina sea tu alimento.***

**HIPÓCRATES**

## **2. Antecedentes bibliográficos**

La salud y la enfermedad son parte integral de la vida, del proceso biológico y de las interacciones medioambientales y sociales. Generalmente, se entiende la enfermedad como una entidad opuesta a la salud, cuyo efecto negativo es consecuencia de una alteración o desequilibrio de un sistema a cualquier nivel (molecular, corporal, mental, emocional, etc.), del estado fisiológico o morfológico considerado como situación de homeostasis.

La nutrición debe ser equilibrada en todas las etapas de nuestras vidas para prevenir las enfermedades. El desequilibrio nutricional puede derivar en enfermedades, actuando como una bomba de relojería que puede explotar en cualquier momento. Por lo tanto, se hace necesario realizar un seguimiento de la ingesta de alimentos en todas las etapas de la vida. Una dieta equilibrada es aquella formada por los alimentos que aportan una cantidad adecuada de todos y cada uno de los nutrientes que necesitamos para tener una salud óptima

### **2.1. Valoración nutricional en poblaciones**

En 1932 la Organización de Salud de la Liga de las Naciones (el antecedente institucional de la Organización Mundial de la Salud - OMS) realizó la primer descripción de la normativa en la metodología para la Valoración del Estado Nutricional (VEN). Años más tarde, la OMS recomienda a Jelliffe (1866-1945), la coordinación de un grupo de trabajo para establecer las recomendaciones básicas, sobre las cuales se han basado gran parte de los diagnósticos epidemiológicos realizados en todo el mundo y muchas de las cuales continúan siendo vigentes.

De acuerdo con la OMS, la Valoración del Estado Nutricional (VEN) se define como 'La interpretación de la información obtenida de estudios bioquímicos, antropométricos, bioquímicos y/o clínicos, y que se utiliza básicamente para determinar la situación nutricional de individuos o de poblaciones en forma de encuestas (2,3).

La valoración nutricional se efectúa en todo los tipos de poblaciones, tanto en persona sana como en paciente de diferente patología. Los pasos para realizar la valoración se realizan de similar manera pero teniendo en cuenta las características específicas de la enfermedad que sufren. Una buena nutrición tanto en cantidad como en calidad de nutrientes, ayuda a prevenir enfermedades y a desarrollar el potencial físico y mental del individuo (4).

Para realizar una adecuada valoración nutricional se debe tener en cuenta la composición corporal adecuada para la edad, sexo y situación fisiológica, con el fin de poder establecer límites comparativos entre salud y enfermedad (2). (Figura 1 )

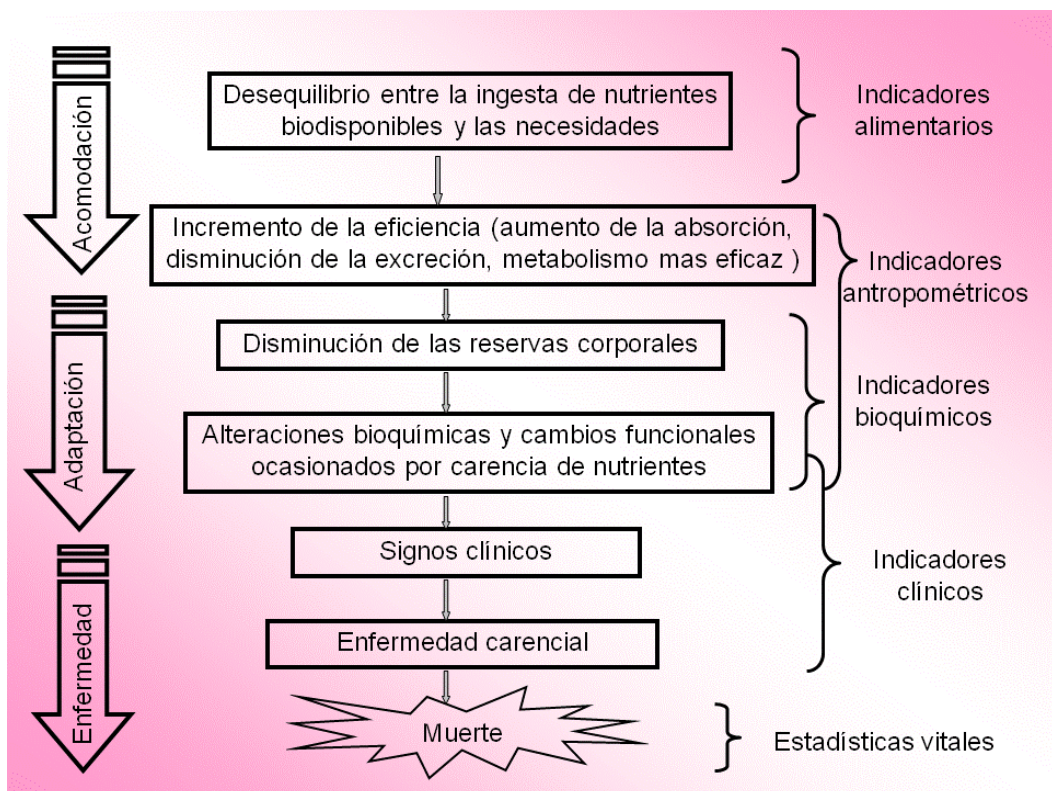


Figura 1 Límites comparativos entre salud y enfermedad

Hay evidencias de que el paciente críticamente enfermo sufre procesos *hipermetabólicos e hipercatabólicos con el consiguiente riesgo de morbilidad y mortalidad de la malnutrición. Por lo tanto, la valoración nutricional se hace imprescindible en este tipo de enfermo.*

## **2.2. Composición corporal**

El estudio de la composición corporal es uno de los aspectos clave relacionados con la nutrición, tanto por sus aplicaciones en el área clínica como en salud pública. El conocimiento de la composición corporal es imprescindible para comprender el efecto que tiene la dieta, el crecimiento, la actividad física, la enfermedad y otros factores del entorno sobre el organismo (5).

Asimismo, es de gran aplicación en el seguimiento de pacientes con malnutrición aguda o crónica, bien sea por exceso o por déficit, además de contribuir al diagnóstico, tratamiento y evaluación de patologías de elevada incidencia. Por último, puede resultar de utilidad en la prevención e identificación temprana de enfermedades degenerativas asociadas a un exceso de grasa corporal, tales como la obesidad, accidentes cerebro-vasculares, cáncer, infarto de miocardio, diabetes, etc. (6, 7,8).

El cuerpo humano contiene una enorme cantidad de componentes que, lógicamente, coinciden con los nutrientes que demanda, es decir, en sus estructuras existe principalmente hidratos de carbono, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales, además de agua, aunque hay una parte que son reservas que pueden movilizarse en caso de necesidad. El tamaño de estos almacenes y los factores que determinan los depósitos y movilizaciones son de especial importancia nutricional.

Por ello, hay que intentar conocer todos o la mayor parte de esos componentes para ver su posible variabilidad, lo que obliga a considerar los compartimentos corporales desde un punto de vista nutricional. La tabla 1 muestra el modelo multicompartmental establecido para la composición corporal (9,7,10).

Modelos multicompartimentales representativos de cuatro de los cinco niveles de composición corporal		
Nivel	Modelo de composición corporal	Nº de componentes
I. Anatómico	$PTC=O+C+H+N+Ca+P+K+S+Na+Cl+Mg$	11
II. Molecular	$PTC=MG+agua+P+MTB+MTO+glucógeno$	6
	$PTC=MG+agua*P+M$	4
	$PTC=MG+agua+sólidos\ no\ grasos$	3
	$PTC=MG+MTO+resto$	3
	$PTC=MG+MNG$	2
III. Celular	$PTC=MC+LE+SE$	3
	$PTC=MG+LE+SE$	4
IV. Tisular	$PTC=TA+TO+TM+otros\ tejidos$	4

LE: líquido extracelular; M: minerales; MC: masa celular; MCC: masa celular corporal; MG: masa grasa; MNG: masa no grasa; MTB: masa tejidos blandos; MTO: masa tejido óseo; P: proteínas; PTC: peso corporal total; SE: sólidos extracelulares; TA: tejido adiposo; TM: tejido muscular esquelético; TO: tejido óseo. (Rodríguez Martínez G. et al.1998).

Tabla 1. Modelo multicompartimental (Fuente 9)

Una primera aproximación a la composición del cuerpo humano consiste en dividirlo en dos compartimentos: masa grasa (MG) y masa libre de grasa o masa magra (MM), cuya suma constituye el peso corporal. En la tabla siguiente (Tabla 2) se han presentado los valores medios de peso corporal según la masa magra (MM) y grasa corporal total o masa grasa (MG) en función del sexo.

Grupo fisiológico	Peso corporal kg	MM		MG %
		kg	%	
<b>Adulto</b>				
<b>Hombre</b>	72	61	85	15
<b>Mujer</b>	58	42	72	28

Tabla.2 Valores medios de peso corporal según la masa magra (MM) y grasa corporal .total o masa grasa (MG) en función del sexo. Fuente:(5)

La división en dos compartimentos puede no resultar muy realista ya que incluye a todos los tejidos no grasos en un solo compartimento. Sin embargo, desde el punto de vista clínico, tanto en la práctica como en la investigación, este modelo puede resultar lo suficientemente preciso como para facilitar medidas longitudinales de cambios en la composición corporal debido a diferentes situaciones dietéticas y/o patológicas.

El componente más variable al modificar la situación corporal es la grasa, que depende del balance de energía, modificando en mayor medida el peso corporal total.

La edad adulta presenta una evolución que se caracteriza por una disminución lenta de la masa magra, y tiene lugar más rápidamente en el hombre, mientras que la mujer conserva su masa magra hasta la menopausia.

En una segunda aproximación, la masa libre de grasa o masa magra puede estar constituida por tres componentes: agua, proteína y un conjunto de componentes como los minerales y los hidratos de carbono. La importancia de poder conocer el contenido de grasa y proteína es de capital interés en nutrición, puesto que estos dos componentes representan las grandes reservas de energía y proteína del organismo. Por el contrario, el almacén de hidratos de carbono (glucógeno) representa una fracción muy pequeña desde el punto de vista energético (11, 12).

Por último, hay que considerar en la composición corporal la existencia de minerales, algunos de los cuales se encuentran en gran cantidad (calcio, fósforo, sodio, potasio, cloruro y azufre), y de vitaminas, presentes en cantidad muy minoritaria. Estos componentes pueden ser evaluados en un individuo a través de diversa metodología de análisis bioquímicos (5, 13, 14). En el siguiente figura 2. se puede ver la composición corporal expresada en porcentaje de agua, proteína, grasa y otros.

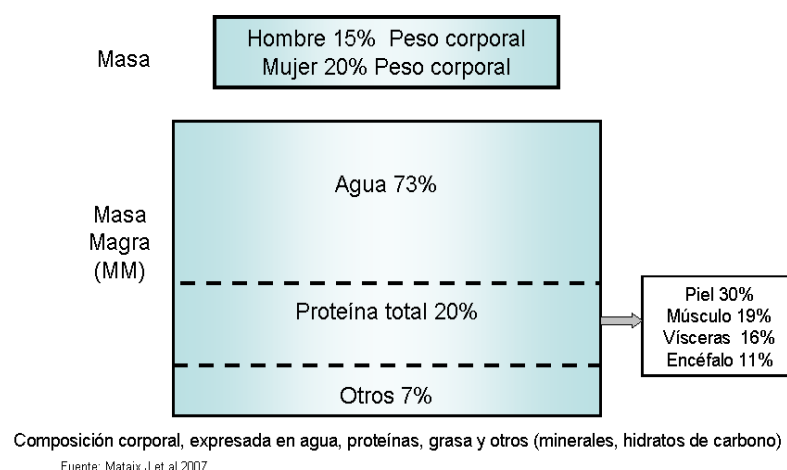


Figura 2. Fuente: Mataix y col. *Nutrición y Alimentación Humana*. Vol. I y II 2002 Editorial Ergón (5)

Por lo tanto, como hemos especificado anteriormente, para una valoración corporal más detallada se debe utilizar la compartimentación por los cinco niveles mencionados.

### **Aplicación de la metodología de evaluación nutricional según la situación nutricional del individuo**

Sea cual sea la situación nutricional del individuo o del colectivo, se deben aplicar los distintos sistemas de evaluación nutricional, aunque la utilidad de los mismos será mayor o menor según el grado de desnutrición o hipernutrición.

#### **2.1.2. Situación de exceso nutricional**

En el organismo, se pueden producir problemas de acumulación o depósito, como puede ocurrir con un exceso de grasa acumulada por una elevada ingesta de energía, o un exceso de colesterol, consecuencia directa de una ingesta de colesterol alimentario, o un exceso de grasa saturada en personas predispuestas a ello, o, por otro lado, producirse una siderosis debido a una exagerada absorción de hierro dietético.

El depósito aumentado o el hecho de que existan unos niveles elevados a nivel celular de algún nutriente o metabolito de una manera continuada, pueden conducir evidentemente a una serie de alteraciones metabólicas, que llegan a producir un determinado daño celular y tisular. La formación de la placa de ateroma, por ejemplo, puede ser la consecuencia de una hipercolesterolemia que se ha podido generar por una dieta excesiva en grasa (5).

#### **2.1.2. Situación de déficit nutricional**

La desnutrición es causada por una ingesta inadecuada de nutrientes y se asocia con una disminución del peso corporal y será crónica si se desarrolla a lo largo de un periodo de tiempo más o menos prolongado. La desnutrición crónica o

deficiencia de energía crónica (DEC) es una situación de peso estable en presencia de ingesta energética más baja de lo normal.

La evaluación de la desnutrición se debe considerar desde un punto de vista nutricional y fisiológico, con la finalidad de conocer la composición y la función corporal (15).

En pacientes hospitalizados hay evidencia de que existe una alta prevalencia de desnutrición, debiéndose determinar por qué aparece esta desnutrición; bien por un consumo reducido de alimentos o bien porque se aumentan las necesidades de nutrientes (16,17).

Si en la situación en la que se encuentra el individuo aún no existen niveles disminuidos de nutrientes como para haberse afectado el metabolismo y funcionalidad celular; los métodos empleados para determinar el estado nutricional, serán a partir de la determinación de:

- *Niveles de reserva (en tejidos de depósito: hígado, tejido adiposo...)*
- *Nivel celular*
- *Niveles circulantes (en sangre) del nutriente (en leucocitos, hematíes, indican en general una posible deficiencia, ya que disminuyen cuando hay una ingesta reducida y demanda celular existente que impide que el nivel aumente),.*
- *Niveles de excreción urinaria (la deficiencia nutricional conduce a una disminución del nivel de un nutriente ó algún metabolito en orina, ya que existen menores niveles circulantes en sangre y puede también aumentar la reabsorción tubular renal del nutriente en cuestión) (5).*

## **2.2. Características generales de una población sana y enferma**

### **2.2.1. Características de la población sana:**

**Salud** (del latín "salus, -utis")“, es el estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente la ausencia de infecciones o enfermedades...”, según la definición de la OMS realizada en 1948. En 1992 un investigador agregó a la

definición de la OMS: "y en armonía con el medio ambiente", ampliando así el concepto.

Una **persona sana** es una persona en la que en su organismo no existe ninguna enfermedad o en la que el organismo puede resistir frente a una enfermedad.

*"La salud es principalmente una medida de la capacidad de cada persona de hacer o convertirse en lo que quiere ser."* René Dubos (1901 - 1982)

La Londe (1974) sugiere que existen cuatro determinantes generales que influyen en la salud, a los que llamó: "*biología humana*", "*ambiente*", "*forma de vida*" y "*organización del cuidado de la salud*". De esta manera, la salud es mantenida por la ciencia y por la práctica de medicina, pero también por el esfuerzo propio. Para mejorar la salud se practicará deporte, se deberá tener un control del estrés, realizar una dieta equilibrada y no se deberá abusar de sustancias nocivas.

### **2.2.2. Características clínicas del paciente críticamente enfermo**

La **enfermedad** es un proceso y el estatus consecuente de la afección de un ser vivo, caracterizado por una alteración de su estado ontológico de salud.

La enfermedad provoca una modificación del estado de salud y se desarrolla en cinco etapas:

- I etapa aparece el síntoma.
- II etapa aparece la enfermedad y la persona se tiene la situación de enfermedad
- III el enfermo toma contacto con personal sanitario
- IV el enfermo depende de del servicio de salud
- V empieza el tratamiento o la recuperación o se acepta la enfermedad que puede derivar en crónica

«En Medicina, las enfermedades se agrupan según tengan similitudes anatómicas, etiológicas o patogénicas. La clasificación más adecuada es la que aúna las tres particularidades. No es, sin embargo, lo frecuente.» (Farreras y Rozman, 2000).



En España, tanto los diagnósticos como los procedimientos se codifican según el criterio de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10ª Edición).

**El paciente crítico:** se define por la existencia de una alteración en la función de uno o varios órganos o sistemas, situación que puede comprometer su supervivencia en algún momento de su evolución, por lo que la muerte es una alternativa posible (18, 19, 20).

Algunas características de los pacientes críticos son:

- Uno o varios órganos son alteradas
- Hipermetabólicos y catabólicos intensos
- Un grado elevado de estrés: quirúrgicos, térmico, traumáticos o sépticos
- Generalmente pacientes inconcientes
- Los aparatos mantiene algunos funciones vitales como la respiración, y la excreción
- Suelen necesitar nutrición artificial.
- Pacientes procedentes de quirófanos

Los enfermos críticos están cerca de la muerte; el resultado de éste proceso es difícil de predecir y el porcentaje de pacientes que mueren en la UCI todavía hoy es elevado.

**La Unidad de cuidados intensivos (UCI):** "es el lugar destinado para el manejo y cuidado de pacientes críticos con disfunción de órganos y sistemas, que debe contar con tecnología punta y con el concurso de un equipo multidisciplinario del cual hacen parte médicos especialistas capacitados en el control de este tipo de pacientes".

El tiempo que transcurre para que una enfermedad se considere aguda o crónica son:

Tiempo o fase aguda (fase I) comienza cuando el agresor entra en contacto con el cuerpo y dura 2 o 3 días.

Si la evolución es favorable concluye con la fase de reparación (fase II). Si el agresor es demasiado fuerte para el cuerpo se produce la fase de reactivación (fase III).

En este tiempo las células inflamatorias se reactivan y liberan células inmaduras se activa los macrófagos y monocitos que liberan mediadores pro – inflamatorios que determina estado de inflamación sistémica generalizada.

Clínicamente se conoce como Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), que puede ser inducido de infección, traumatismos, quemaduras, cirugía, etc.

Si la enfermedad va a evolucionar, se va entrar en última fase (fase IV) de fallo multiorgánico (FMO) o disfunción multiorgánica (DMO) que es la última fase que puede inducir la muerte. La siguiente figura 3., muestra las fases que transcurre en la enfermedad (21).

La sepsis cursa como un cuadro clínico de respuesta inflamatoria del huésped frente a la infección. Se reconocen distintas fases sepsis, sepsis grave, shock séptico que constituye un continuo del proceso infeccioso. La siguiente figura 4 muestra las fases de la respuesta del organismo a la infección.

Hasta 1992 no se disponía de una terminología unificada para designar los procesos relacionados con la sepsis y establecer criterios diagnósticos, por lo que el *American College of Chest Physicians/Society of Critical Medicine (ACCP/SCCM)* en estableció que la sepsis grave exige el fallo de un órgano; el shock séptico es una sepsis grave en la que dicho órgano pertenece al sistema cardiovascular, y si hay dos o más órganos con fallo se trataría de un Fallo Multiorgánico (FMO).

El fallo multiorgánico es común en una Unidad de Cuidados Intensivos. Un estudio multicéntrico observacional, en el “Sepsis Occurrence in Acutely ill Patients ” (SOAP), reveló que mas del 71% de los pacientes críticos tienen un grado considerable de disfunción orgánica. Se han utilizado numerosos parámetros fisiológicos e intervenciones terapéuticas para definir el fallo multiorgánico (18, 21, 22).

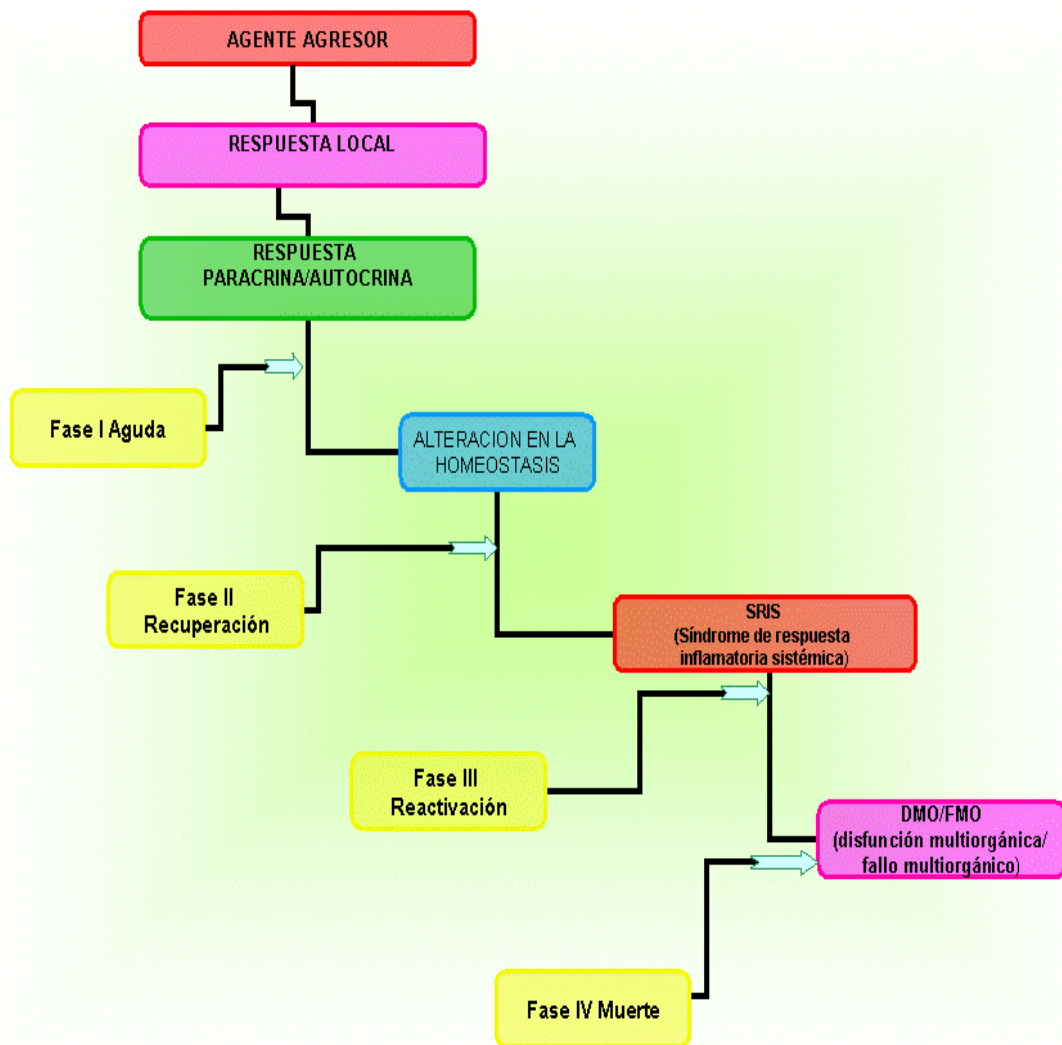


Figura. 3 Fases en desarrollo de la enfermedad

La sepsis plantea una respuesta extraordinariamente peculiar dentro de las respuestas comunes que plantean las diferentes situaciones de elevada agresión, ya que sobre una base inicial de situación hipermetabólica con alteración, se instaurará un mecanismo, en la mayoría de las veces autoalimentado por mediadores endógenos y exógenos, que va a perpetuar y agravar el desequilibrio del metabolismo intermediario, y que en numerosas ocasiones va a terminar en un fallo multiorgánico de origen séptico (SDMO - Síndrome de Disfunción Multiorgánica) (23).

La escala más empleada es el SOFA (Sequence Organ Failure Assessment), que describe y cuantifica el grado de disfunción orgánica en el tiempo. Los sistemas mas comúnmente considerados para describir el fallo/disfunción de órganos son el pulmonar, cardiovascular, renal, hepático, hematológico y el sistema nervioso central (Cabre et al. 2005). Pero otros sistemas considerados en este contexto son el gastrointestinal, metabólico, endocrino y el inmunológico. El alcance de la afectación de cada órgano en particular en pacientes con FMO es variable.

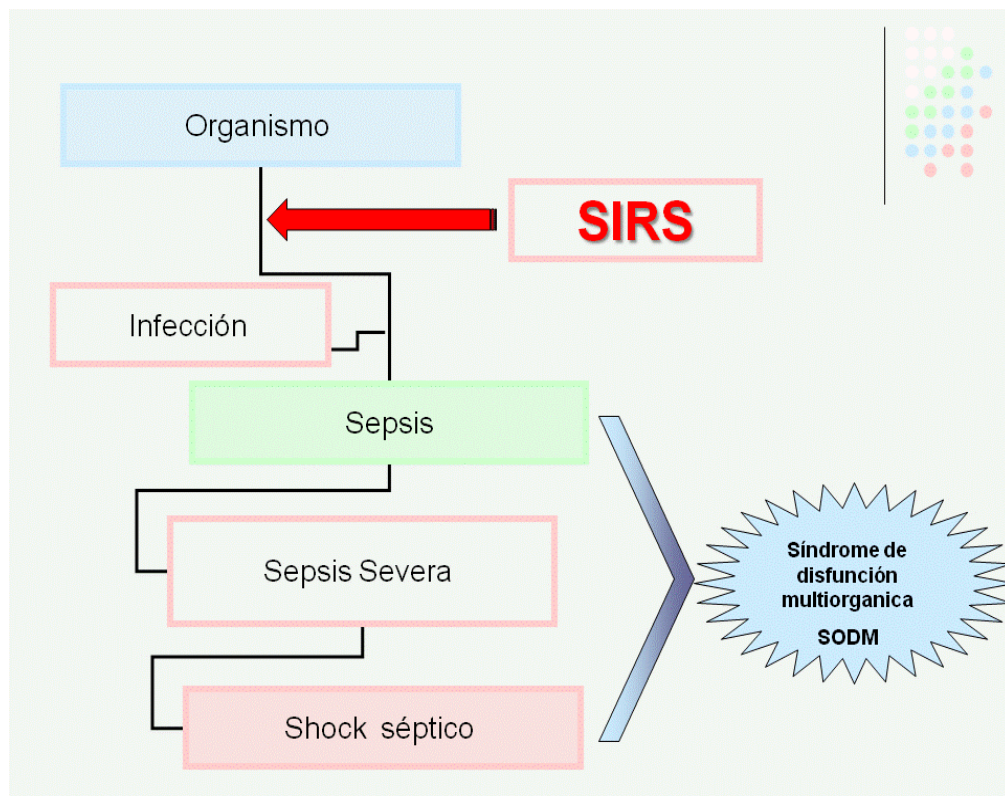


Figura 4 Fases de la respuesta del organismo a la infección

Para facilitar el diagnóstico se han elaborado escalas (scores) y/o tablas para determinar la gravedad de la enfermedad como SOFA, SIRS, APACHE II, SEPSIS, etc.

En la escala **SOFA** (SEQUENTIAL ORGAN FAILURE ASSESSMENT o SOFA SCORE) la puntuación se ha diseñado para informar de la morbilidad y cuantificar objetivamente el grado de disfunción o fracaso diario de cada uno de los órganos en pacientes críticos y se obtiene a partir la afección a diferentes niveles del organismo:

- \* Respiratorio: PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>
- \* Coagulación: plaquetas x 1.000
- \* Hepático: bilirrubina mg/dL (μmol/L)
- \* Cardiovascular
- \* Neurológico: Glasgow
- \* Renal: creatinina mg/dL (μmol/L) o diuresis/24h

En total, el SOFA plantea 6 ítems, es un sistema de puntuación empleado para evaluar la gravedad de los pacientes críticos en la *Unidad de Cuidados Intensivos*, con el fin de comprender mejor la evolución de la enfermedad. La morbilidad es un importante punto final en los estudios relacionados con pacientes con fallo múltiple de órganos (21).

El **SRIS** (Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica), SEPSIS y APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II) son otras escalas para determinar el grado de enfermedad. Existen sistemas de puntuación para determinar el SRIS (Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica), se cumple siempre que existan dos o más de las siguientes características (21, 24,25):

- Temperatura > 38 °C o < 36 °C
- Frecuencia cardiaca > 90 lpms
- Frecuencia respiratoria >20 rpm o PaCO<sub>2</sub> < 32 mm Hg
- Rec. leucocitos > 12.000 mm<sup>3</sup> o < 4000 mm<sup>3</sup> o > 10% de cayados

La **SEPSIS**: se define en la actualidad como un proceso patológico en el cual se asocia el *SIRS* con *infección*., y deben de producirse dos o más de los siguientes criterios con infección:

- Temperatura >38 °C o <36 °C
- Frecuencia cardiaca > 90 lpm
- Frecuencia respiratoria >20 rpm o PaCO<sub>2</sub> < 32 mm Hg
- Rec. Leucocitos > 12.000 mm<sup>3</sup> o < 4,000 mm<sup>3</sup> o > 10% de cayados

Con infección (presencia de microorganismo o invasión de tejidos estériles por dichos organismos) (21). Además, en la sepsis se tienen en cuenta una serie de variables: generales inflamatorias hemodinámicas de afectación de diferentes órganos y de perfusión tisular.

En el paciente crítico, la incidencia de *SIRS* es alta (68%) y puede evolucionar hacia el *SDMO/FMO*. El *SDMO* es la consecuencia deletérea del *SRIS* y puede definirse como el fallo para mantener la homeostasis sin intervención (24).

Con estas escalas se puede determinar los pacientes con *SRIS* o *SEPSIS* de intensidad moderada. Para determinar la gravedad de la enfermedad se va a utilizar *APACHE II*.

Sistema de puntuación **APACHE II** (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II) se utiliza en hospital para determinar el compromiso inmunitario de un paciente. Es un sistema muy útil y fácil de usar donde se cuantifica:

- \* Temperatura central ° C
- \* Presión arterial media (mmHg)
- \* Ritmo cardiaco (latidos/min.)
- \* Frecuencia respiratoria (con o sin VM)
- \* Oxigenación\* (mm Hg): si  $FiO_2 > 0,5$  considerar  $A-aDO_2$ , y si  $FIO_2 < 0,5$ , la  $PaO_2 - A-aDO_2$
- \* pH arterial
- \* Sodio (mmol/L)
- \* Potasio (mMol/L)
- \* Creatinina (mg/100 ml )
- \* Hematocrito (%)
- \* Leucocitos ( $\times 10^9/L$ )
- \* Años
- \* Proveniencia del paciente (quirúrgico o no quirúrgico)
- \* *Glasgow Coma Scale*: El GCS del paciente se restará de 15, y el valor de la diferencia  $15 - GCS$  se consignará como puntos (21).

La valoración nutricional completa en paciente crítico es muy importante. Tiene como objetivo evaluar el riesgo de mortalidad y morbilidad de la malnutrición, identificar y separar de forma individualizada las causas y consecuencias de la malnutrición y analizar el grupo de enfermos con mayor posibilidad de beneficiarse del soporte nutricional (26, 27, 28, 29).

### **2.3. Pasos a seguir en una valoración nutricional**

En todos los tipos de población se puede realizar la valoración nutricional teniendo en cuenta las características de cada una (2, 30).

Los pasos metodológicos de determinar la composición corporal para cualquier tipo de población son:

Valoración antropométrica

Valoración de la ingesta

Valoración bioquímicos

Valoración inmunológica

#### **2.3.1. Valoración antropométrica**

Evalúa el estado de nutrición mediante la obtención de una serie de medidas corporales cuya repetición en el tiempo y confrontación con los patrones de referencia permitirá: 1) el control evolutivo del estado de nutrición y su respuesta objetiva al tratamiento; 2) la detección precoz de desviaciones de la normalidad; 3) clasificación del estado nutritivo por exceso o defecto; 4) distinción entre trastornos nutritivos agudos y crónicos. (9)

##### **2.3.1.1. Valoración antropométrica en población sana:**

La antropometría es una técnica ampliamente utilizada en la evaluación nutricional, tanto para la vigilancia del crecimiento y desarrollo como en la determinación de la composición corporal (porción magra y grasa), aspectos fundamentales de la valoración del estado nutricional de individuos y comunidades.

Además, permite conocer el estado de las reservas proteicas y calóricas además de orientar al profesional de la salud sobre las consecuencias de los desequilibrios en dichas reservas, bien sea por exceso o déficit, trastornos en el

crecimiento y el desarrollo en niños y adolescentes e inicio o evolución de la enfermedad a lo largo del ciclo vital (5, 31).

La razón que justifica las medidas antropométricas es que cada día se es más consciente de que la talla media y demás aspectos morfológicos de constitución y composición corporal están menos ligados de lo que se creía a factores genéticos y a factores ambientales, entre ellos a la alimentación, en especial en las fases de crecimiento rápido.

Los objetivos más destacables son:

- Evaluación del estado nutricional (por ejemplo, déficit o exceso de las reservas corporales).
- Control del crecimiento y desarrollo en caso de los niños.
- Valoración del efecto de las intervenciones nutricionales.

Las características generales más sobresalientes son:

- Constituye un método en cierto grado objetivo y no invasivo de medir la constitución y composición corporal en general, así como de partes específicas.
- Las medidas son relativamente sencillas, rápidas y económicas.
- Los datos antropométricos son capaces de reflejar cambios en la ingesta nutricional producidos a largo plazo.

Cuando se utiliza la antropometría para valoración del efecto de ciertas intervenciones nutricionales, hay que tener en cuenta que el periodo de tiempo necesario para poder detectar cambios en la mayoría de las medidas antropométricas es de tres a cuatro semanas. Los resultados obtenidos deben evaluarse comparando con referencias estándar de acuerdo a edad y sexo del individuo, donde el propio individuo se toma a veces como referencia (5).

Son varios los errores posibles:

- Pueden ocasionarse errores como consecuencia de la inexperiencia del examinador, de la no cooperación del individuo o de la utilización de un equipo inadecuado.



- Algunos cambios significativos del estado nutricional no pueden ser detectados mediante medidas antropométricas porque se producen de forma muy lenta.

- Las medidas antropométricas (altura y peso) pueden alterarse por determinadas condiciones patológicas como, por ejemplo, osteoporosis y edema, no remediando, por tanto una situación nutricional.

- Las referencias estándar pueden no ser las más apropiadas.

Las principales medidas antropométricas son:

- Talla
- Peso
- Pliegues cutáneos
- Circunferencias
- Diámetros corporales, a partir de los cuales se construyen diversos indicadores que permiten realizar el diagnóstico antropométrico final (5).

**Talla:**

Expresada en centímetros (cm) o metros (m).

La altura será medida para compararla con el peso de acuerdo a las tablas estándares y para construir índices de interés detallados posteriormente.

La complexión corporal (evaluar tipo de esqueleto) se puede determinar mediante una relación entre altura y circunferencia de muñeca o mediante anchura del codo. Existe una clasificación en función de complejidad del esqueleto como pequeña, media y grande, donde el investigador puede determinar la complexión del esqueleto. Igualmente, existe otra medida que utiliza anchura del codo. Mataix et al. 2007 han publicado las tablas de referencias para población Española. Esta medida no es representativa en las personas que sufren de obesidad.

**Peso:**

Expresado en kilogramos (Kg). El peso es un parámetro muy útil en la valoración antropométrica. En soporte nutricional especial, la medición del peso se usa, no solo para estimar inicialmente el estado nutricional sino que, tomado periódicamente durante el curso de la terapia nutricional, es fundamental en el manejo

de los líquidos y permite seguir el curso de repleción nutricional. Utilizando los índices de talla y peso se calcula uno de los indicadores mas utilizados mas utilizados en valoración nutricional **IMC** (índice de masa corporal).

Índice de Quetelec o Índice de Masa Corporal (IMC) o BMI (Body Mass Index): Expresado en kg/m<sup>2</sup>. Es un índice muy utilizado en valoración.

Dicho índice se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Cálculo: } \mathbf{IMC = Peso (kg) / Talla^2 (m)}$$

*Interpretación:* De acuerdo a los valores obtenidos, se podrá diferenciar:

>40	Obesidad grado III
35 – 39,9	Obesidad grado II
30 – 34,9	Obesidad grado I
25 – 29,9	Sobrepeso
20 – 25	Valores normales
17 – 20	Desnutrición leve
< o igual 17	Desnutrición grave

Se correlaciona bien con la grasa corporal total. Se calculará por ser un parámetro sencillo.

Otro índice es el índice nutricional:

$$\mathbf{\text{Índice nutricional} = (\text{peso actual/ altura actual}) / (\text{peso deseable/altura deseable}) \times 100}$$

Interpretación:

< 90	– malnutrición
90 – 110	- normal
110 – 120	- sobrepeso
> 120	– obesidad

Para realizar una valoración completa el investigador puede determinar tanto el peso deseable como la talla deseable. Estos parámetros son importantes de calcular para evaluar si el individuo se encuentra en los parámetros normales en el grupo de población al que pertenece.

Determinación del peso deseable o ideal: Medidos en kg. Se usan tablas de referencia donde se puede encontrar el peso ideal para cada altura. Hay tablas de los EE.UU., Europa y España. (Anexos 2)

Cálculo: para interpretar cambios de peso y cambios de peso en relación a la altura se usan las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Peso Ideal (PPI)} = \text{Peso actual} / \text{Peso ideal} \times 100$$

Interpretación: con relación al porcentaje de peso ideal se define:

Obesidad = PPI >120%

Desnutrición Leve = PPI 89-85%

Desnutrición moderada = PPI 75-84%

Desnutrición severa = PPI < 75%

Otros parámetros que se pueden determinar para evaluación mas profunda son:

$$\% \text{ Peso Usual (PPU)} = \text{Peso actual} / \text{Peso usual} \times 100$$

El peso usual es el peso que habitualmente lo tiene el propio sujeto

$$\% \text{ de Cambio de peso (PCP)} = \text{Peso actual} / \text{Peso ideal} \times 100$$

El Peso Actual el medido por el investigador al momento del estudio y Peso usual de los últimos 6 meses, el referido por el paciente.

Se considera déficit proteico-energético si el paciente presenta una pérdida del peso mayor o igual al 5% en el último mes o mayor o igual a 10% en los últimos 6 meses anteriores al estudio.

La utilización del peso deseable o ideal es muy importante porque es un parámetro global de salud si así se puede saber si existe un exceso de grasa junto con otros métodos antropométricos que permite una mayor compartimentalización del cuerpo humano (32).

El grupo de Gottschlich et al. (2009), avalado por la SENPE, han elaborado el *Core Curriculum* en apoyo nutricional, donde se representa el porcentaje de peso corporal por cada parte del cuerpo (figura 5).

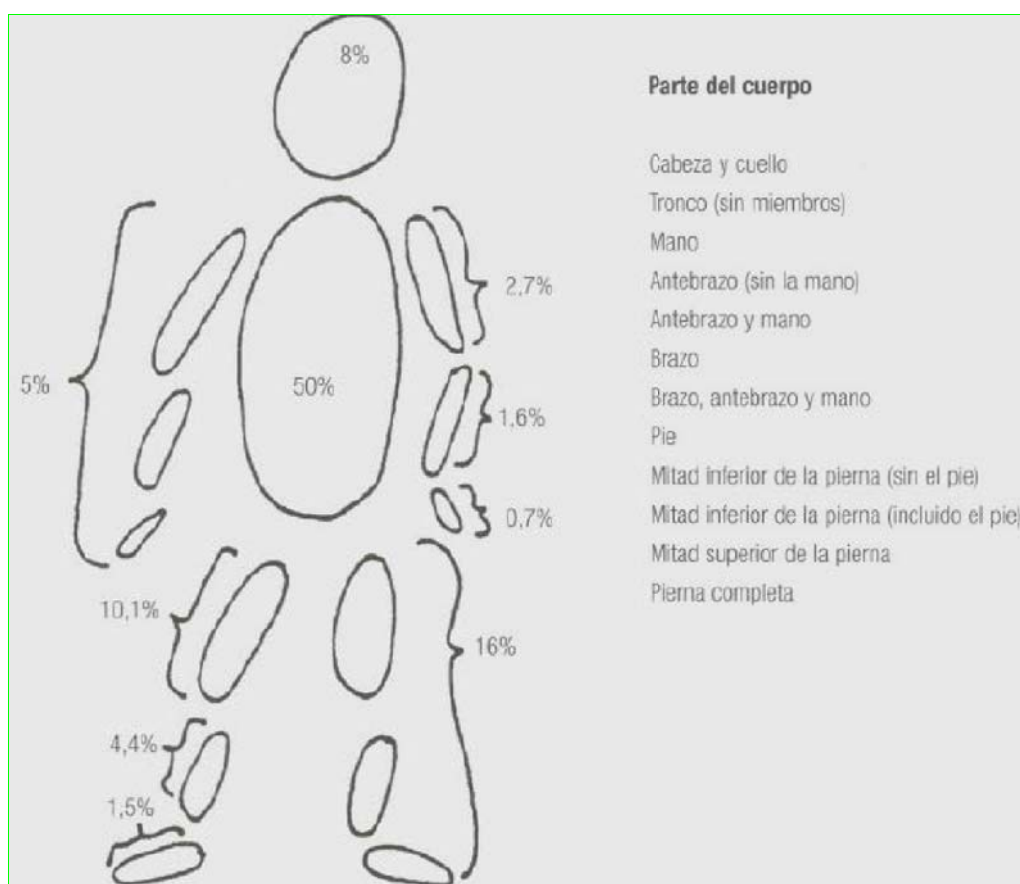


Figura 5. Osterkamp LK. Perspectiva actual de la valoración de las proporciones del cuerpo humano de relevancia para pacientes amputados. Copyright de la Asociación Americana de Dietética (American Dietetic Association). Reproducido con permiso del Journal of the American Dietetic Association 1995; 95: 215-218. (73)

### Pliegues cutáneos

Los pliegues cutáneos son medidas del tejido adiposo en la región subcutánea. La medida de los pliegues es aproximada para la grasa subcutánea. La suma de

varios pliegues obtenidos en distintas zonas da un a buena medida de la grasa subcutánea total (5, 33).

Los pliegues mas utilizados en antropometría son: Pliegue: Tricipital (PT), Bicipital (PB), Suprailíaco (PI), Subescapular (PS) y Abdominal (PA).

Los pliegues se pueden comparar con pliegues cutáneos de referencia. Esta comparación se puede determinar si el paciente esta dentro de rangos de percentil.

Se pueden utilizar en ecuaciones de cálculo que estiman la grasa corporal

- **Pliegue cutáneo tricipital (PCT)**: Es un pliegue indicativo de la reserva grasa corporal reconocido internacionalmente como el más representativo de la masa grasa del organismo.

- **Pliegue cutáneo subescapular (PCS)**: Resulta de utilidad para la estimación de la grasa corporal total. Si no es posible medir el pliegue cutáneo abdominal. En este caso se aconseja la suma de los pliegues cutáneos subescapular y tricipital porque presenta una correlación alta con la masa grasa corporal total.

- **Pliegue cutáneo abdominal (PCA)**: Resulta de utilidad para la estimación de la grasa corporal total, ya que presenta una correlación casi tan alta como la suma de los 4 pliegues corporales (tricipital, subescapular, bicipital y abdominal), especialmente en la población española.

Utilidad: comparar con los pliegues cutáneos de referencia para determinar si el individuo se encuentra en los niveles de referencia para población específica y estimar la cantidad de grasa corporal.

**Circunferencias (perímetros)** - son medidas de grasa corporal. También se utilizan para medir masa muscular total. Los lugares mas importantes de cuantificar son brazos, cintura y caderas.

Las medidas de los perímetros al igual que los pliegues se han utilizado para indicar masa grasa o masa muscular total con las reservas de proteínas como el perímetro medio del brazo y el área muscular del brazo.

**Diámetros** – este índice es importante para evaluar crecimiento y desarrollo. Para el adulto con este tipo de medición se puede determinar la complejión. Los más utilizados son: bicóndilo de fémur, biepicóndilo de húmero, biestiloide muñeca.

Otros métodos (tabla 3) para determinar la composición corporal, utilizados en casos especiales, son: densitometría hidrostática, métodos isotópicos (medición del agua corporal total, medición del potasio corporal total), métodos basados por la conductancia eléctrica (impedancia bioeléctrica BIA, conductividad eléctrica total TOBEC), métodos basados por el diagnóstico de imagen (tomografía axial computarizada TAC, ultrasonido, radiología convencional, resonancia magnética nuclear, Absorción de fotón de energía única SPA y de dos energías DPA, absorciometría de rayos X de dos energías DEXA, análisis de activación de neutrones, absorción de gas inerte en grasa corporal.

Comparación de las técnicas de estudio de la composición corporal

<i>Técnica</i>	<i>Precisión</i>	<i>Coste</i>	<i>Duración (min)</i>	<i>Dificultad</i>	<i>Peligro</i>
AAN	Muy alta	Muy alto	30	Muy alta	Irradiación
RMN	Alta?	Muy alto	30-60	Muy alta	No
Densitometría	Muy alta	Alto	20	Alta	No
DEXA	Alta	Alto	20	Alta	Irradiación
TOBEC	Alta	Muy alto	10	Baja	No
Antropometría	Baja	Bajo	5	Baja	No
NIR	Baja	Bajo	5	Baja	No
BIA	Alta	Bajo	5	Baja	No

AAN: Análisis de activación neutrónica. RMN: Resonancia nuclear magnética; DEXA: Densitometría de rayos X con doble nivel de energía. TOBEC: Conductancia eléctrica corporal total. NIR: Infrarrojo próximo. BIA: Análisis de la impedancia bioeléctrica.

Tabla 3 Técnicas de estudio de la composición corporal (7)

### **2.3.1.2. Valoración antropométrica en pacientes**

La nutrición intra-hospitalaria requiere un conocimiento interdisciplinario lo que implica numerosos profesionales de la salud en prevención o/y tratamiento.

En los pacientes se utiliza las mismas técnicas de evaluación nutricional que en población sana pero se debe tener en cuenta que la desnutrición conduce a una sucesión de alteraciones metabólicas, cambios fisiológicos, función tisular y de órganos disminuida, y pérdida de masa muscular (34). Un estrés simultáneo como el trauma, la sepsis, la inflamación acelera la pérdida de la masa tisular y la función.

Según **Sitges Serra**, la **desnutrición** es un “trastorno de la composición corporal caracterizado por un exceso de agua extracelular, un déficit de potasio y masa muscular, asociado con frecuencia a disminución del tejido graso e hipoproteïnemia, que interfiere con la respuesta normal del huésped a su enfermedad y su tratamiento ” (35)

La evaluación del estado nutricional de paciente crítico es un tema muy amplio. El médico tiene sus prioridades ante un paciente crítico, y lo primero es **salvarle la vida** y después **salvar el órgano**. Pero es preciso encontrar un método capaz de predecir si un individuo presenta un incremento en la morbilidad y mortalidad en ausencia de soporte nutricional.

Desgraciadamente, nutrición y enfermedad interaccionan de forma que la enfermedad puede provocar una desnutrición secundaria, o la desnutrición puede influir de forma adversa sobre la enfermedad subyacente (28, 36). Los médicos de la UCI deberían saber que la desnutrición puede conducir a unas complicaciones mayores (37).

En pacientes multifactoriales como los críticos, donde existen una multitud de factores que interactúan e influyen en su evolución, cualquier intento de formular las consecuencias de una situación de desnutrición en ellos, podría fracasar (6, 7).

En la teoría y en la práctica existen numerosos métodos de valoración clínica en los pacientes, como la historia clínica, la historia dietética, la anamnesis y la

exploración, la exploración física, los parámetros antropométricos, por supuesto junto con los parámetros de ingesta, bioquímicos e inmunológicos y, recientemente descrito, la nutrigenómica y la nutrigenética (38, 39, 40). En la práctica se utiliza el VSG.

Para evaluar el estado nutricional en pacientes se evaluara y los signo clínicos y físicos así como la **Evaluación Global Subjetiva** (*Subjective Global Assessment*, SGA) o valoración global subjetiva (VSG), pruebas bioquímicas e inmunológicas de laboratorio, antropométricas e índices funcionales del estado nutricional (41).

En pacientes críticos, la mayoría inconscientes, la evaluación del estado nutricional es mucho más compleja: Tabla 4:

Evaluación clínica del estado nutricional.	
Historia médica completa	Historia de peso Cambios recientes en el peso Naturaleza del cambio de peso Presencia de aversiones a alimentos Patrones de ingesta de alimentos Clasificación del apetito Náuseas y vómitos Saciedad Fácilmente saciable Limitaciones físicas Dentadura postiza Dentición escasa Dificultades de deglución Uso de medicinas alternativas Remedios con hierbas Suplementos de vitaminas Terapia quelante Hábitos intestinales Enfermedad concurrente o previa Historia familiar Apoyo social Factores socio-económicos
Examen físico completo Antropometría	Peso según altura Pruebas de pérdida de músculo y grasa Pliegues cutáneos flácidos Contornos óseos Presencia de grasa subcutánea Mejillas/nalgas hundidas Pérdida en región temporal, deltoides y cuádriceps
Evaluación de la función muscular	Fuerza prensil en las manos Pruebas de marcha Pruebas funcionales pulmonares Función del músculo cardíaco
Estatus de líquidas	Evidencia de deshidratación Hipotensión, taquicardia, piel seca Evidencia de saturación de líquidas
Evaluar deficiencias de nutrientes específicas	Erupciones Estomatitis, glositis Manchas de Bitot

Tabla 4: Fuente: Nutrición Clínica: Michael J. & col. 2004 Ed. Acribia (34)



*La Evaluación Global Subjetiva (Subjective Global Assessment, SGA)* engloba parámetros históricos sintomáticos y físicos. La base de esta evaluación es determinar si la asimilación de nutrientes ha estado restringida por una baja ingesta de nutrientes, por problemas digestivos, o por malabsorción, si se ha presentado algún tipo de efecto sobre la función de los órganos y la composición corporal derivada de la desnutrición, y si el proceso de enfermedad del paciente influye sobre los requerimientos de nutrientes (18, 34).

Se puede calcular el porcentaje de pérdida de peso para pacientes ingresados por un periodo largo de tiempo. El porcentaje de pérdida de peso corporal en los seis meses previos se clasifica como (42):

Leve (< 5%),

Moderada (5-10%)

Grave (> 10%).

Dentro del **examen físico** se evalúa la pérdida de grasa subcutánea, muscular y la presencia de edema o ascitis. Cada uno de los apartados se valora como leve, moderado o severo, y con los datos de todos ellos se clasifica a los pacientes en tres grupos:

- CATEGORÍA A: Pacientes con un adecuado estado nutricional.
- CATEGORÍA B: Pacientes bajo sospecha de malnutrición o malnutrición moderada
- CATEGORÍA C: Pacientes que presentan una malnutrición severa. (34)

El patrón de pérdida de peso también es importante. Un paciente puede ser considerado bien nutrido si el peso ha aumentado recientemente en ausencia de edema o ascitis. Siempre tenemos tener en cuenta la capacidad funcional del paciente postrado en la cama con una actividad subóptima o con capacidad completa (29).

En los pacientes de Medicina Intensiva, hay que referirse en primer lugar al patrón general de incremento del gasto energético, de las pérdidas nitrógeno y del catabolismo, junto con una situación de hiperglucemia, donde se engloban distintas situaciones que comprende la gran agresión o el estrés (sepsis, traumatismos) o

disfunción de un órgano (insuficiencia renal, insuficiencia hepática o fracaso multi-orgánico SDMO).

En personas con distintas enfermedades se puede utilizar los métodos antes mencionados (en personas sanas) pero siempre teniendo en cuenta las características de la enfermedad. El paciente crítico generalmente es un paciente encamado e inconsciente, por lo tanto la medición de los parámetros antropométricos usuales y sencillos como peso y talla es muy difícil de realizar.

En los pacientes críticos las medidas antropométricas están muy afectadas debido a alteraciones en la redistribución hídrica y de parámetros bioquímicos, a consecuencia de cambios metabólicos en los procesos de síntesis y degradación (34).

Es común la aparición de un desequilibrio en el compartimento líquido del paciente crítico (edemas o a nasarca, ascitis, efusión pleural, deshidratación, etc.), pudiendo alterar el peso sin que ello represente un trastorno en la nutrición, por lo que durante el período de repleción nutricional se aceptará un máximo de ganancia de peso de 250 g por día. Un incremento mayor significará retención anormal de líquidos.

Por lo tanto, en estos pacientes, para la medida antropométrica se emplean las formulas matemáticas de cálculo de peso y talla. Así, la evaluación de estado nutricional estará basada en la pérdida o ganancia de componentes corporales en relación con medidas previas y en relación con los valores en pacientes determinados como estandartes de normalidad (34).

Errores que se cometen:

- La reproducibilidad de las medidas.
- Elección del rango de normalidad de los valores.

#### **2.3.1.2.1. Evaluación antropométrica en paciente critico**

Para los pacientes, la valoración antropométrica se realiza utilizando las mismas técnicas que en personas sanas. Pero debemos tener en cuenta que generalmente estos pacientes son encamados e inconcientes por lo tanto el peso y la

talla se miden con dificultad, y que existe una redistribución del agua corporal, existiendo el denominado tercer espacio, en referencia a la aparición de infiltrados líquidos, edemas, en situación de inflamación sistémica que van a enmascarar resultados reales. Por lo tanto en estos casos se utilizan unas formulas de calculo estimativo.

**La talla:**

Se determina por el método de medición: longitud talón-rodilla. Se coloca el extremo fijo en la planta del pie bajo el talón izquierdo y la base deslizable en la superficie anterior del muslo, encima de los cóndilos del fémur muy próximo a la rótula. Los ángulos formados por el muslo-pierna y por la pierna-pié al flexionar la pierna izquierda, deberá ser de 90°.

La medición se realizará tres veces y el valor expresado corresponderá al promedio de ellas. El cálculo de la talla se realiza utilizando las siguientes formulas:

$$\text{Hombres: } (2.02 \times \text{LR}) - (0,04 \times \text{Edad años}) + 64,1$$

$$\text{Mujeres: } (1.83 \times \text{LR}) - (0.24 \times \text{Edad años}) + 84,8$$

Longitud/talla –se puede identificar una pérdida de masa conforme un peso muy bajo en relación con una altura determinada. El inconveniente es que se puede clasificar como normal un escaso crecimiento lineal si el peso es apropiado para la altura.

**El peso:**

El peso corporal puede ser un índice de desnutrición aguda. El peso se puede comparar con el peso ideal o deseable. Se puede calcular a partir de la fórmula Hamwi o tablas.

Método de Hamwi o “regla del pulgar”

P.I: Mujeres: 45,5 Kg para los primeros 1,52 m. Adicionar 0,9 Kg. por cada 2,54cm por encima de los 1,52 m.

P.I: Hombres: 48,1 Kg para los primeros 1, 52 m. Adicionar 1,1 Kg. por cada 2,54 cm por encima de los 1,52 m.

Disminuir 10% si la contextura es pequeña

Adicionar un 10% si la contextura es grande.

Para determinar el peso ideal o deseable es más difícil en personas enfermas por no existir tablas de referencia para distintas enfermedades (1), por lo tanto las tablas se refieren a las personas sanas. Una de las más utilizadas es la tabla editada por la compañía norteamericana "Metropolitan life insurance" que determina el peso para una altura determinada en población sana donde se eliminaron las personas con cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc. Por lo tanto, es muy difícil de determinar el porcentaje del peso ideal PPI (anteriormente presentado) por no existir las tablas específicas. En España se utilizan las tablas de referencia para la altura (5) (Anexo 2).

Una pérdida de peso mayor del 10% constituye un buen indicador pronóstico del resultado clínico. Pero siempre se debe tener en cuenta la situación de enfermedad y la presencia de edemas, de ascitis o de crecimiento masivo de un tumor, así como la edad del paciente. En esta situación se puede enmascarar una pérdida de peso subyacente y se requiere una evaluación adicional en la evaluación del estado nutricional.

<b>Clasificación de riesgo en la salud según el índice de masa corporal (IMC).</b>		
<b>Clasificación</b>	<b>Categoría de IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Riesgo de desarrollar problemas de salud</b>
<b>Peso bajo</b>	<18,5	Aumentado
<b>Peso normal</b>	18,5-24,9	Mínimo
<b>Sobrepeso</b>	25,0-29,9	Aumentado
<b>Obeso clase I</b>	30,0- 34,9	Alto
<b>Obeso clase II</b>	35,0-39,9	Muy alto
<b>Obeso clase III</b>	>40	Extremadamente alto

Tabla 5. Fuente: Nutrición clínica: Michael J. & col. 2004 Ed. Acribia. Clasificaciones según el IMC según el Health Canadá (2003). Reproducido con permiso del Minister of Public Works and Government Services Canadá 2004. Estos valores son aplicables en países desarrollados pero pueden no serlo en países en vías de desarrollo

Tanto la talla como el peso son medidas importantes para calcular el IMC. El IMC puede indicar el riesgo de desarrollar problemas de salud. En la tabla 5, se puede observar cómo un IMC de 14-15 se asocia con una mortalidad significativa para diferentes grupos de enfermos (34).

**Los pliegues:** El grosor de los pliegues cutáneos proporciona una estimación del depósito de grasa subcutáneo y así se puede estimar la cantidad de grasa corporal. Este tipo de medidas proporciona información relativa de grasa y de tejido magro. Para eso las zonas de determinar son: tríceps, bíceps, subescapular, suprailíaca y axilar media. Una vez determinada la grasa se puede evaluar la masa magra. La realización es igual que en personas sanas.

Las **circunferencias** y **diámetros** se realizan igual que en personas sanas. A nivel hospitalario, la medida de la circunferencia del brazo es muy útil por su facilidad y rapidez de determinación.

Un índice muy interesante es la **relación cintura-cadera** que es la circunferencia de la cintura dividida por la circunferencia de la cadera, se ha utilizado para evaluar la distribución de la grasa corporal. Una relación cintura cadera  $>1$  para hombres y  $>0,8$  para mujeres sugiere un incremento del riesgo de complicaciones cardiovasculares y muerte asociada (34).

Por lo tanto en pacientes de la UCI y con enfermedades renales y hepáticas donde el edema constituye un problema importante a la hora de evaluar la circunferencia del brazo y los pliegues cutáneos. En pacientes críticos un problema principal es de separar los efectos de malnutrición de los efectos de la enfermedad.

En las Unidades de Cuidados Críticos los pacientes presentan estados hipermetabólicos y catabólicos intensos, y un grado elevado de estrés: quirúrgicos, térmico, traumáticos o sépticos. La provisión correcta y oportuna de energía y nutrientes puede salvarles la vida. La mayoría de las indicaciones dietéticas actuales solo expresan conceptos generales y por ello casi siempre carecen de sentido, pues se diseñan mediante estandarizaciones sin tener en cuenta aspectos individuales del paciente (43).

Teniendo en cuenta que en el enfermo crítico la antropometría tiene menos valor por estados de expansión, deshidratación, edemas de diferentes etiologías, dificultad para pesar y tallar dada la gravedad, los parámetros bioquímicos e inmunológicos juegan un papel de mayor relevancia, al ser más sensibles (44, 45)

Un estudio de Acosta Escribano et al. (2005) indica que no existen parámetros fiables para la valoración del estado nutricional en estos pacientes (8).

El peso en caso de los pacientes crónicos es un parámetro poco útil pero se ha determinado que si los pacientes pierden 10% del peso se aumenta la morbilidad y si es de un 30% la muerte es inminente. La circunferencia del brazo puede predecir complicaciones mayores y la mortalidad; pero otras medidas antropométricas no son tan utilizadas (34)

Pero la antropometría es solo el primer paso en la evaluación nutricional.

### **2.3.1.3. Equipo Instrumental para medidas antropométricas en sanos y enfermos**

Cintas Antropométricas: Cinta no extensible, flexible, no más ancha de 7mm, calibrada en centímetros, con graduaciones en milímetros, con un espacio en blanco de al menos 3 cm antes de la línea de registro del cero.

Tallmetro Para medir la estatura y la altura sentado, puede estar fijo a una pared y utilizarse junto con una escuadra móvil en ángulo recto de 6 cm de ancho. Debe tener un rango mínimo de medición de 60 a 210 cm. La precisión de medición necesaria es de 0.1cm.

Balanza: Mecánica con pesas o electrónica con célula de carga, precisión de 100g.

Calibres para pliegues: Calibres tipo *Harpender* o *Holtain limited* con resolución de 0.1mm y con una compresión de 10 g/mm<sup>2</sup>. Se pueden utilizar calibres plásticos (*Slimguide*, *FAGA*), más económicos, con una resolución de 0.5mm.

Segmómetro: Cinta de acero con dos ramas rectas de aproximadamente 7cm de longitud cada una. Se utiliza para medir longitudes segmentarios directamente.

Calibre de ramas largas: Con dos ramas rectas que permiten las mediciones de grandes diámetros óseos, ramas adheridas a una regla rígida de metal.

Calibre de ramas cortas: Para los diámetros del húmero y del fémur, con resolución de 0,1mm.

Caja antropométrica: Cubo de 40 cm de lado. Posee un corte en una de las caras de la caja para permitir que los pies se coloquen por debajo de la caja durante la medición de la altura ileoespinal y trocantérea, a la altura medida desde la caja a la referencia anatómica se le suma la altura de la caja (5,33).

#### **2.3.1.4. Ventajas de la exploración antropométrica**

Entre ellas se incluyen las siguientes:

- a) Los procedimientos son sencillos, seguros, simples y no invasores y se puede practicar a la cabecera del enfermo.
- b) El equipo necesario es barato, portátil y duradero; es fácil su adquisición.
- c) El personal con poca preparación puede realizar un buen trabajo.
- d) Los métodos son precisos y exactos, si se utilizan de acuerdo a las normas estándares.
- e) Proporcionan información sobre hechos pasados, lo que no suele ser frecuente con otras técnicas.
- f) Las mediciones pueden ayudar en la identificación de casos de malnutrición ligera o moderada, así como en los graves.

g) El método permite valorar cambios del estado nutricional en el tiempo, entre individuo y poblaciones, y de una generación a otra.

### **2.3.2. Valoración de la ingesta**

#### **2.3.2.1. Necesidad de la evaluación de la ingesta en la evaluación del estado nutricional**

La importancia de la nutrición dentro de la medicina preventiva, así como de la curativa, hace que cada día sea más importante poder evaluar cuál es la condición nutricional de un individuo o de un colectivo. Ahora bien, aunque todos los individuos o grupos pueden ser susceptibles de evaluación nutricional, es en los más vulnerables donde está más recomendable hacerla.

Entre los grupos más vulnerables, tenemos los grupos en los que por la etapa fisiológica de la vida en la que se encuentran, están aumentados los requerimientos nutricionales, como en el crecimiento y la lactación, o en la vejez, donde se ha perdido parte de la capacidad de regulación homeostática (46, 47).

También, se pueden incluir como vulnerables desde el punto de vista nutricional los individuos con determinados procesos patológicos que inciden claramente en las demandas nutricionales. Entre ellos tenemos los que afectan a la ingesta de nutrientes (anorexia), a la utilización digestiva (síndrome de malabsorción), a la utilización metabólica (hipercatabólicos) o a la función renal (síndrome nefrótico).

Por último, son grupos vulnerables los que están en situación socio-económico- educativa baja en los cuales se engloban desde los que pertenecen al mundo pobre, hasta grupos como la tercera edad, que son marginados en sociedades socio- económicamente desarrolladas.

En cualquiera de los grupos mencionados anteriormente la evaluación tiene utilidad en la prevención, en el diagnóstico, y en el pronóstico y recuperación de la enfermedad. Es en ellos en los que la evaluación del estado nutricional adquiere un mayor protagonismo (48, 49).



En función de lo dicho en el apartado anterior, cualquier colectivo es tributario de evaluación del estado nutricional, desde un individuo concreto hasta un colectivo más o menos amplio. De hecho, cada día es más frecuente en la anamnesis esta evaluación.

Dentro de los colectivos, la evaluación se puede llevar a cabo a nivel de la población general, como se ha hecho en España o en diversas comunidades autónomas, o en colectivos concretos. (50). Así, es frecuente llevar a cabo estudios con lactantes, adolescentes, ancianos, gestantes, pacientes, etc (51, 52, 53, 54, 55).

Conocer cuál es la situación nutricional de los distintos grupos poblacionales es fundamental de cara a distintas intervenciones en materia de salud pública, permitiendo tomar medidas políticas adecuadas, que vayan desde la educación nutricional hasta la política alimentaria (56).

Atención especial merece la evaluación nutricional a nivel hospitalario aunque es a este nivel donde cada paciente exige una valoración personalizada, existiendo limitaciones obvias de coste económico y tiempo. En este caso, el clínico debe decidir cuáles son las mínimas determinaciones que tendrán que hacerse en función de las citadas limitaciones, además de otras que puedan presentarse (5, 29).

#### **2.3.2.2. Determinación de la ingesta de nutrientes**

- Si la determinación de la ingesta se lleva a cabo por pesada de alimentos, y análisis químico de los mismos, el grado de pérdida es grande. Si se hace mediante encuestas de cualquier tipo y cálculo de los nutrientes ingeridos mediante tabla de composición de alimentos, existe peligro de imprecisión (48).

- En estados avanzados, especialmente si la magnitud de la deficiencia es grande, mas que si es pequeña y prolongada en el tiempo. Pero también es cierto que, a medida que nos situamos en el estadio más avanzado, existen otros métodos más concluyentes (57,58).

- En pacientes hospitalizados existen un control sobre la ingesta de nutrientes pero de debe tener en cuenta las causas externas que pueden modificar ingesta (comida llevada de casa). En pacientes que reciben nutrición enteral y/o parenteral la valoración de la ingesta es más fácil, pero en este caso la interpretación es difícil por no encontrar tablas de RDA específicas para cada enfermedad (19)

### **2.3.2.3. Determinación de la ingesta en un individuo sano**

Determinación de la ingesta actual

Determinación en pasado

Otros métodos

#### **2.3.2.3.1. Determinación de la ingesta actual de nutrientes**

En prácticamente todos los casos en que se desea establecer la evaluación del estado nutricional, se necesita conocer la ingesta de nutrientes. Se hace una determinación de ingesta de alimentos y después mediante las tablas de composición de los alimentos se pueden estimar la ingesta nutricional (5, 59, 60, 61).

En diversas ocasiones es interesante conocer los alimentos ingeridos para poder establecer relaciones entre consumo de un alimento o un grupo de alimentos o determinados nutrientes con algún aspecto positivo o negativo con la salud del individuo (62).

Aspectos positivos:

- Se puede determinar la ingesta de alimentos consumidos o más exacto con la análisis químico de los alimentos pero es más costoso y más habitual es utilizar las tablas de consumo de alimentos.

Existen limitaciones:

- Realización de la encuesta - es difícil estimar con exactitud tamaño de las raciones, y exponer todos los ingredientes.

- La propia imprecisión de las tablas de los alimentos.
- Los nutrientes se comparan con la ingesta recomendada. Cada individuo es único, y para una mayor precisión es necesaria una valoración bioquímica.

#### Métodos de determinación

Las técnicas que se emplean en la actualidad para determinar la ingesta actual de alimentos son:

- Determinación de la ingesta actual de nutrientes
- Registro de los alimentos
- Mediante pesada de los alimentos
- Estimación de los alimentos ingeridos

#### Aspectos positivos:

- No es necesario memorizar todo que el individuo ha ingerido.
- Se pueden medir las cantidades ingeridas.
- El olvido de un alimento es mínimo.
- Con el registro de varios días puedes determinar la frecuencia de consumo de alimentos.

#### Aspectos negativos:

- El sujeto debe tener una cultura mínima para que pueda confeccionarse su registro.
- Es difícil cuando el registro es confeccionado por el sujeto y debe intervenir un encuestador.
- Los alimentos correspondientes a comidas fuera de casa pueden no ser registrados.
- La molestia que supone al sujeto cuando es un registro de varios días.
- El registro de un día no es suficiente porque no dan una información adecuada de ingesta habitual.
- El método de estimación es subjetivo.
- Generalmente, los hombres son menos precisos que las mujeres (5).

### **2.3.2.3.2. Determinación de la ingesta de nutrientes en el pasado**

Recordatorio de 24 horas.

Frecuencia de alimentos

Historia dietética

#### **Recordatorio de 24 horas**

Consiste en preguntar al sujeto sobre los alimentos consumidos, incluida el agua, durante el periodo de 24 horas anteriores.

También se puede hacer determinar la ingesta en el día inmediatamente anterior de la encuesta. Periodo de tiempo encuestado es 24 horas pero se puede hacer y en periodo más largo de 7 días o de un año – en cada 2 meses para que se obtenga ingesta habitual. Es necesario cumplir un cuestionario cual se puede hacer personalmente o por vía telefónica.

Aspectos positivos:

- La responsabilidad de sujeto es mínima.
- La cumplimentación de encuesta es mínima.
- La necesidad de memorizar es mínima.
- El periodo de tiempo es limitado.
- La intervención del investigador permite evitar la omisión de alimentos.
- Se puede utilizar con personas sin estudios.
- Se utiliza especialmente para evaluar ingesta alimentarias de poblaciones.

Aspectos negativos:

- El tamaño de la porción comestible es difícil de determinar
- La ingesta tiende a ser subestimada
- Se necesitan entrevistadores entrenados
- En población infantil y de los ancianos es difícil de aplicar (5).

### **Frecuencia de los alimentos**

Es un método directo de estimación de la ingesta de un formato estructurado. Los alimentos son sistematizados por grupos y también por veces en el tiempo. Se utiliza más en estudios epidemiológicos nutricionales. El tiempo entrevistado es grande. Se hace con encuestador.

#### Aspectos positivos:

- Se puede obtener una información aceptable de la ingesta.
- No requiere entrevistadores entrenados.
- La cumplimentación de cuestionarios es bastante fácil.
- No se afectan los hábitos alimentarios.
- Los individuos se pueden distribuir o clasificar según la ingesta de los alimentos
- Bajo coste económico.

#### Aspectos negativos:

- Se requiere memorizar hábitos alimentarios del pasado.
- La cuantificación de la ingesta es difícil de realizar.
- Baja precisión al cuantificar la ingesta.
- El recuerdo de la dieta del pasado puede verse influida por la dieta actual.
- La ingesta tiende a ser sobreestimada.
- No es útil en individuos analfabetos, niños y ancianos.
- Es difícil la validación de la técnica.
- Es poco válido para determinar ingesta de vitaminas y minerales.

### **Historia dietética**

Se utiliza para estimar la dieta habitual del pasado durante un periodo de tiempo definido. Puede ser una combinación de los tres métodos: recordatorio de 24 horas, frecuencia de alimentos e historia dietética. El periodo de tiempo puede ser de una semana hasta un año.

Aspectos positivos:

- Es un método que evalúa la ingesta del pasado
- Se pueden detectar enfermedades que se desarrollan en el tiempo
- Se puede incluir la dieta total o solamente un conjunto de alimentos.

Aspectos negativos:

- Los entrevistadores deben ser entrenados.
- El periodo de recuerdo es difícil de establecer.
- Los sujetos debe mostrar un alto grado de cooperación.
- La cumplimentación de la encuesta requiere tiempo (5, 50).

#### **2.3.2.3.3. Otros métodos:**

La determinación de la ingesta alimentaria se puede realizar también mediante encuestas de motivación, preferencias, aversiones alimentarias y perfiles de simbolismo alimentario. Con los cuestionarios de evaluación rápida: se estudia el riesgo de ingesta inadecuada y se utiliza especialmente en atención primaria. Se emplea con gran precisión en ancianos (5).

#### **2.3.2.4. En pacientes críticos.**

Hay evidencias que demuestran que existe malnutrición hospitalaria con una prevalencia del 40 - 50% (M). La malnutrición supone un riesgo de morbilidad y mortalidad, por eso se debe introducir una ingesta adecuada de nutrientes junto con la terapia médica. Valorar la ingesta de nutrientes es muy importante en los pacientes hospitalizados, en el que se debe realizar según la enfermedad, mediante un tratamiento nutricional adecuado a las recomendaciones y a la situación (34, 63, 64, 65, 66).

En caso de pacientes con ingesta normal oral, la valoración nutricional puede utilizar los mismos métodos que en individuo sano, donde se puede evaluar la ingesta de alimentos actual o en pasado una vez ingresado.

Aspectos positivos:

- La evaluación es mas precisa al saberse la cantidad exacta.
- El paciente recibe sólo la dieta prescrita.

Aspectos negativos

- Algunas interferencias entre medicamento y nutriente.
- En caso de pacientes conscientes, la familia puede traer alimentos que no fueron recomendados.

Los pacientes que no reciben una ingesta oral normal por padecer diferentes enfermedades, el personal de sanitario utiliza los protocolos existentes de nutrición artificial enteral y/o parenteral, pudiendo usar y una dieta ligera.

Los pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos (UCI) reciben en general nutrición artificial enteral y/o parenteral. El soporte nutricional está indicado cuando la nutrición oral no es tolerada o es inadecuada y no cubra los requerimientos energético-proteicos del paciente en algún momento y según el estado nutricional previo del paciente, el pronóstico y tratamiento de la enfermedad primaria, y según la duración estimada del soporte nutricional (67, 68, 69).

Ej. En pacientes con problemas intestinales como el síndrome de intestino corto, deben ser capaces de tolerar y absorber cantidades suficientes de nutrientes para cubrir las necesidades. La nutrición enteral puede evitar la necesidad de nutrición parenteral, que es menos fisiológica, más cara y a menudo se asocia con un mayor número de complicaciones serias (70, 71).

Dadas las características del paciente crítico hay una gran dificultad en la indicación de recomendaciones nutricionales a administrar en el soporte nutricional, tanto por la indicación del propio soporte nutricional, como por el tipo de nutrientes que

deben ser aplicados o la vía de administración del soporte nutricional. Por lo tanto, muchas veces no se conoce cual es mejor momento de iniciación de la nutrición artificial (68, 69, 72).

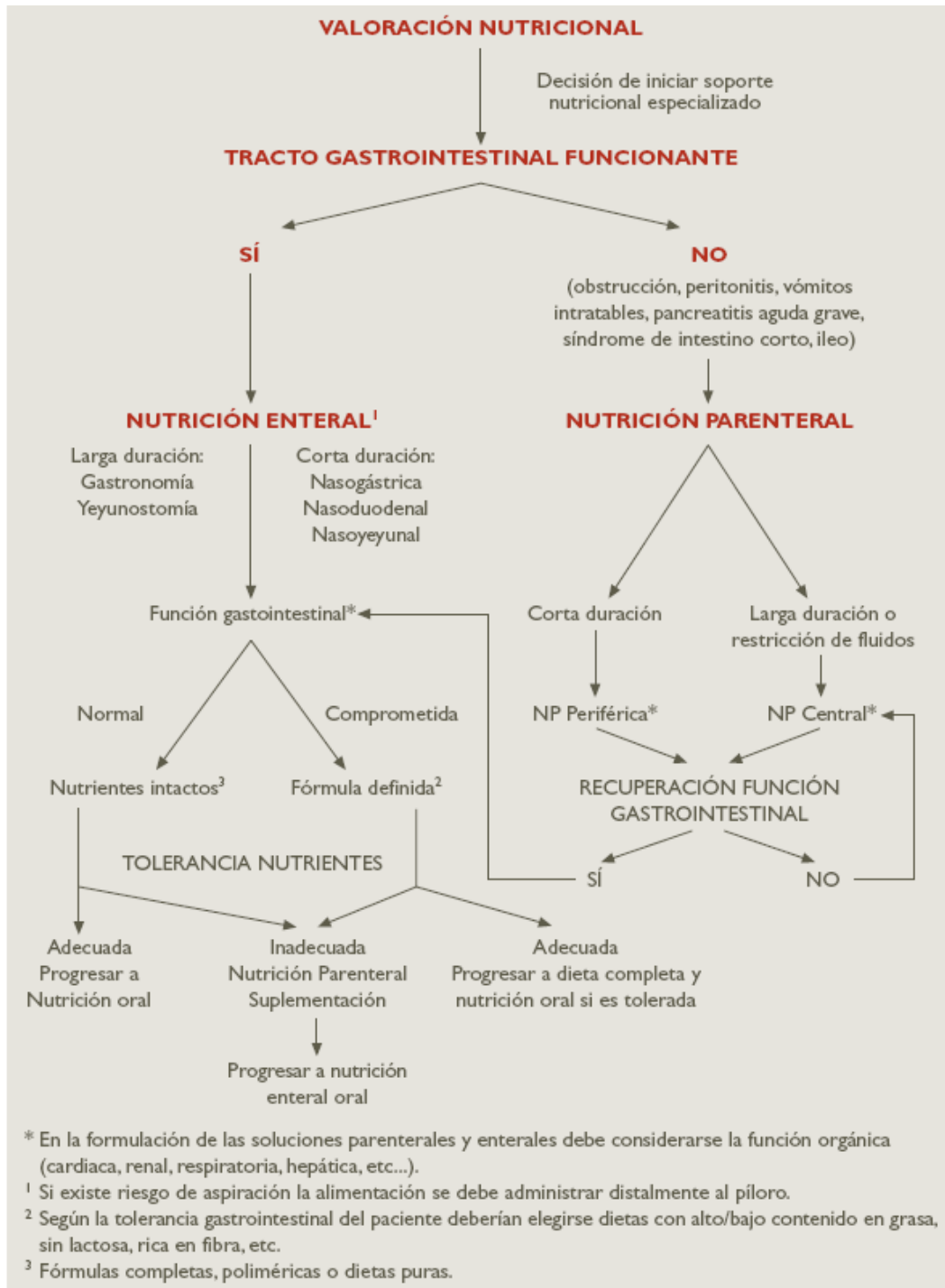


Figura 6. Algoritmo de decisión clínica: Ruta del soporte nutricional (65)



El metabolismo del paciente crítico sufre una serie de alteraciones ya que implica el mantenimiento del equilibrio de numerosos sistemas de regulación. Este proceso transcurre durante fases de estrés catabólico y anabólico.

La nutrición enteral o parenteral se puede asociar con inconvenientes como las sensaciones anormales de apetito. Aunque la falta de apetito es típica durante la enfermedad aguda, algunos pacientes con enfermedad inflamatoria que están con nutrición artificial a largo plazo pueden tener hambre y desear de comer incluso cuando se suministran suficientes cantidades de nutrientes por sonda nasogástrica o por catéter en vena (34, 73).

Estas sensaciones pueden deberse a la provisión de líquidos, más que alimentos sólidos, a no emplear parte del tubo digestivo (alimentación gástrica) o la totalidad del intestino (nutrición parenteral), o a la falta o reducción de la distensión gástrica.

También pueden ser el resultado de respuesta psicológica. Se ha observado que en caso de una ingesta normal de alimentos en nutrición enteral o parenteral las respuestas hormonales están atenuadas o ausentes. El significado clínico no está totalmente claro (34, 74, 75).

Existen protocolos de actuación y algoritmos (figura 6) para determinar qué tipo de nutrición artificial es necesario aplicar (76, 77). Generalmente las sociedades internacionales determinan el algoritmo de actuación o se realiza en hospital del personal especializado.

En el siguiente cuadro se describen diferentes tratamientos nutricionales en casos patológicos graves y sus consecuencias.

1 Trauma: Pacientes politraumatizados alimentados por dieta NE tenían menores complicaciones que aquellos alimentados por dieta NPT, pero no está claro si proveen algún beneficio específico. En cambio, un soporte nutricional agresivo en pacientes con severo trauma craneal se asocia a un resultado clínico más favorable.

2 Sepsis/SRIS/FOM: Un ensayo clínico no encontró diferencia significativa entre alimentación equivalente enteral o parenteral.

3 Injuria Térmica: No existen diferencias en sobrevida entre alimentación parenteral con aminoácidos versus al aporte sólo de glucosa. En pacientes que lo toleran, la alimentación enteral tuvo menor mortalidad que aquellos con suplementación parenteral.

4 Injuria Pulmonar Aguda: Aunque se recomienda una ingesta rica en lípidos y pobre en carbohidratos, solo un ensayo clínico mostró un beneficio al respecto.

5 Fallo Renal Agudo: Sólo estudiado en la forma de NPT. Un estudio encontró mejoría de la sobrevida comparando alimentación con aminoácidos y glucosa frente a glucosa solamente.

### **Soporte nutricional perioperatorio**

Este soporte se emplea antes y después de ser operados. Diferentes estudios muestran resultados:

A) Preoperatorio: La mayoría de los estudios se efectuó en pacientes con cáncer gastrointestinal. La NPT en pacientes malnutridos, 7 a 10 días antes de la cirugía, disminuía las complicaciones postoperatorias en un 10 %. Resultados favorables también se observaron con la nutrición enteral en pacientes de similares características.

B) Postoperatorio: Al contrario del caso anterior, los resultados indican que la NPT postoperatoria significa un aumento de las complicaciones en aproximadamente un 10 %. La alimentación enteral en casos similares no mostró diferencias significativas en morbimortalidad.

(78, 79, 80)

El soporte nutricional postoperatorio es necesario para pacientes incapaces de comer por períodos largos después de la cirugía. En pacientes críticamente enfermos,

la pérdida de masa magra que ocurre (20 a 40 g de nitrógeno por día) sugiere que la depleción crítica ocurre después de 14 días de inanición. Por lo tanto la asistencia nutricional debe iniciarse en pacientes que no se espere que reinicien la alimentación oral en 7 a 10 días. (80, 81)

#### **2.3.2.4.1. Nutrición enteral (NE)**

La nutrición artificial se utiliza para satisfacer los requerimientos nutricionales o, si está contraindicado debido a disfagia, obstrucción o falta de consciencia, el médico o personal especializado puede insertar el uso de la nutrición enteral por sonda (NES). (18, 81, 82).

La nutrición enteral se puede usar en casos:

- Enfermos con problemas de deglución
- Enfermos con alteraciones oro-faringe-laringe
- Fístulas esofágico-gástricas, pancreáticas, yeyunal, ileal y colónica.
- Síndromes de malabsorción.
- Trastornos de la motilidad
- Enfermos que realizan una ingesta insuficiente
- Postoperatorio de cirugía esófago-gástrico-pancreática
- Los pacientes con un tracto gastrointestinal funcional con el que, o no pueden, o no podrán, o no deberían comer, son los candidatos para el soporte nutricional mediante nutrición enteral por sonda.

Las contraindicaciones de la NE se presentan cuando los pacientes tienen obstrucción intestinal distal, fístulas de alto débito, sangrado GI, isquemia intestinal, fístulas de alto débito o enterostomía, que estimulan la secreción de fluidos GI. En los pacientes con isquemia intestinal, debe evitarse la estimulación enteral porque el alimento no puede absorberse y puede incrementar la aparición de isquemia.

La NE debe evitarse también en pacientes con sangrado GI activo y únicamente debe iniciarse el soporte nutricional una vez que el paciente se encuentre hemodinámicamente estable (34, 70, 83).

Otras contraindicaciones para la colocación de sondas son las alteraciones de la coagulación, neoplasias en el estómago, obesidad mórbida, varices gástricas, etc. (34).

Las vías de alimentación varían en función de las características individuales de cada paciente. Las sondas son:

- Sonda nasogástrica (hasta el estómago),
- Nasoduodenal (hasta el duodeno),
- Sonda nasoyeyunal (hasta el yeyuno)
- Enterostomía (gastrostomía o yeyunostomía). (18, 84)

Estos tipos de sondas se utilizan para periodos cortos de 6- 8 semanas. Cuando la duración de la NE es prolongada, es recomendable colocar una sonda de enterostomía. Este tipo de sonda es más agresiva, ya se debe atravesar la pared abdominal (34, 85).

El tiempo de aplicación de la NE depende de las necesidades del paciente, de la tolerancia, así como de la práctica. Habitualmente los pacientes se alimenta durante aproximadamente 20 horas dejando 4 horas de descanso para permitir que la acidez gástrica vuelva a la normalidad. En las situaciones en las que un paciente adulto presenta nutrición enteral estable, la nutrición puede administrarse a una velocidad de hasta 200 ml/ hora utilizando bombas de infusión o en forma de bolo (86, 87, 88, 89, 90).

La NE se elige por ser la vía más fisiológica, la menos traumática, *presenta* menos complicaciones (*fácil de preparar, administrar y controlar*), y es más barata (86, 87).

Clasificaciones de las dietas enterales:

- Preparados poliméricos
- Preparados oligoméricos (pre-digeridos)
- Preparados elementales
- Preparados especiales
- Suplementos y módulos nutricionales.

La elección de un preparado de NE depende de las necesidades de cada paciente siempre se debe tener en cuenta los requerimientos en función de enfermedad. En junta directiva de la ASPEN (2002), se revisó la utilización de fórmulas enterales para patologías específicas (1, 91).

Por ejemplo:

- Capacidad de absorción alterada - se utilizan fórmulas a base de péptidos y aminoácidos
- Deficiencia de lactosa – se utilizan formulas a base de soja
- Estrés metabólico – utilizar formulas ricas en proteínas
- Restricción líquida – utilizar fórmulas concentradas
- Restricción electrolítica - se utilizan fórmulas de bajo contenido en electrolitos
- Requerimiento alto de fluidos – se utilizan fórmulas estándar mas agua extra (34).

Las complicaciones de las dietas enterales pueden ser: obstrucción de la sonda, desplazamiento de la sonda, irritación de nariz, garganta y esófago, náuseas y vómitos, aspiración, estreñimiento, diarrea, deshidratación, hiper/hipoglucemia, alteraciones en los niveles séricos de electrolitos y deficiencia de nutrientes esenciales.

Un aspecto muy importante que el personal de la salud debe tener en cuenta es la interacción entre los fármacos y nutrientes. En caso de los pacientes que no pueden tomar la medicación por vía oral es necesario administrar las medicinas a través de sonda de alimentación. Los fármacos se recomienda administrarlos con el estomago vacío en los descansos de la nutrición enteral. Solo las medicinas que se absorben mejor junto con los alimentos o que provocan las irritaciones gástricas, se administran junto con la nutrición (18).

No se recomienda adicionar fármacos a la NE por el riesgo de contaminación y/o efecto que el fármaco puede inducir en las características físicas de la nutrición enteral (34).

Las fórmulas enterales deben estar inscritas en el registro sanitario de alimentos como “Alimentos para Usos Médicos Especiales”. Mediante la N.E. (nutrición enteral) además de conseguir un correcto estado nutricional (prevención de la malnutrición y/o corrección de ésta cuando se produzca), podemos preservar la integridad anatómica y funcional del intestino, o modular respuestas inflamatorias en situaciones de agresión (87).

Los requerimientos en caso de la NE son iguales o algo superiores a la población sana, ya que se utilizan vías normales de entrada de los alimentos, siendo un poco superiores a las RDA debido a que el metabolismo se ve intensificado por la enfermedad (1, 59, 61, 91, 101, 103).

#### **2.3.2.4.2. Nutrición parenteral (NP)**

Definimos la nutrición parenteral (NP) como el aporte de nutrientes por vía venosa. La NP se utiliza para prestar soporte nutricional cuando la vía oral o enteral no puede utilizarse (18, 92, 93, 94, 95) (véase algoritmo figura 6).

La nutrición parenteral está indicada en:

- Mucositis secundaria a quimioterapia
- Una minoría de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal en los que la NE ha fallado para prevenir o revertir la desnutrición (por ej., mal absorción severa)
- Pacientes con fallo multiorgánico en los que los requerimientos nutricionales no pueden alcanzarse únicamente por vía enteral
- Atresia intestinal
- Enteritis secundaria a irradiación
- Alteraciones de la motilidad como esclerodermia o síndrome de pseudobstrucción intestinal idiopática crónica
- Síndrome de intestino corto intenso de cualquier etiología
- Otra indicación del soporte parenteral son las fístulas enterocutáneas, especialmente las fístulas de alto débito, las cuales están a menudo localizadas en la zona proximal del intestino delgado. La localización proximal de estas fístulas (el yeyuno, por ejemplo) no permite una adecuada absorción de los nutrientes (34).

La NP tiene contraindicaciones:

- En pacientes con inestabilidad hemodinámica
- En pacientes con alteraciones de coagulación incrementando riesgo de sangrando
- Dificultad de utilizar el tracto digestivo (34, 96)

Las complicaciones asociadas a la nutrición parenteral pueden ser mecánicas, metabólicas o infecciosas.

La complicación infecciosa más frecuente de la NP es la sepsis asociada al catéter. La incidencia varía del 12% al 25% (97).

La NP es administrada en pacientes se encuentran a menudo en una situación crítica o inmunodeprimidos. Los pacientes que reciben NP deben monitorizarse cuidadosamente (98, 99).

Siempre se debe tener en cuenta el riesgo de infección entre catéteres de una o de varias vías. Otros factores que pueden contribuir a la sepsis por catéter son la inserción del catéter, la salida de solución parenteral, las propiedades trombo-génicas del catéter, las características relacionadas con la textura del catéter y la tendencia a la adherencia plaquetaria (34, 100).

Las soluciones de NP son fórmulas complejas que incluyen macronutrientes y micronutrientes (glucosa, aminoácidos, triglicéridos, electrolitos, vitaminas y elementos traza) (1, 91, 101).

Algunos hospitales dispensan soluciones parenterales preparadas en el propio hospital (102). La administración de la NP puede ser por vía central (NPT) y vía periférica (NPP) (34).

En 1998 la Sociedad Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (ASPEN) desarrolló unas guías de buena práctica para la formulación de dietas parenterales. En la preparación de dichas soluciones es muy importante controlar la contaminación fúngica y bacteriana, utilizándose cámara de flujo laminar y personal preparado, y poner a cabo análisis microbiológicos en la nutrición preparada (35, 63).

Los requerimientos vitamínicos y minerales para la nutrición parenteral están descritos de Asociación Médica Americana, 1979; Registro Federal, 2000, ASPEN, ESPEN, CSPEN (1, 34, 91, 101).

En la actualidad no existe una indicación absoluta de nutrición artificial (NA) en la sepsis. Las indicaciones actuales exigen que la nutrición artificial se deba empezar cuanto antes en las primeras 24 – 72 horas. Todo esto tiene la finalidad de de que el paciente no sufra otra complicación por la desnutrición, debiendo ser indicada de manera precoz (34, 104).

#### **2.3.2.4.3. Requerimientos y recomendaciones nutricionales**

Los requerimientos y las recomendaciones se aplican a todos los grupos de población. Para ello, se utilizan las tablas de recomendación establecidas (tabla 6).

**Los requerimientos de energía** en población sana dependen del tipo de actividad y de la edad. Para ello existen tablas y programas informáticos que la pueden determinar (3, 5, 105, 106).

En caso de los pacientes las recomendaciones son distintas. Las sociedades internacionales han elaborado guías de recomendaciones (91, 101).

En pacientes, la ESPEN recomienda que en fase aguda de la enfermedad no se exceda de 25 -20 kcal/kg/día, durante la fase de recuperación anabólica debe ser 25 – 30 kcal/kg/día, y en pacientes con desnutrición severa se debe aportar NE con mas de 30 kcal/kg/día, y si no se alcanza, se suplementa con NP.

**Los requerimientos de proteínas** son de 15-20 % del aporte calórico total, con las recomendaciones estándar de 0.8 g/ kg/día. En sanos, los requerimientos son entre 47 – 56 g /día. En pacientes críticos se debe iniciar con aportes de 1,2 – 1,5 g/ kg/día controlando el balance nitrogenado y ajustando los cambios de urea plasmática.



Los requerimientos de lípidos son de 20-30 % del porcentaje de la energía (10-20 % monoinsaturadas, 7-10 % saturadas, 8-10 % poliinsaturadas). En pacientes se deben aportar hasta 40 % del aporte calórico. La cantidad mínima sería de 1g/kg/día, y no se excede de 2g/kg/día. El aporte de lípidos debe suspenderse si los niveles plasmáticos son superiores a 400 mg/dl. Los ácidos grasos esenciales son muy importantes, debiéndose aportar al menos un 2% de las calorías en forma de ácido linoleico y el 0,5 % como ácido linolénico.

Requerimientos	Sanos	Pacientes																																																																								
<b>Energía</b>	Tablas de recomendaciones	fase aguda 25 -20 kcal/kg/día, fase de recuperación 25 – 30 kcal/kg/día pacientes con desnutrición severa deben recibir NE con mas de 30 kcal/kg/día y si no se alcanza se suplementa con NP.																																																																								
<b>proteínas</b>	15-20% del aporte calórico total recomendaciones estándar de 0.8 g/ kg/día	No se recomienda aportes muy elevados - se debe iniciar con aportes de 1,2 – 1,5 g/ kg/día																																																																								
<b>lípidos</b>	20-30 % del porcentaje de la energía	hasta 40 % del aporte calórico; 1g/kg/ día, y no se excede de 2g/kg/ día																																																																								
<b>hidratos de carbono</b>	55- 65% del porcentaje de la energía	50 – 70 % de las calorías no proteicas máximo debe ser de 5g/kg/día																																																																								
<b>Vitaminas</b>	Tablas	Fig A.																																																																								
<b>Minerales</b>	Tablas	Fig B																																																																								
<b>Fluidos</b>	Hombre joven atlético adulto 40 ml/kg/día Mayoría de los adultos 35 ml/kg/día																																																																									
<b>Electrolitos</b>	Tablas	Na – 1-3 mEq/kg/día ; K 1-2 3 mEq/kg/día; Ca – 0,15 – 0,3 3 mEq/kg/día; Mg – 0,25 - 0,35 3 mEq/kg/día; Cl – 1,5 -2 3 mEq/kg/día; P – 30 -120 mEq/día (siempre se evalúa parámetros clínicos para ajustar en caso de necesidad) (protocolo NA, HVN)																																																																								
<p style="text-align: center;">RECOMENDACIONES / DÍA DE OLIGOELEMENTOS ORALES Y PARENTERALES</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Oligoelementos</th> <th>Via oral o enteral</th> <th>Via parenteral</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Cobre (mg)</td><td>1,5-3</td><td>0,5-1,6</td></tr> <tr><td>Cromo (mcg)</td><td>50-200</td><td>10-15</td></tr> <tr><td>Fluor (mg)</td><td>1,5-4</td><td></td></tr> <tr><td>Hierro (mg)</td><td>12-15</td><td>1-2</td></tr> <tr><td>Yodo (mcg)</td><td>150</td><td>120</td></tr> <tr><td>Manganeso (mg)</td><td>2-5</td><td>0,15-0,8</td></tr> <tr><td>Molibdeno (mcg)</td><td>75-250</td><td>100-200</td></tr> <tr><td>Selenio (mcg)</td><td>40-70</td><td>40-80</td></tr> <tr><td>Zinc (mg)</td><td>12-15</td><td>2,5-4</td></tr> </tbody> </table> <p>A.</p>		Oligoelementos	Via oral o enteral	Via parenteral	Cobre (mg)	1,5-3	0,5-1,6	Cromo (mcg)	50-200	10-15	Fluor (mg)	1,5-4		Hierro (mg)	12-15	1-2	Yodo (mcg)	150	120	Manganeso (mg)	2-5	0,15-0,8	Molibdeno (mcg)	75-250	100-200	Selenio (mcg)	40-70	40-80	Zinc (mg)	12-15	2,5-4	<p style="text-align: center;">RECOMENDACIONES / DÍA DE VITAMINAS ORALES Y PARENTERALES</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Vitaminas</th> <th>Via oral o enteral</th> <th>Via parenteral</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Vitamina A</td><td>800-1000 mcg</td><td>3300 UI</td></tr> <tr><td>Vitamina D</td><td>5-10 mcg</td><td>200 UI</td></tr> <tr><td>Vitamina E</td><td>8-10 mg</td><td>10 UI</td></tr> <tr><td>Vitamina K (mcg)</td><td>45-80</td><td>500</td></tr> <tr><td>Vitamina C (mg)</td><td>50-60</td><td>100</td></tr> <tr><td>Vitamina B<sub>1</sub> (mg)</td><td>1-1,3</td><td>3</td></tr> <tr><td>Vitamina B<sub>2</sub> (mg)</td><td>1,2-1,5</td><td>3,6</td></tr> <tr><td>Vitamina B<sub>6</sub> (mg)</td><td>1,6-1,7</td><td>4</td></tr> <tr><td>Vitamina B<sub>12</sub> (mcg)</td><td>2</td><td>5</td></tr> <tr><td>Niacina (mg)</td><td>13-17</td><td>40</td></tr> <tr><td>Acido Fólico (mcg)</td><td>150-180</td><td>400</td></tr> <tr><td>Biotina (mcg)</td><td>200</td><td>60</td></tr> <tr><td>Acido Pantotínico (mg)</td><td>7</td><td>15</td></tr> </tbody> </table> <p>B.</p>	Vitaminas	Via oral o enteral	Via parenteral	Vitamina A	800-1000 mcg	3300 UI	Vitamina D	5-10 mcg	200 UI	Vitamina E	8-10 mg	10 UI	Vitamina K (mcg)	45-80	500	Vitamina C (mg)	50-60	100	Vitamina B <sub>1</sub> (mg)	1-1,3	3	Vitamina B <sub>2</sub> (mg)	1,2-1,5	3,6	Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	1,6-1,7	4	Vitamina B <sub>12</sub> (mcg)	2	5	Niacina (mg)	13-17	40	Acido Fólico (mcg)	150-180	400	Biotina (mcg)	200	60	Acido Pantotínico (mg)	7	15
Oligoelementos	Via oral o enteral	Via parenteral																																																																								
Cobre (mg)	1,5-3	0,5-1,6																																																																								
Cromo (mcg)	50-200	10-15																																																																								
Fluor (mg)	1,5-4																																																																									
Hierro (mg)	12-15	1-2																																																																								
Yodo (mcg)	150	120																																																																								
Manganeso (mg)	2-5	0,15-0,8																																																																								
Molibdeno (mcg)	75-250	100-200																																																																								
Selenio (mcg)	40-70	40-80																																																																								
Zinc (mg)	12-15	2,5-4																																																																								
Vitaminas	Via oral o enteral	Via parenteral																																																																								
Vitamina A	800-1000 mcg	3300 UI																																																																								
Vitamina D	5-10 mcg	200 UI																																																																								
Vitamina E	8-10 mg	10 UI																																																																								
Vitamina K (mcg)	45-80	500																																																																								
Vitamina C (mg)	50-60	100																																																																								
Vitamina B <sub>1</sub> (mg)	1-1,3	3																																																																								
Vitamina B <sub>2</sub> (mg)	1,2-1,5	3,6																																																																								
Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	1,6-1,7	4																																																																								
Vitamina B <sub>12</sub> (mcg)	2	5																																																																								
Niacina (mg)	13-17	40																																																																								
Acido Fólico (mcg)	150-180	400																																																																								
Biotina (mcg)	200	60																																																																								
Acido Pantotínico (mg)	7	15																																																																								

Tabla 6.Recomendaciones de macro y micro nutrientes en personas sanas y pacientes (5, 48, 107, 108, 110, 111, 112, 113)

Los requerimientos de hidratos de carbono en sanos son un 55- 65% del porcentaje de la energía; mientras que en pacientes constituye un 50 – 70 % de las calorías no proteicas del metabolismo. Se debe administrar un mínimo de 150 g /día, lo que evita la gluconeogénesis, siempre que el máximo sea de 5g/kg/día. El aporte de

hidratos de carbono se debe ajustar cuando los niveles plasmáticos de glucosa son de 140 mg/dl.

El aporte de la glucosa se debe supervisar debido a la resistencia de la insulina que desarrollan estos pacientes.

### **Requerimientos de vitaminas y minerales.**

En sanos y críticos se utilizan tablas especiales de recomendaciones (Tabla 6).

El **SDMO** “síndrome de disfunción multiorgánica” es una entidad clínica propia de las Unidades de Cuidados Intensivos, y constituye la complicación final de diferentes cuadros graves como la sepsis, el trauma, las quemaduras, la pancreatitis aguda grave o situaciones de isquemia/hipoxia. Es importante hacer notar que en el SDMO se produce una alteración profunda en el nivel celular. Los trastornos de los sistemas de transporte transmembrana producen cambios en los flujos de iones lo que conlleva a un edema a nivel celular (114, 115).

La sepsis se manifiesta con dos o más de los siguientes síntomas:

- Hipertermia o hipotermia
- Taquicardia
- Taquipnea
- Leucocitosis o hipotermia
- Leucopenia
- Desviación a la izquierda de los neutrófilos en sangre.

En la sepsis, las alteraciones metabólicas e inmunológicas están íntimamente relacionadas (18).

En la actualidad no existe una indicación absoluta de NA en la sepsis. En pacientes de UCI que no puedan comer de forma eficaz por vía oral en 7-10 días, la NA debe ser indicada de manera precoz para prevenir las complicaciones inducidas por la desnutrición y en el caso concreto de las pancreatitis agudas graves, si existe previamente una pérdida de peso o una sepsis (34, 36).

El aporte enteral en pacientes con SDMO puede ser problemático. No ya en los casos donde el origen de la sepsis sea peritoneal, sino más frecuentemente por los efectos negativos de elevados niveles en la activación simpática del tracto gastrointestinal (GI) combinado con el empleo de sedantes o de fármacos vasoactivos empleados en la ventilación mecánica o en la inestabilidad hemodinámica, y por isquemia de la mucosa gástrica, ulceración, inflamación y aumento de la permeabilidad. En la sepsis, disminuye la liberación de glutamina a nivel intestinal y las actividades de determinadas enzimas (hexoquinasa, 6-fosfofructokinasa, piruvatokinasa y glutaminasa) (116).

En los pacientes sépticos, si se limita el empleo de la NE, en presencia de situaciones de malnutrición (tan habitual en estos pacientes), y sumamos una paresia o disfunción gastrointestinal, sin alcanzar los requerimientos nutricionales, hay que recurrir total o parcialmente a la NP, aún cuando este tipo de nutrición mixta no es admitida por algunos profesionales (117, 118, 119).

En la Tabla 7 y 8. se muestran las recomendaciones en el soporte nutricional del paciente en situación séptica crítica.

<b>Soporte nutricional en el paciente séptico. (23)</b>	
<b>Calorías</b>	Harris-Benedict x 1,3-1,4 (o aplicar Tabla 8)
<b>Glucosa</b>	Hasta 5 g/kg/día ; 60-70% de las calorías
<b>Grasas</b>	Hasta 1,5 g/kg/día ; 15-40%, de las calorías
<b>Aminoácidos</b>	Hasta 1,5-2,0 g/kg/día ; de preferencia AARR
<b>Elementos Traza</b>	Suplementos de Zn
<b>Vitaminas</b>	RDA + Vitamina E, Vitamina C, niacina
<b>Electrolitos</b>	Mantener niveles K, Na, Ca, P

Tabla 7.- Soporte nutricional en el paciente séptico. (23)

<b>Gasto energético en la sepsis. Incremento del gasto energético sobre la fórmula de Harris-Benedict.</b>	
<b>AUTOR/AÑO</b>	<b>FACTOR</b>
<b>Carlson/ 1984</b>	<b>1,94</b>
<b>Mann/1985</b>	<b>1,15</b>
<b>Giovannini/1986</b>	<b>1,36</b>
<b>Swinammer/ 1987</b>	<b>1,47</b>
<b>Ortiz Leyba/ 1990</b>	<b>1,48</b>
<b>Zhang/ 1991</b>	<b>1,51</b>
<b>García de Lorenzo/ 1992</b>	<b>1,40</b>
<b>Montejo/ 1993</b>	<b>1,38</b>

Tabla 8. Gasto energético en sepsis. Incremento del gasto energético mediante la fórmula de Harris-Benedict (23).

Por recomendación de la ASPEN (2002), si se emplea la nutrición parenteral, es preciso evaluar los parámetros bioquímicos (1, 91). La glucosa y el balance hídrico se deben evaluar diariamente, así como el hemograma, los niveles de minerales, parámetros hepáticos y pancreáticos, que se deben evaluar 1-2 veces por semana. El cinc, cobre, folato, hidroxicoalamina y el hierro se controlan una vez cada 2 semanas.

#### **2.3.2.4.4. Pacientes críticos: calculo el GEB**

Hay ecuaciones para determinar la predicción del gasto energético basal (GRB). La más utilizada es la ecuación **Harris-Benedict** simplificada:

Hombres:  $GEB = 1 \text{ Kcal / hora / Kg. de Peso}$

Mujeres:  $GEB = 0.9 \text{ Kcal / hora / Kg. de Peso}$

Varones:

$GEB = 66.5 + (13,8 \times \text{peso en kg}) + (5 \times \text{altura en cm}) - (6,8 \times \text{edad en años})$

Mujeres:

$GEB = 655 + (9,6 \times \text{peso en kg}) + (1,8 \times \text{altura en cm}) - (4,7 \times \text{edad en años})$

Existen diversos métodos para calcular los requerimientos energéticos, de carbohidratos, de lípidos, proteicos, de electrolitos, de oligoelementos y de vitaminas.

Para el paciente hospitalizado que necesita nutrición artificial se elabora un soporte nutricional específico. La enfermedad puede modificar el valor del gasto energético, por eso se han elaborado fórmulas matemáticas para poder calcularlo. Las sociedades científicas como ASPEN, ESPEN, AMA, han elaborado tablas de recomendaciones nutricionales para algunas enfermedades (1, 91, 101).

La *Food and Nutrition Board* estableció las *Recommended Dietary Allowances* (RDA) (raciones diarias recomendadas) que hacen referencia a los aportes orales o en

nutrición enteral, mientras que las recomendaciones de *The American Medical Association* (AMA) hacen referencia a las pautas de administración parenteral.

Se recomienda que el aporte calórico se distribuya entre hidratos de carbono en un 60 – 70% y lípidos en un 40 – 30%, siendo la distribución en pacientes hipercatabólicos, como son los enfermos con sepsis, del 50 – 50 %.

Las guías clínicas europeas (ESPEN), y canadiense (CSCN), recomiendan iniciar la nutrición enteral en un plazo de 24 horas o 24-48 horas, respectivamente, tras su ingreso en la unidad de cuidados intensivos, con el fin de evitar desnutrición y efectos adversos relacionados.

#### **2.3.2.4.5. ¿Nutrición enteral o parenteral?**

Cuando se formulan regímenes con idéntica composición Lundholm (1996), (311) no existe diferencia en la eficacia entre la NP y NE, la condición es que siempre que exista un tracto digestivo funcionando la NE es el soporte nutricional artificial de elección, por las ventajas de éste sobre la NP y por los beneficios que se derivan del aporte de nutrientes en la luz intestinal. (43, 70, 120).

Existen numerosos estudios, que muestran las ventajas de NE frente NP, como la mejora de la función del enterocito, ya que se produce un efecto trófico sobre la luz intestinal, previniendo la hipoplasia vellositaria provocada por el ayuno prolongado; disminución de la translocación bacteriana asociada a las endotoxinas; menor morbilidad por disminución del número complicaciones sépticas relacionadas con el catéter y menor coste (120).

#### **2.3.2.4.6. Valoración de aporte de nutrientes en nutrición enteral y parenteral**

La evaluación de aporte de nutrientes en nutrición artificial se realiza de manera sencilla porque se sabe en cualquier momento la cantidad y contenido de nutrientes en la nutrición aportada (43, 120).

Los pacientes de UCI son permanentemente monitorizados, tanto en cuanto a la nutrición suministrada como en la medicación recibida (96, 102).

### **2.3.3. Valoración bioquímica**

La valoración bioquímica pretende estimar a nivel plasmático o celular las concentraciones o cantidades de los nutrientes y las situaciones de las funciones metabólicas o corporales en las que están directamente implicados. La determinación bioquímica puede ser distinta según el estadio de nutrición de los individuos (5, 47, 121, 122, 123).

La fase donde la ingesta de nutrientes es reducida, conduce a una depleción de los depósitos corporales o márgenes celulares de reserva pero no existen aún niveles disminuidos de nutrientes como para que se vean alterados el metabolismo y funcionalidad celulares.

Los métodos de determinación son:

- Determinación de niveles de reservas
- Determinación de niveles circulantes de nutrientes
- Determinación de niveles de excreción urinaria

En casos mas graves de disminución de nutrientes, se utiliza los siguientes métodos:

- Determinación de niveles de reservas.
- Determinación de niveles de metabolitos.
- Determinación de actividades enzimáticas.
- Determinación de niveles de sustancias con significado fisiológico.
- Determinación de lesiones relacionadas con una deficiencia nutricional.

Mediante métodos bioquímicos se puede detectar también los excesos de nutrientes ingeridos y alteraciones metabólicas consecuencia de éste exceso. Existen casos de exceso en la ingesta de nutrientes en los que no llega a producir daño, ya

que la regulación homeostática elimina el exceso sin riesgos, como en el caso de la ingesta de vitaminas hidrosolubles y de minerales como el calcio o el hierro.

En otros casos, como cuando hablamos de grasa saturada y arteriosclerosis, y sodio e hipertensión, se puede hablar de excesos alimentarios (5, 9, 123).

#### **Limitaciones en la evaluación bioquímica:**

- Algunos métodos de determinación de vitaminas y minerales son imprecisos
- No existen niveles de referencias o estándar para algunos analitos.
- Una elevación o disminución en los niveles plasmáticos o celulares de muchos nutrientes e incluso de sus funciones específicas, puede deberse a situaciones no nutricionales.
- Muchos parámetros se pueden enmascarar en caso de deficiencia o exceso (5).

Las pruebas bioquímicas se agrupan en dos grandes categorías:

a) Medición del nutriente en líquidos o tejidos biológicos, bien sangre total o alguna de sus fracciones, o bien orina, saliva, pelo, líquido amniótico, uñas, piel y mucosa bucal.

b) Medición de la excreción urinaria de nutrientes, generalmente minerales, vitaminas hidrosolubles o proteínas. Suele ser conveniente utilizar recogida de orina de 24 horas. (124, 125)

La valoración bioquímica se realiza de igual manera en personas sanas que en paciente crítico.

Generalmente, las determinaciones bioquímicas en sangre se realizan en suero, pero para una evaluación completa las determinaciones se pueden realizar por separado en plasma y eritrocitos (27, 33, 41).

Como hemos especificado anteriormente, una de las limitaciones de los estudios bioquímicos es no tener valores de referencia. Por ejemplo, el cinc presenta diferentes niveles sanguíneos dependiendo de la hora del día (126, 127) o glucosa se debe determinar en ayunas.

Los parámetros analizados más usuales son:

- Hemograma
- Parámetros bioquímicos en sangre: glucemia, perfil lipídico, urea, creatinina, proteínas totales.
- Metabolismo del hierro
- Vitaminas
- Minerales
- Iones
- Parámetros bioquímicos en orina

En Anexo 3, 4, están presentados los principales analitos que se puede determinar el estatuto nutricional.

#### **2.3.4. Valoración Inmunológica**

Este tipo de valoración fue incluida en valoración bioquímica pero los recientes avances lo evalúan aparte.

La valoración del estado inmunitario comprende tanto la inmunidad humoral como celular. Ambas se encuentran alteradas en las situaciones de malnutrición, siendo de una forma más precoz la celular.

La determinación del número de linfocitos, y la respuesta a las pruebas cutáneas de hipersensibilidad (cándidina, tuberculina) son unos parámetros estudiados. La cuantificación de inmunoglobulinas, fracciones del complemento y citoquinas valora la inmunidad humoral y sus modificaciones aparecen tardíamente en grados extremos de malnutrición.

La respuesta inmunitaria requiere un estado nutricional normal. Muchos estudios han establecido una relación entre la desnutrición con alta frecuencia de enfermedades infecciosas y la disminución de los factores inmunitarios y entre la carencia de nutrientes específicos y la respuesta inmunitaria tanto humoral como celular (7).

La desnutrición calórico-proteica, provoca alteraciones en el reconocimiento de antígenos, en su procesamiento, y en la población de linfocitos T, ocurriendo un



retraso en la respuesta de hipersensibilidad. La desnutrición deprime la cooperación entre las células T y B, con lo cual la actividad macrofágica se hace insuficiente (18, 128).

En los pacientes desnutridos, se ha observado una disminución de la respuesta mitógena en los test de crecimiento linfocitario.

La respuesta de sensibilidad cutánea no solo depende del estado nutricional del paciente, sino de otros factores tales como anormalidades hepáticas, edad, fármacos inmunosupresores, quemaduras, infecciones. Por lo tanto, la anergia no es patognomónica de desnutrición.

En resumen: los parámetros de función inmunitaria están alterados en muchas situaciones, con resultados poco claros desde el punto de vista de la valoración nutricional. (6, 34)

### **Indicadores inmunológicos**

Las alteraciones en las pruebas de hipersensibilidad cutánea retardada en pacientes malnutridos, evaluadas según técnica descrita por Meakins y Malean (1981) han permitido utilizar este test como herramienta para evaluar el estado nutricional. (129)

La desnutrición deprime la producción de anticuerpos, la función de las células fagocíticas y los niveles de complemento. El recuento total de linfocitos es uno de los parámetros útiles para evaluar la malnutrición y sus efectos en el paciente (130)

Como no existe una prueba perfecta, el juicio clínico debe basarse en las medidas antropométricas y en la valoración clínica subjetiva para determinar la probabilidad de malnutrición. Esta determinación se hace antes de proceder a estudios bioquímicos e inmunológicos, que permiten confirmar posteriormente la evaluación clínica. (42)

En la clínica diaria se valora el estado inmunitario con el número total de linfocitos, las pruebas de hipersensibilidad cutánea tardía y la fracción C3 del complemento. Estos parámetros inmunológicos reflejan una malnutrición proteico-

energética inespecífica, aunque se correlacionan fundamentalmente con el compartimiento proteico visceral.

#### 1. Recuento total de linfocitos

La medida de las células blancas se realiza de forma rutinaria en pacientes hospitalizados. Los linfocitos representan el 20-40% del total de los leucocitos, su medición puede utilizarse como un índice de desnutrición. El recuento total de linfocitos se determina dividiendo el porcentaje de linfocitos multiplicando por el recuento de las células blancas de la sangre, por cien (34).

La mayor parte de los linfocitos circulantes son células T.

En la malnutrición disminuye el número de linfocitos T por involución precoz de los tejidos formadores de esas células, no alterándose el número de linfocitos B, ni la tasa de inmunoglobulinas (aunque en ocasiones encontramos incremento de Ig E así como incremento de Ig A secretora). (34)

El número de leucocitos poli-nucleares no se altera, pero sí su función.

#### *Interpretación:*

- Normalidad: > 2000 linf/mm<sup>3</sup>
- Malnutrición leve: 1200-2000 linf/mm<sup>3</sup>
- Malnutrición moderada: 800-1200 linf/mm<sup>3</sup>
- Malnutrición grave: < 800 linf/mm<sup>3</sup>

#### Limitaciones:

- Infecciones.
- Estrés
- Neoplasia
- SEPSIS
- Fármacos inmunosupresores.
- Enfermedades que cursan con linfopenia o linfocitosis.

2. Reacciones de hipersensibilidad cutánea retardada (delayed cutaneous hypersensitivity - DCH). Los pacientes con depleción proteica visceral o depleción proteico-calórico tienen una respuesta insuficiente al reconocimiento de antígenos (anergia). La respuesta normal consiste en una induración superior a 5 mm después de 24-72 horas de al menos dos de 5 antígenos aplicados.

Antígenos más utilizados:

- Tuberculina PPD: 5 UT en 0,1 ml
- Estreptocinasa-estreptodornasa: 4/1 U; 0,1 ml
- Candidina 1/1000; 0,1 ml
- Tricofitina 1/1000; 0,1 ml
- DNCB 0,01%; 0,1 ml

Limitaciones:

- Enfermedades: Linfoma, TBC, sarcoidosis, uremia, cirrosis, hepatitis, trauma, quemaduras, hemorragias
- Fármacos: Inmunosupresores, corticoides, cimetidina, warfarina, y quizás aspirina;
- Edema cutáneo.
- Infecciones (viral, bacteriana, granulomatosa)
- Anestesia general y cirugía

En el paciente críticamente enfermo existe muchos factores que pueden alterar la hipersensibilidad cutánea retardada haciendo cuestionable para evaluar el status nutricional (34).

### 3. Sistema de complemento.

El C4 normalmente no se altera, pero sí disminuyen en estados de malnutrición proteica las fracciones que se sintetizan en el hígado, sobre todo la C3.

Esto indica una estimulación de la vía alternativa en estados de depleción proteico- energética. Los valores de C3 < 70 mg/dl indican malnutrición proteica.

El cinc es un elemento traza esencial para el sistema inmunológico. Sin embargo, las investigaciones sobre el efecto de los suplementos de cinc en la función inmunológica son escasas y en su mayoría se enfocan en pacientes con enfermedades específicas.

El gluconato de cinc parece ejercer efectos benéficos en las células inmunes, mejorar los niveles de CD3 y CD4 aumentar las proporciones de CD4/CD8 en niños. Existen pocos estudios acerca de los niveles de cinc y los efectos de los suplementos de cinc en la salud de los ancianos.

Por tanto, se necesita realizar más investigación antes de emitir una recomendación. (67)

Además, para la realización de una valoración nutricional mas detallada se pueden analizar **otros tejidos** como la piel, cabello, uñas, esqueleto, encías, dientes, lengua (tabla 9.), lo que ofrece información importante para el personal sanitario.

Área de exploración	Hallazgos	Déficit
<b>General</b>	Peso y talla disminuidos	<b>Calorías globales</b>
	Fusión panículo adiposo	<b>Calorías globales</b>
<b>Cabello</b>	Ralo, quebradizo, escaso, despigmentación	<b>Proteínas</b>
<b>Piel</b>	Palidez Despigmentación Xerosis, hiperqueratosis Petequias, púrpura Dermatitis seborreica	<b>Fe, vitamina E, ácido fólico</b> <b>Proteínas</b> <b>Vitamina A</b> <b>Vitamina C</b> <b>Vitamina B2, Zn</b>
<b>Esqueleto</b>	Rosario costal Dolor óseo	<b>Vitaminas C y D</b> <b>Vitamina C</b>
<b>Músculo</b>	Atrofia muscular	<b>Calorías, proteínas</b>
<b>Uñas</b>	Coiloniquia	<b>Fe</b>
<b>Ojos</b>	Xeroftalmía, Bitot Vascularización marginal córnea	<b>Vitamina A</b> <b>Vitamina B2</b>
<b>Encías/dientes</b>	Sangrantes, edematosas/caries	<b>Vitamina C/flúor</b>
<b>Lengua</b>	Glositis	<b>Ácido fólico, B2, B12</b>
<b>Modificado de McLaren DS, 1982</b>		

Tabla 9.Otros sitios de exploración nutricional (Fuente 9)

En resumen, podemos decir que:

En personas sanas, para la realización de una evaluación nutricional completa, se sigue los cuatro pasos de valoración antropométrica, de ingesta, bioquímica e inmunitaria, lo que puede ofrecer una buena información del individuo.

En pacientes, la valoración es similar pero se pueden añadir la determinación de índices para mejorar el *screening* nutricional, como:

- Índice Nutricional Pronóstico (Prognostic Nutritional Index - PNI )
- Indicador Pronóstico Hospitalario (The hospital Prognostic Indicators - HPI)
- Evaluación Global Subjetiva (Subjective Global Assessment, SGA) (anteriormente presentado)

#### **Índice Nutricional Pronóstico (Prognostic Nutritional Index - PNI)**

Calculo:  $PNI \% = 158 - (16,6 * \text{albúmina}) - (0,78 * \text{TSF}) - (0,2 * \text{TFN}) - (5,8 * \text{DCH})$

\* Albúmina en suero (g/dl)

\* TSF – pliegue cutáneo del tríceps (mm)

\* TFN – concentración de transferrina (g/dl)

\* DCH – hipersensibilidad cutánea retardada (grado de reactividad a tres antígenos cualquiera: 0 – no reactivo, 1 > 5 mm de reactividad, 2 > 5 mm de reactividad)

*Interpretación:* < 40 % riesgo bajo

40 – 50 % riesgo alto

> 50 % riesgo muy alto

Indicador Pronóstico Hospitalario (Hospital Prognostic Indicators; HPI) – es muy útil en ámbito clínico. El índice se basa en la albúmina sérica y el estatus de séptico o no séptico y la presencia o no del cáncer.

*Interpretación:* si en la ecuación sale mas de 71 % riesgo alto de mortalidad, 74% sensibilidad, 66% especificidad

En las guías ESPEN 2002, sobre malnutrición hospitalaria han determinado los factores de riesgo para desarrollar desnutrición, como la disminución del aporte/ingesta, la disminución del aprovechamiento de los nutrientes (interacción con medicamentos o enfermedades metabólicas), aumentando las necesidades de nutrientes por estrés agudo (aumento del consumo) o estrés grave (sepsis) (131, 132).

Por lo tanto, se han elaborado sistemas de puntuación del grado de la desnutrición tabla 10.

Parámetro	Grado de desnutrición			
	Normal	Leve	Moderada	Severa
Albúmina sérica g/dl	3,5 -4,5 0	3 – 3,49 2	2,5 – 2,9 4	< 2,5 6
Linfocitos totales /ml	> 1600 0	1200 -1599 1	800 – 1200 2	< 800 3
Colesterol (mg/dl)	> 180 0	140 – 180 2 -4	100 – 139 5 -8	< 100 > 8
<b>Total puntuación</b>	<b>0 -1</b>	<b>2 – 4</b>	<b>5 -8</b>	<b>&gt; 8</b>

Tabla 10. Sistemas de puntuación del grado de la desnutrición

Pacientes con alto riesgo nutricional. Butterworth y Weinsten (1980).

1. Pérdida del peso más allá del 20% del Peso Ideal.
2. Pérdida reciente del 10% o más del Peso Habitual.
3. Alcoholismo.
4. Falta de ingesta oral por más de 10 días 8 (o SG 5% i. v)
5. Pérdidas nutritivas prolongadas:
  - a) Síndromes de malabsorción.
  - b) Síndrome de intestino corto.
  - c) Fístulas GI.
  - d) Diálisis renal.
  - e) Abscesos que drenan, heridas abiertas.
  - f) Quemaduras extensas.
6. Aumento de las necesidades metabólicas.
  - a) Lesiones múltiples.
  - b) Infecciones, sepsis.
7. Utilización de fármacos con propiedades catabólicas. (71, 96, 131)

**Aforismos de Hipócrates (460-370 AC): "Una dieta magra y r estringida es peligrosa en la enfermedad crónica y también en la aguda....".**

Por lo tanto, es muy importante de evitar la desnutrición grave porque los estudios de los Buzby (1980), Hickman (1980), Klidjian (1982) han determinado que pacientes desnutridos presentan hasta 20 veces más complicaciones si se comparan con los bien nutridos y Christensen (1986) pacientes desnutridos pueden permanecer hospitalizados hasta un 100% más del tiempo que los que tienen buen estado nutricional. (71)

### **2.3.5. Genómica nutricional**

En los últimos años se han desarrollado una nueva ciencia que estudia los efectos de los nutrientes sobre el material genético. Una de las primeras referencias en la literatura científica a estas ciencias es de 1999.

La Nutrigenómica estudia el efecto de los alimentos, nutrientes y componentes alimentarios bioactivos sobre el genoma (el ADN), el proteoma (las proteínas) y el metaboloma (los metabolitos). Es decir, analiza el efecto de los nutrientes en la expresión y respuesta de nuestros genes: si éstos se activan o se inactivan, y con qué frecuencia (38,39).

La Nutrigenética estudia el efecto de la variación genética en la interacción entre la dieta y la enfermedad. Esto incluye la identificación y caracterización de las variantes genéticas de cada persona, asociadas a las diferentes respuestas a los nutrientes. El objetivo de la Nutrigenética es elaborar recomendaciones sobre riesgos y beneficios de dietas concretas o de componentes dietéticos aislados para cada persona teniendo en cuenta sus genes. Por eso también se la conoce como "nutrición personalizada o individualizada". De los dos campos la Nutrigenética es la única que tiene una aplicación práctica para cada persona (38,39). (Figura 7)

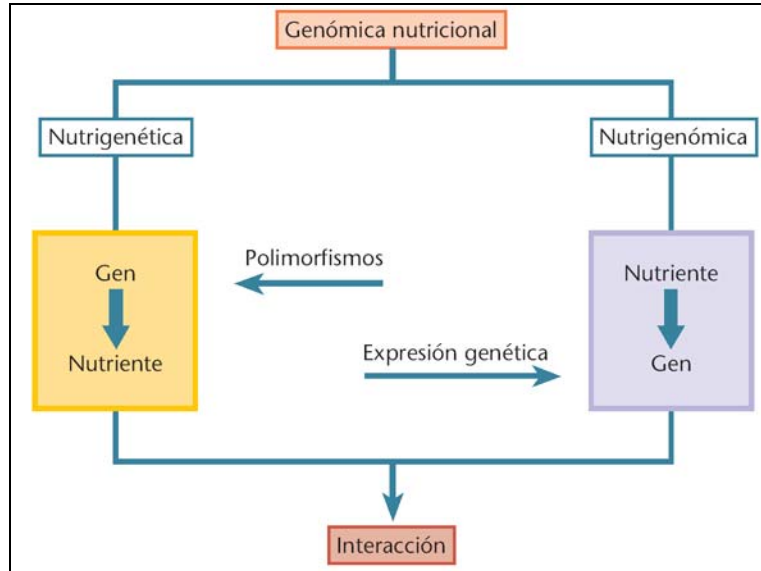


Figura 7. Nutrigenética y nutrigenética (Fuente 38)

Hasta la fecha, al menos se han identificado y caracterizado parcialmente 1.000 genes humanos causantes de enfermedades. Enfermedades, como la obesidad, la enfermedad cardiovascular, la diabetes o el cáncer, se deben a interacciones complejas entre diversos genes y a factores ambientales.

Numerosos estudios epidemiológicos confirman la existencia de cierta asociación entre la dieta ingerida y la incidencia y gravedad de las enfermedades crónicas, aunque no resulta fácil distinguir cuáles son las moléculas bioactivas de los alimentos que ejercen determinadas acciones beneficiosas.

Como ejemplo de la complejidad de una comida «simple», están los cientos de compuestos del aceite de oliva, cuya variedad y concentración de ácidos grasos, triglicéridos, esteroides, ésteres de esteroles y tocoferoles garantizan una amplia diversidad de funciones, ya que estos componentes tienen destinos celulares diferentes. (Figura 8).



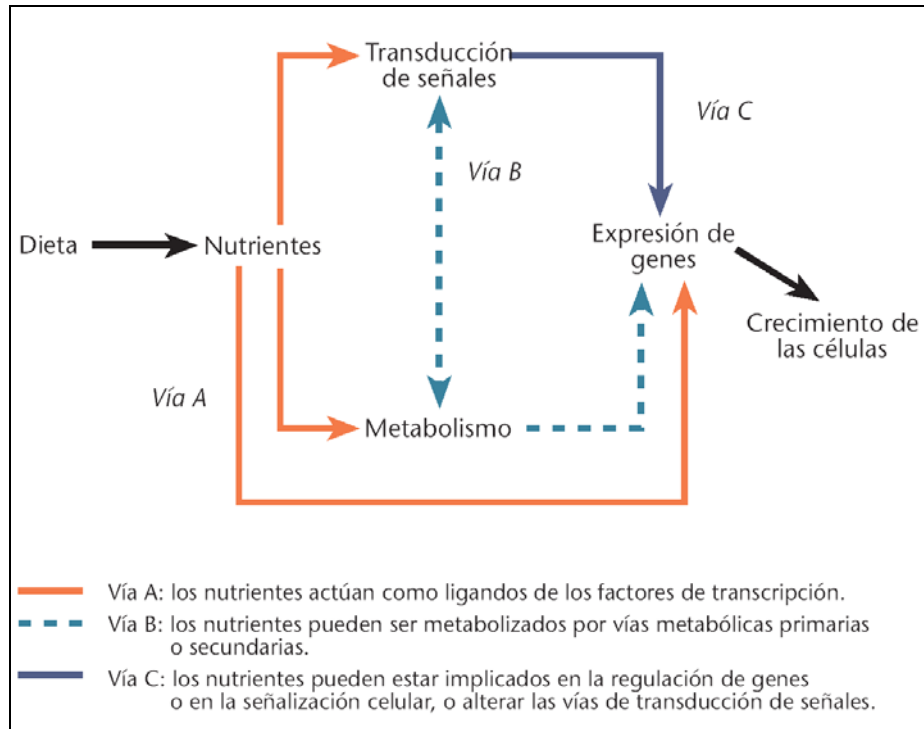


Figura 8 Destino y papel de los nutrientes en las células (fuente *Modificado de Kaput et al.38, 39*)

El genoma humano es sensible al entorno nutricional, de modo que algunos genes pueden modificarse en respuesta a los componentes de la dieta, ya sean de origen vegetal o animal. (38, 39).

Los estudios genéticos sobre la expresión génica en las investigaciones nutricionales en los últimos años se han multiplicado. Todo esto por el hecho de que los nutrientes actúan en el cuerpo y pueden activar o desactivar genes de importancia vital. Hay muchos estudios sobre uno de los mayores problemas de la humanidad, el cáncer, junto con enfermedades cardiovasculares o la diabetes. Los estudios llegan hasta la estructura del material genético y los nutrientes que influyen en la activación del gen.

También se han demostrado que los nutrientes pueden afectar a la estructura y el funcionamiento de genes que determinan las proteínas transportadoras, las enzimas etc (38, 39).

## **2.4. El cinc como nutriente**

### **2.4.1. Histórico**

Durante los estudios realizados en Shiraz, Irán, por la doctora Ananda S. Prasad en la década de los sesenta, se comprobó por primera vez la importancia del zinc en la nutrición humana, encontrando, primero en los pacientes iraníes y luego en pacientes egipcios, un cuadro caracterizado por anemia, déficit de hierro, hipogonadismo, enanismo y hepatoesplenomegalia,. Todos estos pacientes sufrían de malnutrición (133, 134, 135).

El cinc se reconoció por primera vez como esencial en un sistema biológico en 1869 mediante estudios realizados con *Aspergillus Níger*. En 1926 se demostró que era esencial para plantas superiores y en 1934 se demostró su necesidad para el crecimiento de ratas. Igualmente, en 1955, se relacionó la paraqueratosis de cerdos con la deficiencia de cinc, y posteriormente se conoció su importancia en el crecimiento de gallinas. En humanos las primeras referencias datan de 1956 cuando se estudió el metabolismo del cinc en individuos cirróticos (133, 136).

Aún al inicio de los sesenta se creía que la deficiencia de cinc nunca podía ocurrir en humanos ya que su presencia era ubicua y el análisis de los alimentos mostraba adecuada cantidad del mineral en la dieta humana, sin embargo es en 1961 cuando Prasad y colaboradores describen lo que hoy se conoce como *Síndrome de deficiencia de zinc* (137, 138, 139).

### **2.4.2. Ingesta dietética recomendada de cinc**

#### **2.4.2.1. Población sana**

Las recomendaciones de nutrientes (RDA = Recommended Dietary Allowances o IDR = Ingesta Diaria Recomendada) se definen como los niveles de ingesta de nutrientes considerados esenciales, según el criterio de los comités nacionales e internacionales que los establecen en base a los conocimientos científicos y que cubren las necesidades conocidas de prácticamente todas las personas sanas.

Los valores de RDA se fijan en función de la edad, sexo, situación fisiológica (embarazo, lactancia, etc.) y normalmente son superiores a los verdaderos requerimientos (5, 59, 61, 103, 105, 106, 140).

Las dietas occidentales habituales tienen una relación Zn/energía en torno a 2 mg Zn/MJ. Las dietas deficientes en zinc están en torno a 0,7-1 mg Zn/MJ (141).

Los requerimientos de cinc se establecen mediante estudios de balance o midiendo las pérdidas de cinc endógeno, teniendo en cuenta que la absorción no es completa. Las pérdidas endógenas en seres humanos oscilan entre los 1,3 y 4,6 mg/día (103, 142).

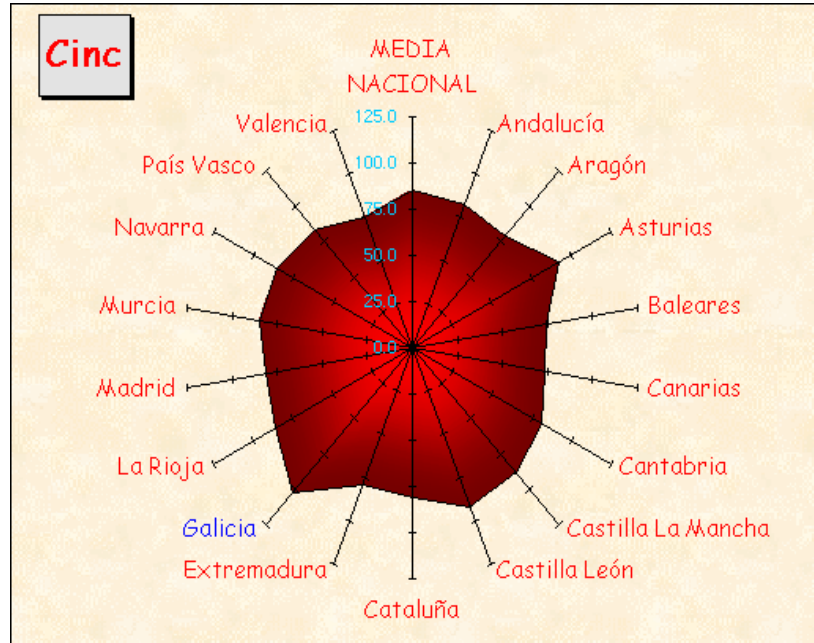
Las recomendaciones del aporte de cinc es muy amplio en la población mundial en general, entre 7,3 mg/día para hombres y 5,5 mg/día en mujeres en Reino Unido, hasta 15 mg/día para hombres y 12 - 15 mg/día para mujeres en E.E.U.U Se puede ver la tabla de los RDA's para cinc en: Anexos 4.).

Durante la gestación y la lactancia las necesidades se elevan a 11-12 mg/día y 12-13 mg/día, respectivamente. Otros autores dicen que la IR debe ser de 15 mg/día para toda población con el fin de prevenir la deficiencia de cinc (143, 145, 146, 147).

Asimismo, los lactantes alimentados con biberón presentan un requerimiento más alto debido a la menor biodisponibilidad de cinc en las fórmulas infantiles (61, 148, 149)

El nivel más alto tolerable de ingesta de cinc es de 25 mg/día (137). Existen varios factores que pueden aumentar o disminuir la biodisponibilidad del cinc ingerido, como el ácido fítico, la fibra, el calcio, ligandos orgánicos, etc. Asimismo, el consumo paralelo de suplementos o alimentos enriquecidos con calcio, cobre o hierro pueden dificultar la absorción del elemento (150, 151, 152).

En España, la ingesta de cinc por regiones es grafica 1., tabla 11:



Grafica 1.- Perfil de ingesta de Cinc sobre la Ingesta Recomendada de 13.4 mg/persona/día

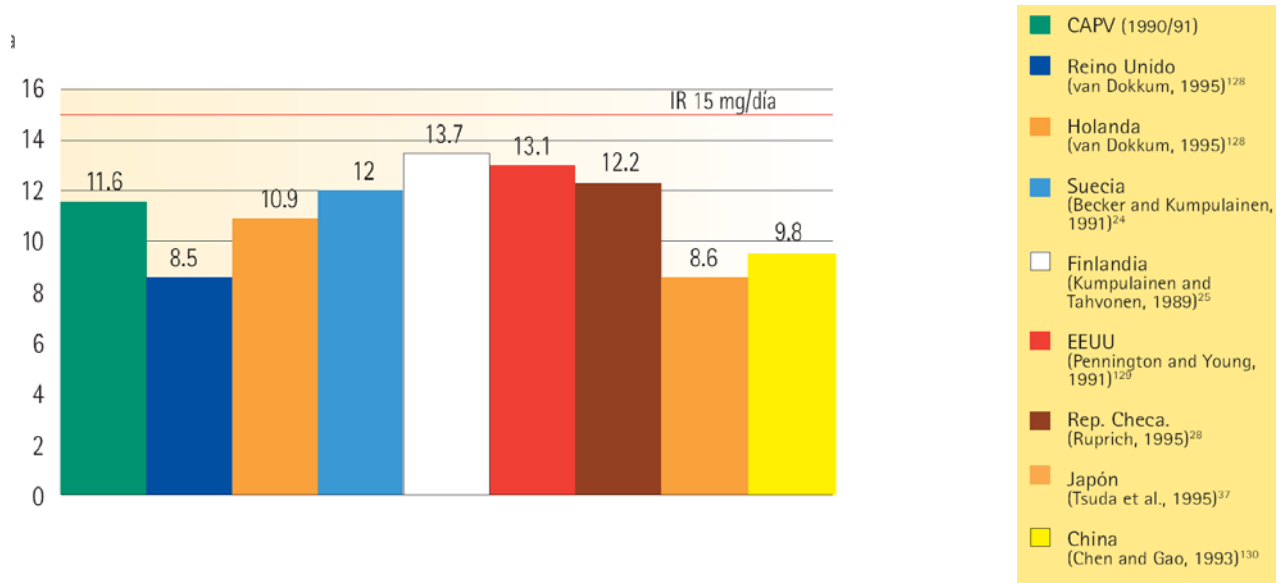
Conjunto Nacional y Comunidades Autónomas	Ingesta Cinc	IR	Densidad Zn
	mg	%	mg/1000 Kcal
MEDIA NACIONAL	11.4	85	4.33
Andalucía	11.1	83	4.19
Aragón	10.6	79	4.28
Asturias	12.4	93	4.28
Baleares	9.9	74	4.09
Canarias	9.8	73	4.04
Cantabria	11.0	82	4.29
Castilla La Mancha	11.8	88	4.43
Castilla León	12.3	92	4.50
Cataluña	10.9	81	4.32
Extremadura	10.6	79	4.35
Galicia	13.8	103	4.22
La Rioja	11.5	86	4.19
Madrid	10.9	81	4.67
Murcia	11.4	85	4.29
Navarra	11.4	85	4.53
País Vasco	11.1	83	4.42
Valencia	10.1	75	4.37

Tabla 11. Ingesta de Cinc (IR Zn: 13.4 mg/persona/día)

Fuente: Valoración Nutricional de las ingestas recomendadas (IR) y reales de diversos nutrientes, en el conjunto del territorio nacional y sus Comunidades Autónomas, datos del último Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación (ENNA 91) basado en las encuestas de presupuestos familiares de 1991 realizadas por el Instituto Nacional de Estadística (I.N.E.).

Se puede observar que en España generalmente 84% de la población tiene ingesta suficiente de cinc (56, 153).

En el mundo, la ingesta de cinc es (grafica 1) diferente de unos países a otros.



Grafica 2. Ingesta de cinc en diferentes países (370)

Grupos de poblaciones que tienen riesgo alto de deficiencia en ingesta de cinc: (154, 155, 156, 157, 158, 159, 160)

- Personas vegetarianas.
- Población infantil (especialmente desnutridos).
- Recién nacidos prematuros.
- Pacientes con infecciones severas.
- Pacientes con quemaduras severas.
- Pacientes politraumatizados.
- Pacientes que reciben alimentación parenteral total.
- Pacientes con insuficiencia renal en tratamiento de hemodiálisis.
- Personas mal nutridas incluyendo pacientes con anorexia nerviosa.
- Pacientes con enfermedad alcohólica del hígado, cirrosis hepática o enfermedad de Wilson.
- Pacientes con síndromes de malabsorción intestinal.
- Pacientes con diarrea severa o crónica de cualquier etiología.

- Pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales tales como enf. de Crohn o rectocolitis ulcerativa.
- Pacientes con fístulas intestinales donde hay pérdida constante de fluidos.
- Pacientes ancianos (65 o más años).
- Pacientes con enfermedad del páncreas (pancreatitis crónica).
- Mujeres embarazadas y lactando.
- Pacientes con *Diabetes Melitus*.
- Vegetarianos estrictos o personas que ingieren dietas cuya fuente proteica es sólo cereales.
- Pacientes con *Acrodermatitis Enteropática*.
- Pacientes con *Anemia Drepanocítica* (curso con bajos niveles de Zinc).

#### 2.4.2.2. En pacientes

La recomendación de cinc en paciente crítico es distinta en función del tipo de nutrición. En caso de nutrición enteral las recomendaciones son casi las mismas que en personas sanas. Se sigue con las mismas recomendaciones por que las vías de nutrición son parcialmente naturales y la dieta llega o al estomago o al intestino delgado, en una digestión normal.

En caso de la nutrición parenteral las recomendaciones son distintas por la realización la nutrición por vena. Las recomendaciones (tabla 12) para la ingesta de cinc en caso de nutrición parenteral se han calculado mediante un método factorial y la técnica de balanza, donde se ha establecido para cubrir las necesidades, una media de 2,2 mg/d (161).

<b>Dosis recomendadas de Zn según las diferentes Sociedades Científicas para pacientes adultos alimentados con nutrición parenteral</b>	
<b>Sociedades Científicas</b>	<b>Zn (mg/d)</b>
<b>AMA, 1979 23</b>	<b>2,5-4,0</b>
<b>ASPEN, 2002 24</b>	<b>2,5-5,0</b>
<b>ESPEN, 2004 25</b>	<b>3,2-6,5</b>
<b>Prelack O, 200126</b>	<b>50 µg/kg/d</b>
<b>En paciente crítico</b>	<b>No superar 4,9 a 5,6 mg/d</b>

Tabla 12. Dosis de Zn según diferentes Sociedades Científicas; AMA, ASPEN, ESPEN (1, 91, 101)

Los requerimientos aumentados pueden ser hasta 40 mg/día, en caso de pacientes con trastornos gastrointestinales que signifiquen una pérdida aumentada a través de los fluidos intestinales.

Los requerimientos de cinc se pueden calcular según la fórmula:

$$2,0 \text{ mg} + 12 \text{ mg} \times \text{litro de fluido intestinal perdido en fístula, estoma, duodeno y yeyuno o colostomía} + 17 \text{ mg} \times \text{litro de materia fecal} = \text{Requerimiento de Zn (mg/día)} \text{ (306)}$$

Los pacientes críticos con SIRS y shock séptico que reciben nutrición artificial, presentan un aumento en los requerimientos de cinc, ya que es indispensable para el sistema inmune, en la reparación celular, para el funcionamiento de las enzimas durante el metabolismo, etc (94, 162, 164).

Los requerimientos de cinc en caso de nutrición enteral, nutrición parenteral y en caso de suplementación se presentan en la siguiente tabla 13.

Recomendaciones para cinc in enfermedades críticas					
	RDI	PN Formula	EN Formula	Suplementacion adicional	Mejorar EN
<b>Cinc</b>	<b>15 mg</b>	<b>2.5-5 mg</b>	<b>11-19 mg/L</b>	<b>10-30 mg/d</b>	<b>15-24 mg/L</b>

Tabla 13. EN, enteral nutrition; PN, parenteral nutrition; (164,165)

Se debe valorar la deficiencia de cinc adquirida. Esta deficiencia de cinc adquirida, in pacientes se presenta especialmente después del abuso de alcohol y tras el tratamiento con penicilina (166, 167).

Existen tablas 14 de dosificación de cinc para NP y/o NE en función de la enfermedad:

Enfermedad	Cinc administrado
Politraumatizados y Quemados	<b>15 a 40 mg/día intravenoso</b>
Pacientes en Nutrición Parenteral Total	<b>Adultos y niños mayores de 5 años. 5 mg/día</b>
Pacientes ancianos	<b>5-10 mg/día intravenoso.</b>
Enf. Inflamatoria de colon, Crohn, rectocolitis ulcerosa	<b>10-15 mg/día.</b>
Cirrosis Hepática	<b>10-15 mg/día intravenoso</b>

Tabla 14. Dosificación de cinc para NP en función de la enfermedad

Si se está utilizando una mezcla comercial de oligoelementos para complementar la Nutrición Parenteral Total o la hidratación parenteral, deberá tenerse en cuenta la cantidad de cinc que tiene la mezcla y sumársela a la cantidad de sulfato de cinc puro, para llegar a la dosis específica recomendada para cada patología (94). En un estudio realizado de Menéndez et al. (2007) demuestra que las formulas de nutrición parenteral contenía mayor cantidad de cinc de lo que estaba prescrita (64).

### **Tipos de formulas de nutrición enteral y parenteral con cinc**

La mayoría de las soluciones parenterales o enterales tienen una baja concentración de cinc. Se sabe que los pacientes críticos presentan pérdidas urinarias de minerales como el cinc, que puede derivar en deficiencia. Diversos autores hablan de la importancia del cinc en la enfermedad y demuestran la importancia del cinc en la NA (168). La compañía Fresenius Kabi han realizado una formula de nutrición artificial con cinc – “oligoelementos cinc”, diseñada especialmente para pacientes críticos con quemaduras.

#### **2.4.3. Fuentes dietéticas de cinc**

El cinc está extensamente distribuido en alimentos y bebidas, pero tal como ocurre con otros elementos, los contenidos son tremendamente variables y en general bajos. Los productos de origen marino, principalmente los mariscos (ostras y crustáceos), son los alimentos más ricos en cinc, seguidos de las carnes rojas, derivados lácteos y huevos, así como los cereales integrales. Los vegetales, con excepción de las leguminosas, no son alimentos que presenten contenidos en cinc altos. Por todo ello, las verduras, hortalizas, frutas, grasas, pescados y dulces son fuentes pobres de cinc (5, 169, 170).

En los alimentos, el cinc está asociado particularmente a las proteínas y ácidos nucleicos, lo que va a condicionar en cierta medida su biodisponibilidad (171). El cinc procedente de los alimentos vegetales es de menor biodisponibilidad debido a la presencia de ácido fítico que forma complejos insolubles poco absorbibles (125).



En aguas de abastecimiento público, los contenidos en cinc, como ocurre con los de hierro y cobre, pueden provenir en parte de la disolución de los terrenos y en parte de la cesión a partir de los materiales de las conducciones (172).

La Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de las aguas potables de consumo público (60), establece un *valor guía* de 100 µg/L de cinc, indicándose que a valores superiores a los 5 µg/L pueden aparecer sabores astringentes, opalescencias y depósitos granulados.

En tabla 15, se presentan la cantidad de cinc en algunos alimentos.

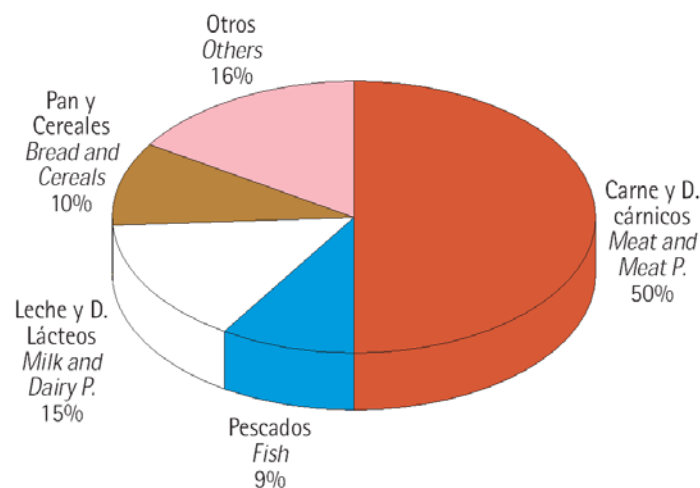
Alimento	Cantidad (mg/100g)
Carnes	1-3
<b>Hígado</b>	<b>13,0</b>
Carne magra	1,3
Jamón serrano	2,3
Pescado y mariscos	0,4 – 2,7
Pescado blanco	1,0
Pescado azul	1,1
Mariscos	2,5
Huevos	2,2
Lácteos	0,04 – 0,9
Yogur natural	0,1
Queso	0,6
Leche entera	0,04
Legumbres	5,5 – 8,2
Lentejas	8,2
Garbanzos	6,8
Frutos secos	5 – 7,9
Pistacho	7,2
Cereales	0,8 – 2,1
Pan	1,6
Espaguetis	2,1
Verduras y hortalizas	0,3 – 3
Tomate	0,7
Patata	0,8
Acelga y espinaca	3,0
Frutas	0,1 – 0,7
Plátano	0,6
Naranja	0,5
Fresa y fresón	0,7

Tabla 15.- Cantidad de cinc en alimentos

Debemos destacar también que el procesado de alimentos es una de las principales causas de la pérdida de cinc. El ejemplo más representativo de este efecto lo constituyen los cereales, que pueden ver reducido su contenido desde un 20 a un 80% cuando son refinados (51, 168). Es por este motivo por el que se debe tener una especial consideración con las personas vegetarianas, ya que en estas personas los cereales son la principal fuente de cinc en la dieta. Si a ésta pérdida unimos que la biodisponibilidad del cinc en este tipo de dietas está disminuida si el contenido de fitatos es alto, se concluye que la absorción y por tanto el estatus de zinc en personas que siguen dietas vegetarianas es menor que en las que no las siguen (103, 160, 173).

En España, según el panel de consumo de 1988 (56, 108, 124, 148, 153), la mayor fuente dietética de cinc la constituyen los alimentos de origen animal con un 56% de la ingesta, en particular la carne y sus derivados, con un 30%, y la leche y los lácteos con algo más del 17%. A continuación vendrían los cereales con un 13%, las legumbres con un 8%, las patatas con el 3% y las hortalizas y frutas con un 13%.

Hay tablas (5) que muestran contenido en cinc en la mayoría de los alimentos. Como se ha descrito anteriormente, la mayor cantidad de cinc proviene de las carnes, siguiendo los productos lácteos, pan y cereales, pescado y otros. (Grafico 3)



Grafica 3. Contribución de los distintos grupos de alimentos a la ingesta de zinc (40)

#### 2.4.4. Biodisponibilidad del cinc

La biodisponibilidad del cinc esta influida por los componentes nutricionales del

los alimentos especialmente los fitatos.

Se debe destacar que el cinc compite con otros minerales en el intestino (174). Se debe tener siempre en cuenta la biodisponibilidad y la competencia entre los elementos para poder prevenir la deficiencia tanto para el cinc como para otros nutrientes (125).

En el anexo 6 está presentada una tabla donde se puede ver la cantidad disponible de cinc en los alimentos y cuál es el ratio de cinc/fitatos (175).

#### **2.4.5. Absorción del cinc**

El cinc puede ingresar en el organismo humano a través de:

- Ingesta de alimentos y agua
- Piel
- Respiración

Entre el 3 y el 38% del cinc de la dieta se absorbe en el tubo digestivo proximal. Esta absorción del cinc parece estar regulada por la síntesis de una proteína intestinal denominada metalotioneína (MT, proteína de bajo peso molecular rica en cisteína) que tiene la capacidad de ligar diferentes metales divalentes como el  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  y  $Cd^{2+}$ . Esta proteína actúa como ligando que amortigua la absorción del cinc (176, 177, 178).

La absorción también depende de las cantidades de cinc en la dieta y de la presencia de sustancias que interfieren con él, tales como:

- La fibra, los fitatos (myoinositol hexafosfatos, son los fitatos el mayor inhibidor de la absorción de cinc), así como los polifenoles (179) que forman complejos y disminuyen su absorción.
- El Ca, Cu y Cd compiten y pueden reemplazar al cinc en la proteína transportadora, por lo que dificultan su absorción (180, 181, 182, 183).
- La glucosa, la lactosa y determinadas proteínas favorecen la absorción de cinc (184).

Parte del cinc ingerido se absorbe por difusión pasiva, y el resto a través de un mecanismo de transporte activo. Para que este mecanismo de transporte activo ocurra, se necesitan unas moléculas de bajo peso, intracelulares, que son el ácido

picolínico y el ácido cítrico que captan el cinc. Una vez dentro de las células se une con MT y otras proteínas ricas en cisteína, y lo transportan intracelularmente hasta el borde seroso del enterocito, desde donde pasa a la circulación (185, 186).

Para que el transporte activo del cinc ocurra, además de las moléculas mencionadas, es necesaria la presencia de vitamina B<sub>6</sub> y de energía en forma de ATP. Por tanto, la situación de deficiencia de vitamina B<sub>6</sub>, una alteración en el funcionamiento del páncreas (donde se produce el ácido picolínico), o una menor producción de energía en forma de ATP, reducirán la absorción de cinc (187, 188).

La mayor parte del transporte del cinc se realiza gracias a las moléculas de albúmina, que actúan como transportadoras plasmáticas principales, aunque también actúan como tales la transferrina y la  $\alpha$ -2 macroglobulina (189).

La mayor parte del cinc en sangre se encuentra en los eritrocitos y leucocitos, donde es metabólicamente activo y fluctúa en función de la baja ingesta y de otros factores como las lesiones o la inflamación. Los niveles plasmáticos caen un 50% en respuesta a lesiones en fase aguda (190, 191, 192).

El cinc circulante representa el 0,1% del cinc total del cuerpo, es decir, sólo emplea la sangre como vehículo para llegar a las células y almacenarse (193).

El cinc liberado por las células intestinales en los capilares mesentéricos es transportado hasta el hígado, siendo la albúmina la proteína transportadora más importante, de forma que el 70% del cinc plasmático se encuentra unido a la albúmina y el resto a la  $\alpha$ -2- macroglobulina, transferrina y algunos aminoácidos como cisteína e histidina.

La mayor parte del cinc es intracelular, el 90% se distribuye principalmente en los tejidos óseo y muscular, y el resto se localiza en la piel, el hígado, el páncreas, la retina, las células hemáticas y en los tejidos gonadales, en el varón. El cinc contenido en los hematíes, músculo, pelo y testículos se intercambia más rápidamente que el contenido en el esqueleto y dientes (194, 195). La sangre total contiene aproximadamente diez veces más cinc que el plasma, debido a la presencia de este catión en el enzima eritrocitaria anhidrasa carbónica (196).

Un estudio estadounidense determinó que en hombres con edades entre 22-30 años el cinc absorbido era del 31%, comparándose con un grupo de 65 – 74 años de de edad, donde la absorción fue del 17% (Turnlund et al., 1986).

Otro estudio realizado en Europa en hombres de 58 – 68 años, el cinc absorbido de la dieta fue de 30% (Meunier et al., 2005). Couzy (1993) encontró resultados similares que en grupo 24-40 años, con una absorción de cinc del 35-39%, en comparación con el de 70-83 años, que fue del 20-23% (186).

La absorción de cinc es muy baja, por lo tanto la ingesta de cinc, tanto en personas sanas como en pacientes, se debe evaluar continuamente para prevenir la deficiencia. Se han demostrado en los estudios metabólicos sobre el cinc muestra un balance positivo cuando la ingesta de Zn es de 12,5 mg / día, y estableció que una dieta de 15 mg / día en hombres y 12,5 mg / día en mujeres es suficiente para mantener la homeostasis del Zn en los seres humanos.

Otra vía de ingreso del cinc es por difusión en la piel, pero la cantidad es muy pequeña. En los experimentos en animales se determinó que el exceso puede causar irritación.

Por respiración puede llegar el cinc a nuestro organismo especialmente en forma de distintas sustancias químicas volátiles y si la cantidad es tóxica puede afectar las vías respiratorias. La exposición de óxido de cinc puede determinar “*Metal fume fever*” caracterizada por dolor del pecho, tose, mareos, leucocitosis, reducción de los volúmenes de los pulmones etc. La exposición al clorhidrato de cinc es muy corrosiva, pudiendo dañar las mucosas respiratorias. La toxicidad del cinc es reversible, los estudios en animales han determinado que después de dos días de la exposición, la cantidad baja significativamente (152).

Otra vía de entrada del cinc en el cuerpo es mediante la ingesta de agua. Existen unos valores límite de cinc en el aire y en el agua conforme al *National Air Surveillance Network*. La media de cinc en el aire y el agua debe estar en un rango de 0,02 – 0,05 mg/L y 0,01 -0,1 mg/L respectivamente. (Figura 9)

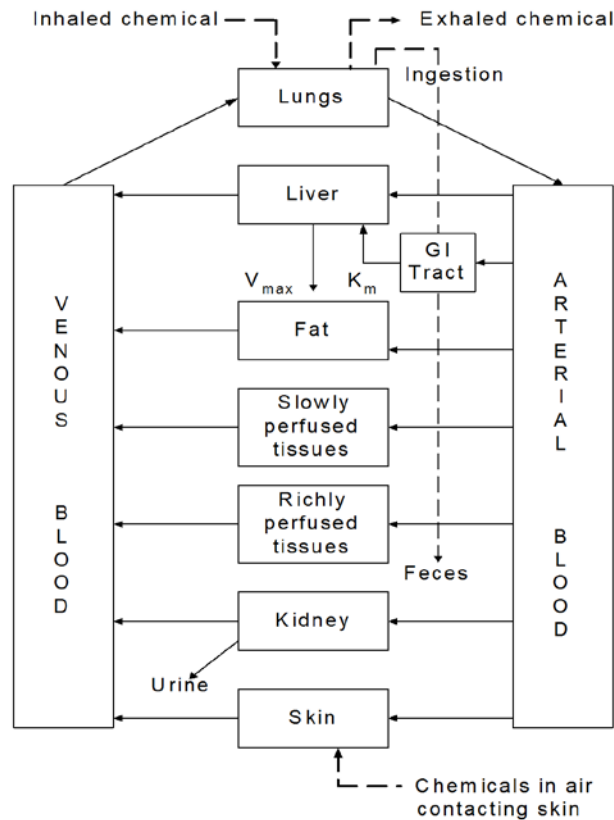


Figura 9. Fuente adaptado de los Krishnan et al. 1994: las sustancias químicas se enseña que son absorbidas por piel, respiración, ingeridas, metabolizados de hígado y eliminados por orina (152)

#### 2.4.6. Distribución corporal del cinc en el organismo

El cinc es un elemento traza ampliamente distribuido por todas las células y tejidos tanto en seres humanos como en animales.

El 65% de este elemento se encuentra concentrado en los músculos y el 20% en los huesos. El cinc es un ión de alta carga, hidrofílico y que no puede atravesar membranas biológicas por difusión pasiva, por lo que existen mecanismos especializados para su captación, transporte intracelular y liberación.

Si observamos la figura 10. siguiente, el Zn llega a ser un factor relevante para el buen funcionamiento de muchas enzimas directamente implicadas en reacciones de los hidratos de carbono, reacciones de biosíntesis, degradación de las proteínas y procesos de síntesis de ácidos nucleicos (197, 198).

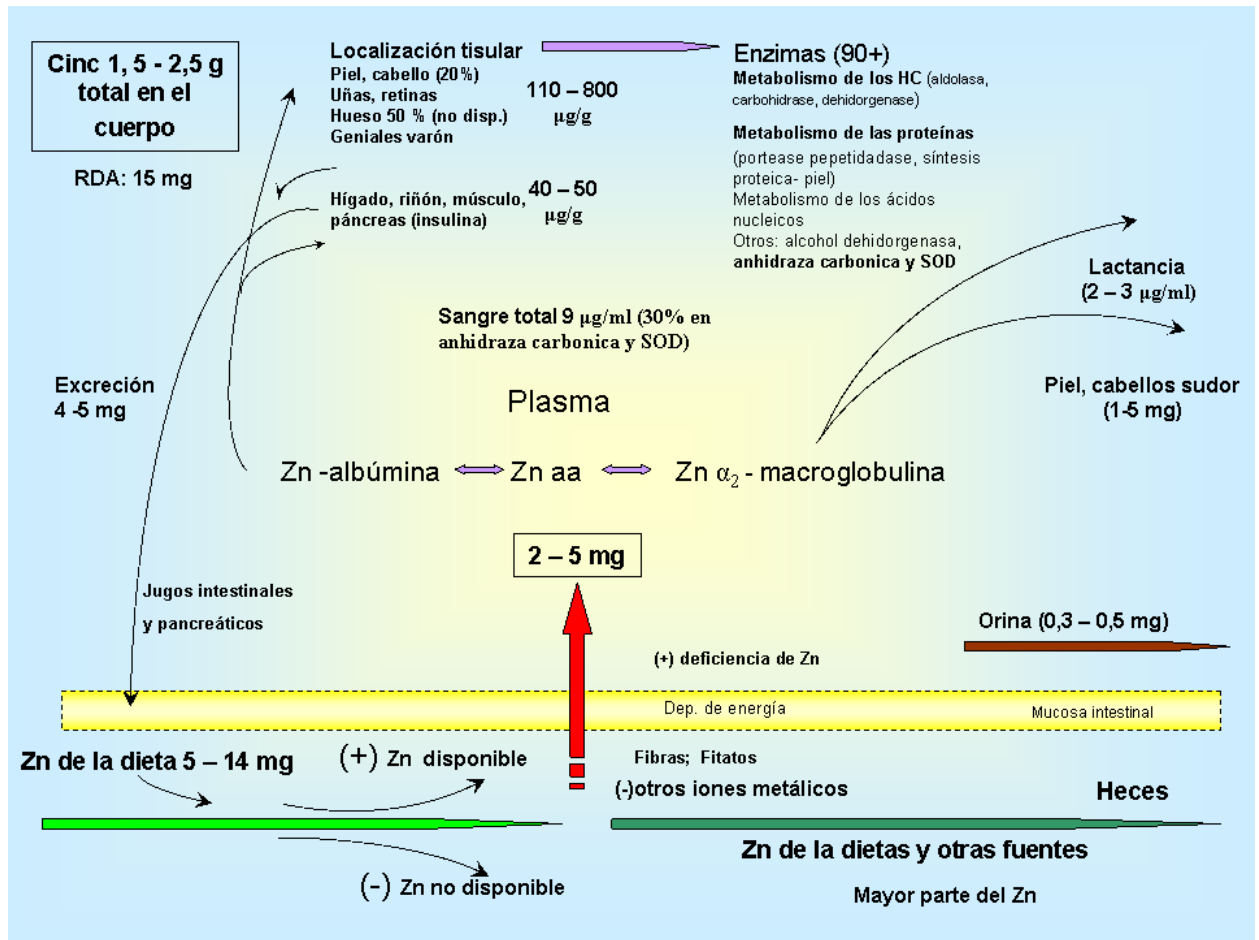


Figura 10. Distribución del cinc en cuerpo u.s.

Se determinó que los músculos y huesos contienen un 90% de la cantidad total de cinc. Otros autores han demostrado que la mayor concentración del cinc en los órganos está en hígado, tracto gastrointestinal, riñón, piel, pulmón, cerebro, ojo, corazón y páncreas. Se han detectado cantidades superiores también en próstata, retina y esperma. Por otro lado, Forssen (1972) demostró que la cantidad de cinc es muy variable de un individuo a otro (199, 200, 201).

En la sangre, el cinc está presente en plasma, eritrocitos, leucocitos y plaquetas, aunque la mayor cantidad se encuentra en eritrocitos (el 87% se une a la anhidraza carbónica).

En plasma, el cinc se encuentra unido con las proteínas principalmente con a la albúmina y a la  $\alpha$ -2-macroglobulina (202).

Las hormonas como la adenocorticotropina (ACTH) tienen un rol en la regulación de la concentración del cinc en hígado. La ACTH es secretada por la parte anterior de la glándula pituitaria, estimulando la secreción de glucocorticoides. Failla and Cousins (1978) han demostrado *in vitro* que los glucocorticoides estimulan la ingesta de cinc en cultivos celulares de hígado y al mismo tiempo que activa el gen que regula la síntesis de metalotioneina (MT), que en las células intestinales se une al cinc y lo libera en sangre (176).

Se demostró que después de una comida la concentración de cinc plasmático disminuye probablemente por la retirada del páncreas para producir enzimas dependientes de cinc para el proceso de absorción y digestión (203).

Diversos autores han realizados estudios ocupacionales, y demostraron que el cinc inhalado se puede distribuir a otros tejidos y producir efectos sistémicos (152).

#### **2.4.7. Metabolismo del cinc**

El compartimiento de transporte activo del cinc es el plasma (176). La mayor parte el cinc se encuentra en forma de complejos orgánicos de ligando, raramente está libre como ión metálico (Gordon et al. 1981). El cinc se encuentra en formas transportable y no-transportable en sangre (NAS/NRC, 1979). Las forma transportable está unida a aminoácidos como la histidina y la cisteína.

El complejo cinc - albúmina está en equilibrio con el complejo cinc-aminoácido. La metalotioneina es una proteína importante que se une con el cinc y se encuentra especialmente en hígado y riñón, aunque también en otros tejidos.

La forma no-transportable está en presente pequeña cantidad y está fuertemente unida a la  $\alpha$ -2-macroglobulin en plasma (Cousins 1985). Henkin (1974) demostró que el cinc se puede disociar de  $\alpha$ 2-macroglobulin sólo en hígado. El complejo cinc-proteína tiene una constante de asociación de  $>1,010$  (166).



#### 2.4.8. Homeostasis del cinc.

Se define como la capacidad de mantener el estado interno estable ante condiciones externas variables. En el caso del cinc, aunque el consumo promedio en la dieta es de 14 a 30 mg/kg/día, el hombre es capaz de mantener su balance con ingestas extremas desde 2,8 hasta 306 mg/kg/día (204). Esta capacidad homeostática del organismo permite conservar el adecuado estado de cinc corporal aun cuando la ingesta dietética varíe ampliamente.

La homeostasis se logra principalmente por adaptaciones del tracto gastrointestinal. Además, puede contribuir a la redistribución tisular y celular, y solo en casos extremos, se hacen ajustes renales. Las adaptaciones intestinales a cambios en la ingesta del mineral consisten en aumentar la absorción y disminuir la excreción fecal de cinc endógeno ante consumos deficientes. Por el contrario, cuando el consumo es excesivo, disminuye la absorción y aumenta la excreción (205, 206, 207).

No existen reservas corporales de cinc y sus niveles se regulan por un estricto control homeostático. (204, 205, 208). El cinc del hueso no es disponible y el del hígado se utiliza muy rápido.

El cinc absorbido llega a la circulación sanguínea, donde se puede encontrar libre (en porcentaje pequeño), o se une con los transportadores y llega principalmente al hígado, cerebro, huesos, músculo, retina, etc. En los diferentes tejidos el cinc participa en reacciones específicas como cofactor.

El recambio de cinc en el cuerpo es lento, con una vida media biológica de 250 días. Sin embargo, las reservas corporales de cinc son relativamente pequeñas, y tiene una rápida tasa de recambio. Por consiguiente, es necesario el aporte continuo de cinc para que pueda eliminarse a través de las secreciones pancreáticas e intestinales y excretado diariamente en la orina (sólo un 5%) (209, 210).

Los lugares catalíticos del cinc son tres moléculas de ligando de proteínas mas una de agua: nitrógeno, histidina y/o glutamato o oxígeno aspartato, y sulfuro de cisterna. Para todas ellas los lugares activos utilizan un solo átomo de cinc (His > Glu > Asp > Cys) (Vallee and Auld 1990). La función co-catalítica del cinc se caracteriza en

las enzimas multi – Zn, que contienen dos o mas átomos de cinc o magnesio (Vallee 1995) (137). El cinc participa en el metabolismo de los lípidos y glúcidos. En hígado la concentración de cinc es muy alta por lo tanto numerosos estudios han reconocido la importancia del cinc en el catabolismo y en el anabolismo.

Una representación gráfica de la homeostasis de cinc se puede ver en la figura 11.

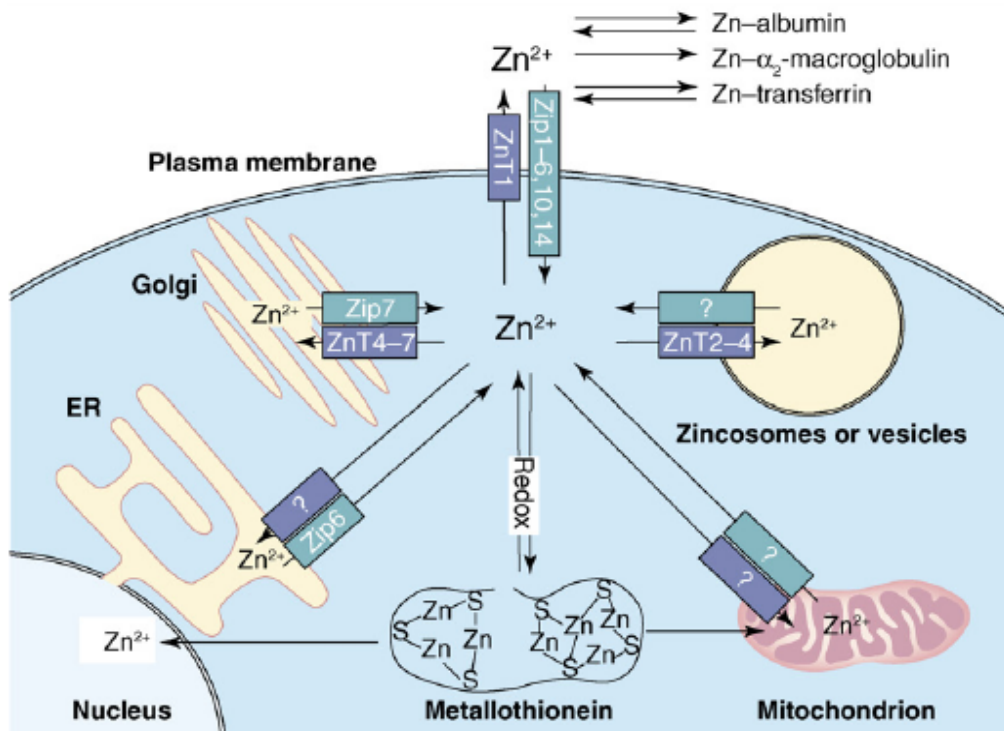


Figura 11. Homeostasis del cinc en la célula mamaria. El cinc disponible esta bajo un control homeostático, eso indica una interacción con la expresión, localización y afinidad de los transportadores de cinc y proteínas de unión. Los zip están implicados de transporte de cinc en citosol desde la zona extracelular a la parte intracelular, orgánulos, aparato Golgi, RE denominados 'zincosomas' (vesículas que acumulan una cantidad alta de cinc). Los ZnT están implicados en el flujo de cinc del citosol. La metalotioneina es la principal proteína que se une al cinc intracelular; la sensibilidad de los tioles (-S) y el numero de lazos de unión del cinc con metalotioneina está controlada por reacciones redox. En el suero el cinc está unido a la albúmina (60% del cinc total de suero) y a la transferrina (10%), con una baja afinidad, pero con alta afinidad con la  $\alpha_2$ -macroglobulina (30%) (207)

Kirchgessner (1977) ha determinado que la eficacia metabólica de la utilización del cinc en ratas es en orden decreciente: Zn- alanina > Zn- EDTA > Zn – glicina > Zn- cisteína > Zn histidina > ZnSO<sub>4</sub> > Zn fitato > ZnS > ZnCO<sub>3</sub>, entonces mas disponible es cuando está unido a los aminoácidos y menos disponible cuando está unido a los compuestos inorgánicos en forma sales complejas (211).

En particular el cinc está implicado directamente en procesos de catálisis y co-catálisis enzimática, controlando muchos procesos como la síntesis de DNA, el crecimiento normal, el desarrollo de cerebro, las respuestas del comportamiento, la reproducción, el desarrollo del feto, la estabilidad de las membranas, la formación de huesos y la cicatrización. (Barceloux 1999; Mocchegiani et al. 2000). El estudio de Bertolini (2008) sugiere que la dishomeostasis del cinc juega un rol clave en envejecimiento temprano del cerebro (212).

#### **2.4.9. Excreción del cinc**

Las pérdidas fecales son de 6.8 -14,4 mg/día. Los riñones reabsorben el cinc, pero las pérdidas son de 7,5 g/kg/día, (4 -12  $\mu\text{mol/día}$ ) (213), aunque mayor es la pérdida a nivel intestinal a partir de las secreciones pancreáticas (aproximadamente 34 g/kg/día). Las pérdidas de zinc se pueden realizar también por las células epiteliales, la transpiración, el semen, el pelo y la menstruación (166, 206).

La excreción fecal responde de manera inmediata a los cambios en la ingesta de cinc pero su efecto sobre la cantidad eliminada no es muy grande. Por el contrario, la absorción responde lentamente, pero tiene un gran efecto sobre la cantidad de cinc que se absorbe; no obstante, si un individuo ingiere poca cantidad, aunque en el intestino se duplique el porcentaje de absorción, el valor neto absorbido también será bajo y posiblemente no llegará a satisfacer los requerimientos. El cinc se excreta por las heces o a través de las secreciones pancreáticas e intestinales y en menos de un 2% por la orina, viéndose aumentadas las pérdidas renales en pacientes con nefrosis, alcoholismo, cirrosis hepática, y con estados de estrés metabólico (166).

Otras vías de excreción de cinc son el sudor, el crecimiento del pelo y la descamación de la piel. La sudoración excesiva puede llevar a perder hasta 3 mg/día. Dependiendo de la temperatura ambiente o de la presencia de fiebre, puede perderse hasta 1 mg de zinc por litro de sudor.

Los niveles excretados de cinc no constituyen un indicador adecuado de los valores en suero, variando en función de la masa muscular. Se observa que la excreción diaria de cinc varía, aún cuando los individuos reciben una dosis constante

del oligoelemento con la dieta. La excreción urinaria de cinc en mujeres ( $334 \pm 168$  mg/24 h) es más baja que en varones ( $578 \pm 259$  mg/24 h), lo que podría deberse a una ingesta mayor en este último grupo (214)

Las pérdidas renales de cinc son bajas pero se ha encontrado un incremento de éstas pérdidas en pacientes con enfermedades como nefrosis, diabetes, alcoholismo, cirrosis y porfiria. Se cree que los aminoácidos cisteína e histidina juegan un papel en las pérdidas de cinc en estos pacientes (215, 216).

#### **2.4.10. Funciones del cinc**

Las funciones de cinc pueden ser clasificadas en 3 categorías: catalítica, estructural y reguladora.

El cinc participa en la estructura de más de 300 enzimas. Por lo tanto, tiene el rol catalítico o directamente participa en reacciones metabólicas. También, forma parte de la estructura de las membranas plasmáticas (217) y la estructura del DNA y de numerosas metalo-proteínas (Mocchegiani et al., 2000; Tapiero y Tew, 2003) (218). El cinc es esencial para regulación de procesos biológicos diferentes, como en la expresión de la MT (104).

Igualmente, este elemento se caracteriza por estar ampliamente distribuido en la naturaleza, aunque no es abundante, ya que representa sólo el 0,012% de la corteza terrestre. En los suelos su concentración media es de 50 mg/kg (219). Actualmente la mayor parte del cinc producido se emplea en la galvanización del hierro y acero, así como en la manufacturación del latón. Los objetos galvanizados (alambres, clavos, láminas, etc.) se emplean en la industria del automóvil, la construcción, equipamientos de oficinas y utensilios de cocina, etc. También se utilizan grandes cantidades de cinc en la obtención de aleaciones, y en polvo se utiliza como agente reductor. Dentro de los compuestos, el óxido de cinc es el más importante cuali- y cuantitativamente.

Es uno de los elementos esenciales más abundantes en el cuerpo humano y al ser un ión intracelular se encuentra en su mayoría en el citosol. Su cantidad en el

individuo adulto oscila entre 1 y 2,5 g (16), siendo el segundo oligoelemento en relación a la cantidad total en el organismo, superado tan sólo por el hierro (112)

Para valorar su estatus en el organismo se usan principalmente como biomarcadores los niveles en suero, plasma y eritrocitos (220, 221). Tanto el Zn, como el Cu y el Se intervienen en procesos bioquímicos necesarios para el desarrollo de la vida. Entre estos cabe destacar la respiración celular, la utilización de oxígeno por parte de la célula, la reproducción tanto de ADN como de ARN, el mantenimiento de la integridad de la membrana celular y la eliminación de radicales libres, proceso que se hace a través de una cascada de sistemas enzimáticos (222). Actúa como cofactor y como integrante de al menos 300 enzimas (tabla 16), como

- Aldolasas,
- Deshidrogenasas,
- Esterasas,
- Peptidasas,
- Fosfatasa alcalina,
- Anhidrasa carbónica,
- Superóxido-dismutasa
- ADN y ARN polimerasas, implicadas en el metabolismo energético y de los hidratos de carbono, en las reacciones de biosíntesis y degradación de proteínas, en procesos bio-sintéticos de ácidos nucleicos
- Compuestos hemo, en el transporte de CO<sub>2</sub>, etc.

METALO-CINC ENZIMAS	ENZIMAS ACTIVAS ACTIVADAS POR Zn
Anhidrasa carbónica	Glicil-glicina dipeptidasa
Carboxipeptidasa	Arginasa
Alcohol deshidrogenasa	Dehidropeptidasa
Glutámico deshidrogenasa	Carnosinasa
Gliceraldehido 3-P deshidrogenasa	Aminopectidasa
Lactato deshidrogenasa	Histidina deaminasa
Fosfatasa alcalina	Lecitinasa
Aldolasa	Monosidasa
Fosfolipasa	ALA-dehidratada
Amilasa	Superóxido dismutasa
Malato deshidrogenasa	
Lactato citocromo reductasa	
Manosa 6-P isomerasa	
ADN polimerasa	
ARN polimerasa	

Tabla 16. Principales metaloenzimas dependientes de cinc (223)

En la siguiente tabla (tabla 17) se agrupan las funciones fisiológicas del cinc (166, 224, 225, 226, 227).

**Funciones fisiológica del zinc**

- \* Función cerebral.
- \* Neuromodulador en las sinapsis.
- \* Respuesta frente al stress.
- \* Crecimiento e integridad celular.
- \* Mantiene la homeostasis de los tejidos epiteliales.
- \* Cito-protector: propiedades antioxidantes, antiapoptóticas y antiinflamatorias.
- \* Metabolismo del hueso pues es un constituyente de la matriz, es un activador de varias metaloenzimas e incrementa los parámetros de la formación del hueso.
- \* Maduración sexual.
- \* Fertilidad y reproducción: importante para el desarrollo y crecimiento fetal.
- \* Mantenimiento de la función ocular normal.
- \* Visión nocturna.
- \* Agente inmunorregulador y regulador en diferentes mediadores de la inmunidad como enzimas y citoquinas, lo que explica la gran importancia del zinc en la regulación de la activación, proliferación y apoptosis de las células linfoides.
- \* Función cardiorrespiratoria y promoción de fuerza en personas sanas y en atletas.
  - \* Suplementación con zinc tiene efectos positivos en los parámetros hematológicos de atletas.
- \* Determinados elementos traza, como es el caso del Zn, intervienen en la regulación de la presión sanguínea, actuando por lo tanto en ciertos tipos de hipertensión arterial.
- \* Sentido del gusto y del apetito, debido a ello, una terapia con zinc aumenta la recuperación de pacientes que sufren anorexia nerviosa por un incremento de la ganancia de peso y mejorar la ansiedad y depresión de estos pacientes.

Tabla 17. Funciones fisiológicas del cinc

También se ha visto cómo en pacientes que tienen diabetes tipo II una combinación de vitaminas (vitamina C + vitamina E) y minerales (Mg + Zn) disminuyen tanto la presión sistólica como la diastólica (228, 229).

**2.4.10.1. El cinc y el metabolismo intermediario**

El cinc también interviene no sólo en diversas rutas del metabolismo intermediario, sino también forma parte de diferentes deshidrogenasas, que son

enzimas que catalizan las oxidaciones metabólicas del sustrato y actúan en los mecanismos de desintoxicación corporal del alcohol etílico (comentado anteriormente) y en el metabolismo de la vitamina A.

La retinal deshidrogenasa (en retina) es una enzima esencial que actúa en el metabolismo de los pigmentos visuales que contienen vitamina A llamada trans-retinol, que junto con el NAD posibilita la conversión, por oxido-reducción, del retinol en retinal y viceversa. Esta enzima de la retina también depende del Zn para llevar a cabo su acción catalítica oxido-reductora (230, 231, 232).

Para el funcionamiento de las rutas de los ácidos grasos omega 6 y omega 3 es necesario el Zn como cofactor del enzima delta-6- desaturasa. Los omega 3 son factores esenciales para el buen funcionamiento físico y psíquico, ya que muchos problemas de hiperactividad y de alteraciones de comportamiento se subsanan con la administración de estos ácidos grasos. Tanto en la ruta del ácido alfa-linoleico como en la del ácido alfa-linolénico, para que pase a gamma-linolénico y a ácido estearidónico, se necesita como coenzima de la alfa 6 desaturasa el Zn, Mg, vit. B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub> y C. Pero el Zn sigue siendo un cofactor en las dos rutas para el enzima delta-5-desaturasa y delta-4-desaturasa (233).

El cinc es esencial no solo para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos sino también para los procesos del desarrollo, división y diferenciación celular.

#### **2.4.10.2. Cinc y la proliferación celular y el crecimiento**

El cinc es también cofactor esencial en la actividad de la hormona de crecimiento y de la fosfatasa alcalina ósea (enzima que interviene en la precipitación del fosfato cálcico en los huesos) (404, 402). Trabajos realizados en animales de laboratorio, han mostrado que dietas deficitarias en cinc, mantenían a los animales vivos pero se detenía su crecimiento. Lo interesante de los trabajos es que mostraban que no era la falta de calorías lo que impedía el crecimiento, ya que los animales sí recibían comida, sino que era el déficit específico de cinc (166, 236, 237). También es un regulador de la actividad hipofisaria.

El consumo de cinc inadecuado tiene un impacto funesto en los períodos de rápido crecimiento como la niñez y el retraso en el crecimiento lineal se asocia con su deficiencia porque afecta la proliferación celular debido a la disminución de mecanismos enzimáticos y hormonales (205). La hipocinquemia lleva a la disminución en la expresión de los receptores celulares del Factor de Crecimiento-1 ligado a la Insulina (IGF-1). En animales alimentados con la dieta carente en cinc, se encontró una disminución de la IGF-I en sangre. La IGF-I es mediadora en muchos eventos celulares, especialmente en la utilización de aminoácidos y glucosa por parte de la célula.

#### **2.4.10.3. Cinc y el sistema inmune**

Zinc afecta múltiples aspectos del sistema inmunológico (238, 239):

1. Es esencial para el normal desarrollo y la función de mediación celular inmunidad innata, los neutrófilos, y las células asesinas naturales.
2. Su deficiencia afecta:
  - Los macrófagos
  - La fagocitosis, la muerte intracelular y la la producción y secreción de citoquinas
  - El crecimiento y la función de células T y B
3. El cinc es necesario para la síntesis de ADN y la transcripción del ARN, para la división celular y la activación de las células.
4. La Apoptosis (muerte celular programada) está potenciada por la deficiencia de cinc (240).
5. Las funciones del cinc como un antioxidante es estabilizar las membranas (488)

Por otro lado, el cinc es esencial para los mediadores celulares y la inmunidad humoral (109). La deficiencia de cinc puede determinar muchas alteraciones de la función inmune incluso los mediadores celulares de la inmunidad, como los fagocitos, macrófagos y neutrófilos. También en actividad de la células natural killer (NK), y en la



producción de citoquinas y actividad del complemento. Las citoquinas inflamatorias como TNF $\alpha$  y IL<sub>10</sub> pueden generar volúmenes grandes de especies reactivas de oxígeno (241). Por lo tanto, la deficiencia de cinc puede inducir estrés oxidativo y contribuir a condiciones del estrés oxidativo como la oxidación lipídica (117, 243, 244). Por otro lado la suplementación con cinc en dosis alta puede interferir con cobre siendo un impedimento para sistema inmune (242).

La deficiencia de cinc contribuye a la apoptosis de precursores y células B inmaduras en médula ósea y de precursoras de linfocitos T en el timo (245, 246). El desarrollo de linfocitos B y la producción de anticuerpos, particularmente de la inmunoglobulina G, está perjudicado por la deficiencia de cinc. El macrófago, una célula clave en varias funciones inmunológicas, está adversamente afectado por la deficiencia de cinc. Esto puede impedir la eliminación intracelular, la producción de citoquinas, y la fagocitosis (207, 247).

Se reconoce que el cinc es muy importante para desarrollo del sistema inmunitario. Después de nacer, todas células inmunes se desarrollan en la médula ósea. Estas tiene la capacidad de reconocer “las células propias” de las “no propias” del cuerpo, pudiendo reconocer microorganismos infecciosos.

Las células denominadas *precursoras* son células del sistema inmunitario liberadas por la médula ósea que llegan a la circulación y pasan al timo transformándose en células del timo activas o células T (247).

Al estudiar las implicaciones del cinc en el sistema inmune, se demuestra que el cinc es el micronutriente que presenta una mayor relación con el sistema inmune (figura 12) (247, 248).

La respuesta inmunitaria requiere un estado nutricional normal. Muchos estudios han establecido una relación entre la desnutrición con una alta frecuencia de enfermedades infecciosas y una disminución en los factores inmunitarios, y entre la carencia de nutrientes específicos y la respuesta inmunitaria, tanto humoral como celular

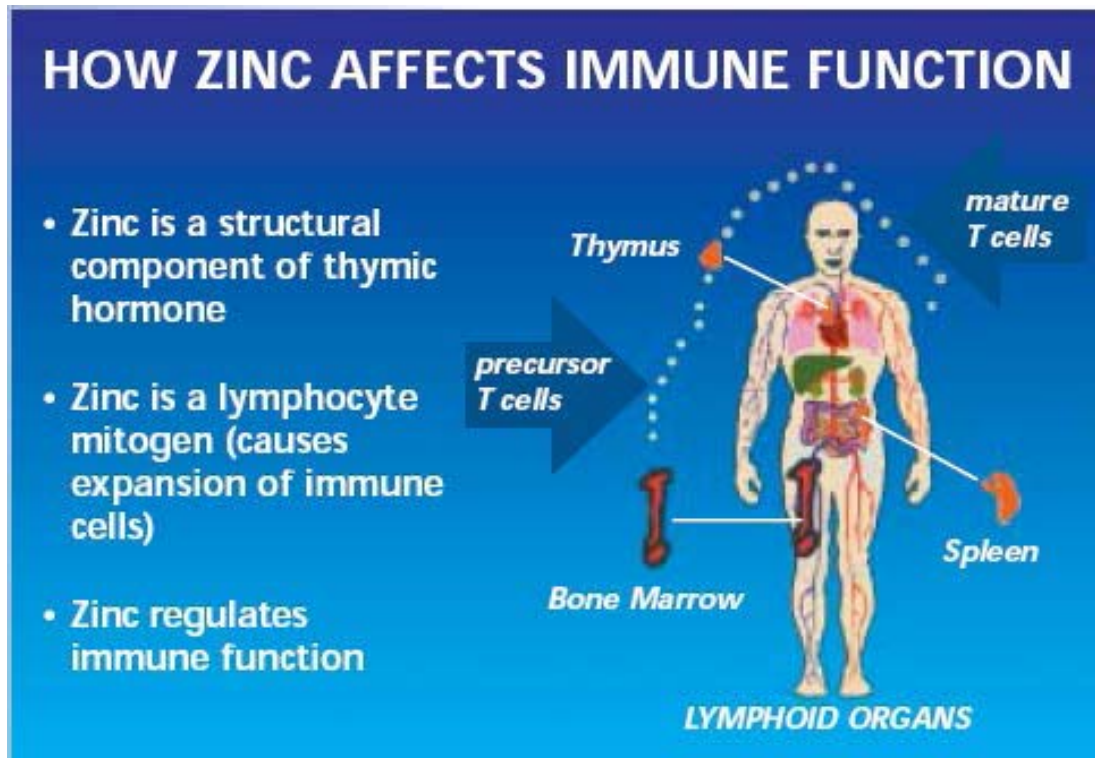


Figura.12 Implicaciones del cinc en el sistema inmune

La desnutrición calórico-proteica, provoca alteraciones en el reconocimiento de antígenos, en su procesamiento, y en la población de linfocitos T, presentándose un retraso en la respuesta de hipersensibilidad (246).

La desnutrición deprime la cooperación entre las células T y B, con lo cual la actividad macrófaga se hace insuficiente.

En los pacientes desnutridos, se ha observado una disminución de la respuesta mitógena mediante el test de crecimiento linfocitario.

La respuesta de sensibilidad cutánea no solo depende del estado nutricional del paciente, sino de otros factores tales como anomalías hepáticas, edad, fármacos inmunosupresores, quemaduras, infecciones (247).

Se demostró que una suplementación de 1.5 mg Zn/kg/día hasta 2.5 mg Zn/kg/día puede tener efectos beneficiosos sobre las células del sistema inmunitario, y puede tardar la hipersensibilidad de la piel como respuesta de los antígenos específicos.

Por el contrario, no se observó ningún efecto sobre inmunoglobulina G e inmunoglobulina M o células B de bazo de ratas que fueron alimentados con 76.9 mg Zn/kg/día en forma de sulfato de cinc durante 4 semanas (249).

#### **2.4.10.4. El cinc y los sentidos**

Se ha demostrado que el olfato y el gusto disminuyen cuando no se ingiere suficiente cinc. La anhidrasa carbónica es una enzima que requiere cinc, por lo tanto en caso de deficiencia las papilas gustativas sufren un daño oxidativo con resultado de alteración del gusto y olfato (166, 306). El cinc participa en la liberación de neurotransmisores en los núcleos para-ventriculares del hipotálamo como el neuropéptido Y, la galanina y las  $\beta$ -endorfinas, necesarios para la activación de receptores de señales de apetito (200).

Otros estudios evidencian que el cinc es un componente importante del aparato auditivo interno por lo tanto tiene rol en equilibrio.

El cinc es necesario para el mantenimiento de la visión, es el oligoelemento más abundante en el ojo. Igualmente, cumple un papel decisivo en el metabolismo de la vitamina A. El retinol debe convertirse en Retinal, por la acción de la enzima Retinol-deshidrogenasa-Zinc-dependiente (231, 250).

#### **2.4.10.5. Cinc en la piel y las uñas.**

Otro aspecto muy importante es la evidencia de que tiene influencia en el cáncer, ya que le confieren un lugar muy importante en la protección contra el cáncer.

También en la *Acrodermatitis Enteropática*, enfermedad en la que está alterada la absorción y el metabolismo de cinc. Sus manifestaciones son: alteraciones dérmicas, especialmente periorificiales (boca y ano), con cuadros diarreicos repetidos y alteraciones inmunitarias (251)

Varios estudios identifican una correlación positiva entre los niveles séricos de cinc y la gravedad del acné (252).

#### Otras funciones del cinc

El cinc también es muy importante para el sistema nervioso, en la producción de neurotransmisores. Se sabe que participa en el metabolismo de la dopamina (253, 254).

El sistema endocrino requiere el cinc en páncreas para la formación del complejo zinc - insulina; en la glándula tiroidea, se sabe a nivel experimental, que los receptores de membrana para la hormona T3, requieren de cinc para ser activados (137 255); en los testículos, el cinc se emplea en la producción de testosterona y otras hormonas sexuales; próstata el cinc tiene rol contra la hiperplasia prostática (256).

También participan otros neuropéptidos tales como la hormona liberadora de corticotropina, y la hormona estimulante de melanocitos ( $\alpha$ -MSH).

Algunas evidencias iniciales demuestran que la deficiencia nutricional de cinc favorece modificaciones en la composición corporal, con un mayor depósito de tejido adiposo en vez de masa magra. (257).

El cinc es un micromineral que se encuentra alterado en la obesidad. Forma parte del metabolismo de las hormonas involucradas en la fisiopatología de la obesidad tal como la insulina y leptina. El zinc participa en el metabolismo de la insulina incrementando la unión de insulina a los receptores y favoreciendo la actividad de la insulina.

#### **2.4.10.6. El cinc y los ácidos nucleicos**

Es un oligoelemento necesario para que la vitamina A actúe como antioxidante, protege los ácidos nucleicos (ARN y ADN) que constituyen el material genético humano (218).

No hay que olvidar la intervención de éste en la síntesis proteica, activando el DNA, la RNA polimerasa, la ARN sintetasa, la timidina-kinasa y la transcriptasa

inversa. Autoriza la lectura del código genético y permite a los factores de transcripción de numerosos genes intercalarse en la doble hélice del ADN de las regiones complementarias, gracias a la estabilización de los puntos de reconocimiento llamados dedos de cinc (figura 13).

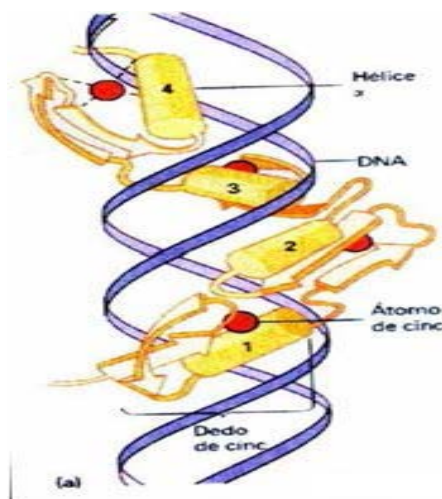


Figura 13. Estructura del ADN con los dedos de cinc u.s.

El término *cinc finger* se aplica a un grupo de “proteic motifs” que poseen en común la propiedad de ser unidas por átomos de zinc con el fin de estabilizar su estructura. De los aproximadamente 30.000 genes humanos, cerca de 3.000 codifican proteínas que contienen “zinc fingers motifs”, lo que representa más de 15.000 de estos motivos recorriendo nuestro cuerpo en todo momento. Además, existen proteínas que contienen, a lo largo de su secuencia, hasta 37 zinc fingers individuales. (258).

Las proteínas zinc fingers se encuentran dentro del grupo de las llamadas metaloproteínas, debido a que necesitan unir uno o varios iones metálicos, en este caso cinc, para llevar a cabo sus funciones biológicas, regular sus actividades o estabilizar sus estructuras terciarias o cuaternarias.

La estructura de cada motivo zinc finger individual es sumamente conservada y consiste en aproximadamente entre 30 a 60 residuos, constituidos todos por plegamientos  $\beta\beta\alpha$  (2 láminas  $\beta$  antiparalelas y una  $\alpha$  - hélice), sostenidos y ensamblados por el átomo de zinc (figura 14).

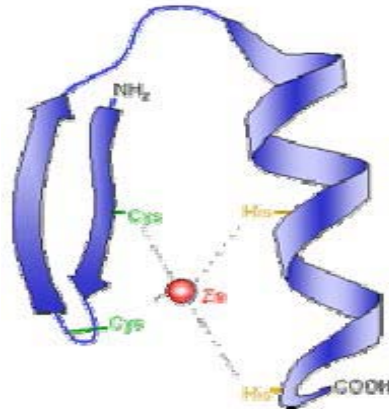


Figura. 14 Dedo de cinc (Fuente Cybele C. García, 2006)

Hay por lo menos quince clases diferentes de motivos zinc fingers. Las diferencias en la composición de las secuencias de los dedos y el número y espaciado de los mismos, pueden formar un variado número de distintas secuencias específicas que se unen a diferentes sitios, es decir, es la parte reactiva de la molécula que directamente participa en la combinación específica (DNA, RNA, proteína) (258).

Estos motivos estructurales están involucrados en un amplio rango de actividades biológicas que van desde la unión al DNA (simple y doble cadena), reconocimiento del RNA y hasta la coordinación de interacciones proteína-proteína. (258).

Castro et al. 1987 demostró que si hay una deficiencia nutritiva de Mg y Zn aparece la condensación de la cromatina (259).

#### 2.4.10.7. Propiedades antioxidantes del cinc.

Las propiedades antioxidantes del cinc han sido claramente demostradas, y en su mayor parte son independientes de las derivadas de la actividad de sus metaloenzimas.

El cinc no puede ser considerado un agente antioxidante como tal, ya que nunca se ha visto que interactúe directamente con radicales libres (260), sino que ejerce

sus efectos de una forma indirecta, la función antioxidante del cinc es evidente, tanto cuando es administrado crónicamente o se está en situación de deficiencia crónica, como cuando se está en situación de sobrecarga aguda.

La administración crónica de cinc induce la expresión de las metalotioneínas en hígado, riñón e intestino. Las metalotioneínas son proteínas de bajo peso molecular, ricas en cisteína, muy potentes como antioxidantes y cuyo mecanismo de acción no está aclarado por completo (261). Son las únicas proteínas que están implicadas en la distribución del zinc y se ha observado que en situaciones de estrés oxidativo el cinc es liberado desde las metalotioneínas (104).

El cinc posee un efecto protector frente al daño hepático inducido por el alcohol, independiente de las metalotioneínas, pero a su vez éstas requieren altas concentraciones hepáticas de cinc, lo que sugiere que la acción protectora es mediada por el cinc (210).

Por otro lado, la privación crónica de cinc hace al organismo más susceptible al daño mediado por el estrés oxidativo. Estudios animales han mostrado un incremento en la producción de radicales libres o un incremento en el daño derivado de la exposición al estrés oxidativo en situaciones de deficiencia de cinc (262, 263, 264).

Es reconocido que en paciente crítico el estrés oxidativo se aumenta y dan origen a una cantidad grande de radicales libres. El equilibrio de reducción-oxidación intracelular supone la presencia de compuestos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos capaces de destruir o neutralizar a estos radicales libres (265, 266)

También, en aquellas circunstancias en las que se produce un incremento a corto plazo de las concentraciones de este metal, el cinc ha demostrado su capacidad antioxidante por medio de dos mecanismos: la estabilización de grupos sulfhidrilos proteicos, protegiéndolos de la oxidación, y mediante antagonismo de las propiedades catalíticas del hierro y el cobre en lo que respecta a sus capacidades para promover la formación de OH<sup>-</sup> a partir de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y superóxido (267).

El papel del zinc como antioxidante se ha implicado también en la protección frente al cáncer de colon, sobre todo en alcohólicos (268). Igualmente ha demostrado reducir los

efectos deletéreos del alcohol sobre el feto, reduciendo las anomalías del desarrollo inducidas por éste.

En estudios in vivo en ratas se ha observado que los niveles bajos de Zn interaccionan con la vitamina E y las vitaminas liposolubles disminuyendo la absorción intestinal (229).

La enzima antioxidante Superóxido Dismutasa y el cinc

La superóxido dismutasa es una familia de metaloenzimas que está encargada de proteger el daño oxidativo, tóxico para la célula y su membrana (270).

Se descubrió en 1968 Joe McCord y Irwin Fridovich (269)

Las especies tóxicas del oxígeno reaccionan con toda clase de macromoléculas celulares y las reacciones que experimentan se han involucrado en diversos estados patológicos; como el cáncer, diabetes, envejecimiento y otras patologías. Estas membranas sufren daños, que consisten en una oxidación de los lípidos de la membrana. La lesión oxidativa y la inactivación de las enzimas producen un envejecimiento celular. En un estudio realizado en ratones sépticos deficientes en cinc se demostró que la deficiencia determina un incremento de la inflamación sistémica, fallo de órganos y la mortalidad (271, 272).

De todas las oxidaciones, la más importante es la que se produce en el ADN, ya que incluye fenómenos letales y mutágenos. Normalmente, los daños que sufren se reparan de manera eficiente, pero si los daños se acumulan en una cantidad superior a la capacidad de reparación aumentarán las patologías y los problemas que les acompaña (273, 274).

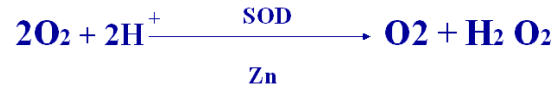
Una forma de esta enzima es la encargada de solucionar estos problemas. Requiere Zn y Cu para que esté en activo.

Existen otras formas de esta enzima que utilizan diferentes metales.

La SOD con centro activo de manganeso esta presente en la mitocondria y la cobre/zinc – SOD presente en citosol y una SOD extracelular (275, 276).



La SOD actúa neutralizando los radicales súper-óxido convirtiéndolos en peróxido de hidrógeno, siempre en presencia de *cinc* (o *cobre*) (275).



La SOD es imprescindible para todos los organismos aerobios, habiéndose establecido una correlación entre los niveles de SOD y el índice la longevidad.

En un estudio de Gunaydin B. et al. 2007 han realizado un estudio en paciente crítico si controles y no han encontrado diferencias significativas entre los valores de SOD de los grupos (277). En otro estudio se demuestra que la actividad de SOD está afectada por la edad no por género (278).

#### 2.4.11. El déficit de cinc

Hay muchos estudios que hablan de la deficiencia de cinc. En el mundo se habla de un porcentaje de más del 20% de deficiencia de cinc (230). Los estados carenciales de cinc pueden estar causados por diferentes factores como son: ingesta insuficiente, problemas en la absorción intestinal o pérdidas corporales excesivamente elevadas, así como el padecimiento de determinadas enfermedades.

La cinética de absorción está bastante saturada por incremento de transporte celular intestinal cuando se detecta un agotamiento de cinc. Se incrementa la expresión de los transportadores de cinc responsable de la absorción del cinc y las pérdidas intestinales van a disminuir (156). Este mecanismo sólo funciona a corto plazo y si la ingesta no es adecuada se puede instaurar una deficiencia (279).

Las manifestaciones clínicas secundarias a la deficiencia de cinc en adultos se han descrito principalmente en pacientes que reciben nutrición parenteral pobre o exenta de este elemento, también en pacientes con importantes pérdidas de líquidos gastrointestinales y en los sometidos a diálisis crónica. En pacientes quemados, con disfunciones renales y hemodializados, también es frecuente el desarrollo de

deficiencias. Se desconocen los efectos del padecimiento de deficiencias ligeras, aunque las personas más susceptibles son las mujeres embarazadas, mujeres en países en vías de desarrollo, niños que sufren desnutrición y ancianos (134).

La deficiencia de este elemento en niños y jóvenes se debe a la falta o escasez de alimentos de origen animal, dieta con un alto contenido en fitatos, inadecuada ingesta de alimentos y un incremento de las pérdidas fecales (280) y puede ocasionar retraso en el crecimiento y en el desarrollo neuronal, diarrea, alteraciones inmunitarias e incluso en algunos casos la muerte (281).

Los síntomas y signos de la deficiencia de cinc se agrupan en la siguiente tabla 18 (282, 283)

**Síntomas y signos de la deficiencia de cinc**

- \* Retraso en el crecimiento corporal.
- \* Alteraciones esqueléticas.
- \* Anorexia.
- \* Alteraciones en la madurez sexual y la capacidad reproductiva.
- \* Depresión de la función inmune ya que todos los tipos de células del sistema inmune presentan una disminución de su función cuando los niveles de zinc están disminuidos. Así, la función de los monocitos está dañada, en las células *natural Killer* la citotoxicidad está disminuida, los neutrófilos presentan una capacidad fagocítica inferior a la normal, los linfocitos T no son capaces de realizar su función correctamente y los linfocitos B sufren apoptosis.
- \* Ceguera nocturna, inflamación y opacidad de la cornea
- \* Dermatitis.
- \* Alopecia.
- \* Diarrea.

Tabla 18. Síntomas de la deficiencia de cinc

Las manifestaciones principales son dermatitis, alopecia, alteraciones en el sentido del gusto, anorexia, retraso en la cicatrización de las heridas, alteraciones inmunológicas y disminución de los niveles de fosfatasas alcalinas, habiéndose

postulado la deficiencia de cinc como un factor importante en la patogenia de la esquizofrenia (284).

Las alteraciones en la homeostasis del cinc se han relacionado con el Parkinson, el Alzheimer, isquemia cerebral transitoria, ataques de apoplejía y daños cerebrales (200).

Hay estudios epidemiológicos que sugieren que una deficiencia de zinc puede estar asociada con un incremento en el riesgo de padecer cáncer. Esto es debido a que tanto su participación en la función inmunológica, como sus propiedades antioxidantes y frente al estrés oxidativo proporcionan a este elemento una actividad preventiva frente al cáncer (240). Cuando el cinc plasmático baja se aumenta los marcadores de estrés oxidativo (241). Las carencias de cinc causadas por defectos congénitos de la capacidad de absorción intestinal, dan lugar a *Acrodermatitis Enteropática* acompañada de lesiones cutáneas, diarreas, pérdidas de cabello, conjuntivitis, ftofobia, opacidad corneal, irritabilidad, temblores y ataxia ocasional (150, 238, 285). Asimismo se ha asociado a estos carenciales de zinc el tratamiento de la enfermedad de Wilson con penicilamina.

Normalmente, las concentraciones de cinc en plasma y cabello inferiores a 50 - 70 µg/dl, respectivamente, son indicativas de deficiencia, aunque es conveniente la determinación del contenido de anhidrasa carbónica de hematíes, fosfatasa alcalina en suero y saliva (51, 123, 137, 286). Se sabe que hasta hoy en día no hay ningún medio biológico (de uso frecuente) que se puede analizar y predecir si existe deficiencia de cinc o no.

A la hora de paliar esta deficiencia, con los suplementos de Zn, deben administrarse teniendo en cuenta el estatus de cinc del organismo, el estado de salud y los requerimientos dietéticos (287, 288). Se reducirá la incidencia y la severidad de las infecciones en la infancia, así como la mortalidad y la morbilidad por neumonía, la diarrea en niños y puede ayudar a una disminución de la incidencia de la malaria (285, 289, 290, 291).

Cuando el cinc se administra conjuntamente con hierro y con otros micronutrientes posee efectos beneficiosos en el desarrollo motor de los niños (53, 191).

La suplementación con cinc en mujeres embarazadas produce un aumento del crecimiento del hueso del feto y cinc es el nutrimento más fuertemente asociado con la recuperación del proceso de cirugía (78, 237). Por otro lado fortificación de harina de trigo y la leche puede porvenir la deficiencia de cinc (292).

La prevalencia de deficiencia de cinc en el mundo es estimada en más del 20% (135, 293) y ocupa el quinto lugar entre los 10 factores de riesgo para la salud humana. Puede afectar más de dos billones de personas en todo el mundo 5-7. Un estudio en EE.UU. de 14 770 individuos con edades entre 3 -74 años estima una deficiencia de cinc en población de 1-3%. 10% de la población consume menos de la mitad de cantidad de cinc recomendada (156).

En el mundo la deficiencia de cinc se puede encontrar en diferentes áreas. En figura 16. en naranja se puede observar las áreas con deficiencia de cinc y en verde áreas con moderados problemas de deficiencia de cinc.

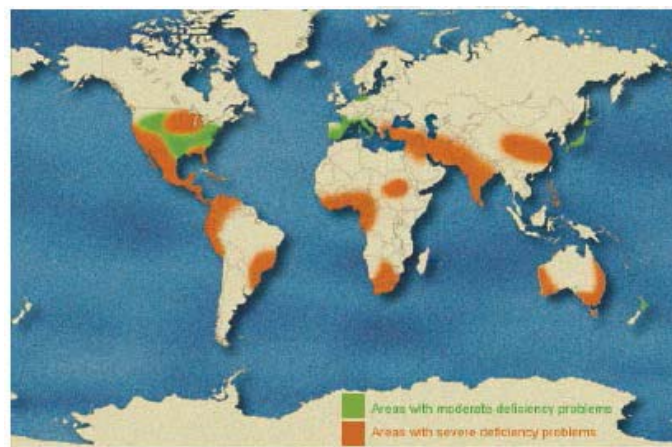


Figura 15 Deficiencia de cinc en el mundo (IZA 2002) (135)

#### **2.4.12. Toxicidad del cinc**

A pesar de que el zinc es el menos tóxico de todos los oligoelementos, y aunque su margen de seguridad (diferencia entre la dosis tóxica y la dosis recomendada) es muy amplio, es necesario evaluar su toxicidad.

Ello se puede establecer mediante el estudio del Nivel superior de Ingesta Tolerable (Tolerable Upper Intake Level, UL), que se define como el nivel más alto de la ingesta diaria de un nutriente para que no suponga un riesgo o efectos adversos sobre la salud de casi todos los individuos. Este parámetro se calcula a partir de la ingesta total. Para el Zn proveniente tanto de los alimentos, como del agua y suplementos el UL es de 40 mg/día (110, 151).

Existen ciertos trabajos que indican el posible desarrollo de alteraciones como consecuencia de la ingesta de dosis moderadamente elevadas durante períodos de tiempo más o menos largos. Se ha demostrado cómo en hombres, un elevado consumo de suplementos de zinc produce un riesgo significativamente mayor de cáncer avanzado de próstata, así como la inhibición de los efectos beneficiosos de los biofosfonatos, el incremento de los niveles de testosterona, incremento de colesterol, reducción de los niveles de HDL (High Density Lipoprotein Cholesterol) y puede fomentar una disfunción inmune. Una suplementación con zinc, especialmente en altas dosis, también puede producir otros efectos adversos como interferir y disminuir el estatus corporal de cobre. Las dosis de 0,3 mg/kg/día, puede desarrollar una reducción de hemoglobina y ferritina en plasma. Esta reducción influye y enzima SOD eritocitaria. Esto se observó en un estudio realizado en mujeres que recibieron 10 semanas, 50 mg de cinc en forma de gluconato de cinc (Yadric et al. 1989, Barceloux 1999) (137, 151, 152, 166).

Un caso especial se describe en un estudio realizado por Salzman y cols., en 2002, en el que los autores describen la intoxicación por cinc de un individuo de 17 años que durante 6-7 meses tomó elevadas dosis diarias de cinc en forma de suplementos y que desarrolló una hipocupremia con anemia, leucopenia y neutropenia (458). Esta anemia inducida por una hipocupremia por un exceso de cinc también, además de una nefrosis, se observa en otro caso de ingesta elevada de cinc (concretamente 2.000 mg de gluconato de cinc durante 12 meses). En todos los casos los efectos tóxicos remitieron al suprimir las ingestas de cinc.

La inhalación de altas concentraciones de este metal, concretamente en forma de cloruro de cinc, puede causar neumonitis y un síndrome respiratorio en el adulto (152, 192).

In Vitro, el cinc produce citotoxicidad por un detrimento de los niveles de glutatión reducido y un incremento de los niveles de la forma oxidada del glutatión (152).

También in vitro y a niveles elevados, produce muerte celular debido a que en primer lugar es capaz de generar especies reactivas de oxígeno y en segundo lugar a que activa la cascada de la MAP-kinasa (294).

En humanos la muerte causada por la exposición aguda la cinc se produce en concentraciones de 33,000 mg zinc/m<sup>3</sup> de cloruro de cinc después de una explosión en la II Guerra Mundial de 70 personas, y a los 4 días 10 entre ellos murieron (Evans 1945).

#### **2.4.13. Biomarcadores del estatus de cinc**

Los biomarcadores se puede definir como cualquier parámetro bioquímico, fisiológico o otra alteración del organismo que se puede reconocer y establecer con un potencial efecto sobre salud o enfermedad (NAS/NRC 1989). En esta definición se añade cualquier signo bioquímico o celular de los tejidos con mal funcionamiento ej. un incremento del las actividad de las enzimas o cambios patológicos.

Las determinaciones de cinc en pelo y uñas informan sobre el historial de la ingesta de cinc La media de la concertación de cinc en uñas es estimada en 129–179 µg/g (Hayashi et al. 1993) y en pelo 102–258 µg/g (Folin et al. 1991; McBean et al. 1971; Provost et al. 1993; Wilhelm et al. 1991) (152)

El inconveniente es que hay una pobre correlación entre el pelo y cinc plasmático por que el cinc del pelo no se recambia (152).

Se han realizado análisis de varias enzimas de cinc para utilizarlas como biomarcadores dependiente pero ninguna puede reflejar el estatus de cinc.

La fosfatasa alcalina está mas estudiada, y se ha demostrado que con una deficiencia de cinc severa la actividad de la enzima disminuye (186).

También otros autores relacionan la cantidad de cinc en cuerpo a partir de las concentraciones de proteínas que se relaciona con el cinc como la albúmina.

Otro medio de análisis del cinc son los eritocitos. Unos autores han encontrado como valores de cinc en eritrocitos: 20- 50  $\mu\text{g/gr Hb}$  (0,31 – 0,76  $\mu\text{mol/g}$ ); cinc en eritrocitos / $10^9$  células 0,50 -1,50  $\mu\text{g}$  (0,0076 -0,0229  $\mu\text{mol}/10^9$  células) (295).

Frecuentemente para determinar el estatus del cinc, se utiliza muestras de suero/plasma y/o eritrocitos, donde se puede determinar la concentración de cinc. También se puede determinar el cinc en otros tipos de células sanguíneas (glóbulos blancos o plaquetas), o utilizando muestras de sangre total.

Los valores de plasma o suero son muy discutidos por los inconvenientes que presentan:

- a. No refleja los depósitos del cuerpo con un rango normal
- b. Fluctúa más de un 20% en un día
- c. Los valores pueden verse afectados en inflamación e infección aguda, unido a otros factores como hipoalbuminemia, contraceptivos orales, embarazo, cirrosis, etc. que en circulación sanguínea se encuentra solo en el 0,1% del contenido del cinc en cuerpo (Hotz and Brown, 2004; Gibson et al., 2001). (230, 234, 236)

En condiciones normales el cinc en plasma/suero es  $\approx 1 \mu\text{g/mL}$  (NAS/NRC 1979).

Otro medio de determinación de cinc se puede utilizar orina. En orina de 0.5 mg/g de creatina (Elinder 1986) (152).

Dado la grande variabilidad de los datos sobre cinc en plasma, eritrocitos, sangre total he realizados una revisión de los valores obtenidos de cinc en plasma, suero, eritrocitos o sangre total (Anexos 7).

Existen varios factores que puede influir la cantidad de cinc en los medios biológicos (tabla 19):

Factores técnicos	Factores Biológicos
<b>Contaminación</b> <b>Refrigeración del sangre después de extracción</b> <b>Posición del paciente</b> <b>Tiempo transcurrido hasta la separación de las fases del sangre</b> <b>Hemólisis</b>	<b>Desayunado o no</b> <b>Varation diurna y nocturna</b> <b>Infección y/o inflamación</b> <b>Años : sexo</b> <b>Uso de contraceptivos orales, hormonas esteroides</b> <b>Estado fisiológico: adulto, niños, embarazadas etc.</b> <b>Deficiencia de algunos nutrientes: proteínas, vitamina A</b> <b>Perdida de peso</b> <b>Enfermedades.</b>

Tabla 19. Factores que influyen en el estatus de cinc en plasma (296, 297)

Un estudio reciente efectuado en adultos ha mostrado que una hipercinquemia acentuada (**77-200  $\mu\text{mol/l}$** ), asociada a una hipercalprotectinemia, parece ser una nueva alteración genético-metabólica, que se traduce en infecciones recurrentes, hepatoesplenomegalia, anemia y evidencia de inflamación sistémica. También está descrita la hipercinquemia familiar sin asociación a alteraciones clínicas (298).

Los límites que se pueden considerar como normales de los valores de algunas de las medidas en laboratorio para el cinc (tabla 20):

Contenido de cinc	Límites normales
Suero	80-140 ug/dl
Eritrocitos	40-44 ug/g hemoglobina
Leucocitos	80-130 ug/10 Células
Saliva	(parótida) 23-70 ng/g
Sudor	0.55-1.75 mg/l
Uñas	100-400 ug/g
Pelo	100-230 ug/g
Orina	230-600 UG/día

Tabla 20. Valores de cinc en algunos medios biológicos. (210)

Sugerencia de punto de corte para determinar la deficiencia de la sociedad internacional IZiNCG 2007 (tabla 21):

	Punto de corte sugerido ( $\mu\text{g/dL}$ )		
	< 10 años	> 10 años	
	Hombres y mujeres	Hombres	Mujeres (no embarazadas)
Sin comer	No disponible	70	74
Comer	65	66	70
Tarde (comer)	57	59	61

Para convertir en  $\mu\text{mol/L}$  se divide con 6,54

Tabla 21 Punto de corte para determinar la deficiencia de cinc en distintas poblaciones



La IZINCG recomienda si la concentración de cinc deficiente en suero es en porcentaje de mas 20% se considera que la población de estudio presenta riesgo de deficiencia (125,196)

En la tabla 22 se puede observar la cantidad de cinc medio de plasma o suero encontrada en los estudios de distintos países.

Pais	Zn (mg/L)	Referencia
Germany	1.08	Rükgauer M, et al., (1997)
Portugal	1.05	Viegas-Crespo AM, et al., (2000)
Spain	1.16	Romero CD, et al., (2002)
Greece	0.77	Dona EK, et al., (2006)
Sweden	0.99	Barany E, et al., (2002)
Belgium	0.86	Thijs L, et al., (1992)
Turkey	0.54	Soylak M, et al., (2001)
Kuwait	1.03	Al-Sayer H, et al., (2000)
<b>Brazil</b>	<b>ND</b>	<b>Da Cunha S, et al., (2003)</b>

Tabla 22. Niveles de cinc en suero en distintas poblaciones (Fuente 299)

Se sabe los niveles de cinc en sangre bajan en caso de infección (63). Por lo tanto se puede utilizar la fosfatasa alcalina para tener una evidencia indirecta sobre deficiencia de cinc. Se han realizado estudios sobre otros marcadores de cinc pero hasta en día de hoy no se encontró ningunos fiable. Por otro lado un estudio realizado de Lowe et al. (2004) confirma que la determinación de cinc en plasma puede ser un indicador valido (300).

### Otros parámetros bioquímicos relacionados con el cinc

#### Albúmina y prealbúmina:

Son proteínas hidrosolubles compuestas por carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y azufre. Su determinación es sencilla y sirve como orientación para procesos crónicos. Cumple funciones de transporte asociándose a hormonas, minerales, vitaminas, fármacos y diversos metabolitos. Son responsables del 70% de la presión coloidosmótica del plasma. (183)

Albúmina (20 días de vida media): su seguimiento valora el estado de desnutrición crónica y se emplea como factor de pronóstico ( $> 3\text{g/dl}$  – crece morbi-mortalidad).

Una cifra reducida de albúmina implica por sí sola un estado de desnutrición, ya que constituye más del 50% de las proteínas plasmáticas; pero, debido a su pequeño tamaño, es capaz de difundir a través de los vasos sanguíneos, y pasar al espacio extravascular en situaciones de shock, por lo que sus cifras pueden estar disminuidas y no ser la causa una reducción de su formación.

En pacientes críticos la síntesis se ve disminuida porque el hígado aumenta la producción de proteínas de fase aguda. Por tanto, en el paciente grave, la hipoalbuminemia es una consecuencia de la enfermedad, por lo que el empleo intravenoso de la misma en pacientes sometidos a nutrición artificial no está justificado con propósitos nutricionales.

El valor de albúmina plasmática es más un parámetro pronóstico que de estrés nutricional. Cifras menores de  $2.2\text{ g/dl}$  se asocian a una mayor probabilidad (hasta de un 75%) de anergia, sepsis y muerte.

Se han demostrado una relación lineal entre la concentración de la albúmina y la concentración de zinc en la sangre (250).

**Prealbúmina** – es una proteína de transporte para la hormona tiroidea. En la circulación existe como complejo prealbúmina-proteína transportadora de retinol (Retinol Binding Protein RPB) (34).

La prealbúmina (2 días de vida media) presenta valores normal:

- varón 22 – 45,6 mg/dl
- mujer 20 – 36,0 mg/dl

Es un marcador sensible a las primeras fases de hiponutrición, aunque influenciado por la reacción inflamatoria y poco útil para el seguimiento nutricional, al contrario de la albúmina.

Transporta la hormona tiroidea y sus niveles están condicionados por la existencia de traumatismo o sepsis (22).

Disminuye en el plasma en pacientes con alteraciones renales, situaciones de estrés, intervenciones quirúrgicas y SIRS. Su incremento está relacionado con la existencia de un balance nitrogenado positivo.

Las concentraciones séricas de proteína ligada al retinol dependen de reservas de cinc y vitamina A adecuadas, por lo tanto la prealbúmina depende de la cantidad de cinc (301).

### **Colesterol en suero**

Valor normal entre 0 y 200 mg/dL

En pacientes desnutridos se observan niveles bajos de colesterol. También niveles bajos se encuentran en pacientes con enfermedad hepática, renal, y malabsorción. Los niveles bajos de colesterol en sangre se han correlacionado con una alta mortalidad.

Colesterol LDL: Los niveles altos se asocian a mayor riesgo de infarto de miocardio y otras enfermedades cardiovasculares. En la actualidad se recomiendan niveles por debajo de 100 mg/dL.

Colesterol HDL: Las cifras elevadas son protectoras del sistema cardiovascular. Valor normal está por encima de 35 mg/dL.

El cinc puede mejorar los niveles séricos de colesterol en pacientes en hemodiálisis. Existe cierta evidencia de que el cinc puede mejorar la proporción entre HDL y LDL lo cual podría considerarse un efecto positivo. El cinc participa en metabolismo del colesterol y triglicéridos (302).

### **Creatinina**

Valor normal entre 0.6 y 1.2 mg/dl.

Es una proteína derivada del metabolismo muscular que circula por la sangre y se elimina a través de la orina. El aumento de creatinina puede deberse a que la persona está un poco deshidratada, o a problemas renales o en vías urinarias por no eliminación, aumenta en insuficiencia renal.

Disminuye en individuos desnutridos, con poca masa muscular (frecuente en ancianos). La relación zinc/creatinina determinada en orina basal, un marcador relativamente poco estudiado, por lo que su capacidad para reflejar el estado nutricional no está aún bien definida, los valores bajos de zinc/creatinina pueden no ser indicativos de bajos niveles de zinc (292).

### **Transaminasas**

Son enzimas que se encuentran en el interior de las células hepáticas (hepatocitos).

Existen tres tipos principales:

**GOT - ALT:** Valor normal entre 0 y 37 U/L (también denominada SGOT, Transaminasa glutámico oxalacética, GOT; Aspartato aminotransferasa, AST)

**GPT - AST:** Valor normal entre 0 y 41 U/L

**GGT:** Valor normal entre 11 y 50 U/L

Aumentan

La inflamación del hígado produce destrucción de los hepatocitos y estas enzimas salen a la sangre. La mayor cantidad de zinc se encuentra en hígado por lo tanto el zinc participa como constituyente de la mayoría de las enzimas producidas por el.

**Factor reumatoide FR, RF:** encuentra en suero y es poco específico y que es una IgM específica contra las inmunoglobulinas IgG anormales, producidas por los linfocitos de la membrana sinovial, de las articulaciones formándose inmunocomplejos IgG-IgM que activan el complemento y otros factores inflamatorios que producen secundariamente la destrucción de las articulaciones. Valores normales, menor a 60 U/ml.

**Alfa1 antitripsina:** protege a los tejidos de las proteasas presentes principalmente en las células inflamatorias, en especial la elastasa.

Valor normal en la sangre humana a 1,5 - 3,5 gramos/litro.

Las **interleucinas** son un conjunto de citocinas (proteínas que actúan como mensajeros químicos a corta distancia) que son sintetizadas principalmente por los leucocitos, aunque en algún caso también pueden intervenir células endoteliales o del estroma del timo o de la médula ósea. El valor normal se aumenta en caso de ante una invasión microbiana. Las citocinas sirven para iniciar la respuesta inflamatoria, y para definir la magnitud y naturaleza de la respuesta inmunitaria específica. Se conocen en la actualidad 33 interleucinas, las cuales difieren entre tanto desde el punto de vista químico como del biológico. Mientras algunas de ellas [IL<sub>4</sub>, IL<sub>10</sub>, IL<sub>1</sub>] presentan esencialmente efectos favorables, otras [IL<sub>1</sub>, IL<sub>6</sub>, IL<sub>8</sub>], paralelamente a su función defensiva, pueden también ser deletéreas para el organismo (18, 128, 161).

#### 2.4.14. Relación del cinc con otros metales

Los estudios demuestran que hay una alta asociación entre los metales tanto en caso de la ingesta como en nivel celular. Kim KH et al. (2011) demuestra que la deficiencia de magnesio esta correlacionada con un incremento de cinc al nivel hepático (303). El nivel normal del magnesio en suero es de 1,2 -2,6 mg/dL (referencia HVN).

En relación con hierro el cinc está compitiendo y se demostró que el hierro esta disminuyendo la disponibilidad de cinc en intestino (304, 305). Valor normal de hierro en suero es de 59 – 158 µg/dL (referencia HVN).

La relación con calcio parece ser debida por la formación de complejos con fitatos que reduce la biodisponibilidad intrínseca de cinc (65). Valor normal de calcio en plasma es de 8,6 – 10,2 mg/dL (referencia HVN).

En caso del cobre se han demostrado que son elementos que compiten pero ambos muy importantes para la enzima superoxido dismutasa (278).

2.4.15. El cinc en la enfermedad

Es mucha la información existente sobre el impacto del cinc sobre la salud (figura 16).

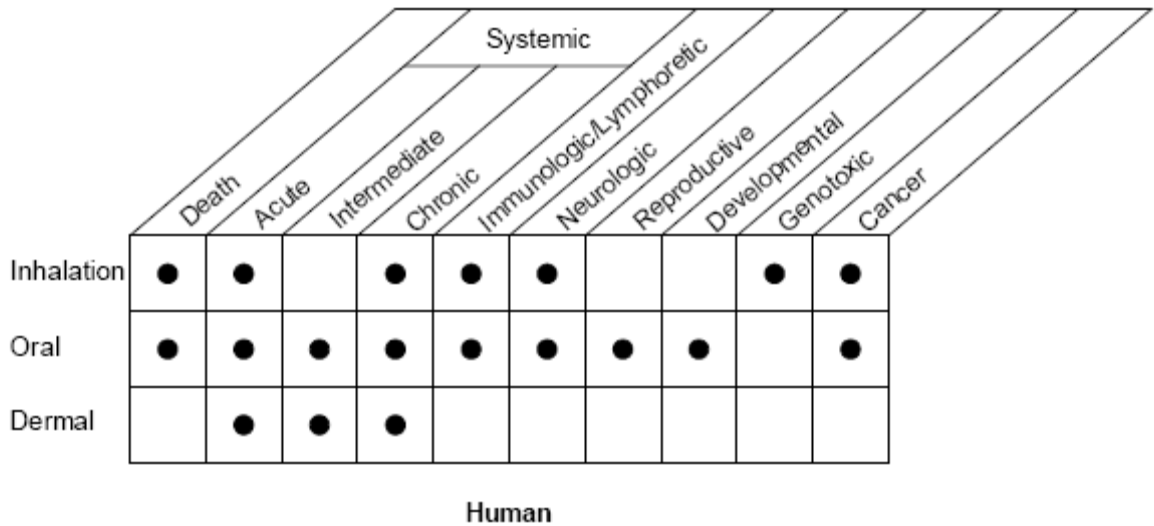


Figura 16 Cinc y enfermedades (Fuente Nickolette et al 2005) (152)

Muchos órganos son afectados por la deficiencia severa o por cantidades altas de cinc, como enfermedades de la piel, gastrointestinales, del sistema nervoso central, el sistema inmune, el esqueleto y sistema reproductor. Las enfermedades dependen de la magnitud de la deficiencia o toxicidad del cinc. El espectro de las enfermedades es variado por que el cinc forma parte del metabolismo del cuerpo.

**El papel del cinc en algunas enfermedades**

El cinc parece estar implicado en muchas enfermedades:

Traumatismos cerrados de cabeza, quemaduras, pacientes con Insuficiencia Renal, úlceras gástricas, enfermedad respiratoria (papilomatosis respiratoria) (306), se ha demostrado que los suplementos de cinc podrían mejorar la recuperación de los pacientes. En caso de hipotiroidismo la suplementación con cinc puede mejorar los niveles de la hormona tiroidea (particularmente T3) en mujeres. También con la suplementación con cinc oral en niños en la enfermedad beta-talasemia (trastorno

hereditario) aumentaron de estatura más que aquellos que no ingirieron cinc. Por otro lado la ingestión excesiva de cinc puede determinar anemia reversible (307) y en otro estudio se demuestra que una suplementación de 2 semanas con cinc no parece ser beneficiosa para la infección respiratoria o diarrea (308).

En caso de trastornos sanguíneos (aceruloplasminemia) la información de casos indica un papel potencial de la suplementación con cinc en la aceruloplasminemia, una enfermedad neurodegenerativa causada por una mutación genética.

Pacientes con enfermedades hepáticas: deficiencia de cinc es correlacionada con la hepatitis viral aguda y el fallo hepático sub-agudo y fulminante. La hepatitis alcohólica está asociada a una reducción del cinc hepático, pero la suplementación puede mejorar los signos clínicos. En caso de cirrosis existe una deficiencia mayor de cinc pero se asocia a un deterioro de la mucosa intestinal, a una insuficiencia pancreática y a una reducción en la síntesis de ligandos en hígado. En estos pacientes se reduce la albúmina, y por lo tanto el cinc (309). Encefalopatía hepática: La encefalopatía hepática es una función anormal del cerebro causada por el paso de sustancias tóxicas del hígado hacia la sangre.

Diarrea: La deficiencia de cinc está asociada con la enfermedad de *morbilidad diarreal* (252), y se demostró que cinc es efectivo en el tratamiento.

Diabetes: El estatus de cinc es asociado con la diabetes. Se ha determinado que la suplementación con cinc puede prevenir o mejorar la diabetes. (272, 310) El cinc se acumula en las células insulino-secretoras, por lo tanto el transporte en membrana depende del estado metabólico de la célula.

Se ha demostrado que los pacientes asmáticos que presenta deficiencia de cinc crecen de 4 o 5 veces los síntomas específicos de la enfermedad. El cinc juega un rol importante en patologías de las vías respiratorias (306).

Enfermedad de Crohn: Los niveles bajos de zinc en suero observados en la enfermedad de Crohn pueden causar síntomas como *Acrodermatitis Enterohepática* y la disfunción retinal, que puede ser corregida con suplementos de zinc (155). Enfermedad de Wilson: La enfermedad de Wilson es un trastorno hereditario del

metabolismo del cobre caracterizado por la deficiencia del hígado de excretar el cobre, llevando a su acumulación en el hígado, cerebro, córnea e hígado y da como resultado cambios degenerativos crónicos. La investigación preliminar indica que el tratamiento con cinc podría ser eficaz en la enfermedad de Wilson. Síndrome de Gilbert: El síndrome de Gilbert es un trastorno común, a menudo hereditario, que afecta el procesamiento por parte del hígado de los pigmentos como la bilirrubina. En un estudio de menor escala, los suplementos de sulfato de cinc parecieron reducir los niveles séricos de bilirrubina no conjugada pero se necesitan ensayos clínicos bien diseñados para confirmar estos resultados.

Anorexia nerviosa: los pacientes pueden tener niveles bajos de cinc en suero (311, 312). Los suplementos de cinc determinan la mejoría clínica como la reducción de depresión y ansia y aumento de peso.

Enfermedad Alzheimer: Una enfermedad neuro-degenerativa, se han observado situaciones de de eficiencia en este tipo de enfermos.

Degeneración macular: La mayoría de los estudios que examinan la relación entre la ingesta de cinc en la dieta en el transcurso de muchos años y la degeneración macular no han informado de correlaciones positivas. Sin embargo, un estudio de gran escala, bien diseñado y de alta calidad, que examinó la eficacia de los suplementos de cinc para evitar la pérdida de agudeza visual, encontró que los suplementos de cinc son de beneficio para evitar la degeneración macular relacionada con la edad (252).

#### **2.4.15.1. El cinc en el paciente crítico**

Por qué cinc?

Buscando en *PubMed* con las palabras clave “zinc critically ill” se generan 65 de artículos, incluso 14 de reviews Por lo tanto los autores cuenta la importancia del cinc en enfermedad crítica.

En los modelos animales con sepsis se determino que la deficiencia de cinc aumenta la mortalidad (271).



En otros estudios genómicos en pacientes de pediatría con SIRS/sepsis, los niveles bajos de cinc en plasma se asocian con los que no sobreviven al shock séptico, y los genes son bajo regulados en pacientes con shock séptico, comparando con controles. Entre los genes bajo regulados están aquellas que se asocia con metales especialmente los genes donde esta implicado el cinc. Heyland et al. (2008) hace una meta-análisis de las investigaciones existentes sobre pacientes críticos (313). El estudio genera una hipótesis: “que la suplementación con elementos traza como el cinc reduce las complicaciones provocadas por infecciones”.

En otros estudios se demostró que la suplementación con cinc reduce significativamente la morbilidad y la mortalidad en las enfermedades infecciosas, y la recuperación en los pacientes bien alimentados es mejor (314). Hay estudios en pacientes de pediatría donde se encontró una incidencia reducida en enfermedades respiratorias agudas después de la suplementación con cinc (315). También, la suplementación con cinc reduce la incidencia de diarrea y neumonía. En pacientes mayores, con una correcta suplementación con cinc se observa una recuperación y resistencia mejor al la infección (72). Knoell et al. (2009) determinaron que la deficiencia sub-aguda de cinc incrementa la inflamación sistémica, la destrucción de órganos y la mortalidad en modelos polimicrobiales en ratas y también demuestran que con la suplementación la cantidad de cinc no se restaura inmediatamente (316). Bao et al. (2010) determinaron en ratas sépticas que la deficiencia de cinc induce a una excesiva activación de NF-kB (317).

Por otro lado, Gaetke et al (1997), en un estudio en humanos, como respuesta a la sepsis las endo-toxinas disminuyen los niveles plasmáticos de cinc sin una concordancia con pedidas de cinc en el cuerpo. Se cree que esto pasa por el hecho de que el cinc es un citoprotector celular frente especies oxidativas y participa en la prevención de invasión microbiana (316). Crouser et al. (2008), demuestran que los micronutrientes como el cinc modula la respuesta inflamatoria y la susceptibilidad al fallo de órganos (114).

En pacientes críticos los niveles de cinc plasmático son sumamente variables, indicando la respuesta individual de redistribución del Zn corporal de cada paciente a consecuencia del estrés de su patología y, en algunos casos, de la cirugía. En el caso

de pacientes graves, la presencia de infección, inflamación y daño tisular produce captación de cinc por el hígado, médula ósea y timo, disminuyendo el cinc en plasma por influencia del aumento de la IL<sub>1</sub> y IL<sub>6</sub>. Por ello, su disminución puede deberse a dichas alteraciones metabólicas y no a riesgo de deficiencia clínica (161).

Berger et al. (1998) han realizado un estudio randomizado con una suplementación de cinc, selenio y cobre. La suplementación se realizó vía intravenosa durante 8 días con dosis alta y se comparó con controles que recibieron dosis normales durante 30 días. En pacientes que recibieron dosis alta de cinc se determinó que la infección es más baja y se reduce el tiempo de ingreso en la UCI (315).

## **2.5. Los Transportadores de cinc**

En los últimos 5 años, las investigaciones sobre transportadores de cinc se han multiplicado. Todo es posible gracias a los avances de las técnicas en biología molecular. La extracción de material genético, las técnicas de análisis genómico, las bases de datos utilizados en los estudios etc., han permitido todo esto.

El cinc es un metal que no difunde fácilmente dentro de la célula, por eso se requiere de transportadores, en general denominados familia ZnT y ZIP, siendo en total 24 transportadores (318, 319).

La familia ZnT con 10 miembros, participa como mediador en el flujo del Zn en la célula, guiándole dentro de los orgánulos o en la parte extracelular, lo que posteriormente bajará su concentración intracelular.

La familia Zip con 14 miembros conocida también como familia Zrt-, Irt-like protein, denominada después de la proteína levadura Zrt1 y proteína Arabidopsis Irt1. Tiene la función de transportar hacia afuera el cinc desde los orgánulos, determinando un aumento en el cinc intracelular (319).

De esta manera, los transportadores unidos mantienen la homeostasis del cinc (figura 17).

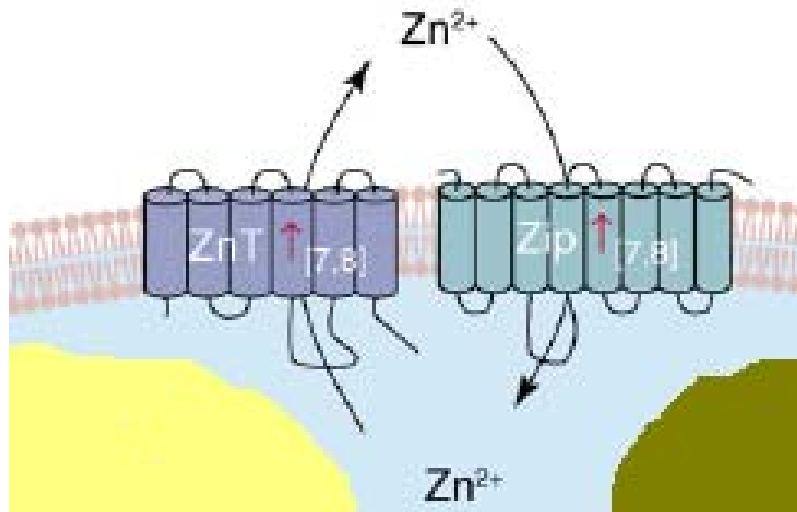


Figura 17. Familia ZnT y ZIP

### 2.5.1. Las familias de los transportadores de cinc:

#### SCL30A (Solute Carrier Family 30) - ZnT

La familia SCL30A (Solute Carrier Family 30) codifica la familia ZnT de los transportadores que se expresa en todos los organismos. Se han encontrado más de 100 miembros de esta familia en todos los reinos.

La familia ZnT se divide en tres subfamilias (Palmiter y Huang 2004). La Subfamilia I incluye los organismos procariontes, la Subfamilia II y III incluyen tanto los eucariotas como los procariontes (319, 320). Esta familia de transportadores tiene el rol de transportar el cinc del citosol al medio extracelular o fraccionar el cinc dentro de los orgánulos.

Los ZnT poseen seis dominios transmembranaarios con una región variable entre los dominios III y IV que contienen muchos residuos de histidina capaces de unirse con el cinc. Además, el dominio IV y V son ricos en histidina lo que puede representar un dominio de unión con metales (Liuzzi et al. 2003) (figura 19).

Diversos autores (Huang et al. 2007) han observado en ratas que cuando en el proceso de translación del mRNA se realiza una mutación, se puede inducir la muerte

de los embriones debido a una absorción incorrecta del cinc, reduciéndose el peso y la cantidad de grasa; provocando también el síndrome de “la leche de la muerte” cuando la mutación es en SCL30A4.

La distribución de los transportadores es específica para cada célula, por ejemplo, ZnT3 en las neuronas, ZnT8 en cerebro e hígado, ZnT2 en intestino delgado, riñón, placenta e hígado se han encontrados en los niveles más expresados. Pero los transportadores de cinc en los últimos tiempos empiezan a ser más estudiados y seguramente se encuentren en otros tejidos (319).

### **SCL39A (Solute Carrier Family 39) – Zip**

Familia SCL39A (Solute Carrier Family 39) codifica a la familia Zip y se encuentra en todos los organismos. Los primeros miembros identificados fueron Zrt1 y Zrt2 en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y el Irt en las raíces del *Arabidopsis thaliana* con nombre Zrt, Irt-like protein (319).

Los Zip humanos son clasificados en subfamilias I, II, LIV-1 y gufA.

Subfamilia I está constituida principalmente de los hongos y las plantas. Subfamilia II está constituida por insectos, nematodos, mamíferos (320, 321).

La estructura de las proteínas Zip es de 8 dominios transmembranarios con lazo de unión entre dominios citoplasmáticos III y IV, compuesta por residuos de histidina. Las proteínas ZIP se encuentran situadas en la parte extracelular de la membrana. (Figura 18)

Muchos miembros también presentan una región de largo lazo situado entre dominio transmembranario III y IV un dominio rico en histidina con la secuencia que generalmente oscila entre III y V.

Debido a su secuencia de conservación y naturaleza anfipática, el dominio transmembranario IV y V forman una cavidad a través de la cual los metales pueden pasar (319, 322).

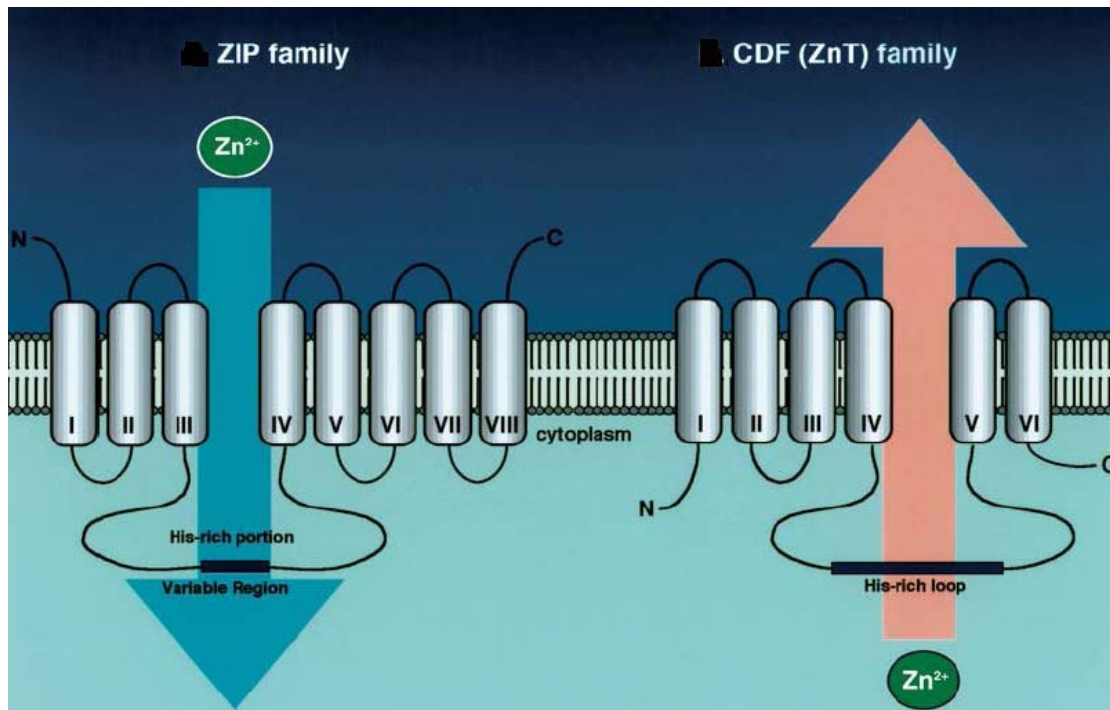


Figura 18: Estructura de los transportadores de zinc familia Zip y familia ZnT (Fuente Kambea T et al. 2004) (323)

### Tráfico del zinc

Como hemos presentado anteriormente, las familias de los transportadores tienen función inversa. Los ZnT expulsan el zinc de los orgánulos o las células. En cambio, los Zip tiene la función de introducir el zinc en la célula (209).

Dentro de las células los transportadores se pueden situar en la membrana celular o de los orgánulos celulares realizando las funciones específicas de cada uno. ZnT1 se puede encontrar en la membrana celular mantener eflujo de zinc, ZnT2 se encuentra en los orgánulos celulares y es asociada con las proteínas. ZnT3 se encuentra en los vesículos sinápticos de las neuronas. ZnT4, 5, 6,7 parece ser estar en el aparato Golgi. ZnT9 es implicado en transporte de zinc en núcleo (Sim DL et al. 2002). Los Zip1, 3, 4, 6, 8, 10, 12,14 son localizados principalmente en membrana plasmática. Zip 7 se localiza en retículo endoplasmático, Zip 8 en mitocondrias y vesículas y Zip 13 parece estar en aparato Golgi.

En la figura 19 siguiente se pueden ver algunas localizaciones y funciones de los transportadores ZnT y Zip's.

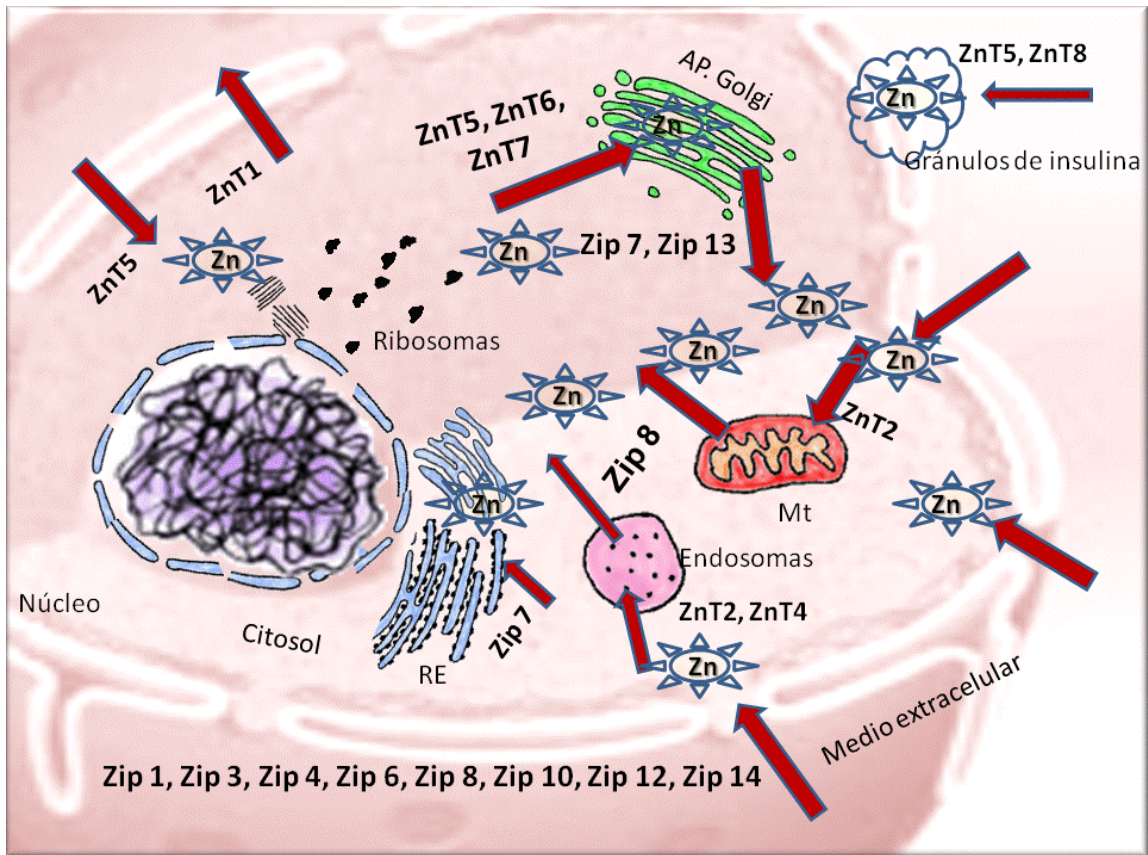


Figura 19 Localización de algunos transportadores al nivel celular Florea D, Planells E, Lengyer I, Hogstand C.

## 2.5.2. Revisión de los estudios de transportadores del cinc

Los estudios realizados en transportadores de cinc, los describimos a continuación, indicando, además de los autores y el año, la información más relevante de los mismos:

### Familia SCL30A familia ZnT

**SCL30A1 – ZnT1:** sinónimos - Solute carrier family 30 member 1, Zinc transporter 1, ZNT1, ZnT-1, ZRC1.

Se encontró localizada en el cromosoma 1 humano. Es una proteína con función de exportar. Esta presente en riñón, intestino delgado, tejido adiposo, hígado,

bazo y tejido del timo (324). El ZnT1 se ha visto que tiene una importante función en la absorción del cinc de la dieta y transferencia de cinc (325, 326).

En experimentos con ratas se demuestra que ZnT1 es influido por la ingesta de cinc. En ratas con dieta deficiente de cinc (<1 ppm) disminuye la expresión de ZnT1, mientras que en ratas nutridas con alta ingesta de cinc (180 ppm) la expresión aumenta (324). Se ha encontrado baja expresión de ZnT1 (Lyubartseva et al. 2009) en pacientes con enfermedad de Alzheimer.

De cualquier manera, el ZnT1 se encuentra más expresado en los tejidos implicados en adquisición o reciclaje o trasbordo de cinc, como el intestino delgado (Liuzzi et al. 2004, McMahon et al. 1998). Por otro lado, en experimentos con ratones, McMahon et al. 1998 demuestran que ZnT1 participa en la transferencia del cinc en la circulación desde los enterocitos. ZnT1 se encuentra en riñón se determina que tiene el rol en la recuperación del cinc en el filtrado glomerular. Otros experimentos demuestran que ZnT1 tiene un rol en el transporte del cinc entre madre y feto (319, 324, 327). El ZnT1 (Slc30a1) fue el primer transportador descubierto y evidenciado en cromosoma 1 tanto en humanos como en ratas (Palmiter y Findley, 1995) (320).

Etzion et al. (2008) han determinado después de un análisis multivariante, que la fibrilación arterial y un BMI grande están asociadas a una expresión alta de ZnT1. Los ZnT1, ZnT2, ZnT4 están implicados en la homeostasis del cinc (328). hZnT-1 es el primer exportador de cinc más regulado y se localiza en la membrana plasmática. Jou et al. (2009) han demostrado en ratas nutridas con concentración baja de cinc (LZ, 7 mg / kg), abundancia de proteína Zip1 a nivel hepático (329).

McMahon et al (1998) afirman que la expresión del ZnT1 está regulada por la ingesta de cinc y este gen se encontró en la membrana basolateral, lo que sugiere que el transportador tiene un rol en la absorción/retención del cinc (330). Andree et al. (2004) observan que ZnT1 está altamente regulado en células linfoblastoides. También demuestran que el ZnT1 no está afectado por la suplementación de cinc (331). Sun et al. (2007) demuestran que ZnT1 juega un rol en la homeostasis del cinc y en el cáncer del mama (332).

**SCL30A2 – ZnT2:** sinónimos - FLJ36708, MGC11303, PP12488, Solute carrier family 30 member 2, Zinc transporter 2, ZNT2, ZnT-2

El ZnT2 se encuentra localizado en cromosoma 1 humano (320). Es una proteína encontrada en distintos tejidos, el mRNA se encontró en intestino delgado, placenta, próstata, mama e hígado, utilizándose Northern Blot Analysis (Palmiter et al. 2004).

ZnT2 es un transportador bien expresado en glándula mamaria con rol en exportación del cinc. En mujeres en las que está presente una mutación del gen ZnT2 se determinó que el nivel de cinc en la leche baja un 75%. (333) Por lo tanto el ZnT2 tiene rol en homeostasis del cinc en este tejido (328, 334). Otros investigadores han encontrado ZnT2 expresado en tejido pulmonar, corazón e hígado (335) Palmiter et al. (1996) descubren el segundo transportador en tejido renal de rata, el cDNA tiene 359 aminoácidos y se inicia con el codón CTG (336).

En intestino delgado, el ZnT2 es altamente regulado por el cinc de la dieta durante la gestación, en los tejidos del feto y en la primera fase de la lactancia materna (320). Iguchi et al. (2002) han determinado que en tejido prostático, en la parte de los lóbulos laterales, hay una concentración alta de cinc que se correlaciona con una alta expresión de ZnT2. Y que la prolactina es un importante regulador de la expresión de ZnT2 en próstata (Costello et al. 1999). Pero hasta hoy no se conoce del todo cómo el ZnT2 interviene en la homeostasis del cinc (319). La deficiencia de cinc reduce mRNA del ZnT2 en niveles casi indetectables (320). Liuzzi et al. (2001) Determina que ZnT2 presenta una baja expresión en el intestino delgado, riñón, placenta y en algunos casos en hígado (324). Otros autores determinan que ZnT2 está implicado en la asimilación del cinc en las vesículas en intestino, riñón y testículos (330).

El ZnT2 parece ser estar implicado en el mecanismo de regulación del cinc en apoptosis (320)

**SCL30A3 – ZnT3:** Sinónimos Solute carrier family 30 member 3, Zinc transporter 3, ZNT3, ZnT-3



El ZnT3 se localizó en cromosoma 7 humano (320). ZnT3 está expresado en cerebro y testículo. También se encontró en las líneas de células de epitelio mamar El ZnT3 fue encontrado en las vesículas sinápticas de las neuronas, por lo que tiene función en la neuromodulación del cinc. También se encontró una función del ZnT3 en el metabolismo de la glucosa, donde tiene un rol crucial en diabetes (320) ZnT3 es una proteína que tiene 6 dominios transmembranarios que comparte el 52% entre los aminoácidos con ZnT2 (319)

El cerebro de los mamíferos contiene una concentración alta de cinc, la mayoría acumuladas en las vesículas sinápticas (Frederickson Moncrief 1994, Haug 1967, Perez-Clausell, Danscher, 1985), también la concentración alta de cinc se encontró en el hipocampo. Salazar et al, (2009) demuestra una nueva oligomerización del ZnT3 mediada por puentes de ditiosina. La oligomerización determina un intercambio bajo de microvesículas sinápticas (SLMVs) y resistencia en la toxicidad del cinc La dimerización se detectó en condiciones normales pero está aumentada en situaciones de estrés oxidativo (337). El ZnT3 junto con ZnT2 tienen rol en el transporte vesicular (398) y que el ZnT3 tiene rol de facilitar la acumulación de cinc en las vesículas sinápticas (330, 338).

**SCL30A4 – ZnT4:** sinónimos - Solute carrier family 30 member 4, Zinc transporter 4, ZNT4, ZnT-4

En ZnT4 se localizó en cromosoma 15 humano (48). La mutación del gen SLC30A4 es asociada con el síndrome de "leche letal" en ratones y también hay una disminución del importador del cinc Zip 4 (Piletz et al 1999, Lee et al. 1992, Ackland et al. 1992) El ZnT4 es bien expresado en cerebro y epitelio intestinal de ratón. Liuzzi et al. (2001) demuestra que ZnT4 se expresa independiente del estatus del cinc. En general, el ZnT4 facilita la entrada de cinc en las vesículas secretorias en glándulas mamaria y submaxilar (319). Otros investigadores demuestran que en la homeostasis del cinc están implicados importadores de cinc como Zip3 y exportadores de cinc como ZnT1, ZnT2 y ZnT4 (328).

Lang et al. (2007) han encontrado alteraciones de la expresión de los transportadores de cinc en inflamación aguda donde ZnT4 y Zip 4 disminuyen su expresión y aumentan Zip1 y Zip 14 (339) Una suplementación con cinc normaliza los

transportadores Zip1 y Zip14 pero no afecta los niveles de las citoquinas y sus receptores (340).

Yu YY et al.(2007) detecta ZnT4 en el tejido del tubo digestivo (326). En 2004 Ho LH demuestra el papel del ZnT4 en los mastocitos y en la homeostasis del Zn. Sugieren que los depósitos granulares de Zn pueden ser distintos de los que regulan la activación de procaspasa-3 y NF-kappaB (340)

Chimienti et al. (2004), demostró que en dos enfermedades relacionadas con el cinc como *Acrodermatitis Enteropática* y síndrome de la "leche letal" son relacionadas con mutaciones del ZnT4. (320, 341) Pero Nakano et al. (2003) sostienen que la mutación del ZnT4 no es responsable de la *Acrodermatitis Enteropática* en población Japonesa (422). Por lo tanto, el ZnT4 es sumamente expresado en las células epiteliales, principalmente en aquellas relacionadas con absorción y con menor expresión en hígado, riñón, bazo, timo, músculo, tejido adiposo y mama. ZnT4 es localizado en aparato de Golgi y endosomas (Murakami, y Hirano 2008) y Overbeck et al. (2008) localiza ZnT4 en la membrana plasmática (342). El ZnT4 están regulados por el cinc en las células normales del riñón de rata (343) y que el transportador es un exportador muy bien expresado en glándulas mamarias y cerebro (330).

**SCL30A5 – ZnT5** – sinónimos- FLJ12496, FLJ12756, hZTL1, MGC5499, Solute carrier family 30 member 5, UNQ863/PRO1879, Zinc transporter 5, ZNT5, ZnT-5, ZNTL1, ZnT-like transporter 1, ZTL1

El SCL30A5 – ZnT5 se localizó en cromosoma 5 humano (320). ZnT5 se encuentra expresado en todos los tejidos humanos, aunque con una expresión alta en las células  $\beta$ -pancreáticas que contienen insulina, son las células con contenido mas alto de cinc de todo cuerpo (344, 345). La proteína ZnT5 no se encontró en las células que no secretan insulina, por ejemplo, las células  $\alpha$ -acinares. El ZnT5 se encontró en las células Caco-2 del intestino delgado; este modelo fue designado hZTL1 (human ZnT-like transporter 1). Sin embargo, el hZTL1 fue posteriormente identificado como hZnT5.

La función de hZTL1 indica un papel en la regulación de la absorción de cinc en la dieta a través de la membrana apical de enterocitos (346). Un aspecto interesante de la función es la ZnT5 observación de que este transportador interactúa con ZnT6 para

formar un complejo que puede transportar el cinc en la vía secretora (347, 348). Adicionalmente, ZnT6 y ZnT5 ambas fueron localizadas en la células TGN de los mamíferos y son expresadas en muchos otros tejidos (Huang L et al 2002, Kambe T, et al 2002, Seve M et al. 2004. El ZnT5 se encontró expresado en tejido duodenal y en células parietales de estómago. También el ZnT5 se encontró en ovario, próstata y tejido del testículo (320). La importancia de ZnT5 a la homeostasis del cinc se destaca por la eliminación del gen ZnT5 en ratones, lo que conduce a un crecimiento pobre, desarrollo anormal de los huesos, pérdida de peso y arritmias cardíacas (349.)

Coneyworth et al. (2009) sostiene que la metilación de SLC30A5 contribuye en el declive de estatus de cinc en relación con edad (350).

El ZnT5 es principalmente expresado en las células parietales de estómago, en epitelio de absorción del duodeno y yeyuno (326) y Lestón et al. (2007) detectó ZnT5 y ZnT1 en las vellosidades humanas. El ZnT5 y ZnT7 son localizados en el aparato secretor, responsable de activar la enzima fosfatasa alcalina (351) y también ha encontrado localizados ZnT6, ZnT5 y ZnT7 en el compartimento vesicular (235).

Los niveles intracelulares de cinc están estrictamente regulados por los canales de cinc y proteínas de unión a cinc para mantener las funciones celulares dependientes del cinc. Con ayuda de la técnica RT - PCR se estudió ZnT5 y ZnT7, donde se ha inducido una deficiencia de cinc y dio lugar a una disminución de hasta ocho veces en los transportadores (352). Inoue et al (2002) demuestra que ZnT5 es una proteína que juega un papel importante en la maduración de los osteoblastos y en el mantenimiento de las células involucradas en el sistema de conducción cardíaco (353).

El hZnT-5 está reguladas en respuesta al agotamiento del cinc celular (342).

**SCL30A6 – ZnT6** – sinónimos- FLJ31101, MGC45055, MST103, MSTP103, Solute carrier family 30 member 6, Zinc transporter 6, ZNT6, ZnT-6

El gen SCL39A6 - ZnT6 se localizó en cromosoma 6 humanos. Es un gen que se mostró expresado en hígado, riñón, intestino delgado y cerebro pero fue detectado sólo en cerebro y pulmón (320).

La proteína ZnT6 tiene la función de transporte de cinc desde el aparato de Golgi en la periferia de las células (Lambe T et al 2004). Los estudios sobre la enfermedad Alzheimer demuestran que la expresión ZnT6 aumenta con la enfermedad pero ZnT1 se disminuye (354). Ésto indica que la homeostasis del cinc tiene un rol en el desarrollo de la enfermedad. El mRNA ZnT6 se encuentra en el hígado, el cerebro, los riñones y el intestino delgado. Curiosamente, la proteína sólo se detectó en el cerebro y los pulmones, lo que sugiere que un mecanismo post-transcripcional puede jugar un papel en la expresión específica de la proteína ZnT6 según el tejido (343).

La homeostasis intracelular de cinc está estrictamente regulada por las proteínas de unión de cinc y transportadores de cinc. El hZnT-6, están reguladas en respuesta al agotamiento del cinc celular. Los exportadores de cinc están localizados en el aparato de Golgi (342). El ZnT6 puede implicarse en el transporte de cinc citoplasmático en el aparato de Golgi, así como el compartimento vesicular, en función de su localización intracelular (343).

**SCL30A7 – ZnT7:** sinónimos - DKFZp686M0368, Solute carrier family 30 member 7, Zinc transporter 7, ZNT7, ZnT-7, ZnTL2, ZNTL2, Znt-like transporter 2

El gen SCL39A7 – ZnT7 se localizó en cromosoma 1 humano (320). El mRNA se encontró expresado en diferentes tejidos pero la proteína sólo en intestino delgado y pulmones. Los estudios demuestran que ZnT7 tiene un rol crucial en reabsorción del cinc en el tracto gastrointestinal (326). El ZnT7 fue identificado por homología con el amino secuencia de aminoácidos de ZnT1 en la bases de datos de EST. El ZnT7 en ratones knock-out con fenotipo deficiente en cinc es insensible a la suplementación con cinc (55). Además, en estos ratones se observa un crecimiento pobre y una disminución de la composición corporal de grasa, lo que sugiere que ZnT7 juega un papel fundamental en el mantenimiento celular y homeostasis del cinc y que pueden participar en la regulación de la composición corporal (219).

Suzuki et al (2008) antes (2005) demuestran que los transportadores de cinc ZnT5 y ZnT7, son necesarios para la activación del cinc, y requieren la enzima fosfatasa alcalina. Se demostró que ZnT5 y ZnT6 trabaja en la misma vía, mientras que ZnT7 actúa solo (351). El ZnT7 es ampliamente transcrito en los tejidos del ratón

con expresión abundante en el hígado y el intestino delgado y expresión moderada en el riñón, bazo, cerebro y pulmón. ZnT7 se localiza en el aparato de Golgi y vesículas citoplasmáticas. (320, 355). Tanto hZnT5 como el hZnT-7 está regulado en respuesta al agotamiento del cinc celular (342).

**SCL30A8 – ZnT8** -sinónimos- Solute carrier family 30 member 8, Cinc transporter 8, ZNT8, ZnT-8

El gen SCL39A8 – ZnT8 se localizó en cromosoma 8 humano (320). No se conocen muchos detalles sobre este gen. El ZnT8 se detectó en cerebro e hígado y se sugiere que es vesicular y que comparte un 42% de homología con ZnT3. El ZnT8 es un gen que puede estar relacionado con la diabetes (344, 329, 356). En 2004, en los islotes de Langerhans se identificó el transportador específico de cinc ZnT8 y se demuestra que facilita la acumulación de cinc del citoplasma en las vesículas intracelulares (357). El ZnT8 puede estar involucrado en proporcionar del cinc para la maduración de la insulina y/o procesos de almacenamiento de la secreción pancreática de insulina en las células  $\beta$ . Pero Dufner-Beattie J et al (2005), Seve M et al.(2004), Sladek R, et al (2007) y Zeggini E et al. (2007) demostraron la importancia de ZnT8 en la etiología de la diabetes el gen ZnT8 se asoció primero con el locus de riesgo para la diabetes de tipo II. El hZnT8 se puede utilizar en la identificación como auto-antígeno para la diabetes tipo I.

Al igual con los anteriores Achenbach et al. (2009) demuestra que ZnT8 se puede utilizar para determinar el diabetes tipo I en niños (358). También se demostró que el transportador de cinc ZnT8 es la llave para la acumulación y regulación de insulina en las células pancreáticas  $\beta$  (359, 360). En los islotes del páncreas, la producción de la insulina está relacionada con el transporte de cinc mediado por el ZnT8. El SLC30A8 puede conferir susceptibilidad genética para la diabetes (361, 362).

Gohlke et al. (2008) han analizado el genotipo SLC30A8 de 841 pacientes y 1021 controles y no se encontró ninguna diferencia entre alelos y genotipo de SLC30A8 de los pacientes y controles (359). Overbeck et al. (2008) han demostrado que la expresión de hZnT-8 en linfocitos de sangre periférica varió enormemente entre los individuos (342).

**SCL30A9 – ZnT9** - sinónimos- C4orf1, GAC63, HuEL, HUEL, Human embryonic lung protein, Solute carrier family 30 member 9, Zinc transporter 9, ZNT9, ZnT-9

El gen SCL30A9 – ZnT9 se localizó en cromosoma 4 humano (320). El gen ZnT9 fue aislado originalmente a partir de las células pulmonares embrionarias. Las proteínas tienen 6 dominios transmembranarios que se asocian con el citosol y fracciones nucleares pero no en membrana (Sim DL et al. 1999). Hasta la fecha los estudios no han evaluado la función de esta proteína.

Se demostró que hZnT2 no era detectable pero además hZnT3 y hZnT9 se expresan en niveles bajos en leucocitos (342). Antes ZnT9 fue denominado HUEL, (363) y en 2002 Sim et al. han aislado y caracterizado un nuevo gen humano Huel (C4orf1) que se expresó en tejidos fetales humanos y líneas celulares de cáncer. Huel se asigna a la región 4p12-p13 en el brazo corto del cromosoma 4, cuya supresión se asocia frecuentemente con el carcinoma de vejiga.

**SCL30A10 – ZnT10** , - Sinónimos - DKFZp547M236, Solute carrier family 30 member 10, Zinc transporter 10, ZNT10, ZnT-10, ZNT8, ZRC1

El gen SCL30A10 – ZnT10 se localizó en cromosoma 1 humano (48). Acerca de ZnT10 se supone que tiene una fisiología y homología parecida con ZnT1, porque ZnT10 se encuentra en embriones y después del nacimiento la ZnT10 disminuye, y aumenta ZnT1. ZnT10 se descubrió en el hígado y cerebro fetal con un perfil de expresión restringida (319). ZnT10 juega un papel importante en la homeostasis del cinc durante el desarrollo fetal. Sin embargo, ningún estudio ha sido llevado a cabo para analizar la función de ZnT10.

El gen ZnT10 se identificó tarde y Seve et al (2004) demuestran que en células de mamíferos, dos transportadores de membrana de la familia están involucrados en la homeostasis intracelular del cinc: los transportadores de la captación denominados SLC39 o familiar Zip y los transportadores de eflujo llamados SLC30 o familiar ZnT. En los datos genómicos se identificaron las secuencias de larga duración de dos nuevos genes SLC30: SLC30A8 y SLC30A10, que extienden la familia SLC30 a diez miembros (364).

**Familia SCL39A familia Zip**

La familia de los Zip's contiene 86 miembros en todos los reinos. Esta constituida por 4 subfamilias: I, II, LIV-1 (LZT) y GUFA.

**SLC39A1/ZIP1:** sinónimos -CGI-08, CGI-71, hZIP1, IRT1, Solute carrier family 39 member 1, Zinc-iron-regulated transporter-like, Zinc transporter ZIP1, ZIP1, ZIP-1, ZIRTL, Zrt-and Irt-like protein 1

El gen SCL39A1 – Zip1 se localizó en cromosoma 1 humano. El Zip1 sí se encontró expresado en varios tejidos. La proteína se encontró expresada en la membrana plasmática, retículo endoplasmático o en vesículas. El Zip1 está poco regulado por la ingesta del cinc (320). En ratas, mZip1 está presente en todos los tejidos excepto en el páncreas y el mARN Zip1 no está regulada por el cinc de la dieta en el intestino y endodermo visceral, tejidos implicados en la absorción de nutrientes (347, 320)

Se demostrado que en ratas nutridas con bajo cinc (LZ, 7 mg / kg) hay una abundancia de proteína Zip1 a nivel hepático (329). Una alta expresión de hZIP1 tiene un efecto funcional sobre el potencial de malignidad de las células de cáncer de próstata a través de la inhibición de las vías de NF-kappa B-dependiente y apoyar el concepto de que hZIP1 puede funcionar como un gen supresor de tumores en el cáncer de próstata (365).

Lang et al. (2007) observaron que existen alteraciones en la expresión de los transportadores de cinc durante la inflamación aguda, incluidos los aumentos en ZIP1 y ZIP14 y disminución en ZIP4 y ZnT4. Con suplementos de cinc se normalizaron los niveles de ZIP1 y ZIP14, pero no afectó los niveles de ARN m de las citoquinas o sus receptores. Los resultados indican que la inflamación inducida por alteraciones en la expresión del gen transportador de cinc se dirige hacia el aumento de la absorción de cinc. Los aumentos en la absorción de cinc puede ser útiles para contrarrestar la pérdida local de cinc en las vías respiratorias y para satisfacer una mayor demanda de proteínas dependiente de cinc. La disminución del cinc en las células inflamatorias de las vías respiratorias se puede compensar con suplementos de cinc en individuos asmáticos (339). La pérdida de la acumulación de cinc en células malignas en el cáncer de próstata, dar lugar a la propuesta plausible de que la baja regulación de hZIP1 es un evento crítico al inicio del desarrollo de cáncer de próstata (366, 367). Los estudios

sobre SLC39A1, SLC39A2, y SLC39A4, que codifica las proteínas hZip1, hZip2 y hZip4, han evidenciado las funciones de estas proteínas en la captación de cinc a través de la membrana plasmática de diversos tipos de células (322).

Gaither et al. (2001) demostró el rol del Zip1 en la absorción de cinc en muchos tipos de células normales y la proteína hZIP1 es localizada en la membrana plasmática (368).

Cragg et al. (2005) demuestra que el suplemento de cinc reduce el ARNm SLC30A1 (1,4 veces), así como las proteínas SLC30A1, SLC30A5, y SLC39A4 (1,8 veces, 3,7 veces, y hasta niveles indetectables, respectivamente) en la mucosa ileal y el aumento de ARNm de metalotioneína (1,7 veces). La suplementación de cinc no tuvo ningún efecto sobre la expresión de ARNm o SLC30A4 SLC39A1. La localización de SLC30A5 en la parte apical del enterocito humano y la membrana coloncito y también en la membrana apical de las células Caco-2 se demostró mediante técnicas de inmunohistoquímica. En observaciones en seres humanos suplementados con cinc el mRNA, SLC30A1, SLC30A5, y SLC39A4 proteínas se redujeron en células Caco-2 cultivadas en medios de 200 µM y comparando con 100 µM cinc. Estas observaciones indican que la respuesta a las variaciones en la ingesta de cinc en la dieta regula la expresión de transportadores de cinc en el intestino humano y contribuye al mantenimiento de cinc (369).

Los transportadores Zip2 y Zip3 junto con Zip1 son importantes para la absorción de cinc y participan en la capacidad única de las células de la próstata para acumular altos niveles de cinc celular. Zip1, Zip2 y Zip3, son los genes supresores de tumores en el tejido prostático (370). El Zip1 está poco regulado bajo concentraciones aumentadas de cinc. Se sugiere que El Zip1 puede ser utilizado como biomarcador del estatus de cinc en humanos (371).

**SLC39A2/ ZIP2** - sinónimos - 6A1, Eti-1, GAFA1, Gene associated with FGF-2 activity protein 1, hZIP2, MGC119190, Solute carrier family 39 member 2, Cinc transporter ZIP2, ZIP2, ZIP-2, Zrt-and Irt-like protein 2

El gen SCL39A2 – Zip2 se localizó en cromosoma 14 humano. SLC39A2/Zip2 se encontró en hígado, bazo, intestino delgado y médula ósea además también en



sangre humana periférica en las células mononucleares (320). En condiciones de déficit de cinc y utilizando como marcador melatotioneina la expresión de Zip2 se incrementa (372). En un estudio sobre los niños con asma se observó que Zip2 es sobre expresado (373). La expresión de hZip2 es baja en el tejido de la próstata, útero, epitelio del cuello uterino, nervio óptico, y los monocitos (320).

Los Zip2 y Zip3 aparentemente están asociados con la re-absorción de cinc en el líquido prostático (370).

En un estudio se han evaluado 58 tejidos de cáncer de próstata en dos grupos raciales principales (30 personas blancas y 28 afro-americanas) y se evaluó dos principales transportadores de cinc humanos, hZIP1 y hZIP2. En los 30 especímenes blancos con cáncer de próstata, el grado de expresión de estos dos receptores de cinc fue alto en comparación con la misma edad y puntuación de Gleason en concordancia con las muestras obtenidas de pacientes afroamericanos. También se encontró un significativo descenso en la regulación de estos dos transportadores de cinc en los tejidos normales de la próstata en los hombres afroamericanos, en comparación con los hombres blancos de la misma edad.

La pérdida de la capacidad única de mantener normales los niveles intracelulares de cinc puede ser un factor importante en el desarrollo y progresión del cáncer de próstata. La observación de que la absorción de cinc puede ser diferente en los grupos raciales es interesante y relevante. Una vez que estos datos se confirmen en grupos más grandes, este hallazgo podría tener aplicaciones importantes como una maniobra preventiva para algunos grupos de personas. Debido a que los suplementos dietéticos de cinc son relativamente no tóxicos, cualquier ensayo de eficacia sería de bajo riesgo (374). El hZip2 es exclusivamente localizado en la membrana plasmática. Estos resultados indican que hZip2 es un transportador de cinc, y su identificación proporciona una de las primeras herramientas moleculares para estudiar la absorción de cinc en las células de mamíferos (375).

En 2009, Tong-fu Xu, et al. encuentran que la expresión del mRNA Zip2 en leucocitos es significativamente mas grande en pacientes con asma. La melatotioneina y Zip2 son inversamente expresados en el tiempo frente a la disminución de cinc en apoptosis (376). La incorporación de cinc en la célula es inhibida en concurrencia con

otros metales, lo que sugiere que la proteína transporta también otros substratos (377). En las células mononucleares de la sangre periférica la expresión del Zip 2 incrementa (320).

**SLC39A3/Zip3** – sinónimos - Solute carrier family 39 member 3, Zinc transporters ZIP3, ZIP3, ZIP-3, Zrt-and Irt-like protein 3.

El gen SCL39A3 – ZIP3 se localizó en cromosoma 19 humano (320). Al igual que hZip1 y hZip2, hZip3 fue identificado mediante la comparación con el Zip de hongos y plantas frente al ESTs de los mamíferos (322). Los bajos niveles de expresión de Zip3 pueden ser detectados en muchos tejidos, pero en el tejido testicular la expresión es más alta.

Además, ARNm Zip3 no está regulado por el cinc de la dieta en intestino o endodermo visceral, tejidos involucrados en la absorción de nutrientes. Sin embargo, la absorción de cinc puede ser inhibida por diversos metales, lo que sugiere que ZIP3 no es específico para el cinc (166). Sin embargo, en ratones con doble mutación en ZIP1 y ZIP3 se demostró que las proteínas son esenciales para el desarrollo normal del embrión durante la deficiencia de cinc (Dufner-Beattie J, et al. 2006). El Zip 3 es un gen sumamente expresado en la medula ósea, bazo, intestino e hígado (Liuzzi JP et al. 2004, 2005). Los estudios que Zip 3 se incrementa bajo condiciones de déficit de cinc.

Se demostró que en los mamíferos la captación de cinc parece estar mediada por los miembros de las proteínas Zrt / IRT (ZIP) superfamilia de los transportadores de iones metálicos (378). Estos estudios sugieren que el Zip 3 pueden desempeñar papeles específicos para la homeostasis del cinc en lugar de papeles principales en la adquisición de cinc en la dieta (320)

**SLC39A4/ ZIP4** – sinónimos - AEZ, FLJ20327, MGC74741, Solute carrier family 39 member 4, Zinc transporter ZIP4, ZIP4, ZIP-4, Zrt-and Irt-like protein 4

El gen SCL39A4 – ZIP4 se localizó en cromosoma 8 humano. El gen se encontró en intestino delgado y riñón. Proteínas Zip 4 son localizadas en la parte apical de la membrana de los enterocitos y células endoteliales. Los estudios demuestran que Zip 4 tiene un rol importante en la absorción intestinal del cinc. Bajo

condiciones de déficit de cinc, el mRNA Zip 4 se acumula en el citoplasma y las proteínas Zip 4 son transportadas hacia la parte apical de las membranas. Con razón se indica que Zip 4 tiene rol en la absorción del cinc de la dieta. (Weaver et al. 2007).

La *Acrodermatitis Enteropática* es una rara enfermedad autosómica recesiva causada por mutaciones en SLC39A4, que codifica el transportador de cinc ZIP4 tejido-específica (251). En los seres humanos, la pérdida completa de la función Zip4, como en pacientes de AE, no es mortal, pero de debe tratar con suplementos de cinc.

A pesar de varias mutaciones en el AE, el Zip4 probablemente produce la abolición de la función de transporte de la proteína Zip4 y los síntomas de la AE pueden ser aliviados mediante suplementación de cinc en la dieta. Por otra parte, algunas mutaciones de las AE no les asigna la misma región cromosómica como SLC39A4 (379, 380).

El cinc puede regular la acumulación de Zip4 que determina la proteína que se encuentra en la superficie apical de los enterocitos y células del endodermo visceral. Estos resultados proporcionan pruebas convincentes de que Zip4 es un transportador de cinc que juega un papel importante en la homeostasis del cinc, en un proceso que es defectuoso en la *Acrodermatitis Enteropática* en los seres humanos (381).

En 2009 Li M et al. identifican un papel previamente caracterizado de ZIP4 en la progresión del cáncer de páncreas, e indican que eliminar ZIP4 de horquilla corta ARN podría ser una estrategia de tratamiento novedoso para el cáncer de páncreas con sobre expresión ZIP4 (382).

Otros investigadores identifica que aa expresión aberrante del ZIP4 parece contribuir a la patogénesis y la progresión del cáncer de páncreas. Se puede sugerir una estrategia terapéutica porque el ZIP4 controla el crecimiento de cáncer de páncreas (383, 384).

La degradación mediada por ubiquitina de la proteína ZIP4 es fundamental para la regulación de la homeostasis del cinc (385) y las alteraciones en la expresión del transportador de Zn se observaron durante la inflamación aguda por lo tanto el Zip 4 está disminuido (339). Los estudios sobre SLC39A4, que codifica la proteínas hZip4,

han indicado sus funciones en la captación de cinc a través de la membrana plasmática de diversos tipos de células (322) y Cragg et al. (2005) demuestra que el suplemento de cinc reduce el Zip4 hasta niveles indetectables en la mucosa ileal (369). Se determinó que el transportador hZIP4 es responsable de la absorción intestinal de cinc (379) y los experimentos realizados en ratas nutridas con bajo cinc (LZ, 7 mg / kg) se detectó un aumento de la expresión del Zip4 en el yeyuno (329). Los ZnT5 (SLC30A5) y hZIP4 (SLC39A4) se encuentran en la membrana apical del enterocito y determina la incorporación del cinc (386). Por lo tanto Zip4 es una llave de control para cinc de la ingesta que determina la absorción y homeostasis celular del cinc (372).

**SLC39A5/ ZIP5:** sinónimos -LZT-Hs7, MGC34778, Solute carrier family 39 member 5, Zinc transporter ZIP5, ZIP5, ZIP-5, Zrt-and Irt-like protein 5

El gen SCL39A5 – ZIP5 se localizó en cromosoma 12 humano. El Zip5 se encontró en el tejido gastrointestinal. Una deficiencia del cinc determina que mRNA Zip5 sea expresado y trasladado en proteínas reubicadas en la membrana de los enterocitos, se dedujo que Zip 5 tiene rol de prevención de sobrecarga de cinc en la célula. Por otra parte, algunas mutaciones en enfermos con AE no les asigna la misma región cromosómica del SLC39A4. Por lo tanto, se cree que unas proteínas adicionales son asociadas con la enfermedad, que inicialmente se llamaban "hORF1" y ahora es designado "ZIP5". El Zip4 y ZIP5 comparten 30% de homología en ratas y humanos y ZIP5 es similar en secuencia, compartiendo el 84% de identidad. Zip 5 puede oponerse con Zip4 y que puedan participar en el transporte del cinc a través de serosa (345, 380). La actividad de mZip5 no parece ser regulada mediante la reposición (ingesta) de cinc. La expresión del Zip5 se limita a muchos tejidos importantes para la homeostasis del cinc, incluyendo el intestino, el páncreas, el hígado y los riñones. Los experimentos demuestran de Zip 5 juega un papel central en el control de nivel de cinc del organismo (380).

**SLC39A6/ ZIP6:** sinónimos - Estrogen-regulated protein LIV-1, LIV1, LIV-1, Solute carrier family 39 member 6, Zinc transporter ZIP6, ZIP6, ZIP-6, Zrt-and Irt-like protein 6

El gen SCL39A6 – ZIP6 se localizó en cromosoma 18 humano. El gen se encontró expresado en próstata, placenta y mama. LIV-1 es un homólogo de la proteína Zip6 y se encontró expresado en cerebro. ZIP6 se conoce como miembro de la LZT (LIV-1 de la subfamilia ZIP transportadores de cinc) subfamilia de transportadores ZIP. La LIV-1 es una subfamilia muy conservada que tiene ocho dominios transmembranarios (387). Las proteínas se sitúan sobre todo en la membrana plasmática y transportan el cinc en las células. Los nueve de la familia LIV-1 contienen un dominio común rico en histidina entre TMDs III y IV, que es un sello único para todas las proteínas Zip.

El análisis funcional de las células transfectadas con Zip6 indica que esta proteína actúa como un importador de cinc que se localiza en la membrana plasmática de ciertos tipos de células. Una elevada expresión de Zip6 se observa en los tejidos sensibles a las hormonas esteroideas, como la placenta, glándula mamaria y de la próstata (388, 389). Recientemente, las investigaciones en el cáncer de mama asocian el ZIP6 con los receptores de estrógeno. Estos estudios determinan que Zip6 puede ser un marcador fiable en los cánceres estrógeno-receptorpositivo. (319).

Shen et al. (2009) sostienen que existe una correlación entre la expresión LIV-1 y E-cadherina en cáncer de mama humano (390). Por lo tanto LIV-1 es un candidato prometedor para un nuevo marcador en pacientes de cáncer de mama. En la especie pez cebra que el transportador de cinc LIV-1 tiene implicaciones importantes para el desarrollo del cáncer y LIV-1 puede tener un papel en la progresión del cáncer de mama (389, 391) La localización de LIV-1 en el retículo endoplasmático (392).

Otros estudios demuestran que LIV-1 puede estar involucrado en la adquisición del fenotipo agresivo de las células carcinoma pancreático a través de la inducción de la transición epitelio mesenquimal (393).

**SLC39A7/ ZIP7** – sinónimos- D6S115E, D6S2244E, H2-KE4, Histidine-rich membrane protein Ke4, HKE4, KE4, Really interesting new gene 5 protein, RING5, Solute carrier family 39 member 7, Zinc transporter SLC39A7, ZIP7

El gen SCL39A7 – ZIP7 se localizó en cromosoma 7 humano. El Zip 7 se encontró que está altamente asociado con el cáncer de mama. La proteína se encontró en retículo endoplasmático, único sitio donde se han encontrado expresados

HKE4, por lo tanto, es ahora conocido como Zip7. El Zip7 parece ser expresado de forma ubicua (394). Sin embargo, Zip7 se localiza en el aparato de Golgi, no en la membrana plasmática, lo que sugiere que el aumento del cinc intracelular es de origen vesicular (320). La expresión génica y la localización de la proteína del Zip 7 se mantienen sin cambios por el estado de cinc. La abundancia de proteínas de Zip7 es reprimida por suplementos de cinc.

Otro aspecto interesante de la función de Zip7 es la posibilidad de que esta proteína pueda estar involucrada en la progresión del cáncer de mama y que Zip7 es un componente crítico en la redistribución de cinc a partir de depósitos intracelulares (395), que actúa mediante el transporte de cinc a partir del aparato de Golgi en el citoplasma de la célula (396). El Zip7 libera cinc desde el retículo endoplasmático y podrían ser necesarios para activar la tirosina quinasa. La activación de tirosin quinasa podría formar un nuevo objetivo de estudio para las enfermedades como el cáncer pudiéndose utilizar como tratamiento para dichas enfermedades (394).

**SLC39A8/ ZIP8:** sinónimos - BCG-induced integral membrane protein in monocyte clone 103 protein, BIGM103, LIV-1 subfamily of ZIP zinc transporter 6, LZT-Hs6, PP3105, Solute carrier family 39 member 8, Zinc transporter ZIP8, ZIP8, ZIP-8, Zrt-and Irt-like protein 8

El gen SCL39A8 – ZIP8 se localizó en cromosoma 4 en humanos. Es un gen muy importante para el sistema inmune. Por eso se levantó la hipótesis de que la proteína Zip8 puede tener un rol importante en la función de los monocitos (397), por lo tanto el Zip 8 se encontró expresado en lisosomas o compartimento endosomal.(330). El ZIP8 se encuentra en el pulmón, riñón, testículos, hígado, cerebro, intestino delgado y la membrana de los glóbulos rojos maduros. El Zip8 en humanos fue originalmente llamado Bacillus Calmette-Guerin-inducida de genes en los monocitos clon 103 (BIGM103). Curiosamente, BIGM103 no se expresa constitutivamente, pero podría inducirse por mediadores inflamatorios como el LPS y TNF- $\alpha$  en el pulmón. Además, el TNF- $\alpha$  estimula la expresión de Zip8 en epitelio pulmonar.

La inhibición de Zip8 reduce el contenido de cinc celular y produce la alteración de la función mitocondrial en respuesta al TNF- $\alpha$ , lo que resulta en una muerte celular mayor (319, 398, 399, 400). Se encontró el ZIP8 transportador de cinc es altamente

expresado en las células T, derivados de seres humanos (401, 402). El Zip8 si es regulado positivamente es suficiente para proteger el epitelio pulmonar contra el TNF-alfa-citotoxicidad inducida. Zip8 es única, entre las proteínas Zip funcionando como un importador de cinc esencial en la aparición de la inflamación, lo que facilita la citoprotección dentro del pulmón (400, 403)

**SLC39A9/ ZIP9** – sinónimos - FLJ11274, MGC74989, Solute carrier family 39 member 9, UNQ714/PRO1377, Zinc transporter ZIP9, ZIP9, ZIP-9, Zrt-and Irt-like protein 9

El gen SCL39A9 – ZIP9 se localizó en cromosoma 14 en humanos. No hay muchos estudios sobre Zip9, pero se supone que interviene en la homeostasis del cinc. En la homología de secuencia de lugares Zip9 en la familia ZIP, sin embargo, es el único miembro de los Zip's de la subfamilia I. No hay otras descripciones de la estructura, función o regulación de ZIP9 en la literatura.

La familia de los transportadores de cinc SLC39A se puede dividir en cuatro subfamilias (I, II, LIV-1, y gufA) en los vertebrados, pero los estudios de sus funciones se han limitado exclusivamente a los miembros de las subfamilias II y LIV-1. Los estudios sobre Zip9 humanos (hZIP9-HA) demuestran que la localizan Zip9 en el aparato de Golgi, independientemente del nivel de cinc. Estos resultados sugieren que las funciones de Zip9 regulan la homeostasis del cinc en la vía secretora sin alterar significativamente la homeostasis del cinc citosólico (404).

**SLC39A10/ ZIP10** – sinónimos - DKFZp564L2123, DKFZp781L10106, FLJ90515, KIAA1265, LZT-Hs2, MGC126565, MGC138428, Solute carrier family 39 member 10, Zinc transporter ZIP10, ZIP10, ZIP-10, Zrt-and Irt-like protein 10

El gen SCL39A10 – ZIP10 se localizó en cromosoma 2 en humanos. Kaler P et al. (2007) encontró el Zip10, en la membrana del borde del cepillo renal. El gen se encontró expresado en el intestino delgado, páncreas, testículos, cerebro, hígado y riñón de ratas. La expresión de Zip10 in vivo se suprime por el cinc en las branquias y el riñón del pez cebra. Otro aspecto interesante de la función Zip10 es su posible papel en el cáncer de mama. La expresión de ARNm Zip10 en tumores de mama sugiere

que Zip10 se asocia significativamente con la metástasis del cáncer de mama y de los ganglios linfáticos.

Estos hallazgos demuestran un papel interesante para el cinc y Zip10 en la actividad migratoria de células metastásicas de cáncer de mama y sugieren que Zip10 puede ser un posible marcador para fenotipos metastáticos del cáncer. Los informes recientes sugieren que la deficiencia de cinc está asociado con un mayor riesgo de cáncer, aunque todavía no está claro si el cinc o sus transportadores están involucrados en la progresión del cáncer. (405).

El Zip10 se encontró en el riñón del pez cebra y mantiene la homeostasis del cinc (406).

**SLC39A11/ ZIP11** – sinónimos - C17orf26, Solute carrier family 39 member 11, Zinc transporter ZIP11, ZIP11, ZIP-11, Zrt-and Irt-like protein 11

El gen SCL39A11 – ZIP11 se localizó en cromosoma 17 humano. El producto proteico Zip11 es un miembro de la subfamilia gufA de los transportadores ZIP. El Zip 11 se denominó a partir de la especie *Myxococcus xanthus*. La función de Zip11 se desconoce. No hay otra estructura, función o información sobre este transportador

**SLC39A12/ ZIP12:** sinónimos - bA570F3.1, FLJ30499, LIV-1 subfamily of ZIP zinc transporter 8, LZT-Hs8, MGC43205, MGC51099, Solute carrier family 39 member 12, Zinc transporter ZIP12, ZIP12, ZIP-12, Zrt-and Irt-like protein 12

El gen SCL39A12 – ZIP12 se localizó en cromosoma 10 humano. Se ha informado que el Zip 12 está implicado en la esquizofrenia. El cerebro esquizofrénico parece tener una menor concentración de cinc de la que tiene un cerebro normal. No hay otra estructura, función o información disponible sobre este transportador. El gen se encontró expresado en cerebro, ojo, pulmón, testículo (394).

**SLC39A13/ ZIP13** - sinónimos - FLJ25785, LIV-1 subfamily of ZIP zinc transporter 9, LZT-Hs9, Solute carrier family 39 member 13, Zinc transporter ZIP13, ZIP13, ZIP-13, Zrt-and Irt-like protein 13



El gen SCL39A13 – ZIP13 se localizó en cromosoma 11 humano. Una mutación de la Zip13 está vinculada con el síndrome de Ehler Danlos, lo que determina la síntesis de colágeno defectuosa y el desarrollo inadecuado del tejido conectivo. El Zip 13 es un miembro de la subfamilia LIV-1, de transportadores de cinc Zip (319). Las alteraciones fenotípicas asociadas con la Zip13 en ratones reducen la osteogénesis, produce un desarrollo anormal de los cartílagos, reduce la producción de dentina y del hueso alveolar con anormales características craneoencefálicas, así como una disminución cutánea y del colágeno del estroma corneal.

Se mostró que Zip13 se localiza en el aparato del aparato de Golgi. La acumulación de  $Zn^{2+}$  en el aparato de Golgi, se incrementó el Zip13 en las células, lo que indica que las funciones Zip13 como transportador de cinc permite el flujo de salida de  $Zn^{2+}$  del aparato de Golgi en el citoplasma. En los experimentos con ratas se demuestra el papel crucial del SLC39A13/ZIP13 en la formación del tejido conectivo (407).

**SLC39A14/ ZIP14** – sinonimos - cig19, KIAA0062, LIV-1 subfamily of ZIP zinc transporter 4, LZT-Hs4, NET34, Solute carrier family 39 member 14, Zinc transporter ZIP14, ZIP14, ZIP-14, Zrt-and Irt-like protein 14

El gen SCL39A14 – ZIP14 se localizó en el cromosoma 8 humano. Está implicado en la fase aguda de respuesta frente a la deficiencia de cinc en hígado. Se encontró asociación entre Zip14 y las citoquinas inflamatorias  $IL_6$  y  $TNF-\alpha$ . El ZIP14 se encuentra en la respuesta de este gen a la inflamación. En respuesta al tratamiento con citoquinas a la inflamación, el cinc se redistribuye entre los distintos tejidos, particularmente en el hígado. El Zip 14 tiene una clara dependencia de la función hepática y contribuye a la hipocincemia de la inflamación y la infección. Además, por primera vez, el ZIP14 fue localizado en la membrana plasmática de los hepatocitos, donde el transportador se incrementó inducido por la IL-6 (408). El Zip14 se encuentra en tejidos como el intestino y el hígado, en los que se encuentra el ZIP14 (339, 461).

En los experimentos de Taylor et. al (2005), demostraron que el Zip14 (SLC39A14), carecen de histidina, pero con esta carencia es todavía capaz de transportar el cinc (409).



## ***Sujetos y metodología***



### 3. SUJETOS Y METODOLOGÍA

#### 3.1. Diseño del estudio

El diseño general se basa de un estudio multicéntrico observacional prospectivo, analítico, con seguimiento, en los pacientes críticos, desde el ingreso en la UCI hasta el día séptimo de estancia (PCi, PCf), comparando con un grupo control (GC) de individuos sanos de similares características (figura 20).

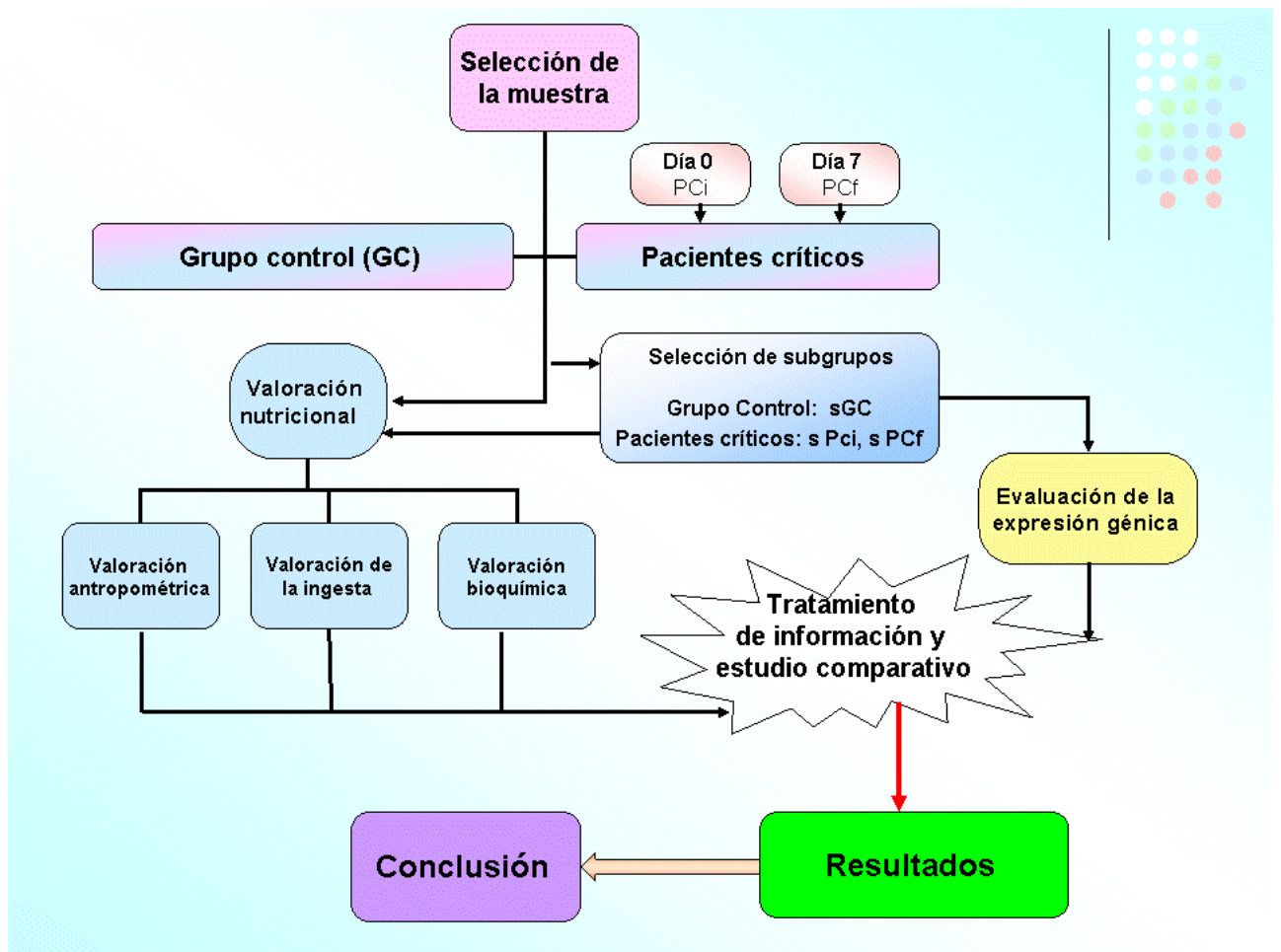


Figura 20. Diseño del estudio

### **3. 2. Selección de la muestra y población objeto de estudio**

#### **3. 2.1. Población de estudio**

En el presente estudio se han establecido dos grupos:

##### **3.2.1.1. Grupo control (GC):**

Se trata de un estudio descriptivo transversal. Se utilizó un muestreo no probabilístico consecutivo, ya que se incluyeron todos los sujetos que, cumpliendo los criterios aceptaron entrar en el estudio.

Las personas sanas – grupo control es un colectivo de 60 personas con edades comprendidas entre los 32 y 59 años, ( $46,4 \pm 7$ ), 28 hombres (47%) y 32 mujeres (53%), de la provincia de Granada. El criterio de inclusión se basó en la aceptación de los sujetos a participar en el estudio y en que dichos sujetos no presentaran ningún tipo de patología que pudiera afectar su situación nutricional.

##### **3.2.1.2. Pacientes críticos (PC):**

Este grupo está constituido por 40 pacientes con edades comprendidas entre los 37 y 74 años, ( $58,1 \pm 11,6$ ), 23 hombres (58%) y 17 mujeres (42%), de la provincia de Granada.

Se trata de un estudio multicéntrico observacional prospectivo y analítico en el que se siguieron a los pacientes incluidos desde su ingreso hasta el séptimo día de estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos de diferentes hospitales del área provincial y capital de Granada: Virgen de las Nieves, San Cecilio, General de Baza y Santa Ana de Motril

Los individuos se seleccionaron mediante un muestreo aleatorio sistemático y los **criterios de inclusión** fueron:

-Pacientes mayores de 18 años.

-Situaciones clínicas que impidan que los pacientes por si mismos, tomen alimentación oral, entre las que se encuentran alteraciones neurológicas (accidentes cerebrovasculares; lesiones degenerativas neurológicas, tumores del sistema nervioso central, infecciones, polineuritis, etc.); musculares o esqueléticas (distrofia muscular, miastenia grave, etc.)

- Situaciones que afectan la boca o el tracto digestivo alto e impidan parcial o totalmente o contraindican el paso de nutrientes por ésta vía a las demás porciones del sistema digestivo (neoplasias, traumas, obstrucciones benignas, cirugía, fístulas del tracto digestivo alto, trastorno funcional en el esófago y duodeno) por lo tanto los pacientes reciben solo nutrición artificial.

- Permanencia en la UCI de al menos siete días (Pronostico).
- Cumplir criterios de SIRS.

### **Criterios de Exclusión**

- Rechazo por parte del paciente o familiares a participar en el estudio.
- Ser menor de edad
- El paciente no se puede encontrar en situación de aislamiento (enfermedades altamente contagiosas), que presente alergias, cáncer, SIDA, etc, y en general patologías que alteren gravemente los parámetros bioquímicos analizados.
- Pacientes con intolerancia o contraindicación al uso de la vía enteral.
- El paciente cuya estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos no supere los 7 días.
- El paciente que ingiera vía oral alimentos antes de la obtención de la muestra analítica al inicio (día 0 del estudio).
- El paciente presente patologías que alteren gravemente los parámetros bioquímicos analizados

Se tendrá en consideración el listado de ingresos del día anterior, que será facilitado por el Servicio de Admisión, el mismo se presentará por orden cronológico de ingreso y presenta información sobre datos demográficos, de los que se obtendrá información de algunas variables.

### **3.2.2 Tipo de muestreo grupo control y pacientes criticos**

Se utilizó un muestreo no probabilística consecutivo, incluyéndose personas sanas que han querido entrar en el estudio y todos los pacientes que, cumpliendo los criterios establecidos, ingresaron en la UCI durante el período de estudio.

El tamaño de la muestra se calculó a partir del paquete estadístico Epi Info™ Versión 3.5.2, empleando los datos obtenidos en 40 individuos, e incluyendo las variables cuantitativas: albúmina, prealbúmina, minerales, IL6, IL10, hemograma, ingesta de nutriente, y valores de ingesta y bioquímicos de cinc, todas tomadas en los dos momentos de estudio en el paciente crítico Para cada variable se calculó la diferencia de medias asumiendo un error mínimo del 5% y el nivel de confianza del 95%.

En caso de grupo control

El estudio se realizó con un tamaño de muestra superior al indicado por el cálculo, para afianzar los resultados significativos, siendo 60 para individuos control y 40 en pacientes críticos.

En caso de los pacientes críticos:

Se utilizó un muestreo no probabilístico consecutivo, ya que se incluyeron todos los pacientes que, cumpliendo los criterios aceptaron entrar en el estudio, una vez concluida la fase de estabilización hemodinámica, se realizó a todos los pacientes la extracción total de 20 ml de sangre a primera hora de la mañana, procedimiento que se repitió a los 7 días del ingreso.

### **3.3. Recogida de datos específicos para cada grupo**

En caso del **grupo control** (GC) se realizó la recogida de datos personales de valoración de la ingesta de alimentos y nutrientes de cada una de las personas seleccionadas, mediante una entrevista personal en el momento de la cita concertada, para la realización de la encuesta nutricional y de la extracción de sangre



En caso **pacientes críticos** (PC) se reunió información de cada paciente como datos personales, información sobre diagnóstico y procedimientos principales y secundarios que fue completada con los programas informáticos del hospital del “informe de alta” y “codificación” del hospital. Se utilizó la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10ª Edición) para codificar los diagnósticos y procedimientos. Para facilitar el análisis de datos se realizó una agrupación de los diagnósticos principales y en su defecto, de los secundarios atendiendo a los mismos criterios de clasificación que los empleados por la CIE-10.

Encima para los pacientes críticos se realizó la valoración de SIRS, SEPSIS, APACHE, y SOFA.

#### **a. SIRS/ SEPSIS**

Utilizando la información del hospital se evaluaron las constantes vitales y se analizó la situación crítica del paciente mediante el cálculo del SIRS y APACHE como criterios de inclusión en el estudio.

El SIRS se determina en este momento, para lo cual el paciente debe presentar 2 o más de los siguientes parámetros:

Temperatura > 38° C ó < 36° C.

Frecuencia cardíaca > 90 latidos/minuto.

Frecuencia respiratoria > 20 respiraciones/minuto.

Leucocitos > 12.000/mmc ó < 4.000/mc ó > 10% de formas inmaduras.

En caso de SEPSIS, el paciente debe presentar dos o más de los siguientes criterios + infección:

- Temperatura >38 C o <36 C

- Frecuencia cardíaca > 90 lpm

- Frecuencia respiratoria >20 rpm o PaCO<sub>2</sub> < 32 mm Hg

- Recuento de leucocitos > 12.000 mm<sup>3</sup> o < 4,000 mm<sup>3</sup> o > 10% de cayados

- \* Infección (presencia de microorganismo o invasión de tejidos estériles por dichos organismos).

Además, en la sepsis, se deben contemplar una serie de variables: generales inflamatorias hemodinámicas que afectan a diferentes órganos.

**b. APACHE II**

Puntuación mínima 15.

El sistema de puntuación APACHE II (Acute Physiology And Chronic Health Evaluation II) se utiliza en clínica para determinar el compromiso inmunitario de un paciente. Es un sistema muy útil y fácil de usar donde se cuantifican diferentes parámetros como:

- \* Temperatura central (°C).
- \* Presión arterial media (mmHg)
- \* Ritmo cardiaco (latidos/min.)
- \* Frecuencia respiratoria (con o sin VM)
- \* Oxigenación\* (mm Hg): si  $F_{iO_2} > 0,5$  considerar  $A-aDO_5$ , y si  $F_{iO_2} < 0,5$ , la  $PaO_2 - aDO_2$
- \* pH arterial
- \* Sodio (mmol/L)
- \* Potasio (mMol/L)
- \* Creatinina \*\* (mg/100ml )
- \* Hematocrito (%)
- \* Leucocitos ( $\times 10^9/L$ )
- \* Años
- \* Proveniencia del paciente (quirúrgico o no quirúrgico)
- \* Glasgow Coma Scale: El GCS del paciente se restará de 15, y el valor de la diferencia  $15 - GCS$  se consignará como puntos.(Anexos 10- tabla para puntuación APACHE II) . En Anexo 8, esta presentada la tabla de calculo.

**c. SOFA (SEQUENTIAL ORGAN FAILURE ASSESMENT SCORE)**

Esta puntuación valora la disfunción orgánica y tiene una buena correlación con la mortalidad,. Este tipo de puntuación estuvo diseñado para describir una secuencia de complicación en enfermo crítico. Se evalúan 6 ítems con puntuación de 0 a 4:

- \* Respiratorio:  $PaO_2/F_{iO_2}$
- \* Coagulación: plaquetas  $\times 1.000$
- \* Hepático: bilirrubina mg/dl ( $\mu\text{mol/L}$ )
- \* Cardiovascular

\* Neurológico: Glasgow

\* Renal: creatinina mg/dl ( $\mu\text{mol/L}$ ) o diuresis/24h

El fallo individual se corresponde con un score de 3 ó más puntos. Hay estudios sobre pacientes que han tenido un SOFA score superior a 9 mas de cinco días y la supervivencia es nula.

### **3.4. Recogida de datos comunes de ambos grupos (grupo control y pacientes críticos)**

Para ambos grupos se realizó la valoración, que incluirá:

1. Antropometría
2. Valoración de la ingesta
3. Medición de parámetros bioquímicos
4. Estudio de la expresión génica de los transportadores de cinc.

#### **3.4.1. Antropometría**

##### **3.4.1.1. Grupo control (GC):**

La talla y el peso se medirán mediante el empleo de un tallímetro (aprecia 1 mm) y una balanza de contrapeso. La medida de los pliegues cutáneos se realizara con un lipocalibre capaz de apreciar 0,2 mm.

El peso, expresado en kg (indicador global de la masa corporal) y la talla, expresada en cm (es el parámetro fundamental para estimar el crecimiento en longitud, pero es menos sensible que el peso a las deficiencias nutricionales

Las medidas antropométricas para grupo control incluyen datos de peso y talla. Estos datos son utilizados para calcular el IMC. Índice de Quetelec o Índice de Masa Corporal (IMC):

$$\text{Cálculo: IMC} = \text{Peso (kg)} / \text{Talla}^2 \text{ (m)}$$

Expresado en  $\text{kg/m}^2$ .

Interpretación:

De acuerdo a los valores obtenidos, se podrá diferenciar:

> 25	Obesidad
20 – 25	Valores normales
17 – 20	Desnutrición leve
≤ 17	Desnutrición grave

El IMC se correlaciona bien con la grasa corporal total. Se calculará por ser un parámetro sencillo y permite detectar a los pacientes obesos o desnutridos. .

#### **3.4.1.2 Pacientes Críticos (PC):**

Las medidas antropométricas que se realizaron incluye datos de:

- Peso
- Talla
- Longitud rodilla-talón RT,
- Circunferencia muscular del brazo (CMB)
- Plegue cutáneo tricípital (PCT),

#### **Talla**

En caso de los pacientes críticos, que normalmente están encamados es muy difícil de medir la talla. Por tanto se utiliza el índice Longitud rodilla - talón (RT) para poder estimar la talla.

Longitud rodilla - talón (RT) o “Longitud Rodilla – Suelo”

Se utilizará la Técnica de “Longitud Rodilla – Suelo”

1. Se utilizará una regla especial, con fraccionamiento de 1 cm.
2. La localización de la medición se hará considerando la planta del pie y la rodilla del paciente, luego se procederá a su valoración. El valor obtenido se considerará como Longitud rodilla – suelo (LR).
3. Para el cálculo de la talla, se utilizará la siguiente fórmula:

Formula de cálculo:

$$\text{Hombres: } (2.02 \times \text{LR}) - (0,04 \times \text{Edad años}) + 64,1$$

$$\text{Mujeres: } (1.83 \times \text{LR}) - (0.24 \times \text{Edad años}) + 84,8$$

La talla es un parámetro necesario para calcular el IMC

El peso y talla se utilizan para calcular el IMC (Índice de Quetelec o Índice de Masa Corporal), utilizando la misma formula de cálculo e interpretación que en caso de grupo control.

Los frecuentes desequilibrios en la distribución compartimental de líquidos en pacientes críticos (edemas o anasarca, ascitis, efusión pleural, deshidratación, etc.), pueden alterar el peso sin que ello represente un trastorno causado por la nutrición, por lo que durante el período de repleción nutricional se aceptará un máximo de ganancia de peso de 250g por día, un incremento mayor significará retención anormal de líquidos.

## **El peso**

Se calcula a partir de la fórmula Hamwi o tablas.

Método de Hamwi o “regla del pulgar”

P.I: Mujeres: 45,5 Kg para los primeros 1,52 m. Adicionar 0,9 Kg. por cada 2,54cm por encima de los 1,52 m.

P.I: Hombres: 48,1 Kg para los primeros 1,52 m. Adicionar 1,1 Kg. por cada 2,54 cm por encima de los 1,52 m.

Las tablas de pesos deseables editadas de distintas instituciones pero más utilizada es de la compañía norteamericana “Metropolitan Life Insurance” en que se determina el peso para una altura determinada en población sana y en función de complejión corporal y/o edad.

En España se utilizan las tablas de referencia de altura. <sup>(5)</sup> (Tabla para determinar la talla anexos 2)

### **Medidas de Circunferencia Muscular Braquial**

Para su medida, se procede de la siguiente forma:

#### a) Medida de la circunferencia muscular braquial

Localización del punto medio del brazo: La localización de este punto se efectúa de manera que sea reproducible en repetidas ocasiones. Se utiliza una cinta métrica de material no deformable, con lectura de fraccionamiento de 1 mm. Se tomará esta medida en el brazo dominante del paciente.

1. El brazo del paciente deberá estar pegado al cuerpo, formando un ángulo de 90° con el antebrazo y con la palma de la mano hacia arriba.
2. Las mediciones serán efectuadas en la parte posterior del brazo.
3. La cinta métrica se colocará verticalmente entre el acromion de la escápula y el olécranon del codo.
4. El punto medio se encuentra a la mitad de distancia de estos dos puntos de referencia y deberá ser marcado cuidadosamente.

#### b) Medida de la circunferencia del brazo

1. Durante la medida, el paciente debe permanecer con el brazo - antebrazo extendido a lo largo del cuerpo.
2. Se rodeará el brazo con la cinta métrica a la altura del punto medio sin efectuar excesiva presión.
3. La medida de tres determinaciones consecutivas expresadas en cm. (con una aproximación de 0,5 cm) se considerará la circunferencia media del brazo.
4. Esta cifra se coteja con las tablas de referencia comúnmente utilizadas.

Se expresa en cm.

### **Pliegue cutáneo tricipital**

Para su medición se utiliza un Caliper marca Holtain Ltd. Crymych U.K., de sensibilidad 0,2 mm.

Se toma un “pellizco” con los dedos pulgar e índice que incluya piel y tejido subcutáneo, de aproximadamente 1 cm, de manera que quede excluido el tejido muscular, por encima del punto medio detectado con la técnica anterior.

1. Los extremos del caliper se colocarán cuidadosamente sobre el pliegue cutáneo, presionando en los lugares indicados en el caliper hasta que se produzca la alineación ejerciendo presión durante tres segundos, momento en el que se efectuará la lectura del pliegue en mm.
2. Deben realizarse tres mediciones consecutivas de cada pliegue dejando que la piel recupere su elasticidad y efectuar la medición del valor medio.
3. El valor obtenido se compara con valores previos para determinar posibles cambios.

Para la determinación del dato obtenido se coteja con las tablas de referencia comúnmente utilizadas.

El pliegue cutáneo tricípital (PCT): Es un pliegue indicativo de la reserva grasa corporal reconocido internacionalmente como el más representativo de la masa grasa del organismo.

### **Circunferencia muscular del brazo**

Se realiza en el punto medio de la circunferencia del brazo en el punto medio se resta  $\pi$  x grosor del pliegue cutáneo del tríceps.

Calculo de la desnutrición utilizando circunferencia del brazo

Circunferencia muscular (cm) = circunferencia del brazo – (0.314 x pliegue tricípital en mm)

#### *Interpretación*

- Desnutrición proteica leve o moderada < percentil 25
- Desnutrición grave < percentil 10

Para valorar proteína muscular se utiliza los parámetros de CB y CBM.

### **3.4.2 Valoración Nutricional**

#### **3.4.1. Grupo control**

En el presente estudio, la recogida de datos para valorar la ingesta de alimentos y nutrientes de cada una de las personas seleccionadas, se ha realizado mediante una entrevista personal en el momento de la cita.

En dicha entrevista se utilizó un cuestionario que incluía los siguientes apartados:

- Uno en el que se reflejaban los datos personales y hábitos relacionados.
- Un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

Se empleó un cuestionario de frecuencia de consumo, que abarcaba las veces que se consumían al día, la semana, al mes o al año una lista de alimentos amplia que determinarían los hábitos de consumo en los diferentes grupos de alimentos y que mediante del programa *Nutriber®* software (Mataix y García Díz, 2006), se obtenían datos de ingesta de consumo de nutrientes a partir de las RDAs establecidas para la población sana adulta. Este método nos permite obtener información de la ingesta de nutrientes a largo plazo, así como hábitos de consumo de alimentos y grupos de alimentos, lo que nos acerca más a la realidad, y podremos saber si los datos bioquímicos en eritrocito (lugar más de reserva de cinc que los niveles plasmáticos) corresponden con dichas ingestas, en comparación con los datos que se pueden obtener con un recordatorio de consumo basado en los dos o tres días anteriores a la entrevista.

#### **3.4.2. Paciente crítico**

Para los pacientes la. Se realizó mediante un método prospectivo, registrando diariamente el tipo, volumen y composición de la nutrición administrada por vía enteral ó parentela. Se dispone de fórmulas especiales comercialmente diseñadas y cuyos componentes tienen características y propiedades particulares para estados patológicos específicos, que se indican según la patología y las condiciones clínicas y



del tracto digestivo del paciente. Estos productos tienen una composición definida de todos los nutrientes por lo que con ésta información y conociendo el volumen que ingieren los pacientes se calculará la **ingesta real**. Para los pacientes críticos la valoración de la ingesta se siguió durante 7 días de estancia en la UCI. En los pacientes se evaluó ingesta en nutrición artificial: enteral y parenteral.

Las formulas de nutrición artificial utilizadas en las unidades de nutrición de los hospitales que forman parte en el estudio son:

- Kabiven ® Periférico (Fresenius Kabi)
- Glucerna Select (Abbott)
- Pulmocare (Abbott)
- Oxepa (Abbott)
- Formulas preparadas en la unidad de nutrición del Hospital.

Estos soportes nutricionales tienen una composición definida, según los requerimientos del paciente, de todos los nutrientes, por lo que con esta información y conociendo el volumen que ingieren los pacientes se calculará la ingesta real diaria de cada uno de ellos, así como de la energía.

Se calculó el gasto energético para paciente crítico utilizando la ecuación **Harris-Benedict**:

Varones:  $GEB = 66.5 + (13,8 \times \text{peso en kg}) + (5 \times \text{altura en cm}) - (6,8 \times \text{edad en años})$

Mujeres:  $GEB = 665 + (9,6 \times \text{peso en kg}) + (1,8 \times \text{altura en cm}) - (4,7 \times \text{edad en años})$

El gasto energético (GEB) en paciente crítico se aumenta con un 40-50% sobre el gasto energético en reposo.

### **Ingesta de energía y macronutrientes**

La adecuación de las fórmulas administradas respecto a los requerimientos nutricionales, se realiza mediante el cálculo previo de las necesidades tanto de energía (utilizando la fórmula de Long modificada), como de proteínas y nitrógeno, teniendo en cuenta el estado hipermetabólico en el que se encuentran los pacientes.

Para valorar la medida en que el consumo de micronutrientes se ajustan a las recomendaciones en los paciente críticos, se tomaron como referencia las RDAs de la ASPEN, AMA (47, 161), y para las necesidades calóricas y proteicas se siguieron las recomendaciones de las *Guidelines* de la ESPEN (101).

La adecuación en el aporte de micronutrientes (selenio, zinc, magnesio, cobre y manganeso y las vitaminas A, grupo B, C y E) se realiza tomando como referencia el Recommended Dietary Allowance (RDAs) del Food and Nutrition Board of National Research Council (FNB-NRC), teniéndose en cuenta también los requerimientos específicos propuestos últimamente para los pacientes críticos con y sin sepsis recomendados por la ASPEN (5,59, 110,111, 112, 113, 204).

La ingesta de energía y macronutrientes se evalúan (proteínas, lípidos, hidratos de carbón, fibra) para pacientes.

La manera más general que podemos aplicar para el calculo del gasto energético es la recomendada por la ASPEN que recomienda que el aporte calórico este comprendido en un rango de 20–35 kcal/kg/día.

Estas fórmulas se utilizaran con criterios orientativos para adaptarse a los protocolos del hospital

### **3.4.3. Valoración de la Ingesta de cinc**

#### **A. Grupo control**

Para valorar la medida de consumo de nutrientes se utilizo programa *Nutriber*® software (Mataix y García Díz, 2006) que contiene las recomendaciones para población sana.

Para el cinc se utilizaron tablas recomendaciones para población sana elaborado de Mataix et col. 2004 (5, 410) y se comparo con las tablas de EE.UU., Europa y UK. (Tabla 23)

## B. Paciente críticos

Para valorar la medida en que el consumo de micronutrientes se ajustan a las recomendaciones se tomaron como referencia las recomendaciones de la ASPEN (1,47, 91, 161), para las necesidades calóricas y proteicas se siguieron las recomendaciones de las guidelines de la ESPEN (101) y para el cinc se siguieron las recomendaciones de la AMA. Tabla 23.

		Hombres	Mujeres
<b>Ingesta de cinc (mg/día) en personas sanas (5)</b>	Ingesta mínima (mg/d)	5,5	4,0
	Media del requerimiento en UK (mg/d)	7,3	5,5
	Reference intake (mg/d)	9,5	7,0
	USA (1989) RDA (mg/d)	15,0	12,0
	OMS a (1996) (mg/d)	9,4	6,5
	Referencia de ingesta en Europa (mg/d)	9,5	7,0
	<b>Comparación de las distintas sociedades científicas para la cantidad de cinc recomendada en nutrición parenteral (161)</b>	AMA, 1979	2,5-4,0 (mg/d)
ASPEN, 2002		2,5-5,0 (mg/d)	
ESPEN, 2004		3,2-6,5 (mg/d)	
Prelack O, 2001		50 µg/kg/d	
En paciente crítico		No superar 4,9 a 5,6 mg/d	
<b>Recomendaciones de cinc en enfermedad crítica (165)</b>	RDI	15 mg	
	Fórmula NP	2.5-5 mg	
	Fórmula NE	11-19 mg/L	
	Suplementación adicional	10-30 mg/d	
	Suplementación en NE	15-24 mg/L	

Tabla 23. Referencia de ingesta de cinc en personas sanas y enfermas; UK - Reino Unido; RDA (recomendaciones dietéticas); OMS Organización Mundial de La Salud; AMA; ASPEN; ESPEN; NE – nutrición enteral; NP – nutrición parenteral.

Para ambos grupos se considera el valor de  $<2/3$  como limite arbitrario, por debajo del cual se considera un factor de riesgo para el nutriente específico.

### **3.4.4. Valoración bioquímica**

#### **3.4.1. Recogida de muestras para determinación de parámetros bioquímicos en población sana**

La extracción de sangre para el grupo control se realizó a primera hora de la mañana a voluntarios, para la posterior determinación de los correspondientes parámetros bioquímicos.

#### **3.4.2. Recogida de muestras para determinación de parámetros bioquímicos en paciente crítico**

Para los pacientes, la extracción se realizó en cada unidad de cuidados intensivos por el personal sanitario, al inicio del estudio (PCi) y después de aproximadamente siete días. (PCf).

En el caso de pacientes críticos, igualmente se recogió la muestra según protocolo del hospital, preservando en todo momento al paciente de cualquier tipo de invasión extraordinaria a la indicada por su médico intensivista y previo consentimiento informado.

En todos los casos, la muestra de sangre se extrajo por personal titulado.

En ambos grupos se toma 20 ml de sangre que se reparten en:

a) 7,5 ml en tubos de vacío que contienen heparina de litio liofilizada (T Ferumo®, Venojet) destinada al análisis del cinc.

b) 10 ml repartidos en dos tubos con gelosa (Vacurette® Z serum Sep., Germany) para la obtención de suero destinado al análisis: de parámetros clínicos como albúmina, ferritina, hemograma, etc.

c) 2,5 ml tubos *PAXgene™ RNA tubes* para sangre total para posterior extracción de ARN y estudio de expresión génica.

d) 2.5 tubos con EDTA para otras medidas bioquímicas como homocisteína y hemograma.

### 3.4.3. Técnicas analíticas

Los tubos vacutainer (*Venject*®) que contiene heparina de litio liofilizada (tapón verde) contienen sangre que será destinada al análisis del cinc.

Centrifugamos lote de tubos en centrifugas de refrigeración a 4°C:

1. Se centrifuga la sangre durante 15 min a 3000 rpm, obteniendo plasma y células sanguíneas con pipeta Pásteur y posteriormente separando alícuotas de plasma en tubos *Ependorff*.
2. Una vez que tenemos el plasma, lavamos 2 veces con solución salina las células sanguíneas, separamos en alícuotas y almacenamos a -80° C.

Siempre se ha trabajado bajo condiciones de oscuridad y en frío, con la máxima rapidez para evitar oxidación de las muestras. Al final se guarda en – 80 ° C. hasta posterior análisis.

#### A. Técnica de determinación del cinc

El agua bidestilada empleada es de pureza MilliQ (Millipore® Corp., Bedford, MA) y todos los recipientes y material de laboratorio se deja en remojo en nítrico 1% durante 24 horas anteriores a su empleo.

#### B. Mineralización húmeda

Los reactivos empleados en ésta técnica son de pureza máxima para análisis, de la casa Merck (Germany).

Para la mineralización de las muestras de plasma y células sanguíneas por vía húmeda, se debe introducir en vaso de precipitado 0,5-0,4 ml de c concentrado de células o plasma. Tapar con vidrio de reloj invertido.

Se pasa a un baño de arena previamente caliente. Se añade ácido nítrico de 2 en 2 ml (hasta 10 ml) en veces sucesivas con pipeta Pasteur, arrasando posibles depósitos en fondo de vidrio sin levantar este, lavando a casi sequedad y cuidando de

que no forme espuma, hasta total decoloración y cese emisión de vapores nítricos (rojos).

Posteriormente, se añade 1 – 2 ml de ácido perclórico para rematar la mineralización y volver a concentrar hasta unos 3 ml hasta emisión de vapores blancos.

Una vez frías las disoluciones se les añade 1 ml de clorhídrico 5 N y se envasa en matraz de cristal hasta 25 ml con agua bidestilada, sin filtrar.

Se envasa, se codifica y se almacena hasta la medida del cinc. Se guarda e frío.

### **C. Determinación de cinc: Espectrofotómetro de Absorción Atómica**

Para realizar la recta de calibrado hemos realizado una disolución del patrón madre de cinc de 1000 mg/l de la casa Perkin Elmer, con rango entre 0 y 0,2 mg/L y el  $r = 0,99$ .

Las muestras mineralizadas se han medido sin dilución previa por que la cantidad de cinc en plasma y células sanguíneas es muy baja.

Se utilizó el BCR No.158 para elementos traza como control de calidad con intervalo de confianza del 95%.

Una vez envasados se procede en la siguiente técnica de medir el cinc con espectrofotómetro (espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer A. Analyst'300, Norwalk, CT, USA) (figura 21) con corrector de fondo de deuterio.



Figura 21 Espectrofotómetro de absorción atómica

La solución mineralizada se mide en caso de cinc directamente (sin dilución) utilizando espectrofotómetro que esta conectado de un ordenador que va a leer toda información. Es necesaria la lámpara de lumina de cinc, que emite a una longitud de onda de 213,9 nm.

#### **D. Técnica de determinación de la enzima superóxido dismutasa (SOD)**

Para medir la enzima Superóxido dismutasa (SOD) se utilizo el kit BIOXYTECH SOD – 525 (Spectofotometric Assay for Superoxide Dismutase for Research). La técnica SOD-525 se basa en medir SOD mediante a incremento de auto-oxidación a 5, 6, 6<sup>a</sup>, 11B- tetrahydro – 3, 9,10 – tri-hidroxi benzo[c]fluorene en solución alcalina con un máximo de absorbancia a 525 nm.

La lectura se hace con lector de placas (figura 22) (BIO-TEK INSTRUMENTS, INC., VERMONT, USA).



Figura 22. Lector de placas

#### **E. Otras técnicas analíticas para la determinación de los parámetros bioquímicos relacionados con cinc**

**Otros parámetros** se examinaron los lípidos ver, proteínas y metabolismo de los hidratos de carbono, y también el estado de las vitaminas y los minerales presentes en la sangre. La albúmina, prealbúmina y transferrina son indicadores de estrés para los pacientes debido a que estos parámetros no son fiables en los pacientes hipermetabólico. Los linfocitos son utilizados como un indicador indirecto

hecho se puede ver la función del sistema inmunológico y la hemoglobina para ver los casos de anemia.

Analito		Método	Valores de referencia del hospital Virgen de las Nieves
Albúmina		Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	3,4-5,5 g/dl (3.5 - 5.0 g/dl)
Prealbumina		Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	(20-40 mg/dl)
Creatinina		Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	0,7-1,2 mg/dL (0.5 - 1.2 mg/dl)
Colesterol	Total	Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	110-200 mg/dL (120 – 220 mg/dl)
	HDL	Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	40-60 mg/dL (45 – 65 mg/dl)
	LDL	Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	70-150 mg/dL (50 – 150 mg/dl)
CPK		Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	24-195 U/L
Homocisteína		Inmunoensayo de Polarización de fluorescencia 5-12µmol/L (FPIA), (IMx® Homocysteine de ABBOTT Laboratorios S.A.)	5-12µmol/L
Transaminasa	GOT	Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	1-40 U/L (0 - 37U/L)
	GGT	Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	5,60 U/L (7 – 50 U/L)
Factor reumatoide		<i>Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia 240-900 pg/dL (ECLIA), (Elecys 2010 y MODULAR ANALYTICS E170 de ROCHE Diagnostics S.L)</i>	0 - 14 UI/ml (0 – 20 UI/mL)
Mg eritrocitario Fe eritrocitario		Espectrofotómetro de Absorción atómica Perkin Elmer A. Analyst´300, Norwalk, CT, USA	-
Cu plasmático Fe plasmático		Test inmunoturbidimétrico Autoanalizador Hitachi MODULAR P (Roche Diagnostics, Gremany	64 -128 µg/dL 59 – 158 µg/dL
II <sub>10</sub>		DIAsource IL-10 EASIA kit Assay DIA source Immuno Assays S.A. Begium	0 -3,3 pg/ml
IL <sub>6</sub>		DIAsource IL-6 IRMA kit Assay DIA source Immuno Assays S.A. Begium	6 -31 pg/ml

Tabla 24 Técnicas analíticas

Todos los parámetros se determinaron mediante técnicas de análisis habituales siguiendo los procedimientos de control de calidad establecidos (Tabla 24).



### 3.5. Expresión génica de los transportadores de cinc

Para la expresión génica hemos extraído una muestra representativa de 12 personas del grupo control y 12 pacientes críticos. La muestra extraída tienen las mismas características de edad y sexo.

En la tabla se pueden ver las características del subgrupo

Características	sGrupo Control (sCG)	sPacientes críticos (sPC)
<b>Años (mean ± SD)</b>	51 ± 2 (47-54)	<b>56 ± 13 (37 -73)</b>
<b>Sexo (hombres/mujeres ; n [%])</b>	6 (50)/ 6 (50)	<b>6 (50)/ 6 (50)</b>

Tabla 25. Características generales de los subgrupos GC y PC; APACHE, (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation); NS, no significativo; SD, desviación estándar; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment

En caso de de subgrupos elegidos se realiza el mismo estudio de valoración nutricional, bioquímica e inmunológico. La metodología empleada es la misma que se describo anteriormente.

#### 3.5.1. Elección del método con *PAXgene™ RNA tubes y kit de extracción PAXgene™ Blood*

Hemos elegido los tubos *PAXgene™ RNA* por su facilidad de trabajo. Los tubos tienen vacío. La cantidad de sangre que recogen es de 2,5 ml. Los tubos contienen una solución estabilizadora del RNA y se puede guardar por varios meses. Fickinger AH et al 2009 (411) han publicado un estudio sobre la utilización de los tubos y el kit de extracción y resulta que la eficiencia es media comparativo con el método de extracción del total RNA de los leucocitos después de lisis de los eritrocitos.

#### A. Método de almacenamiento de RNA

Para el ARN total, utilizando *PAXgene™ RNA tubes para sangre total* Preanalytix, incluimos 2,5 ml de sangre periférica.

Se necesita para la extracción de sangre el equipo de extracción: palometas con adaptador para conectar al tubo vacutainer.

Venipuntura:

- Si hay vía abierta conectar un adaptador al vacutainer
- Si no hay se realiza la venipuntura con una palometa que conecta con adaptador de vacutainer.

El tubo PAXgene se mantiene vertical por debajo de lo brazo del donante, durante la recolección de sangre. Dejar al menos 10 segundos para llevar al cabo la exaración. Después de la recolección de sangre suavemente se invierte el tubo de RNA de sangre PAXgene de 8 a 10 veces. Los tubos con sangre almacena hacia arriba a temperatura ambiente al menos 2 horas y luego a 4 C° y finalmente es almacenada a -80 ° C hasta la extracción de ARN.

La extracción del ARN se realiza con *PAXgene™ Blood RNA Kit* basando en el método de purificación de los ácidos nucleicos Qiagen (*Part Number 762174, Qiagen*) siguiendo los pasos del protocolo.

## **B. Técnica de extracción de RNA**

Antes de empezar nos aseguramos que los tubos *PAXgene™ RNA* se incubaron al mínimo 2 horas en temperatura ambiente. Los tubos *PAXgene™ RNA* se centrifugan 10 minutos a 6000 RPM y después se elimina el sobrenadante por decantación o pipeteado.

Se añade 4 ml de agua RNase-free (libre) y se centrifuga otra vez 10 minutos en 6000 RPM, después se elimina todo el sobrenadante.

Se añaden 350 µl de tampón, se resuspende y se agita hasta que disolución del pellet. En un tubo nuevo se pipeta la solución obtenida y se añaden 300 µl de tampón de unión (binding) y 40 µl de proteinasa K (PK).

Se mezcla por vortex y se incuba 10 minutos a 55 C en incubador con agitador en 700 rpm. Posteriormente, el lisado se pipetea en una columna PAXgene Shredder y se centrifuga 3 minutos a 16000\* g. El sobrenadante se transfiere en un nuevo tubo y se añade 350 µl de etanol 100% se mezcla bien y se centrifuga corto (1-2 segundos para no destruir el rendimiento del RNA).

Se utiliza una nueva columna *PAXgene™ RNA* se pipetea la solución obtenida y se centrifuga en 13000 RPM, 1 minuto. Después de añade 350 µl de tampón de lavar y se centrifuga 1 minuto en 13000 RPM.

En otro tubo se prepara 10 µl de DNase I y 70 µl de tampón de digestión del ADN, se mezcla suavemente y se centrifuga durante unos segundos para recoger las gotas de los paredes.

Se pipetean 80 µl de la mezcla anteriormente preparada en la columna *PAXgene™ RNA* y se deja 15 minutos en temperatura ambiente (20 -30 C). Después se añade en la columna 350 µl tampón de lavado y se centrifuga durante 1 minuto, en 16000 RPM.

En el siguiente paso se realiza de 2 veces y se añade 500 µl de tampón la lavar y se centrifuga 1 minuto y 3 minutos respectivamente en 16000 RPM. Al final se centrifuga sin añadir nada 1 minuto la 16000 RPM. Como última etapa, columna *PAXgene™ RNA* se pone en un tubo nuevo y se añade 40 µl de tampón de elusión y se centrifuga 1 minuto el 16000 RPM.

El paso se repite de 2 veces (figura 23). Este paso se puede hacer en el mismo tubo y el volumen final es de 80 µl o en 2 tubos distintos juntos tiene 80 µl. Al final se incuba 5 minutos a 65 C en incubador, sin mover, en hielo.

Si el ARN no se utiliza inmediatamente, se guarda en – 70 o – 80 C. hasta su empleo.

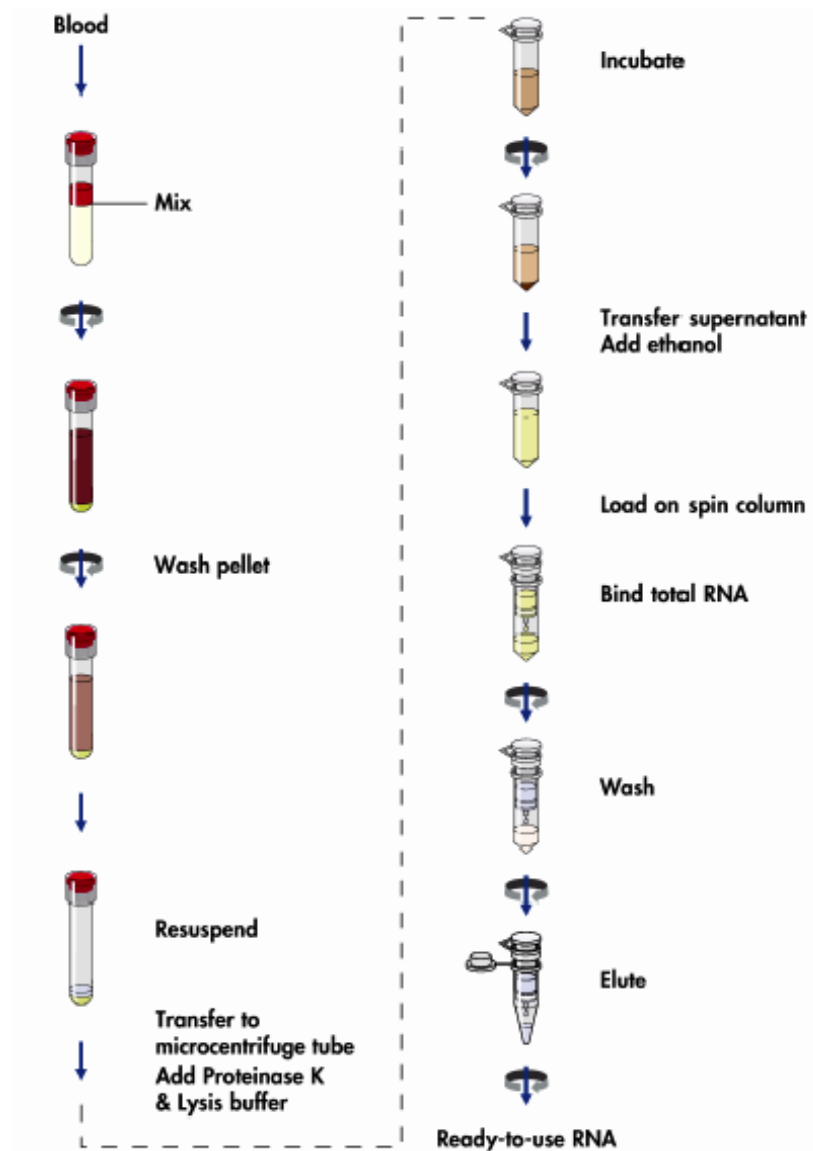


Figura 23. PAXgeneBlood RNA kit; PreAnalytiX (QIAGEN, BD Company Switzerland)

De cada muestra se pone 2-4  $\mu$ l en un tubo aparte para medir la integridad y pureza del RNA.

### C. Cuantificar la pureza y la integridad de RNA

Una vez extraído el ARN, determinamos la pureza y la integridad con NanoDrop Espectofotometro (ThermoScientific) (figura 24) y Bioanalyser 2100 (Agilent Technologies) (figura 25).

**Pureza:**

Se mide la concentración y se cuantifica la pureza de RNA, añadiéndose 1  $\mu$ l de RNA en el espectrofotómetro NanoDrop. La pureza del RNA se determina midiendo la absorbancia del RNA y de las proteínas, así como de otros contaminantes con 260 nm ( $A_{260}$ ) y 280 nm ( $A_{280}$ ) respectivamente. La proporción entre los resultados es la pureza de RNA y es aceptada cuando el valor es  $\geq 1.9$ . Los contaminantes orgánicos como fenol o alcohol se miden a través de la absorbancia a 230 nm ( $A_{230}$ ). Si, el resultado es  $\leq 1$ , entonces se pueden inhibir la reacción de RT-PCR.



Figura 24 Espectrofotómetro NanoDrop

**Integridad:**

Se mide utilizando Bioanalyser 2100 System (Agilent Technologies). La integridad del ARN se evaluó de acuerdo con el número de integridad del ARN – RIN o el número RQ. Las muestras con el número RIN entre 7 -10 se pueden utilizar porque significa que el ARN que es íntegro. El Bioanalyser mide también la concentración del ARN pero se acostumbra que la pureza se evalúe con NanoDrop. El número RIN determina la integridad en una proporción del 18S y 28S del RNA ribosomal.



Figura 25 Bioanalyser 2100

La medida de la pureza y de la integridad es crucial para ver si el ARN es degradado o no. Una cantidad, integridad y pureza buenas es crucial para los experimentos de q-PCR

### **3.5.2.. Técnica de síntesis del c-DNA**

Para la síntesis de c-DNA se utilizan entre 1-5  $\mu$ l de RNA. 1  $\mu$ l de Random Hexamer Primer (Invitrogen), 1  $\mu$ l de dNTP (Invitrogen), y se añade RNase free H<sub>2</sub>O hasta 12  $\mu$ l. Se mezcla muy bien y se incuba 5 minutos en 65 C° en el incubador para calentar. (figura 26) Después de la incubación se deja en hielo al menos 1 minuto, y se centrifuga 1 minuto en TR.

En el segundo paso se añade 4  $\mu$ l, de 5X First Strand Buffer (Invitrogen) 1  $\mu$ l de DTT (Invitrogen), 2  $\mu$ l de SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) ,1  $\mu$ l de RNAsa OUT. Se mezcla pipeteando suavemente (arriba y abajo) y se incuba en 25 C°, 5 minutos. Después, la incubación sigue entre 30 – 60 minutos en 50 C°. Todos los pasos se realizaron en el equipo PCR en un bloque termostático. Para inactivar la reacción se sigue incubando durante 15 minutos a 70 C°. Inmediatamente, se guarda en – 20 C° o – 80 C° hasta que se utiliza la muestra.



Figura 26. Incubador

### **3.5.3. Síntesis de los Primers**

Los *Primers* fueron diseñados por Primer Desing (*Southampton, UK*). Las secuencias de los 24 transportadores humanos y las 3 *housekeeping genes* junto con la temperatura y número de ciclos son los siguientes (tabla 26):

Todas las reacciones de RT-PCR se han realizado para 50 ciclos.

Primer Sequences Homo sapiens				
Gene	Accession Number	Forward	Reverse	BP
SLC30A1	NM_021194	AAGACCCCAGCAGTTAGCA	AGGTTGTTTGTGGCATGTTT	129
SLC30A2	NM_001004434	GAGAAGTCGTTGGTGGGTAC	GAGGGAGAAGAGGCTGATGA	104
SLC30A3	NM_003459	CTTTGGCTGGCACC GTTCA	CTCGATGGTAGTCGCTGTG	124
SLC30A4	NM_013309	GCACATTTGGAGTCCCTTTTC	CATTGTTACCCTACTCTGATTCTTAG	96
SLC30A5	NM_022902	TTATAGAGCAGTTTGGATGGTTCA	TTCATATTCTGGTGGCAATCTCA	137
SLC30A6	NM_017964	CATTTGGGTTTAAAAGATTAGAAGTC	GTGTGTATCTCGGGCTGTTTC	124
SLC30A7	NM_133496	TCCTGTGCCTGAACCTCTC	AGTCGGAAATCAAGCCTAAGC	81
SLC30A8	NM_173851	AGGGAGATTTTAAGGATTTGAGATG	AGGGAAAGGGTAATGGGAGAG	104
SLC30A9	NM_006345	TCCATCCAGCCAGAACAAGT	TGTAACAACCTCGCCCATCAA	150
SLC30A10	NM_018713	ATATCAAGATGCCAGCACAAAAT	GGGTTCTTCAAGTCCACATT	97
SLC39A1	NM_014437	AGGAACAAGAGATGGTCAAGTC	GTATAGTGCCAACCTCTGATTCT	96
SLC39A2	NM_014579	TTTGGAGTCGCTGGCATTG	TTTGAGGGTGAGGGTAAATGTC	126
SLC39A3	NM_144564	TTTGGAGGAGGGGTGTTTCT	GGGTAGTCGGTGCTGATGT	107
SLC39A4	NM_01167	GCTGCTGCTGTCCCTGTAC	GGTTTCTGGGCTGTAGGTTTG	107
SLC39A5	NM_173596	GGGGAGAATAGGAGCCAGAA	AAGACGACCCACACACAGAA	105
SLC39A6	NM_012319	ACTACCATCATATTCTCCATCATCA	CATCACCCATTATCACCATCCA	132
SLC39A7	NM_006979	GTTCTCCAAGGTCCAGTTTCC	CCCCAATCACTCCCAAATCAG	144
SLC39A8	NM_022154	CTCTCCTCGGATTGATTTGACT	AATGCCTCTGGAATAAGTTGGAA	130
SLC39A9	NM_018375	AGTGGTTGTGGTGAATAAAGG	GAAATTAACAGCCAAGGGAATGAT	120
SLC39A10	NM_001127257	TGGTGATGGTGACAATGAAGAA	GCAAATCCAAAGAGCAATCCTAA	84
SLC39A11	NM_139177	CTGAAATGTCCCTATAAAGAATGAGT	TTGCTACCCCTGTTGGAGAA	86
SLC39A12	NM_152725	CTTGCCTTCCCAGACTACT	CCAGAGAGTGTTGAGGAGTTG	103
SLC39A13	NM_001128225	ATCGTGGTAATGGTGCTGTTC	CCCTCTCTGCCTCTCACATAT	126
SLC39A14	NM_015359	TTGCCGCTTCATAAATCAAAG	AAACCCATCTGTAGCATAATCATTAG	127

Tabla 26 – Secuencias de los *primers* humanos. Tabla muestra secuencias utilizada de *primers* en humanos con la dimensión del amplicon. Todas las reacciones RT-PCR son para 50 ciclos.

Los *housekeeping genes* elegidos fueron: Glicerilaldehído 3-fosfato deshidrogenasa (**GAPDH**), 3-monooxigenasa/tryptophan tirosina 5 monooxigenasa proteína de activación (**YWHAZ**) y Ubiquitina C (**UBC**).

Estos *housekeeping genes* han sido elegidos para proporcionar una representación más precisa de *housekeeping genes* utilizados para el paso de normalización.

### 3.5.4. Metodología q-PCR

#### A. Diseño experimental / prevención de contaminación.

Para prevenir la contaminación del DNA se trabajó en una mesa bien limpia (no contaminar con geonómico DNA). Encima de la mesa se aplica DNA-zap, y se utiliza puntas con filtro. El tipo de agua empleada es RNase-DNase-free water. El control negativo sirve para ver si se forma primer dimer o ver si las muestras están contaminadas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ZNT1	ZNT1	NTC	ZNT2	ZNT2	NTC	ZNT3	ZNT3	NTC	ZNT4	ZNT4	NTC
B	ZNT5	ZNT5	NTC	ZNT6	ZNT6	NTC	ZNT7	ZNT7	NTC	ZNT8	ZNT8	NTC
C	ZNT9	ZNT9	NTC	ZNT10	ZNT10	NTC	ZIP1	ZIP1	NTC	ZIP2	ZIP2	NTC
D	ZIP3	ZIP3	NTC	ZIP4	ZIP4	NTC	ZIP5	ZIP5	NTC	ZIP6	ZIP6	NTC
E	ZIP7	ZIP7	NTC	ZIP8	ZIP8	NTC	ZIP9	ZIP9	NTC	ZIP10	ZIP10	NTC
F	ZIP11	ZIP11	NTC	ZIP12	ZIP12	NTC	ZIP13	ZIP13	NTC	ZIP14	ZIP14	NTC
G	GAPDH	GAPDH	NTC	UBC	UBC	NTC	YWHAZ	YWHAZ	NTC			
H												

Tabla 27. Uso común de diseño de RT-PCR es para la placa de 96 pocillos. En figura anotan los diseños más utilizados con un plato de 96 pozos. Para los controles (NTC-Verde) o reacciones en el que se sustituye la plantilla de cDNA con RNAsa / agua DNAsa siempre se incluyen para observar cualquier formación de Primer dimer. Los pozos sombreados en gris no se utilizaron.

Como hemos anotado en la tabla 27, para cada reacción de RT-PCR, se trabaja con los duplicados. Los controles negativos (NTC) nos sirven de plantilla de reacción negativa es para ver si hay formaciones Primer-dímero, o si hay contaminación cruzada entre las muestras.

#### B. Técnica Q-PCR

Para cada reacción utilizada 5  $\mu$ l / entre el 33,3 - 36,5 ng de cDNA y 10  $\mu$ l de PrimerDesign 2x Precision™ Mastermix, 4  $\mu$ l de agua libre de RNAsa /DNAsa y 1  $\mu$ l de mezcla de primer mix, dando un volumen total de reacción de 20 $\mu$ l.





Figura 27 RT-Q- PCR, Applied Biosystems 7900

El mastermix contiene 2x tampón de reacción, 0.025 U / $\mu$ l Taq-polimerasa, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ m de cada mezcla del dNTP.

Junto a esto, el mastermix contiene el colorante fluorescente SYBR-verde (SYBR-green), así como tinte de calibración ROX. SYBRgreen es un tinte (colorante) de unión al ADN que aumenta el nivel de fluorescencia al encontrar ADN de doble cadena.

En las copias del ADN de la muestra después de cada ciclo, la fluorescencia aumenta. ROX se incluyó como punto de partida para la RT-PCR, para normalizar los errores de pipetas, y el ruido de la máquina -relacionados. El valor recomendado para la plantilla es de 25 ng de cDNA. Sin embargo, en nuestro experimento fue entre 33,3 - y 36,6 ng por reacción. Como se sabe que en algunos de los transportadores de cinc la expresión de genes baja, mediante la adición de una alta concentración de cDNA plantilla, se garantiza la expresión en los genes bajo expresados.

El equipo Applied Biosystems 7900 HT RT-PCR se utiliza para todos los experimentos. La condición del ciclo para la RT-PCR se realizó en cuatro etapas, que comprende la activación de la enzima en el 95°C durante 10 minutos, 50 ciclos de desnaturalización de la enzima durante 15 segundos a 95°C y recopilación de datos utilizando el tinte *SYBRgreen* durante 60 segundos a 60°C. Como se trata de una reacción SYBR verde, siempre se realiza un análisis de la curva de fusión.

La curva de análisis de derretimiento es muy importante por la información que aporta durante la formación del primer-dimer. La curva específica debe dar un solo pico estrecho sin "hombros" en torno al 80-85°C, mientras el primer-dimer

generalmente tiene un pico más ancho y más bajo formado a temperaturas inferiores de alrededor de 75°C. Para cada una de las reacciones, se aseguró que no había una sola curva de fusión en todos los genes

Las curvas de calibración se realizaron con diferentes concentraciones del DNA. Los primers fueron diseñados por *PrimerDesign (Southampton, UK)*. Las secuencias para humanos son de 24 transportadores de zinc y tres *housekeeping genes* (genes de limpieza).

### C. Análisis de los datos

Los datos se analizaron utilizando el método de cuantificación relativa. El método de cuantificación relativa mide la diferencia en el número de veces en la expresión génica a través de la relación de puntos de paso ( $C_p$ ) y los valores normalizados de relación entre los valores de  $C_p$  de los *housekeeping genes* (genes de mantenimiento). Se eligió este método porque no requiere de estándares con una concentración conocida, y, sólo cuando sea necesario se hace por el método de cuantificación absoluta, ya que este método presenta problemas. El algoritmo para la cuantificación relativa se muestra a continuación:

$$\text{Relative Expression} = 2^{-(\Delta\Delta C_p)}$$

$$\Delta\Delta C_p = \Delta C_p \text{ Gene of Interest} - \Delta C_p \text{ Calibrator}$$

$$\Delta C_p \text{ Gene of Interest} = C_p \text{ Gene of Interest} - \text{Average Ct Housekeeping genes}$$

$$\Delta C_p \text{ Calibrator} = C_p \text{ calibrator} - \text{Average Ct Housekeeping genes}$$

La ecuación representa la expresión relativa entre dos genes, se calcula utilizando su fórmula.

La expresión relativa de dos genes se calculó midiendo  $\Delta C_p$  para el gen calibrador y el gen de interés por separado. El calibrador puede tener cualquier gen en el conjunto de genes. En nuestro caso hemos comparado con el mismo gen de una muestra diferente. Utilizamos tres *housekeeping genes* (genes de limpieza) como

normalizados, GAPDH, UBC y YWHAZ. Los tres genes fueron un promedio de uso de la función GeoMean en Microsoft Excel.

Se debe tener en cuenta durante la medición con la cuantificación relativa, que la expresión relativa supone que la eficiencia de la reacción es de 2,0 o 100%, a través de la fórmula:

$$E = 10^{-1/\text{slope}}$$

La ecuación representa la eficiencia de la reacción de RT-PCR, medida por la pendiente de la curva estándar. La eficacia máxima se obtiene cuando es  $E = 2$ .

La eficacia se deriva de la pendiente de la curva de calibración del gen de interés. Esto se deriva de la pendiente de la curva de calibración, donde la pendiente de -3.3 es igual a la eficiencia del 100%. Por lo tanto, con el fin de comparar satisfactoriamente dos conjuntos diferentes de datos, es fundamental que tengan la misma eficacia entre ellos.

Curva de calibración

Las curvas de calibración se realizaron con diferentes concentraciones de plantillas del DNA. Estas curvas se hacen para medir la eficiencia de las reacciones de RT-PCR, la correlación eficiente, ordenada-Y en el origen, así como detectar la presencia de inhibidores de la PCR en la reacción. En el experimento, en cada dilución se utilizaron las curvas de calibración de 2, 5, 10, a partir de 100, 50, 10, 1, 0.5 y 0 ng de la plantilla de DNA.

#### **D. Búsquedas de BLAST**

La búsqueda de blast se realizó para garantizar que los primers empleados en los experimentos de RT-PCR fueron específicos. Los nucleótidos de BLAST se hicieron en contra de las secuencias humanas en este enlace

[http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST\\_PROGRAMS=megaBlast&PAGE\\_TYP E=BlastSearch&SHOW\\_DEFAULTS=on&LINK\\_LOC=blasthome](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST_PROGRAMS=megaBlast&PAGE_TYP E=BlastSearch&SHOW_DEFAULTS=on&LINK_LOC=blasthome).

Tanto las secuencias en sentido y antisentido se insertaron para asegurar que el software se observó específicamente para las secuencias que contienen los primers.

### **3.5.5. Técnica de gel de agarosa**

Las muestras de qPCR se han realizado en gel de agarosa al 1% en buffer 1 x Tris-acetate-EDTA (TAE) con 100V. El gel contiene un 1% de Orange G en glicerol para sobrecargar el tampón. Bromuro de etidio se ha incorporado en el gel para poder visualización bajo UV. Como marcador de utlizo Hyper Ladder (BIOLINE), (100) para poder visualizar las bandas. El gel se utilizo para verificar la formación de *primer-dimer*.

### **3.6. Análisis estadístico de los datos**

El análisis estadístico se realizó mediante el programa *estadístico SPSS 17.0 para Windows* (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Para la expresión de los datos se ha utilizado la estadística descriptiva, indicándose los resultados de las variables numéricas como media aritmética, desviación estándar ( $X \pm SD$ ) y error estándar de la media (EEM), y los resultados de las variables categóricas en frecuencias (%).

Como paso previo a la ejecución de un modelo paramétrico o no, se aceptó la hipótesis de distribución normal Mediante el test de *Kolmogorov-Smirnov*.

En el estudio de los datos o variables numéricas, se ha utilizado el test de muestras independientes en las comparaciones entre los grupos y el test para muestras relacionadas, para evaluar la significación estadística del cambio producido en las distintas variables numéricas durante el estudio.

Para todo ello, se ha utilizado el análisis estadístico de la varianza (ANOVA), habiéndose empleado el test de la *t de Student* para los métodos paramétricos, tanto en el caso de muestras independientes, como de muestras relacionadas; el test de *Kruskal-wallis* para los no paramétricos de muestras independientes; y el test de *Willcoxon*, como test no paramétrico para muestras relacionadas.

Para estudiar los datos o variables categóricas y establecer comparaciones entre los grupos, se ha empleado el test de *Mann-Whitney*, ya que debido al carácter cualitativo de dichas variables no podemos asumir normalidad.

El análisis de regresión lineal se utilizó para la búsqueda de correlaciones bivariadas, utilizando el coeficiente de correlación de *Pearson*

La estimación del grado de asociación entre cada uno de los parámetros plasmáticos analizados y los resultados clínicos se realizó mediante un análisis de regresión logística.

### **3.7. Limitaciones del estudio**

En el paciente crítico se llevan a veces a cabo prácticas hospitalarias que pueden afectar de modo adverso a la salud nutricional del paciente:

- La inadecuación del soporte nutricional suministrado por la casa comercial y el retraso por diferentes motivos en su instauración.
- Las pérdidas extras de nutrientes por complicaciones del tratamiento o por la propia enfermedad de base.
- Administración de fármacos que interfieren en el proceso de nutrición.
- Las deficiencias organizativas que contribuyen a que la asistencia nutricional prestada en el hospital no sea la más idónea (Arias, 2006).
- Las técnicas de medición de la composición corporal varían desde las muy sofisticadas a técnicas tan simples que puedan ser realizadas a pie de cama, casi todas ellas tienen valor limitado en el paciente crítico, ya que muchos de los pacientes graves están sometidos a ventilación mecánica, hemodiálisis o han necesitado de la infusión de gran cantidad de líquidos para su reanimación.

- En el paciente crítico el principal problema radica en separar los efectos de la malnutrición de los de la propia enfermedad (Miller y col, 1993; Montejo-González y col., 2006).







## ***Resultados del estudio***



## 4. Resultados

En primer lugar se describen los resultados obtenidos en la población control con la finalidad de situar el estado nutricional actual en el que se encuentra la población sana en un ámbito de estudio similar al estudiado para el paciente crítico (área de Granada). Posteriormente, se describen los resultados obtenidos en el paciente crítico realizando un estudio comparativo en parámetros clínicos y nutricionales, y en biomarcadores de estrés oxidativo, inflamatorios y de riesgo cardiovascular.

Por otro lado, expondremos los resultados del estudio genético de expresión de transportadores de zinc, en la submuestra de población control y crítica seleccionada

### 4.1. Características Generales de la muestra

El **Grupo Control** (GC) estuvo constituido por un colectivo de 60 personas con edades comprendidas entre los 32 y 59 años, ( $46,4 \pm 6,9$ ), 28 hombres (47%) y 32 mujeres (53%), de la provincia de Granada.

El grupo de **Pacientes Críticos** (PC) estuvo constituido por un grupo de 40 pacientes con edades comprendidas entre los 37 y 74 años, ( $58,1 \pm 11,6$ ), 23 hombres (58 %) y 17 mujeres (42%), de la provincia de Granada.

El análisis estadístico inicial mostró normalidad en las variables estudiadas.

Los pacientes provienen de distintos hospitales de Andalucía: Hospital Virgen de las Nieves Granada, Hospital Clínico San Cecilio Granada, Hospital Santa Ana de Motril, Hospital General de Baza. Todos los pacientes cumplen los criterios de inclusión y presentan patologías que impiden la nutrición normal. Los nutrientes se suministran por vía enteral o parenteral, debiendo estar al menos 7 días ingresados en la UCI. (*Hospital Virgen de las Nieves (HVN)*: 75 %, *Hospital San Cecilio (HSC)*: 10 %, *Hospital General de Baza (HB)*: 5 %, *Hospital Santa Ana de Motril (HM)*: 10 %).

Las características demográficas y clínicas del paciente se registran una vez el individuo ha ingresado en la UCI. Entre dichas variables figuran los años, el sexo, el SIRS al ingreso, el diagnóstico y el APACHE II. El SOFA es otro parámetro cuyo valor se calcula durante la estancia en UCI.

En la tabla 28. se muestran las características demográficas y clínicas de la población control y la crítica al inicio del estudio.

En general podemos observar que la población crítica no muestra diferencias significativas en ninguno de los parámetros sociodemográficos estudiados respecto a la población control. Sí presentan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ) en parámetros específicos como el APACHE y SOFA al inicio respecto al final de la estancia en UCI.

Característica		Grupo control (GC) N= 60	Pacientes críticos (PC) N= 40
Años (media $\pm$ SD)		46,4 $\pm$ 6,9	58,1 $\pm$ 11,6
Genero (hombres /mujeres; %)		♂: 28 (47%) ♀: 32 (53%)	♂:23 (58%) ♀:17 (42%)
Diagnóstico (%)	Respiratorio/SDRA	-	25,7
	Cardiovascular/IAM	-	31,4
	Enfermedades abdominales hepáticas	-	42,9
Mortalidad en ICU (%)		-	35%
APACHE II score inicio y final (media $\pm$ SD)		-	16,7 $\pm$ 7,5 (8,00 – 38,00) 9,1 $\pm$ 3,6 (2,00 – 15,00) *
Score SOFA inicio y final (media $\pm$ SD)		-	8,6 $\pm$ 3,3 (2,00 – 16,00) 5,8 $\pm$ 3 (1,00 – 13,00) *
Grado de infección %	Shock séptico	-	24
	Sepsis severa	-	76
Índice de Masa Corporal (IMC)		24,8 $\pm$ 3,4 (18,3 – 36,3)	27,2 $\pm$ 8,0 (15,6 – 52,4)
Fumadores (%)		36,8 %	32,3%
Bebedores (%)		21,4 %	29%

Tabla 28. Características generales de los pacientes del estudio; APACHE, (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation); SD, desviación estándar; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment. \*significación estadística inicio vs final,  $p < 0.05$

De los 40 pacientes reclutados en el estudio, el 35% (11) fallecieron después del seguimiento de 7 días de estancia realizado en la UCI.

Entre las patologías más frecuentes que presentaban los pacientes al ingreso, figuran: las respiratorias (25,7%), las cardiovasculares (31,4%), y las abdominales (42,9 %).

## RESULTADOS EN LA VALORACIÓN NUTRICIONAL

### 4.2. Valoración antropométrica

La medición antropométrica se ha llevado a cabo tanto en el grupo control como en el de pacientes críticos.

#### 4.2.1. Grupo control

En el grupo control, las medidas antropométricas realizadas son el peso y la talla. En la tabla 29, se pueden observar la media y la desviación estándar de los resultados de peso y la talla que presentan la población total, y por sexo.

Con las medidas de peso y talla se ha calculado el IMC. En la misma tabla 29 se representan los resultados mediante la media y desviación estándar (DE) del IMC, así como el mínimo y el máximo.

	Total	Hombres	Mujeres
<b>Peso</b>	71,1 ± 12,4	79,2 ± 9,1	62,8 ± 9,6
<b>Talla</b>	1,67 ± 0,08	1,74 ± 0,05	1,62 ± 0,06
<b>IMC</b>	24,8 ± 3,4 (18,3 – 36,3)	26,0 ± 3,4 (22,1 – 36,3)	23,8 ± 3,2 (18,3 – 30,8)

Tabla 29 Resultados de peso, talla e IMC del grupo control

A partir de los datos de IMC, y utilizando las tablas de referencia (Mataix et.al, 2002), se puede determinar el grado de malnutrición.

En la tabla 30, se observan los resultados obtenidos en el grado de desnutrición en función del IMC del grupo control.

	IMC < 20 Desnutrición	IMC 20- 25 Valor normal	IMC 25 -30 Sobrepeso	IMC >30 Obesidad
<b>Total</b>	5,6 %	51,9 %	35,6 %	7,4 %
<b>Hombres</b>	0 %	45,8 %	45,8 %	8,3%
<b>Mujeres</b>	10,0 %	56,7 %	26,7 %	6,7 %

Tabla 30. Resultados de grado de malnutrición según IMC en el grupo control

#### 4.2.2. Pacientes críticos

En el paciente crítico también se han obtenido los resultados de peso y la talla, aunque empleando técnicas especiales, teniendo en cuenta las circunstancias del enfermo.

Como el paciente crítico generalmente está inconsciente, y se presenta encamado, la talla se determina mediante una fórmula que incluye la longitud rodilla - talón. Finalmente, se aplica la fórmula (mostrada en el apartado de material y métodos), y se determina la talla.

Para obtener el dato del peso, se recoge la información del registro de la UCI o se calcula el peso deseable a partir de la talla. Así, con las dos medidas se calcula el IMC. En tabla 31, se pueden observar los resultados medios de peso, talla e IMC de los pacientes críticos incluidos en el estudio.

	Población total	Hombres	Mujeres
<b>Peso</b>	70,7 ± 20,7	76,1 ± 27,5	66,6 ± 13,2
<b>ideal</b>	(45,00 - 147,00)	(48,0 - 147,0)	(45,0 - 92,0)
<b>Talla</b>	1,60 ± 0,07	1,61 ± 0,08	1,58 ± 0,05
<b>ideal</b>	(1,48 - 1,78)	(1,48 - 1,75)	(1,52 - 1,66)
<b>IMC</b>	27,2 ± 6,63 (15,6 - 52,4)	29,6 ± 10,1 (15,6 - 52,4)	24,8 ± 4,5 (16,4 - 33,3)

Tabla 31. Resultados de peso, talla e IMC de los pacientes críticos (PCi)

Teniendo en cuenta el valor del IMC obtenido al ingreso y utilizando la tabla de referencia, se puede determinar el grado de malnutrición, que se muestra en la tabla 32

	<b>IMC &lt; 20 Desnutrición</b>	<b>IMC 20- 25 Valor normal</b>	<b>IMC 25 -30 Sobrepeso</b>	<b>IMC &gt; 30 Obesidad</b>
<b>Total</b>	11,1%	27,8 %	38,9 %	22,2 %
<b>Hombres</b>	11,1 %	11,1 %	44,4 %	33,3%
<b>Mujeres</b>	11,1 %	44,4 %	33,3 %	11,1 %

Tabla 32. Resultados de grado de malnutrición según IMC en paciente crítico

En general, según los resultados obtenidos, no existen diferencias significativas en el peso y talla entre las poblaciones control y enferma.

Al realizar el estudio comparativo del porcentaje de desnutrición según IMC, el paciente crítico presenta un 5,5% más de individuos con desnutrición que los controles, pero su población también presenta un 14,8% más de individuos obesos.

En paciente crítico, se han realizado también las medidas de circunferencia del brazo (circunferencia braquial, CB) y el pliegue tricípital (PTC), empleadas para calcular el porcentaje de desnutrición proteica que padecen los enfermos (Tabla 33).

	<b>&lt; 10 Desnutrición severa</b>		<b>&lt; 25 Desnutrición moderada o leve</b>	
	Inicio	Final	Inicio	Final
Total	5,3 %	0 %	63,2 %	80 %*
Hombres	7,7 %	0 %	53,8 %	66,7 %
Mujeres	0 %	0%	83.3 %	100 %

Tabla 33. Porcentaje de individuos críticos con desnutrición proteica

Por otro lado, al analizar los resultados de desnutrición proteica, observamos que la población crítica presenta al inicio de la estancia un grado de desnutrición proteica en general en el 68,5% de los individuos, que aumenta hasta un 80% de los pacientes al final de su estancia de 7 días en UCI.

### 4.3. Valoración de la ingesta

#### 4.3.1. Ingesta de macronutrientes

En la tabla 34, se observan los resultados de ingesta de macronutrientes para el grupo control y el grupo de pacientes con nutrición artificial.

En nuestro estudio, un 41,2% de los pacientes recibieron NE, un 26,5 % NP, un 17,6 % nutrición mixta (EN + PN) y un 14,7% nutrición artificial y junto con oral (N + DO). En la tabla 34., se detallan los valores medios y desviaciones estándar de la ingesta de energía y macronutrientes, y el porcentaje de energía aportado por cada uno, respecto al total (perfil calórico).

En nuestros resultados se consideró como dieta oral sólo la ingesta de infusión de manzanilla, que se suele aportar al paciente como paso previo a la dieta oral habitual, con el fin de ir adaptando su sistema digestivo.

	Grupo control	Pacientes críticos	Recomendación ESPEN	p
<b>Energía (Kcal)</b>	1822± 457,6 (744,6 -2772)	1400 ± 797* (428,5 – 3657)	20 -25 (30) Kcal/kg/día	0,002
<b>Proteínas (g)</b>	69,1 ± 21,4 (20,7 –130,2)	42,5 ± 29,6* (7,14 – 146,4)	1,2 – 1,5 g/kg/día	0,000
<b>Glucosa</b>	201,2 ± 59,1 (79,3 –332,1)	109,9 ± 96,3 (0,71 – 453,6)	5 g/kg/día	0,000
<b>Carbohidratos (g)</b>		67,2 ± 48,2* (4,29 – 189,4)		0,000
<b>Fibra (g)</b>	18,0 ± 6,76 (2,50 – 36,6)	10,9 ± 5,23* (2,06 – 20,6)	20-35 g/día	0,000
<b>Lípidos (g)</b>	84,8 ± 28,6 (20,0 –146,3)	52,1 ± 24,3* (15,69 – 117,1)	1-2 g/kg/día	0,000

Tabla 34. Consumo medio de energía y macronutrientes y DE \*GC vs PC, p= significación estadística

Al hacer el análisis estadístico, nuestros resultados ponen de manifiesto que existen diferencias significativas en la ingesta de macronutrientes entre los grupos GC y PC (p= 0,000).



Por otro lado, el porcentaje de ingesta de macronutrientes está dentro de los márgenes de distribución energética recomendados (porcentaje de aporte de energía = 10-35% de proteínas, 45-65% de hidratos de carbono y 20-35% de lípidos). No obstante, los valores absolutos de energía y proteínas en algunos pacientes se alejan bastante del requerimiento medio, encontrándose valores extremos de 3657 Kcal/día y de casi 150 g/día de proteínas.

#### 4.3.2. Ingesta de cinc

La recomendación de ingesta media de cinc en la población adulta sana es diferente dependiendo del sexo. Las recomendaciones dietéticas (IR) para la población general española y europea consideran la ingesta adecuada de cinc de 7-15 mg / día (410).

En la tabla 24 y anexos 5, podemos ver la ingesta de referencia para el cinc en las personas sanas en todo el mundo y las recomendaciones en NA de las sociedades médicas. También existen recomendaciones para la enfermedad crítica, aunque no están ajustadas a nivel internacional.

##### 4.3.2.1. Grupo control

En la tabla 35 se muestran los resultados medios de ingesta de cinc en la población control total y por sexo.

Ingesta de cinc para grupo control		Ingesta de cinc	
CG	Total	8,93 ± 1,97 (4,25 – 14,48)	Género
			♂: 8,87 ± 2,13 (4,25 – 13,19)
			♀: 8,98 ± 1,87 (6,04 – 14,48)

Tabla 35. Ingesta media y DE de cinc para el grupo control

Al estudiar el grado de adecuación de ingesta media de cinc según las IR, se han establecido cuatro categorías en ambos sexos: porcentaje de individuos que presentan ingesta inferior a 1/3 de las IR, inferior a 2/3 de las IR, inferior a las IR pero >2/3, e iguales o superiores a las IR. El límite de 2/3 es un límite arbitrario por debajo del cual se considera un factor de riesgo para el nutriente específico.

Esta división de la población en diferentes categorías (estratos) mejora de manera significativa la información disponible sobre la distribución de la ingesta de la población con respecto a las IR, ya que permite reconocer la existencia de grupos con riesgo de malnutrición, así como el mayor o menor tamaño relativo de dichos grupos.

Este tipo de categorización es frecuente en los estudios nutricionales y facilita el estudio comparativo con otros trabajos. En la tabla 36 se muestran los resultados obtenidos de la estratificación.

Para la población total, se puede observar que el 14.3 % presenta una ingesta por debajo de las ingestas recomendadas, de donde el 20 % son hombres y el 9,7 % son mujeres (tabla 36 y 37).

Población total %			
< 1/3	1/3 – 2/3	2/3 - IR	IR <
0 %	1,8 %	12,5 %	85,7 %

Tabla 36. Adecuación de la ingesta de cinc en población total

Hombres				Mujeres			
< 1/3	1/3 – 2/3	2/3 - IR	IR	< 1/3	1/3 – 2/3	2/3 - IR	IR
0 %	4 %	16 %	80%	0 %	0 %	9,7 %	90,3%

IR= Ingestas Recomendadas (Moreiras et al., 2004)

Tabla 37.- Adecuación de la ingesta de cinc en población total: hombres y mujeres GC

No obstante, en nuestro estudio, en general, podemos decir que la ingesta media de cinc se encuentra dentro de los límites establecidos para la población.

#### 4.3.2.2. Pacientes críticos

La recomendación de ingesta de cinc de las distintas sociedades en el caso de NP, mediante el método factorial y de balance, se ha establecido para cubrir las necesidades en el adulto normal una media de 2,2 mg cinc. También hay que tener en cuenta las patologías de los pacientes.

En los pacientes con SIRS grave y shock séptico las necesidades de cinc incrementan debido principalmente la mayor activación del sistema inmunológico e inflamatorio. Las medias de aporte de cinc en población total y por sexo son presentadas en la tabla 38.

Aporte de cinc paciente críticos		Aporte Ingesta de cinc	
PC	Total	7,75 ± 4,92 (0,93 – 18,08)	Género
			♂: 8,47 ± 5,23 (4,25 – 13,19)
			♀: 7,1 ± 4,70 (0,93 – 14,57)

Tabla 38. Aporte medio y DE de cinc para pacientes críticos

En el caso del NE los requerimientos son los mismos que el grupo control sano. Este tipo de nutrición utiliza la vía normal digestiva, empleando una sonda nasogástrica o gástrica. Por esta razón la cantidad recomendada de nutrientes es similar o levemente superior que en personas sanas.

Al estudiar la cantidad de cinc por cada tipo de nutrición los valores medios están presentados en la tabla 39.

PCf	Nutrición enteral EN	9,71 ± 3,06
	41,2 %	(4,29 – 14,57)
	Nutrición Parenteral NP	2,38 ± 0,90
	26,5 %	(0,93 – 3,74 )
	Nutrición enteral + parenteral NE+NP	12,84 ± 4,21
	17,6 %	(6,19 – 18,08)
	Nutrición Enteral y/o parenteral y dieta oral	5,11 ± 4,92
	NA + DO	(0,93 – 11,14)
	14,7 %	

Tabla 39. Aporte de Zn SD (min – max) en función del tipo de nutrición artificial y % NA

Debemos de tener en cuenta que en el caso de tratarse del grupo de pacientes la ingesta se evaluó tras 7 días de estancia en la UCI.

En la tabla se observa los resultados de valores medios de aporte de cinc por tipo de nutrición y sexo (tabla 40).

	Hombres	Mujeres
<b>NE</b>	9,7 ±2,23 (6,08 - 12,0)	9,73 ± 3,81 (4,29 - 14,57 )
<b>NP</b>	2,92 ± 0 ,95 (1,87 - 3,74 )	2,05 ± 0, 78 (0,93 - 2,80 )
<b>NE+NP</b>	14,1 ± 3,44 (11,2 -18,0 )	10,2 ± 5,69 (6,19 - 14,25 )
<b>NA+DO</b>	1,79 ± 1,4 (0,93 - 2,65 )	7,3 ± 4,2 (2,80 - 11,14)

Tabla 40. Aporte medio de cinc en PC con nutrición artificial según sexo

Hay muchas opiniones acerca de la cantidad de cinc en NE y PN. En nuestro estudio en la tabla 39 y tabla 40, se observa la media de ingesta de cinc de los pacientes, total y por sexo. En caso de NE la media de consumo de cinc es de  $9,71 \pm 3,06$ , en NP es  $2,38 \pm 0,90$ , siendo la media en NE + NP  $12,84 \pm 4,21$  y en NA+ DO,  $5,11 \pm 4,92$ . Podemos observar que el cinc aportado por la dieta mixta se acerca más a las recomendaciones para el paciente crítico que el resto de fórmulas.

Al estudiar el grado de adecuación de ingesta media de cinc para los pacientes críticos según las IR, se han establecido cuatro categorías en ambos sexos: porcentaje de individuos que presentan ingestas inferiores a 1/3 de las IR, inferiores a 2/3 de las IR, inferiores a las IR pero >2/3, e iguales o superiores a las IR. En caso de los pacientes críticos no hay individuos con ingesta inferior a 1/3. Pero se puede observar que el porcentaje < 2/3 en caso de NE es un 23%, y en caso de NP es un 12,5, siendo un 0% en caso de NE+NP y NA+DO (tabla 41).

	< 2/3	2/3 - IR	IR
NE	23,1 %	38,5 %	38,5 %
NP	12,5 %	37,5 %	50 %
NE+ NP	0 %	0 %	100 %
NA + DO	0%	20 %	80 %

Tabla 41. Adecuación de la ingesta de cinc PC en total

Al estudiar la adecuación en el aporte de cinc de la población crítica, se observa que no hay diferencias significativas en las medias de aporte de cinc en comparación con el grupo GC mediante NE o NE+NP.

Dado que el aporte de cinc por vía parenteral no interviene el proceso de absorción intestinal, las recomendaciones de NP para la población crítica presentan otros valores, por lo que no podemos hacer un análisis comparativo entre ambos grupos

Cuando realizamos el estudio de adecuación diferenciando hombres de mujeres obtenemos resultados diferentes teniendo en cuenta las características propias del sexo así como las diferentes recomendaciones para ambos (tablas 42, 43).

PC Hombres			
	< 2/3	2/3 - IR	IR
NE	16,7 %	50%	33,3%
NP	-	33,3%	66,7%
NE+ NP	-	-	100 %
NA + DO	100 %	-	-

Tabla 42. Adecuación del aporte de cinc PC para hombres

PC Mujeres			
	< 2/3	2/3 - IR	IR
NE	28,6 %	28,6%	42,9 %
NP	20 %	40%	40%
NE+ NP	-	-	100 %
NA + DO	33,3 %	-	66,7 %

Tabla 43. Adecuación del aporte de cinc PC para mujeres

Según las tabla 42 y 43, que muestran los resultados obtenidos en cuanto a porcentaje de individuos críticos con aportes insuficientes de cinc durante su estancia en la UCI, podemos observar que un 66,7% de los hombres presenta aporte deficiente de cinc mediante NE, siendo el 33% a partir de NP. En cuanto a las mujeres, el 57,2% presenta aportes insuficientes de cinc a partir de NE, siendo el 60% mediante NP y el 33% a partir de NA+NO.

En el GC sólo el 14% tienen una deficiencia de cinc según las recomendaciones españolas (Moreiras et al., 2004). Si utilizamos como tabla de referencia la del Reino Unido apenas observamos deficiencia (1.8%).

Existen estudios previos (Abilés et al., 2005; Sánchez et al., 2009) en los que observan resultados similares de ingesta de cinc (117, 257).

Conforme a las sociedades internacionales, se puede hablar de riesgo de deficiencia para una población solo cuando el porcentaje de personas deficientes es mayor de un 20%, por lo tanto en el grupo control no se observa riesgo de deficiencia debida a la ingesta de cinc.

En caso de los pacientes críticos, se observa que el porcentaje de personas que presentan aportes insuficientes de cinc es de un 61,6% en nutrición enteral y de un 50% en nutrición parenteral.

La recomendación de ingesta de cinc en personas sanas tiene una gran variabilidad, siendo difícil establecer un porcentaje de deficiencia exacto. Podemos ver en la tabla 44 el porcentaje de ingesta inadecuada según las recomendaciones de Reino Unido, Europa y España para GC. Igualmente se puede observar el porcentaje de aporte inadecuado por tipo de nutrición en PC.

Ingesta inadecuada de cinc		
Grupo control	UK intake	1,8%
	EU intake	14,3 %
Paciente crítico	NE	61,6 %
	PN	50%
	NA*DO	20%

Tabla 44. Ingesta inadecuada de cinc

#### 4.4. Valoración bioquímica

##### 4.4.1. Resultados en los niveles analíticos de parámetros relacionados con el cinc

En la tabla 45 se muestran los valores obtenidos de los parámetros bioquímicos clínicos analizados. En general, el GC muestra valores dentro de los márgenes establecidos para individuos sanos adultos, sirviéndonos, por tanto, de grupo de referencia comparable al de los pacientes críticos, objetivo inicial en nuestro estudio.

	Grupo control	Pacientes críticos		Referencias
		PCi	PCf	
<b>Albúmina</b>	4,59 ± 0,20 (4,30 - 5)	2,78 ± 0,60 (1,7 - 4,30)	2,66 ± 0,65* (1,9 - 4,6)	3,4-5,5 g/dl (3.5 - 5.0 g/dl)
<b>Prealbúmina</b>	27,30 ± 11,39 (8,20 - 44)	11,47 ± 5,10 (3,4 - 22,4)	16,96 ± 10,68 (4,1 - 45,7)	(20-40 mg/dl)
<b>Creatinina</b>	0,87 ± 0,44 (0,48 - 5,20)	1,76 ± 1,66 (0,25 - 8,50)	1,18 ± 1,19 (0,24 - 6,6)	0,7-1,2 (mg/dL) (0.5 - 1.2 mg/dl)
<b>Colesterol Total</b>	192,42 ± 41,5 (112 - 327)	106,47 ± 37,61 (23,0 - 187)	136,48 ± 45,89 (76 - 295)	110-200 mg/dL (120 - 220 mg/dl)
<b>HDL</b>	62,65 ± 19,2 (18 - 128)	23,47 ± 16,20 (5,0 - 75,0)	20,69 ± 10,39** (5,0 - 44,0)	40-60 mg/Dl (45 - 65 mg/dl)
<b>LDL</b>	110,4 ± 36,3 (35 - 255)	40,1 ± 25,1 (1,5 - 100,0)	69,14 ± 44,62** (17,0 - 228)	70-150 mg/dL (50 - 150 mg/dl)
<b>GOT</b>	23,4 ± 10,9 (11 - 76)	322,9 ± 906,5 (11,00 - 5132)	61,97 ± 90,56** (12 - 486)	1-40 U/L (0 - 37U/L)
<b>GGT</b>	22,2 ± 23,3 (4 - 226)	87,5 ± 133,08 (5 - 751)	246,48 ± 382,5** (10,0 - 2075)	5,60 U/L (7 - 50 U/L)
<b>CPK</b>	84,3 ± 30,1 (48 - 144)	1681,6 ± 3337 (8 - 17177)	250,21 ± 367,6 (10 - 1576)	24-195 U/L
<b>Factor reumatoide</b>	7 ± 2,64 (2 - 11)	13,22 ± 6,09 (4,0 - 29,0)	12,11 ± 7,81* (5,0 - 41)	0 - 14 UI/ml (0 - 20 UI/mL)
<b>Mg eritocitario</b>	3,78 ± 2,80 (0,26 - 14,03)	3,02 ± 2,32 (0,19 - 8,13)	2,4 ± 2,07* (0,25 - 6,88)	No establecido
<b>Cu plasmático</b>	-	71,84 ± 37 (0,72 - 116)	88,02 ± 24,82 (34 - 160)	64 - 128 µg/dL
<b>Fe plasmático</b>	95,2 ± 42,4 (2,1 - 258)	30,7 ± 31,7 (4 - 178)	41 ± 30,9* (5 - 142)	59 - 158 µg/dL
<b>Fe eritocitario</b>	72 ± 31 (2,30 - 222)	48,4 ± 20 (13 - 95)	59,6 ± 30,2 (20,1 - 138,7)	
<b>IL 10</b>	-	34,31 ± 49,2 (1 - 180)	34,60 ± 135,5 (1 - 667)	0 - 3,3 pg/ml
<b>IL 6</b>	-	367, ± 818 (6,0 - 3809,8)	149,27 ± 242,0 (6,0 - 1181,7)	6 - 31 pg/ml
<b>SOD</b>	40,9 ± 32,17 (5,72 - 141,74)	18,7 ± 16,5 (3,83 - 70,9)	19,9 ± 19,5* (4,83 - 85,4)	

\* p= 0,05

\*\* p= 0,01

Tabla 45. Resultados de parámetros bioquímicos en el GC y PCi, PCf (medias ± DE; mínimo y máximo)

En general observamos en el análisis de los parámetros bioquímicos en pacientes críticos alteraciones lógicas esperadas respecto a los valores de referencia y respecto a los individuos sanos, debido a la situación crítica hipercatabólica en la que estos pacientes se encuentran.

Anteriormente se han presentado las correlaciones existentes, según nuestros resultados, entre diversos parámetros bioquímicos y el cinc, de se puede deducir que el cinc es un elemento que participa en numerosas rutas metabólicas, de ahí su importancia.

#### 4.4.2. Valores hematológicos

En la siguiente tabla 46, podemos observar los valores resultantes en la hematimetría realizada a los individuos de los diferentes grupos, tanto el hemograma completo como la fórmula leucocitaria.

	GC	IPi	IPf	VN
<b>Hematíes <math>10^6 / \mu\text{l}</math></b>	4,76 $\pm$ 0,40 (4,14 - 5,37)	3,89 $\pm$ 1,02 (1,14 - 5,82)	3,36 $\pm$ 0,59 * (2,34 - 4,74)	4,7 -6,1 $10^6 \mu\text{l}$
<b>Plaquetas <math>10^3 / \mu\text{l}</math></b>	242,6 $\pm$ 66,4 (133 - 338)	203,9 $\pm$ 178,3 (30,0 - 833,0)	259,2 $\pm$ 207,1* (37,0 - 1121,0)	130 -400 $10^3 \mu\text{l}$
<b>Leucocitos <math>10^3 / \mu\text{l}</math></b>	6,2 $\pm$ 1,39 (4,3 - 8,5)	29,08 $\pm$ 76,4* (6,41 - 467,0)	14,5 $\pm$ 9,08 (4,22 - 42,10)	4,8 - 10,8, $10^3 \mu\text{l}$
<b>Neutrófilos %</b>	55,1 $\pm$ 8,07 (42,3 - 67,7)	86,5 $\pm$ 9,7* (59,1 - 7,4)	81,5 $\pm$ 9,7* (59,1 - 96,5)	40 -74
<b>Linfocitos %</b>	34,43 $\pm$ 6,97 (23,4 - 42,4)	7,76 $\pm$ 4,7* (2,1 - 22,8)	10,1 $\pm$ 71 (1,2 - 28,4)	19 -48
<b>Monocitos %</b>	5,39 $\pm$ 1,16 (3,4 - 7,5)	4,10 $\pm$ 2,19 (0,50 - 9,70)	4,8 $\pm$ 1,8 (1,8 - 8,5)	1 -9
<b>Eosinófilos %</b>	3,70 $\pm$ 2,10 (0,9 - 6,7)	0,75 $\pm$ 1,3 (0,00 - 5,0)	1,1 $\pm$ 1,8* (0,00 - 5,7)	0 -7
<b>Basófilos %</b>	0,41 $\pm$ 0,08 (0,20 - 1,20)	0,19 $\pm$ 0,21 (0,0 - 0,9)	0,31 $\pm$ 0,35* (0,0 - 1,8)	0 -0,2

Tabla 46. Valores hematológicos de GC y PCi, PCf; VN= valores normales. \*p < 0.05, diferencias estadísticamente significativas entre los valores hematológicos GC vs PC, y PCi vs PCf



#### 4.5 Niveles analíticos de cinc

##### 4.5.1. Contenido de Cinc en plasma, células sanguíneas y sangre total

Los resultados obtenidos de cinc se han expresado en mg/dl ( $\mu\text{mol/L}$ ) en plasma, en células sanguíneas y en sangre total.

Como hemos comentado anteriormente, los valores normales plasmáticos para el cinc no están bien establecidos. Se sabe que la cantidad de cinc en los fluidos sanguíneos es muy modificable. Hay cambios incluso en función de la hora de extracción de la sangre y el paciente esta o no en ayuno etc.

La Sociedad Internacional IZINCG ha establecido un valor de corte de deficiencia plasmática de cinc en el nivel  $0,07\text{mg/dL}$  ( $10,7 \mu\text{mol/L}$ ).

En el caso de eritrocitos, no se ha establecido un valor de referencia específico, y la cantidad de cinc por volumen ha sido ampliamente discutida. Brittmari Sandström (2001), sugiere que la concertación de cinc en eritrocitos debe ser 10 veces mayor que en plasma <sup>(110)</sup>.

En anexos 7 se puede observar una revisión de los estudios que tratan sobre los niveles de cinc plasmáticos, en células sanguíneas y en sangre total en población adulta enferma y sana.

En nuestro estudio, los resultados medios obtenidos del cinc en sangre total del grupo control y en pacientes críticos el valor guarda similitud con los obtenidos en otros estudios (tabla 47).

	Zn Plasma		Zn células Sanguíneas		Zn Sangre total
	P $\mu\text{mol/L}$	%	C S $\mu\text{mol/L}$	%	T $\mu\text{mol/L}$
<b>GC</b>	$25,2 \pm 9,51$	13,24	$164,6 \pm 84,8$	86,4	$95,2 \pm 47,0$
<b>PCi</b>	$32,7 \pm 23,7$	25,2	$94,8 \pm 41,4$	73,0	$64,9 \pm 25,0$
<b>PCf</b>	$34,1 \pm 25,4$	27,3	$98,2 \pm 44,4$	78,6	$66,1 \pm 27,1$

Tabla 47. Valores medios en  $\mu\text{mol/L}$  de cinc en plasma, en células sanguíneas y en sangre total y porcentaje de cinc aportado por el cada compartimento del tejido sanguíneo en Grupo Control y Pacientes Críticos al inicio y al final de su estancia en UCI

Si comparamos los valores **plasmáticos** de cinc entre el GC y enfermo crítico, en PCi y PCf, vemos que los valores plasmáticos medios para los enfermos son superiores, aunque no aparecen diferencias significativas.

En el caso de las **células sanguíneas** ocurre al contrario, se encuentran valores estadísticamente inferiores ( $p < 0.05$ ) en el contenido de cinc en células sanguíneas en la población crítica que en la población control.

Con respecto a los resultados obtenidos en **sangre total**, nuestros resultados igualmente muestran diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los niveles inferiores de cinc en el paciente crítico en los dos controles inicial y final, y la población control.

No se encontraron diferencias significativas entre los niveles sanguíneos de cinc al inicio y al final del periodo establecido de estancia en UCI.

En nuestros resultados se pueden ver los valores medios de cinc intracelular para el grupo control de  $1,07 \pm 0,61$  (0,11 – 2,99), siendo los valores menores en el paciente al inicio,  $0,620 \pm 0,27$ , (0,14 – 1,14) y al final del periodo estudiado  $0,642 \pm 0,29$  (0,16 – 1,45). Al realizar el análisis estadístico comparativo, se encontró una diferencia significativa entre los valores de cinc en las células sanguíneas de los grupos PC y GC ( $p < 0,05$ ).

En la literatura se ha encontrado <sup>(122)</sup> un valor de cinc en sangre total de 61,2-122,4  $\mu\text{mol/L}$ , debido a la elevada concentración de cinc que hay en los eritrocitos y en las células sanguíneas, en general.

Se puede observar en la tabla 47, que los resultados obtenidos en el GC muestran un nivel de cinc que se encuentra en el valor medio del rango considerado como normal (95,2  $\mu\text{mol/L}$ ), pero en los pacientes críticos el valor medio resulta bajo (PCi = 64,9  $\mu\text{mol/L}$  y PCf = 66,1  $\mu\text{mol/L}$ ). Aunque la diferencia entre PCi y PCf no es significativa, en el punto final de estancia en UCI, la concentración de cinc sube levemente.

#### 4.5.2. Deficiencia de cinc en plasma

En nuestro estudio, el punto de corte utilizado como referencia para el cinc en plasma fue el propuesto por el International Zinc Nutrition Consultative Group (IZINCG), es decir, 70 µg/dL (10,7 µmol/L).

Se puede observar en la siguiente Tabla 48, que el 4,3 % de la población total sana es deficiente en cinc, según el nivel plasmático.

Total		Hombres		Mujeres	
< 10,7µmol/L*	≥ 10,7µmol/L *	< 10,7µmol/L *	≥ 10,7µmol/L *	< 10,7µmol/L *	≥ 10,7µmol/L *
4,3 %	95,7 %	4,3 %	95,7 %	4,3 %	95,7 %

\*\* (IZINCG)

Tabla 48. Porcentaje de cinc en plasma respecto a los valores de referencia para CG

En la tabla 49, se puede observar los porcentajes personas críticas deficientes en cinc plasmático. El 21,1% de los pacientes al ingreso y el 22,6% al final del estudio, son deficientes en cinc, según los niveles plasmáticos.

	Total		Hombres		Mujeres	
	< 10,7µmol/L*	≥ 10,7µmol/L *	< 10,7µmol/L *	≥ 10,7µmol/L *	< 10,7µmol/L *	≥ 10,7µmol/L *
0	21,1 %	78,9 %	19,0 %	81,0 %	23,5 %	76,5 %
7	22,6 %	77,4 %	18,8 %	81,3 %	26,7 %	73,3 %

\*\* (IZINCG)

Tabla 49. Porcentaje de cinc en plasma respecto a los valores de referencia para PCi y PCf

Como hemos mencionado anteriormente, como punto de corte para considerar una deficiencia plasmática de cinc, se utiliza el propuesto por la sociedad IZINCG, aunque hay varios estudios donde el punto de corte que utilizan es más alto.

Si observamos los valores de cinc plasmáticos y de células sanguíneas, la salida masa de cinc de las células del paciente enfermo que se pueden deber, por ejemplo, a las necesidades de la situación crítica, tales como la síntesis de SOD, el requisito del sistema inmune, para la síntesis de insulina, etc, que una vez fabricadas dentro de la célula, salen a ser disponibles a todos los niveles del organismo.

#### 4.5.3. Deficiencia en sangre total

En el caso del GC, en la tabla 50 se observan los valores de deficiencia de cinc en sangre total. Se establece el valor de referencia de cinc en sangre total en 61  $\mu\text{mol/L}$ .

Total		Hombres		Mujeres	
< 61 $\mu\text{mol/L}$	$\geq$ 61 $\mu\text{mol/L}$	< 61 $\mu\text{mol/L}$	$\geq$ 61 $\mu\text{mol/L}$	< 61 $\mu\text{mol/L}$	$\geq$ 61 $\mu\text{mol/L}$
22,4%	77,3%	30,4%	69,6%	15,4%	84,6%

Tabla 50. Porcentaje de individuos deficientes en cinc según los niveles en sangre total respecto a los valores de referencia, en CG

En la tabla 51 se puede ver la deficiencia de cinc en sangre total en el grupo de pacientes críticos.

	Total		Hombres		Mujeres	
	< 61 $\mu\text{mol/L}$	$\geq$ 61 $\mu\text{mol/L}$	< 61 $\mu\text{mol/L}$	$\geq$ 61 $\mu\text{mol/L}$ *	< 61 $\mu\text{mol/L}$	$\geq$ 61 $\mu\text{mol/L}$
0	47,4 %	52,6 %	47,6 %	52,4 %	47,1 %	52,9 %
7	50,0 %	50,0 %	60,0 %	40,0 %	40,0 %	60,0 %

Tabla 51.- Porcentaje de individuos deficientes en cinc según los niveles en sangre total respecto a los valores de referencia, en PCi y PCf

Los resultados obtenidos en nuestro estudio, muestran en general altos porcentajes de individuos deficientes en cinc, según los valores en sangre total. Se observan valores deficientes en un 22,4 % de individuos sanos, siendo más del doble de los pacientes (47,4 y 50 % en el inicio y final de estancia en UCI, respectivamente), deficientes en éste mineral.

#### 4.6. CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE CINCO

En la tabla 52, se muestran las correlaciones bivariantes significativas entre los valores de ingesta, plasmáticos, celular y sangre total.

	Ingesta Zn	Zn plasma PCi	Zn plasma PCf	Zn celulas PCi	Zn celulas PCf	Zn total PCi	Zn total PCf
Ingesta cinc	-	-	-	-	-	-	-
Cinc Plasma PCi	-		r=0,516(**)	-	-	r=0,525(**)	r=0,429(*)
Cinc Plasma PCf	-			r=0,408(*)	r= 0,376(*)	r= 0,566(**)	r= 0,707(**)
Cinc celulas PCi	-	-			r= 0,377(*)	r= 0,881(**)	r= 0,464(**)
Cinc celulas PCf	-	-				r= 0,404(*)	r= 0,901(**)
Cinc total PCi	-						r= 0,539(**)

\*\* p= 0,01

\* p = 0,05

Tabla 52. Correlaciones entre los niveles de cinc en PCi y PCf

Se observa que no existen correlaciones entre la ingesta de cinc y los valores bioquímicos de cinc.

Pero entre los valores de los compartimentos sanguíneos la correlación es positiva en la mayoría de los casos presentando una significación alta ( $p=0,01$ ).

Para ver si existe una diferencia significativa entre CG y PC se realizó la prueba Mann Whitney para dos muestras independientes, y se observó significación en los valores de cinc celular y en los de sangre total.

Así, según los resultados obtenidos, existen diferencias significativas entre los valores de cinc en células sanguíneas del paciente crítico respecto al grupo control ( $p=0.000$ ), y entre los valores encontrados en sangre total en el paciente crítico y el grupo control ( $p=0.000$ ).

#### 4.7. CORRELACIÓN ENTRE LOS VALORES DE CINCO Y OTROS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

Al realizar el estudio analítico estadístico de correlación entre los valores de cinc en sangre y los parámetros bioquímicos analizados para el estudio, se encontraron las siguientes correlaciones significativas (tabla 53):

Zn Plasma	-		
Zn Células sanguíneas	Ca: -0,340**	P: -0,296*	Factor Reumatoide: -0,606*
	Cu ingesta: 0,297*	Calorías: 0,282*	Ingesta glucosa: 0,326*
Zn Total	K: -0,352*	Ca: -0,513**	PCR: 0,295*
	Ac. Fólico -0,367*	Na Ingesta 0,327*	Cu ingesta: 0,347*
Zn Ingesta	PCR: -0,296*	Leucocitos: -0,692*	VCM: 0,648*
	HCM: 0,698*	Calorías: 0,789**	Proteínas ingeridas.: 0,585**
	Glucosa ing: 0,633**	Lípidos ing.: 0,585**	Fibra ingerida.: 0,517**
	Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, I, Se ingesta, p= 0,01	Vitaminas: E, Fólico, B1, B2, B6, B5, p=0,01	

\*\* p= 0,01

\* p = 0,05

Tabla 53 Correlaciones entre los valores de cinc: Ingesta y parámetros bioquímicas en GC

Es de destacar la correlación existente entre los valores de cinc en células sanguíneas y el Factor Reumatoide ( $r=-0,606$ ).

Zn Plasma	Urea: 0,367*	Proteínas totales:-0,395*	VPM: 0,793**
Zn Células sanguíneas	Creatinina: 0,341*	Cu: -0,421*	Ac fólico: 0,393*
Zn Total	Creatinina: 0,375*	LDL: -0,382*	Cu: -0,452*

\*\* p= 0,01

\* p = 0,05

Tabla 54 Correlaciones entre los valores de cinc: Ingesta y parámetros bioquímicas en PCi

Los resultados (tabla 54) obtenidos en la asociación de los niveles de cinc en pacientes al inicio de su estancia en UCI, muestran una correlación significativa negativa entre los valores de cinc en células sanguíneas y sangre total, y los valores de Cu en plasma: ( $r= - 0,452$ ).

## Pacientes PCf

Zn Plasma	IL 1: 0,539*	IL 10: 0,541*	Mg cel: 0,596**
Zn Células sanguíneas	Na: -0,412*	Cu: -0,396*	IL 10: 0,505*
	Colina ing.: 0,497*	SOD. - 0,498 *	Fe cel: 0,598
Zn Total	Fosfatasa alcalina: -0,457*	Linfocitos: -0,415*	Cu: -0,437*
	IL10: 0,733**	IL6: 0,443*	Mg cel: 0,616
Zn/kj	GOT: 0,394*	GGT: 0,406*	LDH: 0,431*
	PCR: -0,378*	Leucocitos: -0,446*	% linfocitos: 0,430*
	Colinesterasa: 0,552**	Calorías: -0,509**	Glucosa: -0,820**
	Lípidos: 0,572**	Fibra: 0,596*	K, Ca, P, Mg, Fe, Mn, Cu, I, Se, Cr ingesta, p= 0,01
	Vitaminas A, D, E, C, fólico, B1, B2, B6, B12, niacina, pantoténico colina, ingesta p= 0,01		

\*\* p= 0,01

\* p = 0,05

Tabla 55 Correlaciones entre los valores de cinc y los parámetros bioquímicas en PCf

Destacar (tabla 55) la correlación significativa negativa encontrada entre los niveles de cinc total y los de cobre en plasma (-0,437) y la encontrada entre la ingesta de cinc ajustada a energía y los niveles de PCR (-0,378). Igualmente se encontró una correlación entre los valores de SOD y cinc en las células sanguíneas.

Al hacer una comparación entre los valores medios obtenidos de SOD hemos encontrados una diferencia significativa entre los pacientes y controles.

#### 4.8. Estudio de Expresión Génica

Después de determinar los valores de ingesta de cinc y sus niveles en plasma y células sanguíneas, queremos ver cómo los transportadores de cinc se expresan en personas sanas y en enfermos críticos en muestras de sangre periférica.

El estudio de expresión génica se ha realizado a partir de una submuestra de población representativa extraída del grupo general total.

En un principio, se realizó el *test de Kolmogorov Smirnov* con la finalidad de confirmar si la población presenta normalidad en variables de edad y sexo.

En el subgrupo formado, se realizó el protocolo de valoración del estado nutricional igual que se llevó a cabo en el grupo total.

#### 4.8.1. Características basales del subgrupo

En la tabla 56., se puede observar las características generales del subgrupo:

Características		sGrupo Control (sCG)	sPacientes críticos (sPC)
Años (mean ± SD)		51 ± 2 (47-54)	56 ± 13 (37 -73)
Sexo (hombres/mujeres ; n [%])		6 (50)/ 6 (50)	6 (50)/ 6 (50)
Diagnostico (%)	Respiratorio	-	33,3
	Cardiovascular	-	33,3
	Abdominal/hepático	-	33,3
Mortalidad UCI (n:14 [%])		-	20 %
Inicial APACHE II		-	14 ± 3.5 (8,00 – 16,00)
Final APACHE II score at final		-	8,4 ± 2 (7,00 – 11,00)
Initial SOFA score (mean ± SD)		-	8,2 ± 2.2 (6,00 – 12,00)
Final SOFA score (mean ± SD)		-	6,00 ± (3,00 – 11,00)
Grado de infección %	shock séptico	-	27,3
	severa Sepsis	-	72,7
<b>Indice de Quetelec o Body mass index (BMI)</b>		25,54 ± 3,13 (20,81 - 30,11)	27,31± 11,40 (15,67 - 52,44)

Tabla 56. Características generales de los pacientes del estudio; APACHE, (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation); NS, no s ignificativo; SD, desviación estándar; SOFA, Sequential Organ Failure Assessment

#### 4.8.2. Valoración nutricional en cinc del subgrupo

En los grupos de individuos sanos y pacientes críticos se realizó la valoración de ingesta y bioquímica al igual que en el grupo general. La muestra elegida presenta características similares a la muestra general, pudiendo afirmar que es una submuestra representativa de la misma.

En la tabla 57, está representado los valores medios, DE y (mínimo y máximo), del aporte de cinc tanto en subgrupo de personas sanas (sGC) como en subgrupo de pacientes críticos (sPC). Para subgrupo de pacientes crítico se puede observar los valores medios del aporte de cinc en total y por tipo de nutrición.



Ingesta de cinc en sGC y sPC		Ingesta de Zn	
			Sexo
sGC	Total (mg/d)	8,52 ± 1,01 (7,31 - 10,48 )	♂: 9,06 ± 1,11 (7,88 – 10 ,48)
			♀: 8,06 ± 0,68 (7,31 – 9,14)
sPC	Total (mg/d)	8,46 ± 5,20 ( 1,87 -16,01)	♂9,84 ± 4,71 (3,17 – 16,01)
			♀: 7,32 ± 5,73 (1,84 – 14,25)
	Zn aporte	EN 50 %	10,63 ± 1,54 (8,60 – 12,00)
		PN 33 %	2,42 ± 0,66 (1,87 – 3,17 )
	EN+PN 17 %	15,13 ± 1,24 (14,25 – 16,01)	

Tabla 57. Aporte de cinc para sGC y sPC

#### 4.8.3. Valoración bioquímica de cinc del subgrupo

Para la realización de la valoración bioquímica se han seguido técnicas analíticas similares que en el grupo general.

	Zn Plasma		Zn células sanguíneas		Sangre total
	µmol/L	%	µmol/L	%	µmol/L
sCG	25,80	10,38	266,3	89,62	146,09
sPCi	42,30	28,41	110,4	71,59	76,36
sPCf	42,60	32,72	95,15	67,28	68,92

Tabla 58. Valores de cinc en plasma, células sanguíneas y sangre total de sCG, sPCi, sPCf (µmol/L)

En la tabla 58. están representados los valores de cinc obtenidos en plasma, células sanguíneas y sangre total en el grupo control y pacientes críticos al inicio y final del estudio.

Al hacer una comparación con grupo general observamos que no existen diferencias significativas entre las muestras de ambos grupos tanto en caso del aporte de cinc como en caso de los valores plasmáticos, células sanguíneas y sangre total.

#### 4.8.4. Determinación de los transportadores de cinc ZnT y Zip

Utilizando los tubos PAXgene™ RNA tubes para sangre total y empleando la técnica de extracción de ARN PAXgene™ Blood RNA Kit, se extrajo el ARN de la muestra de sangre con el Q-RT-PCR para determinar la expresión génica de los transportadores de cinc.

En la tabla 59 se observa el rendimiento del ARN.

Característica	Grupo Control (sCG)	Paciente crítico (sPC)	
		sPCi	sPCf
RNA ng/μl	157.7 ± 36,7 (123,3 -224,6)	138,3 ± 71,7 (29,2 – 208,4)	178,5 ±109,1 (44,9 – 403,4)

Tabla 59. Cuantificación del RNA en la muestra de sangre de sGC y sPCi, sPCf

##### 4.8.4.1. Sobre la pureza e integridad del ARN

Los experimentos sobre expresión génica en los transportadores de cinc se han realizado en colaboración con el *King's College* y el Institute of Ophthalmology de Londres, en UK.

La pureza de las muestras de RNA ha sido testada utilizando el espectrofotómetro *NanoDrop*, y para determinar la integridad de las muestras se utilizó el equipo *Bioanalyser*. Los dos sistema aportan un ratio de 28 S y 18 S del RNA ribosomal.

Cuanto mas cercano sea el RQI al valor 10 del *NanoDrop* y al RIN del *Bioanalyser*, será la mejor la integridad del RNA.

Ambas medidas te dan la cantidad de RNA, aunque finalmente se utilizó (por la experiencia y consejo de los investigadores) la cantidad determinada mediante el *NanoDrop*.

En cuanto a los valores obtenidos del *NanoDrop* del RNA extraído de las muestras de sangre, lo ideal, para alcanzar una mayor pureza, es que las muestras tengan un ratio 260/280 (absorbancias, nm) alrededor de 2, para ver la contaminación

orgánica como los fenoles o alcoholes, se mide el ratio de absorbancias de 260/230, y cualquier resultado con valor  $< 1$  puede indicar una posible inhibición de la reacción (figura 28) de RT-Q-PCR.

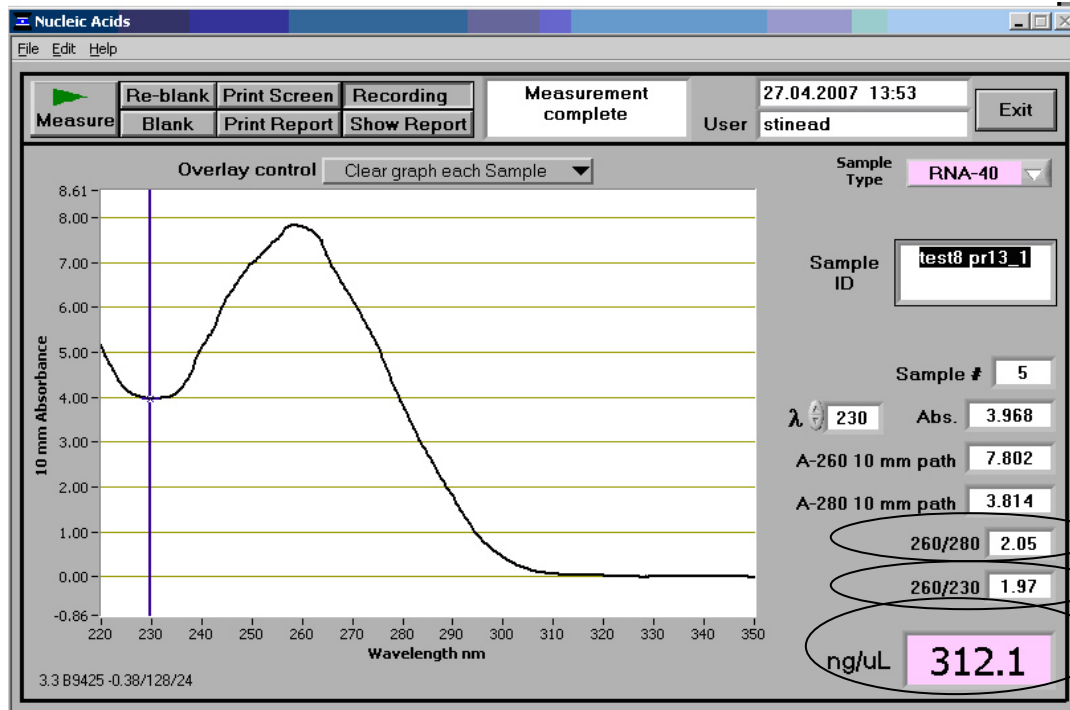
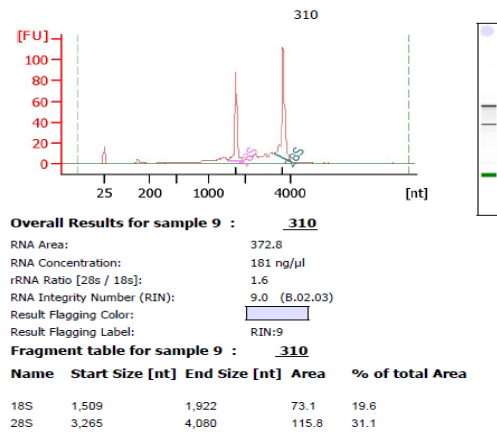
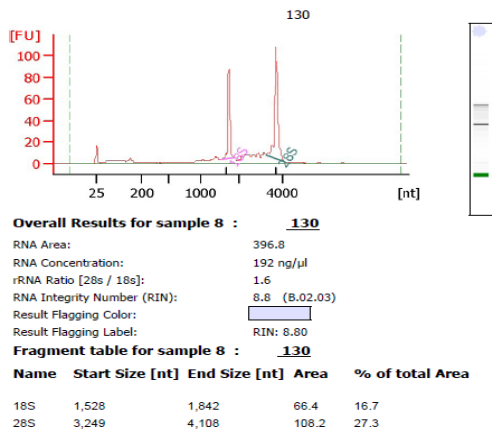


Figura 28. Resultados obtenidos en el NanoDrop

Los ratios de densidad óptica (260/280) obtenidos son de 1,35 -2,11.

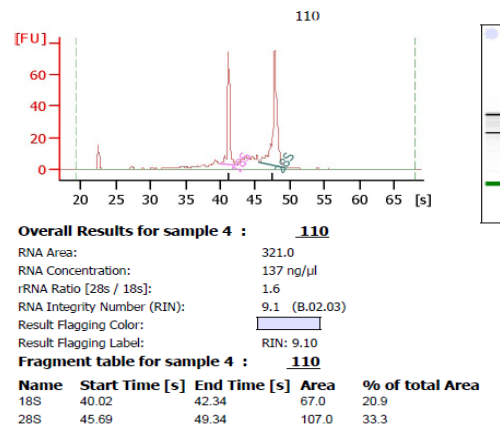
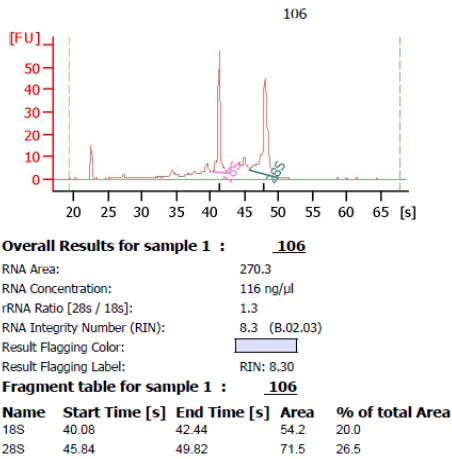
El *Bioanalyser software* genera un número de Integridad del ARN (RIN) para cada muestra. En nuestro estudio, el ARN total extraído de 2,5 ml tenía un RIN entre 7,2 y 9,6. Sólo una muestra había con RIN  $< 7$  que fue desechada (figura 29).

Esa muestra tenía la cantidad de ARN baja y hemos pensado que probablemente se estropeó por almacenamiento.



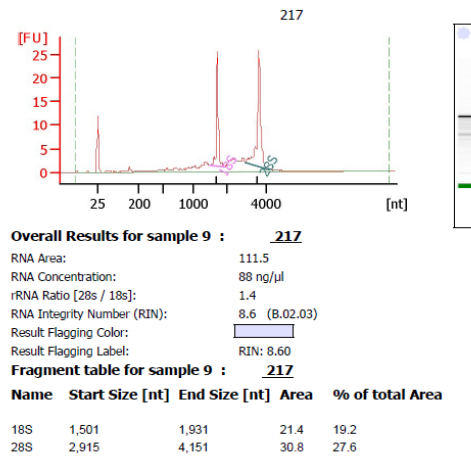
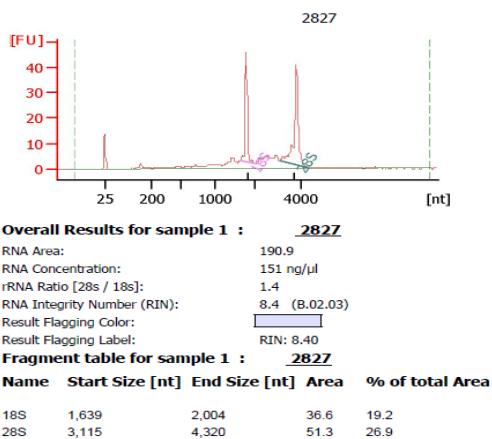
A

B



C

D



E

F

Figura 29. Integridad del ARN utilizando el Bioanalyser. En caso de RIN cerca de 10 indica que las muestras son de alta calidad; (A),(B) los resultados de ARN son de las muestras de PCi con n° RIN 8,8 y 9, respectivamente. (C), (D) los resultados del ARN son de las muestra de GC con n° RIN 8,3 y 9,1 respectivamente, (E),(F) los resultados del ARN son de las muestras de PCf con el n° RIN 8,4 y 8,6, respectivamente.

#### 4.8.4.2. Expresión de los transportadores de cinc en muestras de sangre

Los experimentos de RT-PCR se han realizado para 50 ciclos. Las muestras se han determinado por duplicado tabla 27 (apartado sujetos y metodología)

El *Crossing Point* (Cp) es la línea determinada automáticamente del software que se cruza con Ct. Si el valor de Ct se determina más temprano, cruzando la línea de *Crossing Point*, significa una mayor expresión del gen.

#### A. Grupo Control (sGC)

Los resultados Ct obtenidos en las muestras del grupo control se muestran en la siguiente tabla 60.

Gen	Ct	DE	Gen	Ct	DE
SLC30A1	23,19	0,94	SLC39A1	23,26	0,54
SLC30A2	27,46	1,45	SLC39A2	35,13	0,09
SLC30A3	26,19	0,21	SLC39A3	23,32	0,95
SLC30A4	25,64	1,39	SLC39A4	22,11	1,67
SLC30A5	23,78	1,91	SLC39A5	26,84	1,85
SLC30A6	23,62	1,04	SLC39A6	25,82	4,57
SLC30A7	22,83	0,92	SLC39A7	25,11	0,23
SLC30A8	27,57	0,11	SLC39A8	23,51	1,18
SLC30A9	24,46	0,55	SLC39A9	22,47	1,66
SLC30A10	30,42	0,68	SLC39A10	24,36	0,97
GAPDH	17,97	0,62	SLC39A11	25,66	0,33
UBC	17,56	0,76	SLC39A12	29,62	0,30
YWHAZ	20,13	0,90	SLC39A13	24,50	1,79
HKG average	18,03	0,54	SLC39A14	26,76	1,28

Tabla 60. Valores de Ct en las muestras de sangre del sGC; DE – Desviación Estándar

En los resultados obtenidos en muestras de sangre de individuos controles (Tabla 60), se observa expresión en la mayoría de los transportadores.

La media Ct de los *housekeeping gene* está alrededor de 17 para GAPDH y UBC, solo YWHAZ llega mas tarde.

**B. Pacientes en el inicio (sPCi)**

En la tabla 61, están presentadas los valores Ct y desviación estándar (SD) para subgrupo de pacientes críticos al inicio del estudio.

Gen	Ct	DE	Gen	Ct	DE
SLC30A1	25,22	3,86	SLC39A1	22,17	0,66
SLC30A2	30,61	3,43	SLC39A2	31,39	1,54
SLC30A3	31,18	2,31	SLC39A3	24,34	0,74
SLC30A4	27,59	1,51	SLC39A4	24,92	0,85
SLC30A5	26,50	4,46	SLC39A5	28,61	3,44
SLC30A6	23,98	0,82	SLC39A6	30,14	3,87
SLC30A7	23,28	0,64	SLC39A7	25,87	2,15
SLC30A8	29,08	1,08	SLC39A8	24,00	2,38
SLC30A9	24,70	1,22	SLC39A9	23,01	1,35
SLC30A10	29,21	1,61	SLC39A10	25,02	1,34
GAPDH	16,74	0,64	SLC39A11	26,31	0,80
UBC	17,11	0,45	SLC39A12	33,43	1,72
YWHAZ	20,14	1,17	SLC39A13	24,96	1,22
HKG average	16,97	0,50	SLC39A14	27,31	2,05

Tabla 61. Valores de Ct obtenidos en las muestra de sangre de los pacientes en el punto inicial sPCi, DE = Desviación Estándard

En los resultados obtenidos en muestras de sangre de pacientes al inicio del periodo controlado de 7 días (tabla 61), se observa expresión en la mayoría de los transportadores. La media Ct de los *housekeeping gene* está alrededor de 17 para GAPDH y UBC, solo YWHAZ llega mas tarde

**C. Pacientes en el final (sPCf)**

En la tabla 62, se representan los valores Ct y la desviación estándar (DE), para subgrupo de pacientes críticos al final del estudio.

En los resultados obtenidos en muestras de sangre de pacientes al final del periodo controlado de 7 días (tabla 62), se observa expresión en la mayoría de los transportadores. La media Ct de los *housekeeping gene* está alrededor de 17 para GAPDH y UBC; YWHAZ llega mas tarde

Gen	Ct	SD	Gen	Ct	DE
SLC30A1	25,54	1,90	SLC39A1	23,89	0,75
SLC30A2	32,65	3,32	SLC39A2	32,16	2,17
SLC30A3	31,85	2,62	SLC39A3	24,84	1,20
SLC30A4	27,97	1,75	SLC39A4	25,28	1,46
SLC30A5	25,22	2,06	SLC39A5	28,97	2,82
SLC30A6	24,13	1,18	SLC39A6	29,66	4,67
SLC30A7	23,59	1,20	SLC39A7	26,47	1,23
SLC30A8	30,51	1,94	SLC39A8	24,45	1,02
SLC30A9	25,93	0,84	SLC39A9	22,89	1,32
SLC30A10	30,74	1,98	SLC39A10	25,27	1,46
GAPDH	17,34	0,97	SLC39A11	26,99	2,18
UBC	17,47	1,03	SLC39A12	32,55	3,40
YWHAZ	20,36	1,38	SLC39A13	25,52	1,74
HKG average	17,41	0,98	SLC39A14	27,67	2,50

Tabla 62. Resultados en muestra de sangre de los pacientes al final sPCf ; DE = Desviación Estándard

Ese valor es el valor de Ct restando los valores de la media de los *housekeeping genes* te resulta el  $\Delta Ct$ . En la tabla 63, se muestran los valores de  $\Delta Ct$  y la DE para cada gen.

	sCG	DE	sPCi	DE	sPCf	DE
ZNT1	5,09	0,90	7,94	3,54	7,61	1,44
ZNT2	9,97	1,84	13,51	3,27	14,65	3,07
ZNT3	8,75	0,60	14,10	2,37	13,97	1,83
ZNT4	7,52	1,38	10,57	1,40	10,52	1,21
ZNT5	5,51	2,12	9,12	4,51	7,69	1,46
ZNT6	5,51	1,10	6,98	0,66	6,70	0,61
ZNT7	4,74	0,90	6,30	0,40	6,16	0,52
ZNT8	10,13	0,29	12,04	1,50	12,63	1,31
ZNT9	7,00	0,95	7,69	0,93	8,03	0,85
ZNT10	12,99	0,28	12,11	2,05	12,87	1,25
ZIP1	5,79	0,94	5,18	0,37	5,89	0,38
ZIP2	17,70	0,31	14,36	1,73	14,03	2,68
ZIP3	5,21	0,94	7,34	0,64	7,36	0,89
ZIP4	3,86	1,52	7,93	0,68	7,81	0,89
ZIP5	8,72	1,61	11,37	3,44	11,23	3,20
ZIP6	7,40	4,23	12,98	3,78	11,34	4,26
ZIP7	7,68	0,16	8,81	1,88	8,57	1,09
ZIP8	5,42	1,00	6,90	2,17	7,02	0,65
ZIP9	4,31	1,40	5,99	1,10	5,60	0,63
ZIP10	6,30	0,73	8,01	1,06	7,96	1,00
ZIP11	8,21	0,73	9,32	0,63	9,05	1,60
ZIP12	12,19	0,09	16,42	1,64	14,50	3,03
ZIP13	6,93	2,18	7,96	0,94	7,61	1,19
ZIP14	8,70	0,89	10,29	1,64	9,67	2,20

Tabla 63. Resultados de  $\Delta Ct$  obtenidos en las muestras de sangre de los grupos control sCG, pacientes críticos inicial sPCi, y pacientes críticos final sPCf; DE = Desviación Estándard

Asumiendo la eficacia de los *primers*, se puede determinar la expresión de cada gen como alto-, medio o bajo-expresado (tabla 64). En los valores obtenidos del software se aplican los cálculos para obtener el valor de delta Ct ( $\Delta Ct$ ).

Por la experiencia de los profesores del *King's College* y UCL, se decidió que con valores de  $\Delta Ct$  mayores de 13 el gen esta bajo expresado o no esta expresado en las muestras de sangre. Cuando mas menor es el valor de  $\Delta Ct$  mayor expresión (tabla 64).

	sGC	sPCi	sPCf	Control	PC Inicio	PC Final
SLC30A1	5,09	7,94	7,61	High	Medium	Medium
SLC30A2	9,97	13,51	14,65	Low	None	None
SLC30A3	8,75	14,10	13,97	Low	None	None
SLC30A4	7,52	10,57	10,52	Medium	None	None
SLC30A5	5,51	9,12	7,69	High	Low	Medium
SLC30A6	5,51	6,98	6,70	High	High	High
SLC30A7	4,74	6,30	6,16	High	High	High
SLC30A8	10,13	12,04	12,63	None	None	None
SLC30A9	7,00	7,69	8,03	Medium	Medium	Medium
SLC30A10	12,99	12,11	12,87	None	None	None
SLC39A1	5,79	5,18	5,89	High	High	High
SLC39A2	17,70	14,36	14,03	None	None	None
SLC39A3	5,21	7,34	7,36	High	Medium	Medium
SLC39A4	3,86	7,93	7,81	High	Medium	Medium
SLC39A5	8,72	11,37	11,23	Medium	None	None
SLC39A6	7,40	12,98	11,34	Medium	None	None
SLC39A7	7,68	8,81	8,57	Medium	Medium	Medium
SLC39A8	5,42	6,90	7,02	High	High	Medium
SLC39A9	4,31	5,99	5,60	High	High	High
SLC39A10	6,30	8,01	7,96	High	Medium	Medium
SLC39A11	8,21	9,32	9,05	Medium	Medium	Medium
SLC39A12	12,19	16,42	14,50	None	None	None
SLC39A13	6,93	7,96	7,61	High	Medium	Medium
SLC39A14	8,70	10,29	9,67	Medium	None	None

Tabla 64. Valores de  $\Delta Ct$  obtenidos en la muestras de sangre de los grupo sGC, sPCi, y sPCf, con la expresión de cada gen.

Considerando los valores  $\Delta Ct$  que se obtiene restando la media de los 3 housekeeping genes, como indicador de la expresión de los genes, en la tabla 65, se presentan los valores expresados en cada grupo de mayor a menor expresión. En primera parte he representado los ZnT's y en segunda los Zip's.



sGC	sPCi	sPCf	sGC	sPCi	sPCf
ZNT7	ZNT7	ZNT7	ZIP4	ZIP1	ZIP9
ZNT1	ZNT6	ZNT6	ZIP9	ZIP9	ZIP1
ZNT6	ZNT9	ZNT1	ZIP3	ZIP8	ZIP8
ZNT5	ZNT1	ZNT5	ZIP8	ZIP3	ZIP3
ZNT9	ZNT5	ZNT9	ZIP1	ZIP4	ZIP13
ZNT4	ZNT4	ZNT4	ZIP10	ZIP13	ZIP4
ZNT3	ZNT8	ZNT8	ZIP13	ZIP10	ZIP10
ZNT2	ZNT10	ZNT10	ZIP6	ZIP7	ZIP7
ZNT8	ZNT2	ZNT3	ZIP7	ZIP11	ZIP11
ZNT10	ZNT3	ZNT2	ZIP11	ZIP14	ZIP14
			ZIP14	ZIP5	ZIP5
			ZIP5	ZIP6	ZIP6
			ZIP12	ZIP2	ZIP2
			ZIP2	ZIP12	ZIP12

Tabla 65. Transportadores de cinc encontrados en muestras de sangre de mayor (arriba) a menor (abajo) expresión conforme  $\Delta Ct$ .

Según los resultados, se considera que los genes del sGC que no se expresan en sangre o se expresa en niveles bajos son ZnT10, Zip12, Zip2 y posiblemente el ZnT8.

En pacientes críticos, se observa que hay 6 genes que se expresan en niveles bajos o no se expresan en las muestras de sangre: ZnT10, ZnT2, ZnT3, Zip2, Zip12 y posiblemente ZnT8, Zip 5, y Zip 6.

Como una observación rápida, con respecto a la expresión de los transportadores en sangre de los sPC, diremos que son bajo-regulados.

#### D. Control en gel de agarosa

Tras correr las muestras en gel de agarosa en la figura 30, se pueden observar las bandas de los transportadores, con el control sin muestra añadida correspondiente.

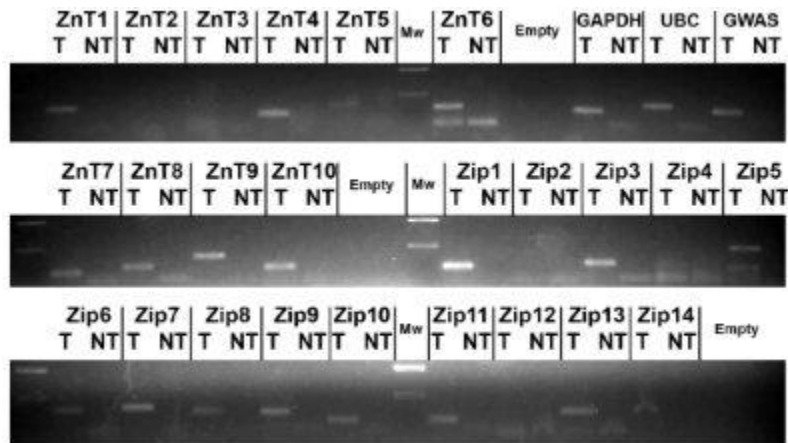


Figura 30. Transportadores evidenciados tras correr el gel de agarosa

### E. Análisis estadístico

Con los resultados obtenidos, se utilizó el test de la *t de Student* para ver si hay diferencias significativas entre las muestras de los diferentes grupos, sGC, sPCi y sPCf.

En la tabla 66, se presentan los resultados obtenidos de dicho test comparativo

Gen	sGC vs sPCi	sGC vs sPCf	sPCi vs sPCf
SLC30A1	0,0482	<b>0,0023 **</b>	0,4849
SLC30A2	0,1244	0,0710	0,2826
SLC30A3	<b>0,0009 **</b>	<b>0,0006**</b>	0,8726
SLC30A4	<b>0,0000**</b>	<b>0,0000**</b>	0,9132
SLC30A5	<b>0,0135**</b>	<b>0,0155**</b>	0,1609
SLC30A6	<b>0,0013**</b>	<b>0,0066**</b>	0,2602
SLC30A7	<b>0,0001**</b>	<b>0,0002**</b>	0,5357
SLC30A8	0,0133	<b>0,0020**</b>	0,5032
SLC30A9	0,4682	0,3343	0,3593
SLC30A10	0,3996	0,9003	0,5421
SLC39A1	0,5110	0,9329	<b>0,0069**</b>
SLC39A2	<b>0,0023**</b>	<b>0,0242**</b>	0,7619
SLC39A3	<b>0,0000**</b>	<b>0,0000**</b>	0,9675
SLC39A4	<b>0,0000**</b>	<b>0,0000**</b>	0,3577
SLC39A5	<b>0,0163**</b>	<b>0,0152**</b>	0,7744
SLC39A6	0,0054	0,0601	0,2378
SLC39A7	0,1229	0,0649	0,6756
SLC39A8	0,0327	<b>0,0003**</b>	0,9048
SLC39A9	<b>0,0056**</b>	<b>0,0209**</b>	0,1909
SLC39A10	<b>0,0002**</b>	<b>0,0003**</b>	0,9605
SLC39A11	0,2334	0,2841	0,8276
SLC39A12	0,0004	0,0602	0,2033
SLC39A13	0,6622	0,7655	0,4331
SLC39A14	0,0391	0,2276	0,4999

Tabla 66. Resultados del estudio comparativo de medias *t de Student*, entre los diferentes grupos experimentales significación \*\*  $p < 0,05$

Se puede observar que la mayoría de las correlaciones significativas encontradas están entre el grupo control (sGC) y el grupo de los pacientes crítico, tanto al inicio (sPCi), como al final del periodo de estancia en UCI controlado (sPCf). Solo se encontró correlación entre los pacientes al inicio y al final del estudio, en Zip1.

#### F. Cálculo de la expresión relativa.

Utilizando como gen calibrador los resultados obtenidos de grupo control, se calculó la expresión relativa de los transportadores con la fórmula presentada en material y método, de los pacientes al inicio de periodo de seguimiento en UCI.

En la siguiente tabla 67., se muestra la expresión relativa de los transportadores de cinc en paciente crítico al inicio.

	sPCi		sPCi
SLC30A1	0,3	SLC39A1	1,6
SLC30A2	0,2	SLC39A2	0,6
SLC30A3	0,1	SLC39A3	0,3
SLC30A4	0,2	SLC39A4	0,1
SLC30A5	0,3	SLC39A5	0,6
SLC30A6	0,4	SLC39A6	0,1
SLC30A7	0,4	SLC39A7	0,7
SLC30A8	0,4	SLC39A8	0,5
SLC30A9	0,7	SLC39A9	0,4
SLC30A10	1,1	SLC39A10	0,4
		SLC39A11	0,5
		SLC39A12	0,6
		SLC39A13	0,6
		SLC39A14	0,5

Tabla 67. Resultados de expresión relativa de los transportadores de cinc en sPCi comparando con sGC

#### 4.9. Análisis de regresión logística

Para el desarrollo de un modelo exploratorio del comportamiento de la ingesta de cinc hemos utilizado un análisis de regresión logística, donde la variable

dependiente, la concentración de cinc en sangre, se definió en dos categorías de acuerdo a los valores superiores e inferiores de los valores de referencia.

Para la inclusión de las variables en el modelo, se realizó previamente un análisis univariante de regresión logística para el cálculo de la medida de significación estadística y posteriormente, se construyó el modelo definido mediante el método "Wald hacia atrás" del procedimiento Regresión Logística del programa *SPSS*, ajustando por todos los parámetros. La población de estudio es homogénea con alto nivel socioeconómico y conocimientos de nutrición aceptables

Los resultados muestran significación estadística con los niveles de Mg en células sanguíneas al final del periodo controlado en el paciente crítico ( $p = 0.033$ ), observándose que los pacientes que presentan deficiencia de Mg, presentan 5.5 veces más probabilidades de presentar también deficiencia de cinc que si no fuera deficientes en Mg.

Por otro lado, en el modelo también incluimos los niveles de Fe en células sanguíneas, presentando significación estadística al comparar entre los deficientes en cinc y los que no lo son ( $p = 0.42$ ).





## ***Discusión de los resultados***





## 5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### 5.1. Discusión del método

Las variables estudiadas en el presente trabajo se han medido de forma simultánea, sin pretender establecer causalidad. No obstante, aporta información que constituye un punto de partida para futuros estudios analíticos. El estudio se ha realizado en personas sanas que constituirán el grupo control y en pacientes ingresados en la unidad de cuidados intensivos que reciben nutrición artificial. El seguimiento de los pacientes críticos es de 7 días.

No existe un método ideal de evaluación dietética que pueda servir como patrón de referencia, por lo que se recurrió a la aplicación combinada de métodos validados, de amplia aceptación en la realización de estudios epidemiológicos de análisis de ingestas: frecuencia de consumo y recordatorio de 24/48 horas y sin embargo, no se puede descartar el hecho de que algún sujeto pueda exagerar o minimizar la ingesta. Dado que el presente estudio se ha realizado en adultos sanos que se considera un control para pacientes críticos dicho error se considera aleatorio ya que no existe evidencia de un error sistemático en este sentido.

Aun así, para aumentar y afianzar la fiabilidad de la información de consumo de alimentos, el cálculo de la ingesta de nutrientes se realizó mediante un proceso informatizado que elimina fuentes de error de codificación, registro y cálculo. Se utilizó el programa informático *Nutriber*® (Mataix y García Díz., 2006), y las referencias de objetivos nutricionales e ingestas recomendadas (IR) para la población española (Moreiras, et al. 2004) (410). La ingesta en caso de pacientes críticos fue constituida por la nutrición artificial enteral y/o parenteral, y en unos casos fue una ligera dieta oral. Los pacientes que no han tenido nutrición artificial en periodo del estudio fueron eliminados de él. De esta manera ha sido posible conocer el estado de nutricional y, de forma específica, la frecuencia de malnutrición de los grupos estudiados.

Se sabe que el estudio de la ingesta de un grupo de individuos en términos de consumo de alimentos y nutrientes, no aporta elementos definitivos sobre el estado nutricional de los mismos. Existen una serie de mecanismos físicos, bioquímicos y fisiológicos que determinan la concentración de nutrientes en el alimento que se

ingiere, así como en la absorción de los mismos, que está a su vez influenciada por la presencia de otros nutrientes, metabolitos o antimetabolitos, al igual que su utilización, almacenamiento y excreción.

La valoración del estado nutricional del cinc se ha realizado de forma multidimensional, a través de la interpretación de los datos de ingesta y de los niveles sanguíneos y de biomarcadores específicos.

Respecto a los parámetros bioquímicos es sabido que todas las medidas biológicas conllevan cierto error cuya identificación es fundamental en la interpretación de los resultados. Dado el tipo de muestreo realizado, la valoración bioquímica tiene un cierto grado de representatividad.

No se puede esperar que los resultados de la ingesta coincidan exactamente con los de la valoración bioquímica, la cual es indicativa del estado real de los sujetos en el día de la toma de la muestra biológica, como resultado de su ingesta anterior a corto y medio plazo, de su estado de salud general y otras condiciones relacionados con el estilo de vida (consumo de medicamentos, alcohol, tabaco, actividad física), así como de otros factores que afectan al equilibrio tisular de los nutrientes a nivel orgánico.

Con los estudios de expresión génica queremos determinar si los genes han cambiado como consecuencia de la nutrición aportada o por la situación de enfermedad.

### **Características generales de la muestra**

Con respecto a las características generales de la muestra podemos decir que la población control guardaba resultados que entraba en los límites normales.

En los pacientes críticos podemos destacar que no mostraba diferencia significativa con ninguno de los parámetros socio demográfico con respecto a la población control. Los pacientes críticos tienen un APACHE II medio inicial de 16,7 que evoluciona de forma favorable a un 9,1. Por otro lado la escala SOFA mostraba valores de 8,6 al inicio del estudio siendo al final de 5,8. En general podemos decir que la evolución del paciente ha sido positiva. Existen diferencias significativas entre los valores medios de APACHE y SOFA del punto inicial respecto al punto final.

## 5.2. Discusión de la antropometría

Los resultados obtenidos en el GC muestran valores dentro de la normalidad en IMC (grafico 4). Se puede observar que la mayoría de las personas estudiadas se encuentra en el rango de normalidad siguiendo con un porcentaje medio alto con el sobrepeso.

Los datos obtenidos en los parámetros antropométricos (peso, talla, IMC) muestran similitud al comparar la población crítica con la población control, fundamentalmente en los valores medios de peso, talla e IMC, tanto en población total como por sexo. Sin embargo cuando tenemos en cuenta el grado de malnutrición determinada mediante el valor de IMC observamos que el paciente crítico presenta desnutrición en un 4,5% más de individuos que los controles aunque en la población crítica existe el 14,8% más de individuos obesos.

En la grafico 4 se ha representado el IMC para GC..

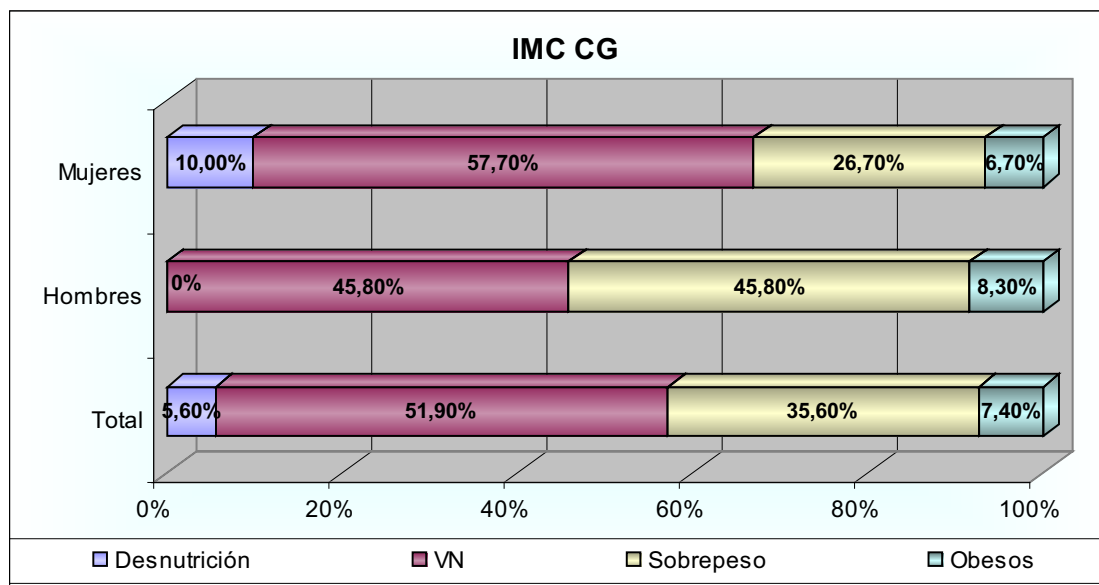
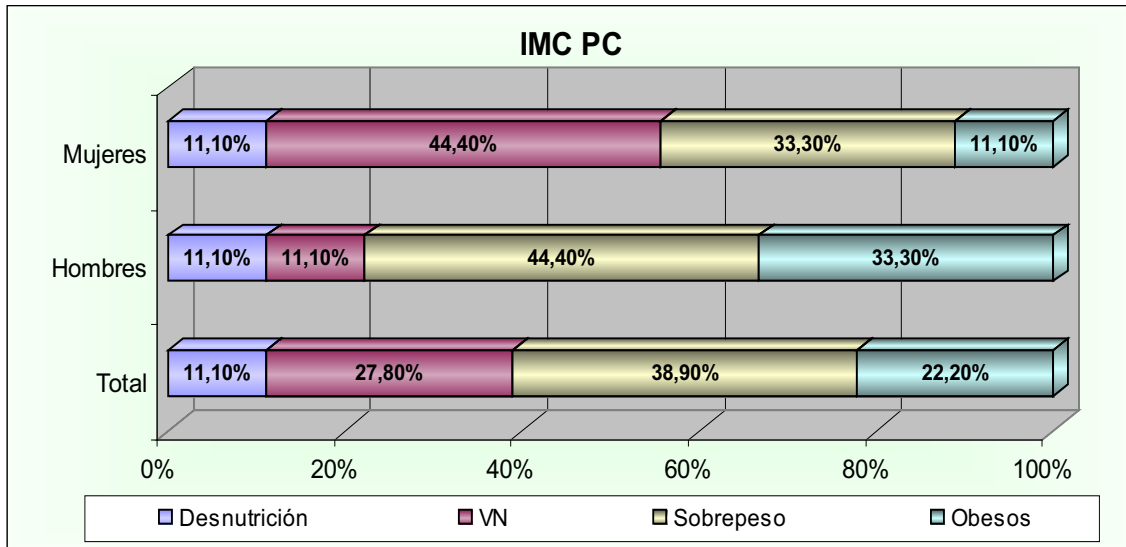


Grafico 4. IMC del grupo control

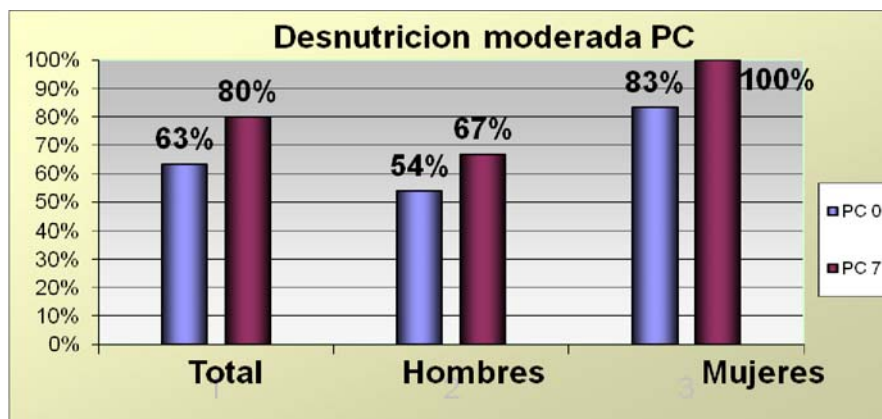
En grafico 5 se pudo observar que el porcentaje de desnutrición utilizando la fórmula de cálculo del IMC al inicio para paciente críticos en los que hay un porcentaje del 11% de desnutrición. Dentro del rango de normalidad se observa que los hombres están en un 11% y las mujeres en un 44,4%, siendo un porcentaje más alto de pacientes hombres con un sobrepeso (44,4%) y obesidad (33,3%).



Grafica 5. IMC de los pacientes críticos al ingreso

Un parámetro nutricional importante que es el IMC para evaluar la desnutrición. Sánchez et al. 2008 (257), han demostrado que el estatus de cinc se relaciona con el IMC sin embargo en nuestro estudio no hemos encontrado correlación significativa entre el estatus de cinc y el IMC

En caso de los pacientes se realizó una determinación de estado de desnutrición proteico. En gráfico 6, se puede ver los porcentajes de desnutrición leve de los pacientes críticos al ingreso y al cabo de siete días de estancia en la UCI



Grafica 6. Desnutrición proteica de los pacientes críticos al ingreso y final del estudio

Según los resultados obtenidos en el grado de desnutrición proteica los resultados muestran un incremento importante en el número de individuos con desnutrición al inicio de la estancia en UCI (68,5%) con respecto a los pacientes al final de su estancia en UCI (80%) (Grafico 6).

Se encontró una correlación significativa entre la desnutrición al inicio y final de estancia en la UCI (grafico 7). Este hecho es presentado en muchos trabajos donde se habla de la desnutrición intrahospitalaria (6, 8, 29).

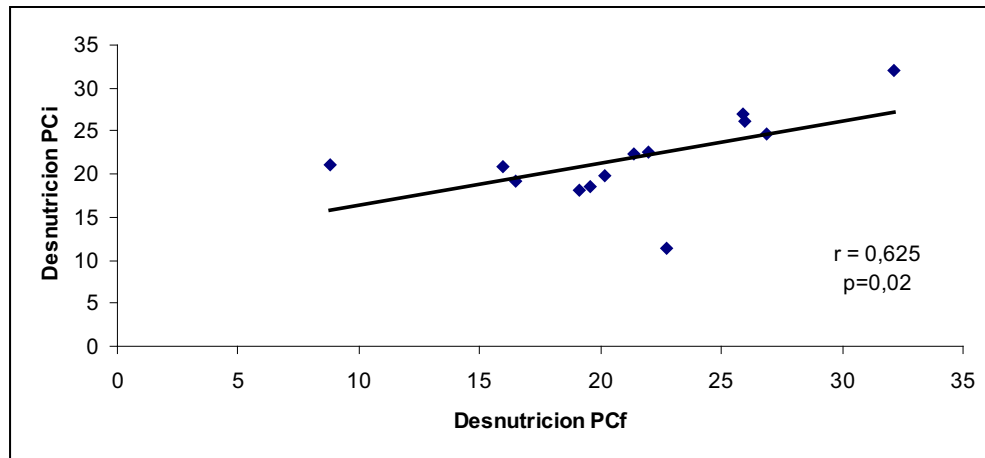


Grafico.7 Correlación desnutrición PCi y PCf

El cálculo de la desnutrición en paciente crítico no es muy fiable por que la inflamación produce cambios al nivel de masa magra y grasa. El paciente crítico retiene los líquidos por lo tanto las medidas antropométricas son muy discutidas en paciente crítico.

En nuestros resultados se encontró una correlación significativa entre los valores de cinc en células sanguíneas y la talla  $p = -0,943^{**}$  ( $r = 0,01$ ) y la desnutrición PCi y cinc total al inicio,  $p = -0,483^{*}$  al hacer ajuste por energía de la ingesta de cinc la correlación con la talla desaparece por lo tanto demuestra que las personas más altas ingieren más energía y por lo tanto ingieren más cinc.

No se encontró correlación significativa entre los valores de cinc y el IMC, CB, PT y peso.

El IMC no sale correlacionado de manera significativa con los valores de cinc por el hecho de que el paciente crítico acumula agua (se hincha) y por lo tanto se puede camuflar la posible desnutrición, se sustituye la masa muscular por agua intersticial (edema).

### 5.3. Discusión de la ingesta

#### 5.3.1. Ingesta de macronutrientes

Kanner et al (1987) han observado que los pacientes críticos tienen una marcada inmunosupresión, con debilidad muscular y alta incidencia de infección por el estado de hipermetabolismo y proteolisis. En el grupo control se puede observar una deficiencia de energía pero no de proteína. En caso de pacientes críticos que recibieron nutrición artificial la ingesta de energía es deficiente en un 84%. Eso esta descrito y del Grupo de Trabajo de Nutrición y Metabolismo de la Sociedad Europea de Cuidados, que la desnutrición proteico calórica constituye el mayor problema de los pacientes en UCI (42). Se puede observar que ingesta de proteína en PC es deficiente en un 71%.

Al realizar una comparación de la ingesta de macronutrientes se puede ver que en caso de GC solo un 14% tienen ingesta de energía < 2/3 pero en caso de PC aproximadamente 60% tiene ingesta de energía < 2/3.

Los resultados obtenidos son similares con otros estudios y con los resultados obtenidos de Abiles et al. (2005) (117).

	Grupo control		Pacientes críticos		Recomenda ción ESPEN	Recomendación general
	< IR	<2/3 IR	< IR	<2/3 IR		
<b>Energía</b>	67,9%	14,3%	84,4%	59,4%	<b>20 -25 (30) Kcal/kg/día</b>	<b>1800-3000 kcal/día</b>
<b>Proteínas</b>	11,1%	1,8%	71,4%	32,1%	<b>1,2 – 1,5 g/kg/día</b>	<b>47-56 g/día</b>
<b>Carbohidratos</b>	85,7%	0%	96,3 %	18,5 %	<b>5 g/kg/día</b>	<b>55-65 % energía</b>
<b>Fibra</b>	87,3 %	45 %	100%	85,7%	<b>20- 25 g /día</b>	<b>25 g/día</b>
<b>Lípidos</b>	7,1%	1,8%	43,8%	13,3 %	<b>1-2 g/kg/día</b>	<b>20-30 % energía</b>

Tabla 68. Porcentaje de deficiencia para energía y macronutrientes de GC y PC

Sin embargo, el 71% de los pacientes presenta aporte proteico deficiente, mientras que no llega al 11% de los individuos controles que ingieren proteína de manera insuficiente.

Se puede observar (tabla 68) que la ingesta de proteína, carbohidratos y lípidos es muy deficiente en el grupo de los PC, observándose diferencias significativas respecto a los controles ( $p < 0.01$ ).

Los macronutrientes son muy importantes para el estatus nutritivo tanto para personas sanas como en paciente críticos. Más aun en pacientes con SIRS y SEPSIS, donde hay un estado hipermetabólico y la etiología de la enfermedad puede aumentar los requerimientos. La mayoría de los estudios en pacientes críticos describen una deficiencia de macro nutrientes en un rango más o menos amplio. En pacientes críticos que reciben nutrición artificial la malnutrición es una consecuencia que puede determinar un empeoramiento, más complicaciones y tiempo prolongado de estancia en la UCI (23, 65, 84, 117).

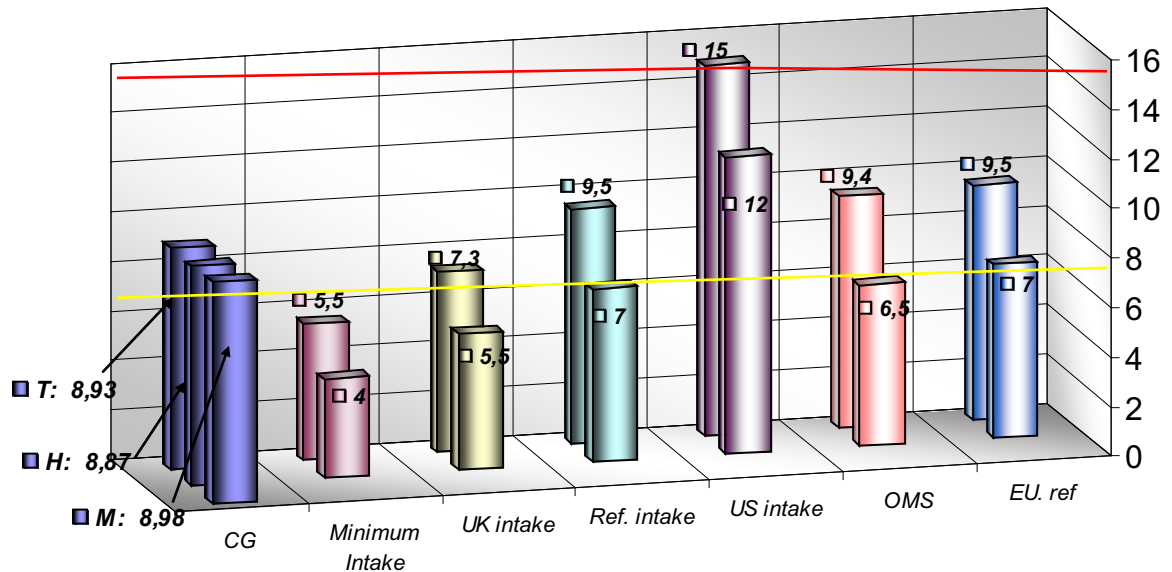
### **5.3.2. Ingesta de cinc**

#### **5.3.2.1. Grupo control**

En caso de grupo control en la Grafica 8 se puede ver los valores medios en total y los hombres y mujeres. La grafica enseña una comparación de la ingesta de cinc con los valores de referencias de otros países y sociedades científicas. En caso de la ingesta de cinc el rango de recomendación diaria es muy amplio. Existen recomendaciones para el cinc de un mínimo 4 mg/día para mujeres y 5,5mg/día para los hombres. Y puede llegar a 12 mg/día para mujeres y 15 mg/día en caso de los hombres.

La media de ingesta de Zn para CG es  $8,93 \pm 1,97$  donde el hombre tiene una ingesta media de  $8,87 \pm 2,13$  y mujeres:  $8,98 \pm 1,87$  (grafico 8). Se puede decir que en caso de la ingesta de cinc para GC los valores son medios bajos pero se encuentra en el rango de la normalidad que se utiliza para España y EU. (5, 410).

**Ingesta de cinc en GC y las referencias de distintos países y sociedades**



CG- grupo control; UK- Inglaterra, US – Estados Unidos; OMS – organización mundial de la salud, EU- Europa

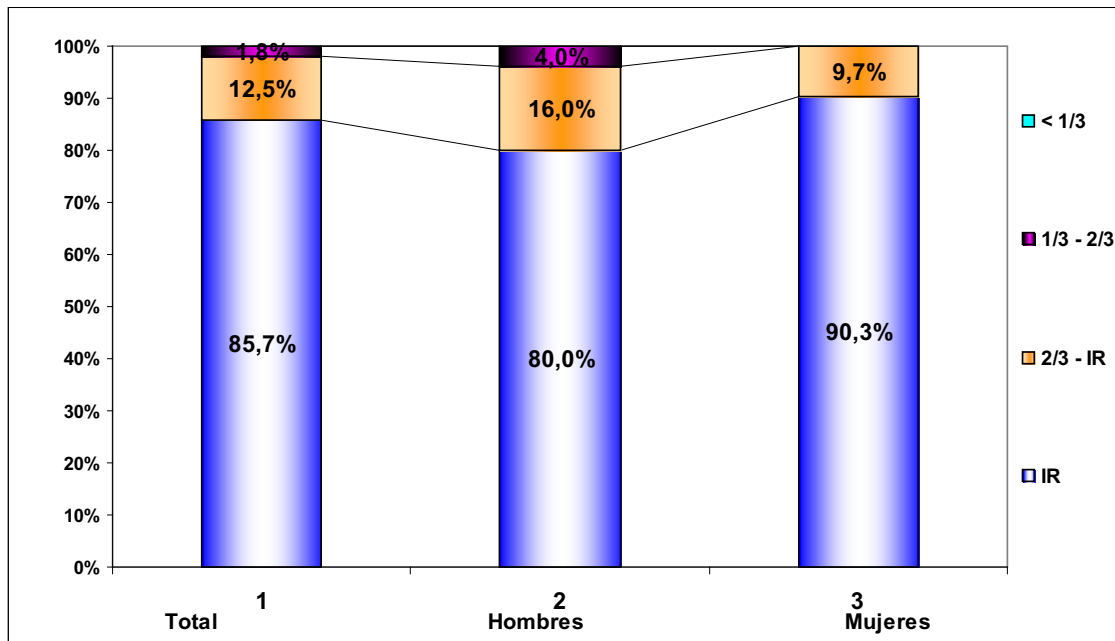
Grafico 8. Medias de ingesta de cinc en grupo control (GC) segun las diferentes recomendaciones del mundo.

Se han demostrado en los estudios metabólicos sobre el cinc muestra una balance positivo cuando la ingesta de Zn es de 12,5 mg / día, y estableció que una dieta de 15 mg / día en hombres y 12,5 mg / día en mujeres es suficiente para mantener la homeostasis del Zn en los seres humanos

En la grafico 9 un porcentaje de 85 % presenta una ingesta adecuada de cinc donde 80% son hombres y 90% son mujeres. Se puede observar que para población en general el 16 % presenta una ingesta menor a la ingesta adecuada (IA). Las sociedades internacionales especifican que sólo cuando hay un 20% de la población deficiente en la ingesta de un elemento se considera un riesgo de deficiencia para dicha población (125, 159, 196, 412).

En la población estudiada (GC) el porcentaje de personas deficientes en cinc es baja dado que las personas incluidas en el estudio tienen un nivel medio alto de vida y por tanto, los conocimientos de nutrición son mayores.





\*IR – ingesta adecuada (ingesta recomendada) (%)

Grafico 9. Adecuación de la ingesta de cinc en hombres y mujeres del GC

La metodología empleada en la recogida de datos de ingesta (frecuencia de consumo) nos aporta datos de consumo a largo plazo. Los trabajos que existen referentes al análisis de ingesta en poblaciones, generalmente se realizan con recogida de datos por recordatorio de consumo de alimentos durante las 24 – 48 horas anteriores, lo que aporta información de ingesta de nutrientes a muy corto plazo, haciéndolo menos “real” en cuanto a reservas de cinc en eritrocitos, por ejemplo.

### 5.2.3.2. Pacientes críticos

En caso de los pacientes críticos la ingesta de cinc es muy discutida. Los pacientes reciben nutrición enteral y/o nutrición parenteral y la enfermedad aumenta los requerimientos (63, 64, 102, 117, 413).

Por lo tanto, en el grafico 10, se puede ver las medias y DE de los valores de cinc en el grupo control y en los pacientes críticos que reciben nutrición enteral, parenteral, o ambas.

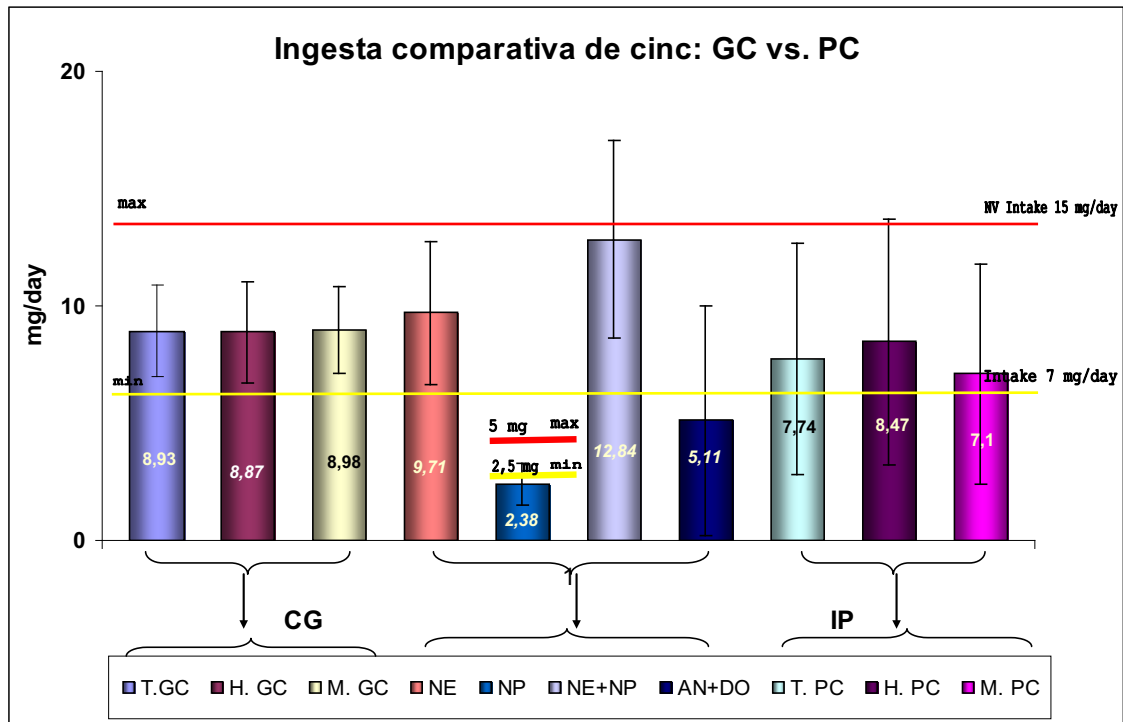


Grafico 10. T.GC –  $\bar{x}$ , DE ingesta de cinc total control; H. CG –  $\bar{x}$ , DE ingesta de cinc hombres grupo control; M. GC –  $\bar{x}$ , DE ingesta de cinc mujeres grupo control; NE –  $\bar{x}$ ; DE, aporte de cinc nutrición enteral; NP –  $\bar{x}$ , DS aporte de cinc nutrición parenteral; NE+NP –  $\bar{x}$ , DE aporte de cinc nutrición enteral y nutrición parenteral; AN+DO –  $\bar{x}$ , DE aporte de cinc de la NE+NP y dieta oral; T. PC – total  $\bar{x}$ , DE aporte de cinc pacientes críticos; H. PC –  $\bar{x}$ , DE aporte de cinc hombres pacientes críticos; M. PC –  $\bar{x}$ , DE aporte de cinc mujeres pacientes críticos;

En el gráfico 9, se puede observar la media de aporte de cinc para los pacientes críticos ( $7,47 \pm 4,92$ ), donde los hombres presentan un aporte de  $8,47 \pm 5,23$  y las mujeres de  $7,1 \pm 4,6$ , por lo tanto podemos decir generalmente la ingesta de cinc está en el límite inferior de los requerimientos para EE.UU y España, pero en el límite de los requerimientos para el Reino Unido. Pero si observamos la media de aporte de cinc para cada tipo de nutrición, se observa que en la nutrición enteral la media de aporte de cinc es de  $9,71 \pm 3,06$ . Los requerimientos de cinc (86, 87, 313), para pacientes críticos con nutrición enteral es de 11-19 mg/L, por lo tanto los pacientes no cumplen con los requerimientos (64, 161, 165).

Ritz et al (2000), han observado que los pacientes críticos con nutrición enteral presentan un retardo en el vaciamiento gástrico producido por los fármacos, especialmente narcóticos o catecolaminas, alteraciones electrolíticas, cirugía, etc. A ello se puede añadir una destrucción de la mucosa por colonización de las bacterias,

una capacidad baja de la absorción y por la destrucción del tránsito intestinal, lo que puede determinar una intolerancia a la NE (Moore et al. 2003 y Chapman, et al 2007) (63, 64).

En el caso de la nutrición parenteral la ingesta recomendada de cinc por el AMA es de 2,5-4,0 (mg/día), por la ASPEN es de 2,5-5,0 (mg/día) y por ESPEN 3,2-6,5 (mg/día). Los pacientes tienen una media de aporte de cinc de  $2,38 \pm 0,90$  y se puede observar que la media del aporte no cumple los requerimientos. En caso de ambos tipos de nutrición artificial (NE+NP) se puede observar que la media es de  $12,84 \pm 4,21$ , por lo tanto cubre los requerimientos de NE y NP. En este caso se han hecho una suma de los dos tipos de nutrición. Por último, en caso de nutrición artificial (NE+NP) y una dieta oral (generalmente manzanilla), la media en el aporte es de  $5,11 \pm 4,92$ , pudiéndose observar que el aporte esta límite inferior casi deficiente.

En el grafico 11 se puede ver el porcentaje de adecuación del aporte de cinc para paciente crítico que recibe nutrición artificial.

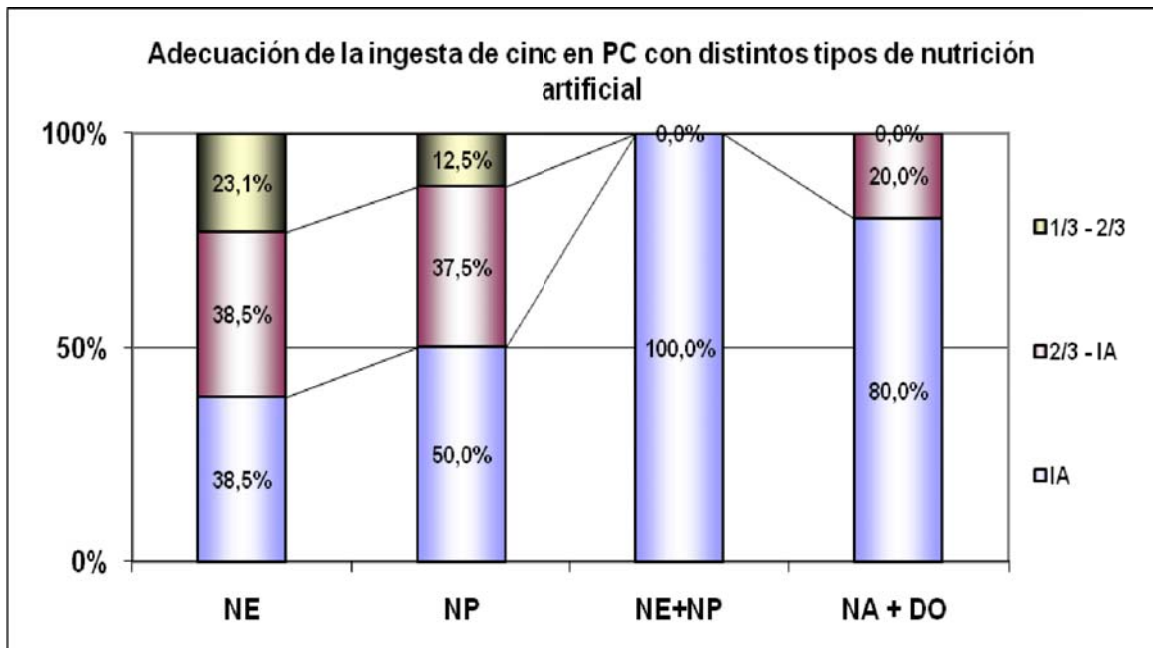


Grafico 11. Adecuación de la ingesta de cinc PC en total

En la gráfica se observa que el porcentaje de individuos con aporte deficiente de cinc ( $< 2/3$ ) es del 23,1% de los pacientes que reciben NE, y un 13% de los

pacientes que reciben NP. Se puede observar que los pacientes que reciben ambos tipos de nutrición o nutrición artificial y dieta oral, es mayor dado que no se encontró ningún paciente en situación de deficiencia aguda. En la bibliografía se habla que los pacientes que presentan ambos tipos de nutrición mixta es la recuperación del paciente es más rápida (43, 64, 100, 132).

Se puede destacar (grafico 11) que los pacientes que no tienen ingesta adecuada de cinc en caso de NE están en un porcentaje del 60% siendo el 50 % en caso de NP.

En los enfermos críticos que reciben nutrición enteral las recomendaciones son iguales o superiores a las personas sanas dado que los requerimientos están aumentados por la enfermedad.

En caso de la nutrición artificial (NE + NP) se puede ver que no existe deficiencia, esto significa que la nutrición artificial mixta puede cubrir los requerimientos.

Pero en caso de la nutrición artificial y con dieta oral (manzanilla) se puede observar que aparece la deficiencia en 20% de los pacientes.

En el grafico 12, se puede ver la adecuación del aporte de cinc en caso de los hombres críticos (PC)

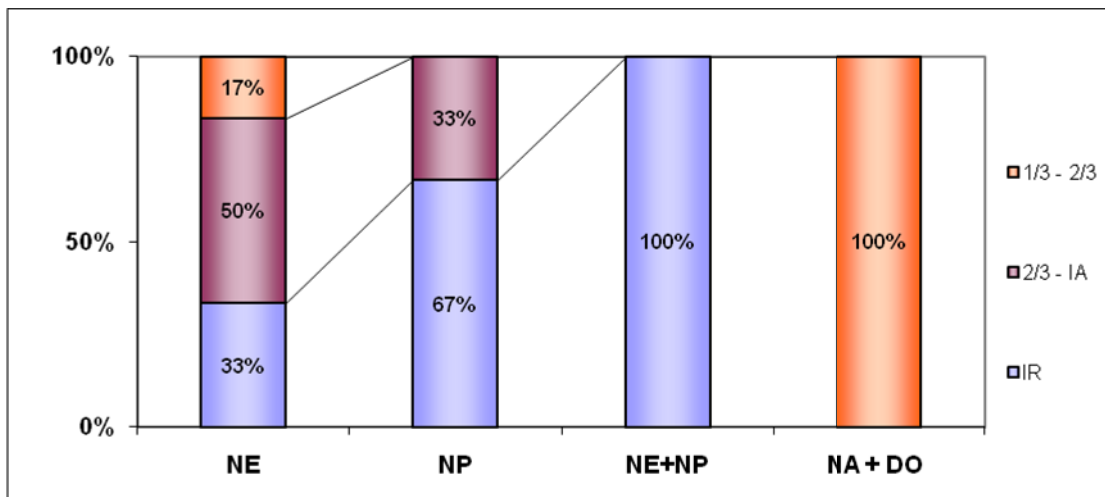


Grafico 12. Adecuación del aporte de cinc para los hombres críticos (PC)

El 67% de los hombres no reciben un aporte adecuado de cinc mediante nutrición entera, siendo un 33% los que no lo reciben a partir de nutrición parenteral. Se puede observar que los hombres críticos que reciben nutrición artificial y dieta oral son altamente susceptibles a la deficiencia del cinc.

En el gráfico 13 se puede ver la adecuación del aporte de cinc en caso de las mujeres (PC)

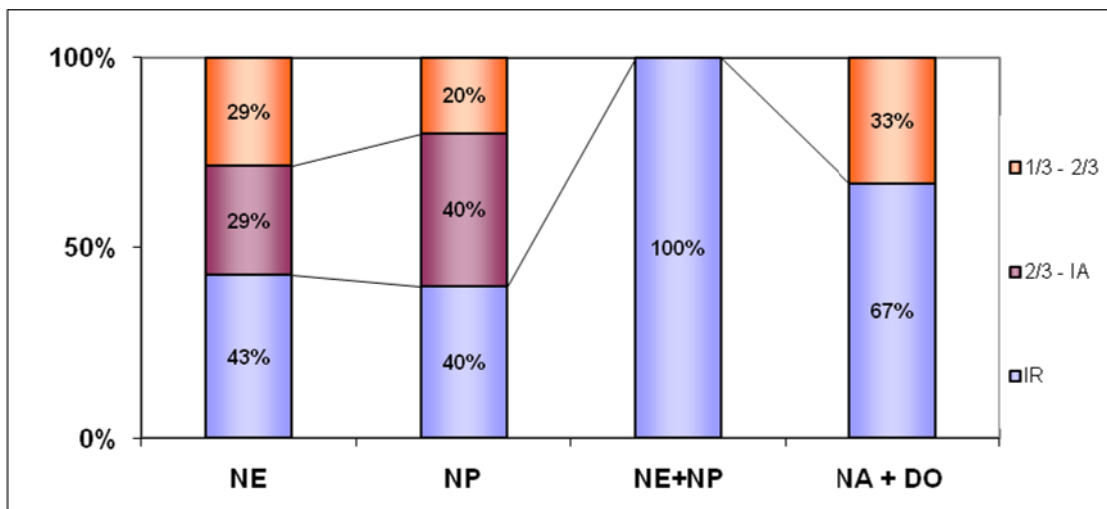


Gráfico 13. Adecuación de la ingesta de cinc para las mujeres (PC)

En el caso de las mujeres nuestros resultados ponen de manifiesto que un 58% de la población crítica tienen un aporte de cinc menores a los recomendados en lo que respecta al NE. Lo mismo ocurre cuando se administra por vía parenteral 60%. Por otro lado los resultados obtenidos en cuanto a nutrición mixta muestran al 100% de la población de mujeres y hombres críticos tienen una ingesta adecuada.

Por lo tanto, de estos resultados se puede concluir que para los pacientes críticos la nutrición artificial de mixta puede llegar a cubrir de una manera más efectiva las necesidades de cinc para la población. Esto está de acuerdo con muchas investigaciones sobre nutrición artificial donde se observa que las necesidades para los pacientes, no solo de cinc sino de otros nutrientes, se cubren mejor con ambos tipos de nutrición (113).

La deficiencia en el aporte de cinc en distintas poblaciones puede variar en función del rango en el que figure su recomendación (94).

## 5.4. Discusión de la valoración bioquímica

### 5.4.1. Valores hematológicos.

Según los resultados obtenidos expresados en la tabla 46 (apartado resultados), correspondiente al hemograma y fórmula leucocitaria, podemos observar que en general los pacientes críticos muestran valores medios superiores en lo que respecta al recuento y fórmula leucocitaria.

También se observa un incremento significativo  $p < 0,05$  al comparar los valores entre el inicio y el final del periodo de estancia en UCI en el paciente crítico.

Estos resultados guardan cierta lógica teniendo en cuenta que el paciente crítico está tratado a nivel clínico, que normalmente padece sepsis y siempre presenta SIRS.

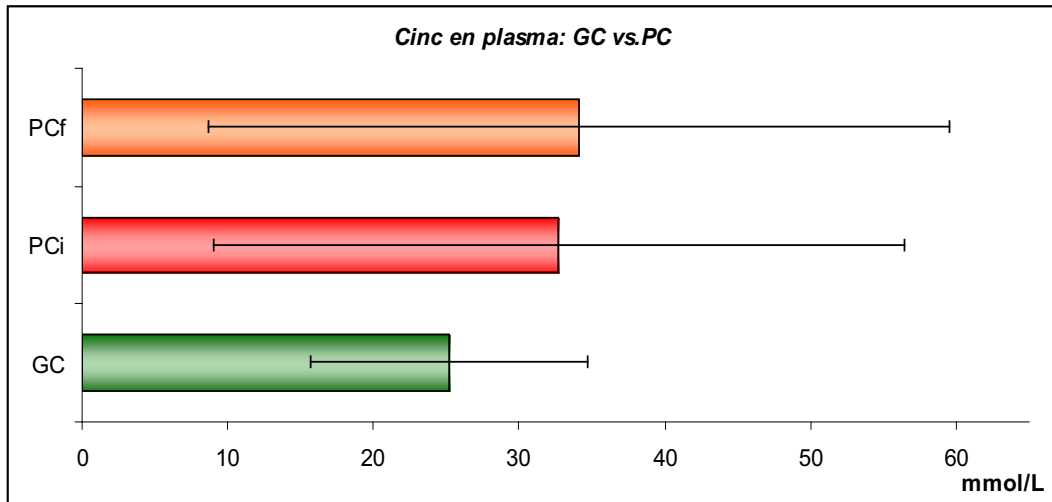
### 5.4.2. Valores plasmáticos de cinc

Aunque en la bibliografía se habla de una depleción del cinc en pacientes críticos (63, 414, 415, 416, 417) en nuestro estudio se demuestra lo contrario, ya que los niveles plasmáticos de cinc muestran un incremento posiblemente como consecuencia de la liberación celular del mineral (tabla 69).

	PCi	PCf	CG
<b>Zn Plasma (mg/dL)</b>	0,214 ± 0,15 (0,01 – 0,53)	0,223 ± 0,16 (0,03 – 0,58)	0,163 ± 0,06 (0,06 – 0,34)
<b>Zn Células sanguíneas (mg/dL)</b>	0,620 ± 0,27 (0,14 – 1,14)	0,642 ± 0,29 (0,16 – 1,45)	1,07 ± 0,61* (0,11 – 2,99)
<b>Total Zinc (mg/dL)</b>	0,420 ± 0,16 (0,13 – 0,80)	0,429 ± 0,17 (0,12 – 0,75)	0,634 ± 0,28* (0,2 – 1,58)

Tabla 69. Valores medios en mg/dL, DS, y mínimo y máximo de cinc en plasma, células sanguíneas y sangre total en los diferentes grupos experimentales \*  $p < 0,05$ , PC vs CG

En la gráfica 14, se pueden observar los valores medios y DE de cinc plasmático en grupo control y grupo de los pacientes al inicio y final del estudio.

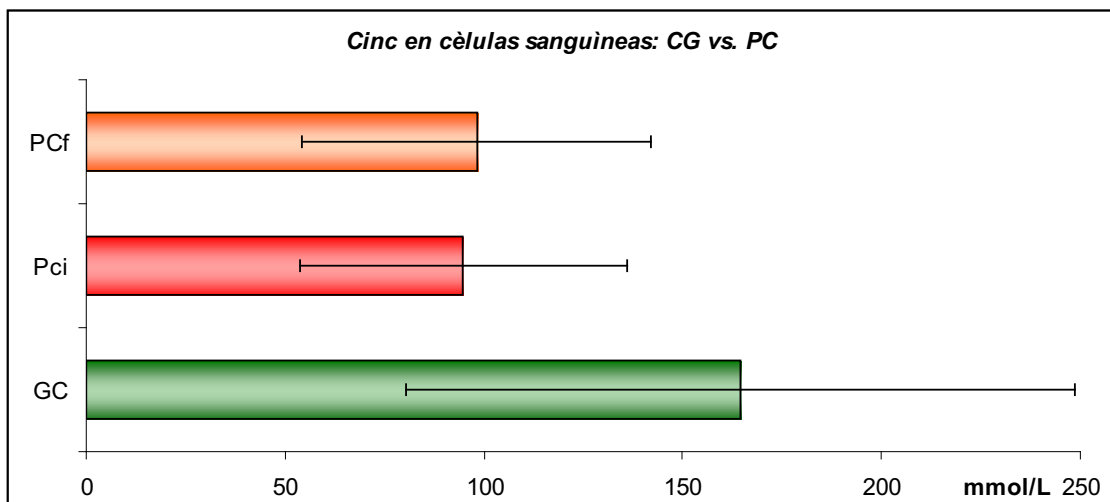


Grafica 14 Valores medios y DE de cinc plasmático en GC y PCi, PCf

El análisis comparativo entre grupos muestra la no existencia de significación estadística en los niveles medios de cinc en plasma.

#### 5.4.3. Valores de cinc en las células sanguíneas

En la grafica 15, se pueden ver los valores medios y DE para el cinc en las células sanguíneas de los GC y PCi, PCf.  $p < 0,005$



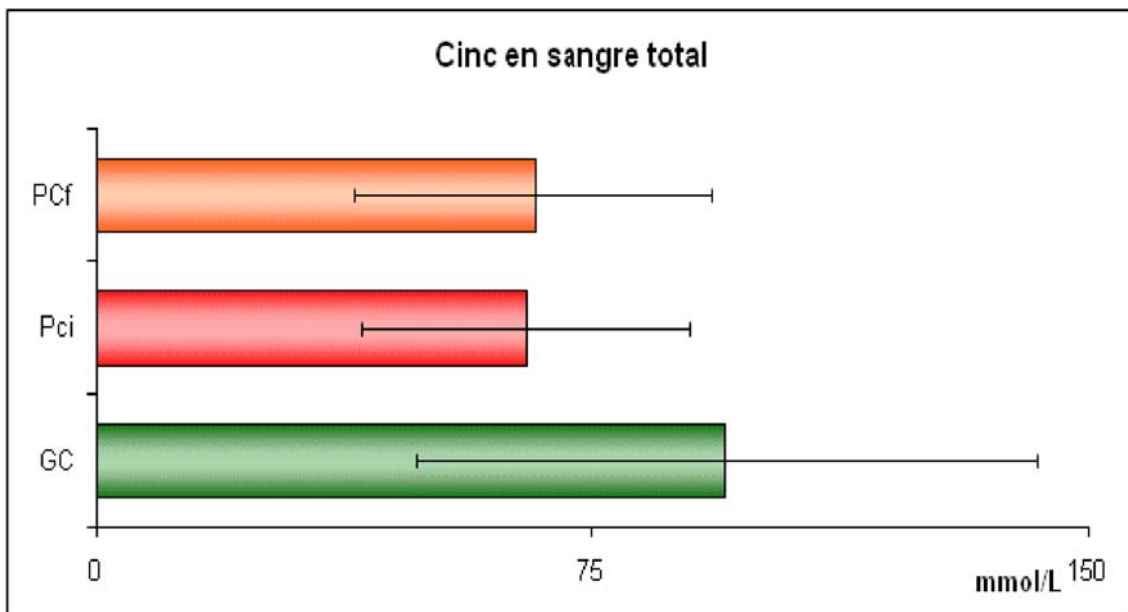
Grafica 15. Valores medios y DE de cinc en la células sanguíneas en GC y PCi, PCf

Los resultados obtenidos en la concentración de cinc en las células sanguíneas es el correspondiente a la suma del cinc repartido en las diferentes células, eritrocitos, leucocitos y plaquetas.

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) entre el contenido de cinc en las células sanguíneas de los pacientes críticos con respecto a los individuos sanos, siendo mayor en los CG. Como anteriormente hemos comentado, este hecho puede ser debido a las necesidades del mineral en los tejidos del organismo como consecuencia de las mayores necesidades de los pacientes hipermetabólicos, con elevado estrés oxidativo, en situación inmunodeprimida e inflamatoria sistémica. De este modo observamos cómo el contenido intracelular de cinc disminuye de manera significativa en paciente crítico mientras que el contenido plasmático de este mineral aumenta.

**5.4.4. Valores de cinc en sangre total**

En la gráfica 16, se pueden observar los valores medios y DE del cinc en la sangre total del los GC y PCi, PCf.



Grafica 16 Valores medios y DE de cinc en sangre total en GC y PCi, PCf



Si observamos las gráficas 16, se puede apreciar que los valores de cinc en sangre total en pacientes críticos son menores a los obtenidos en la población control sana.

Los estudios destacan que en la enfermedad crítica los niveles de cinc en plasma están disminuidos con respecto a los respectos a los de referencia. En nuestro estudio los niveles plasmáticos han aumentado pero los niveles de las células sanguíneas han disminuido de manera drástica. Por otro lado, los estudios han demostrado que la cantidad de cinc en plasma es muy variable y que la mayor parte del mineral se encuentra dentro de las células sanguíneas en cantidades al menos diez veces mayores.

#### **5.4.5. Deficiencia de cinc en plasma**

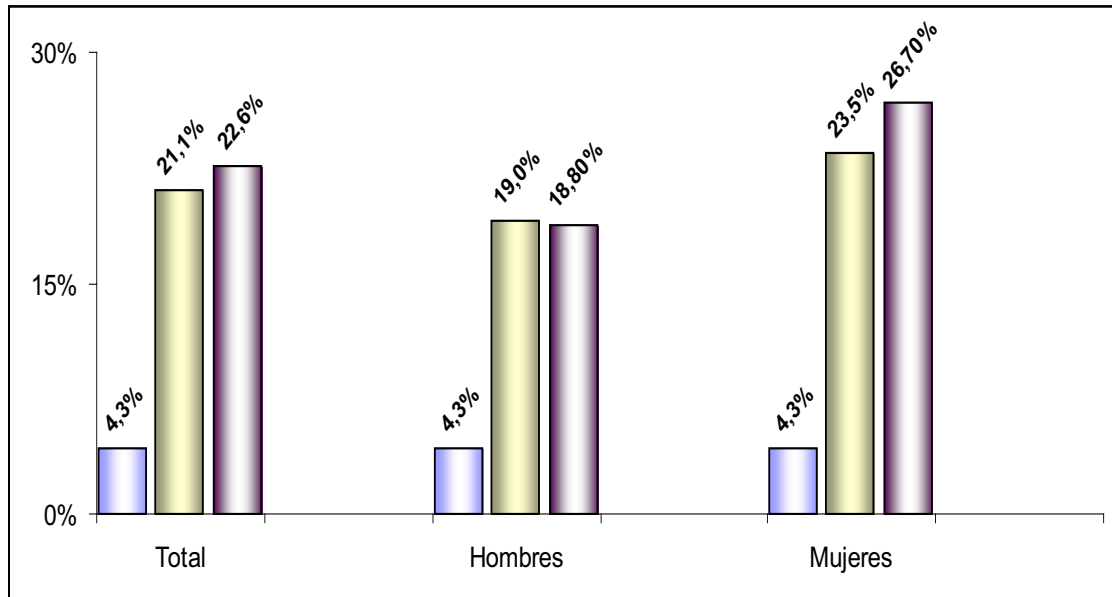
Teniendo en cuenta los niveles plasmáticos, la deficiencia de cinc en el grupo control no presenta, según la sociedad internacional IZINCG, riesgo de deficiencia que estableció cuando en una población la deficiencia es mayor de 20% se puede considerar como población con riesgo de deficiencia en cinc (125, 159).

Por otro lado, los pacientes críticos estudiados presentan unos niveles plasmáticos de cinc muy cercanos al porcentaje de individuos deficientes que se establece necesario para decidir el riesgo de deficiencia (> 20%).

En la grafica 17, se puede observar el porcentaje de individuos con deficiencia de cinc según los niveles plasmáticos en los GC y grupo PC al inicio y al final.

La deficiencia de cinc comparando los PC al inicio y al final, aumenta levemente sin llegar a ser significativo.

Esto pode ser debido al que el periodo de tiempo estudiado no es suficiente como para detectar una depleción detectable de cinc.



Grafica 17. Porcentaje de individuos con riesgo de deficiencia del cinc en plasma del GC vs. PCi, Pcf (<10,7 $\mu$ mol/L)

En caso de utilizarse los puntos de corte de otros autores (Menéndez et al. 2008) (63), que establecen un límite de cinc plasmático de 0,08 mg/dL (12,2 $\mu$ mol/L).

Por otro lado, el punto de corte para el cinc plasmático puede obtenerse de los resultados obtenidos en nuestro grupo control.

De ese modo, obtenemos un límite de 0,09 mg/dL (13,7  $\mu$ mol/L), lo que supondría una deficiencia de cinc en el 34.2 y 35.5% de los individuos críticos al inicio y final del periodo de estancia estudiado, respectivamente.

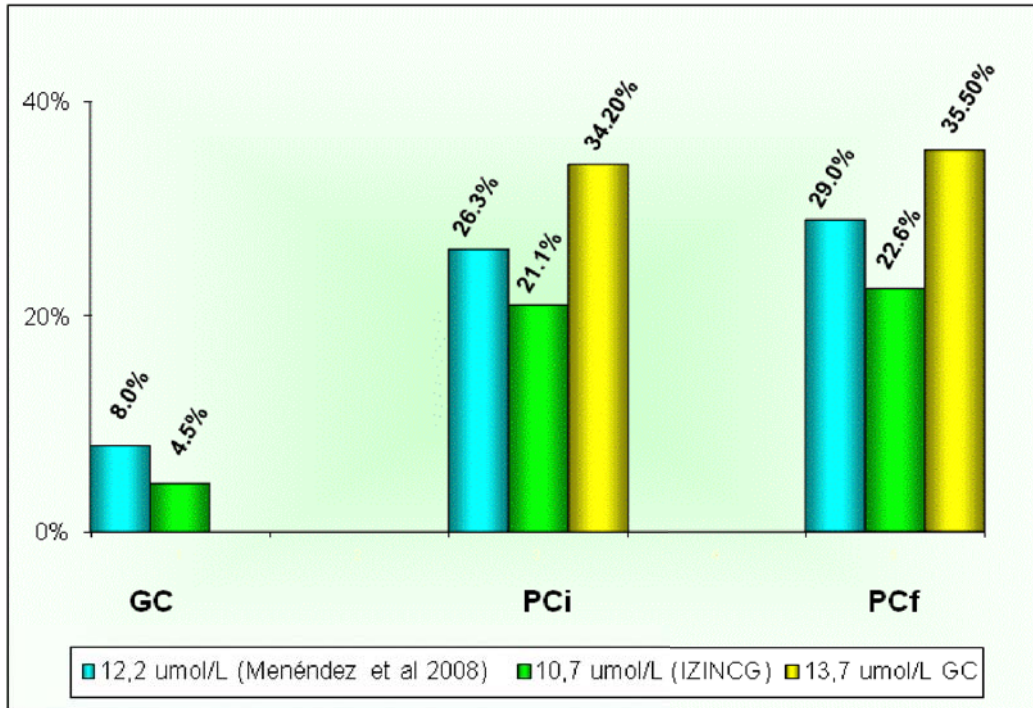
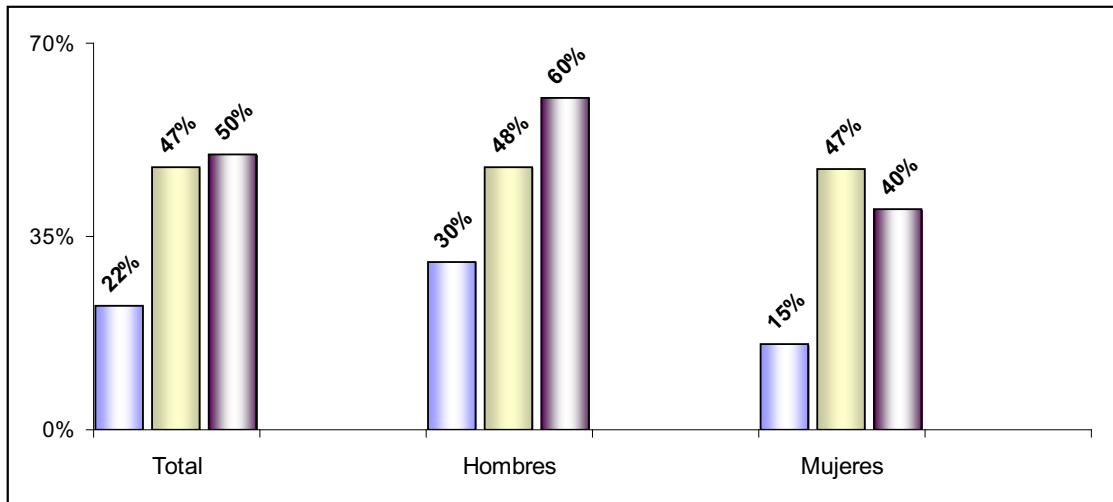


Grafico 18. Porcentaje de deficiencia de cinc plasmático según diferentes rangos establecidos por diversos autores.

Se han realizado muchos estudios con la finalidad de establecer un valor de referencia para el cinc plasmático, pero todavía no existe unanimidad. Como hemos dicho en el apartado de antecedentes, el cinc se localiza en diferentes tejidos como piel, pelo, uñas, retina, huesos, hígado, riñón, músculo, etc. y un 1% se encuentra en sangre total, unido a las proteínas circulantes o a enzimas, quedando el resto dentro de las células.

#### 5.4.6. Deficiencia de cinc en sangre total

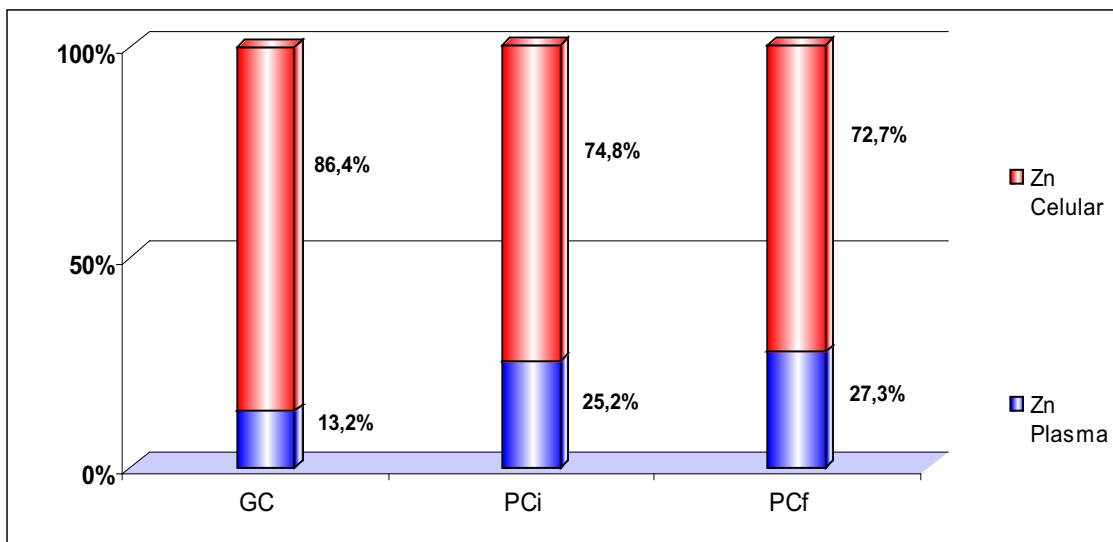
Los datos referentes a sangre total obtenidos en nuestro estudio muestran resultados similares a los obtenidos en las células sanguíneas (112, 202, 452), pero teniendo en cuenta que los niveles disminuyen de manera lógica teniendo en cuenta que en sangre total contamos con todos los compartimentos sanguíneos tanto células en las que, recordamos, existe una disminución significativa dominante en los niveles de cinc, como en el plasma en el que observábamos que los niveles que levemente aumentaban aunque no de manera significativa. En grafico 19, se puede observar el porcentaje de individuos con riesgo de deficiencia en cinc del GC y PCi, PCf



Grafica 19. Porcentaje de riesgo de deficiencia del cinc en sangre total del grupo de GC, PCi y PCf (< 61  $\mu\text{mol/L}$ )

#### 5.4.7. El cinc en sangre total

Al realizar el estudio de distribución del cinc por cada compartimento sanguíneo al contenido final de cinc en sangre, hemos obtenido unos resultados expuestos en la siguiente grafico (grafico. 20).



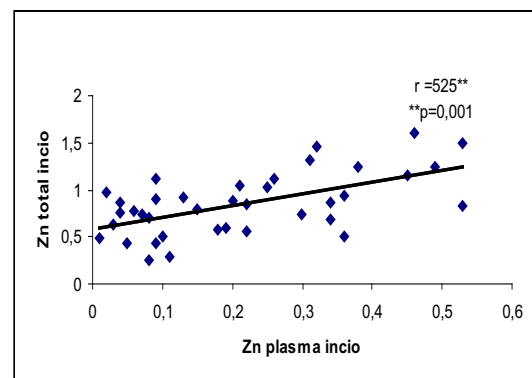
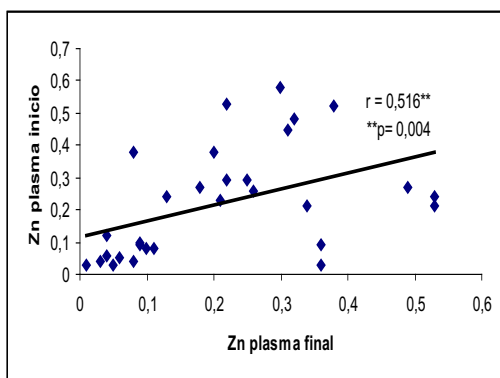
Grafica 20. Porcentaje de la cantidad de cinc en los distintos compartimentos sanguíneos

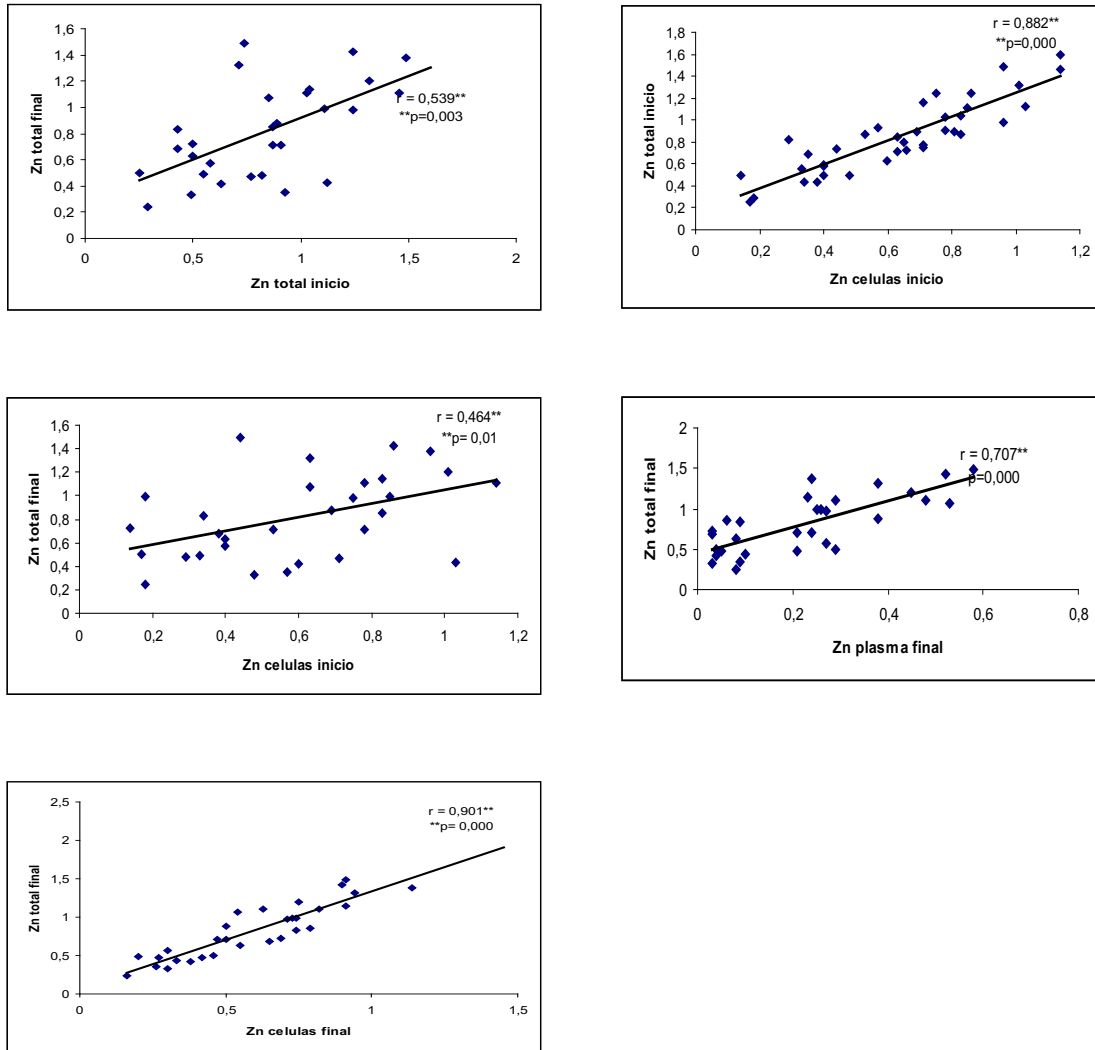
Se puede observar que para el grupo control el 86 % del cinc se encuentra en las células sanguíneas y un 13,2% es en plasma. Estos valores cambian en caso de los PC, de manera que el 25,2 % del cinc se encuentra en plasma al inicio de la estancia en UCI llegando a un 27,3% en el punto final.

Estos resultados posiblemente se deben a la gran liberación de cinc por parte de las células por necesidad de distribuirlo a los diferentes tejidos y así ejercer sus funciones biológicas en el enfermo crítico. Es por ello que, por otro lado, observamos niveles intracelulares más bajos respecto a la población sana, teniendo en cuenta que en la fracción de células sanguíneas se encuentran los glóbulos rojos, blancos y plaquetas. Por los estudios realizados al respecto, se ha determinado que el cinc se encuentra 10 veces más concentrado en eritrocitos que en plasma, y 25 veces más en leucocitos que en eritrocitos (125, 196, 418).

### 1. Correlaciones entre los valores de cinc

Según los resultados obtenidos, y como viene reflejado en la grafica siguiente, se puede observar una asociación positiva (grafica 21), entre los niveles de cinc en los distintos compartimentos sanguíneos.



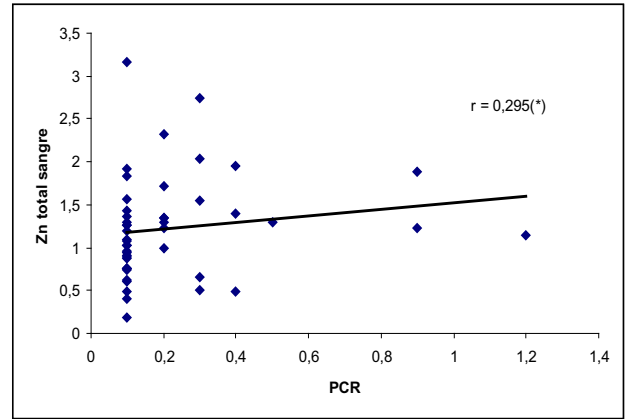
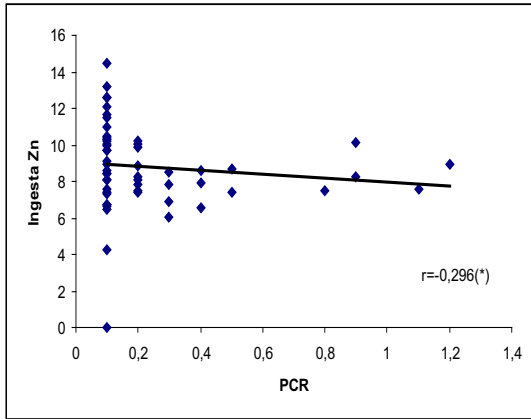


Grafica 21 Correlaciones entre los valores de cinc

Como era de esperar, las correlaciones entre los valores de cinc son positivas.

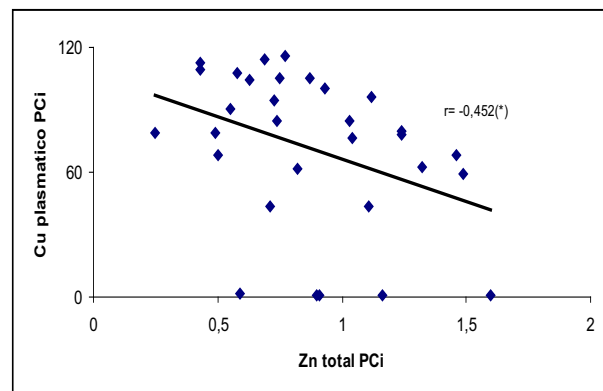
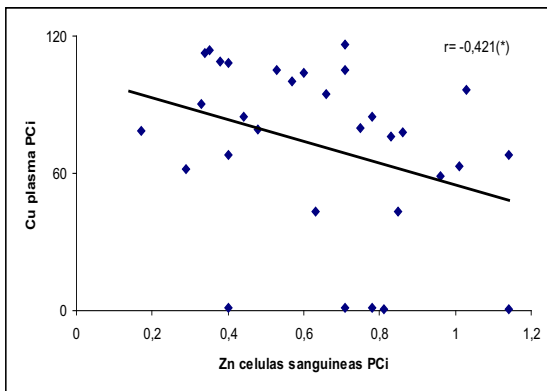
## 2. Correlaciones entre valores de cinc y otros valores bioquímicos en los distintos grupos

Correlaciones entre los valores de cinc y los parámetros bioquímicos en el GC (grafica 22)



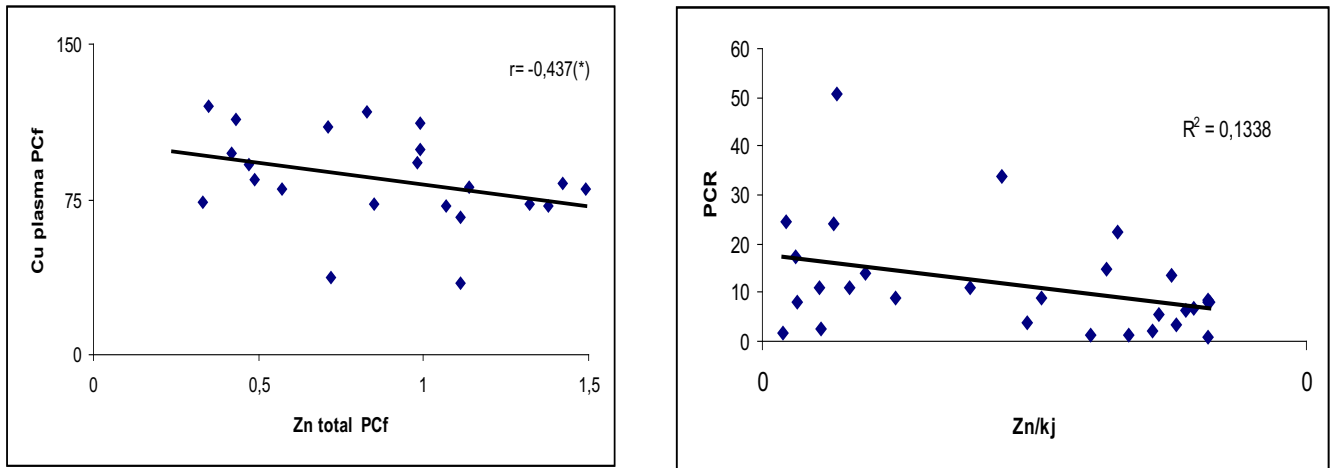
Grafica 22. Correlaciones ente los valores de cinc y PCR

Correlaciones entre los valores de cinc y parámetros bioquímicos en PCi (grafica 23)



Grafica 23. Correlaciones entre los valores de Zn en células sanguíneas y total con Cu plasmático

Correlaciones entre los valores de cinc y parámetros bioquímicos en PCf (grafica 24)



Grafica 24. Correlaciones entre los valores de Zn en células sanguíneas y Zn kj con Cu plasmático

### 5.5. Discusión estudio de expresión génica

Como comentamos anteriormente, para el estudio de expresión génica se ha analizado un subgrupo con características de edad y sexo similares entre ambos grupos de población sana y población crítica.

#### A. Valoración de la ingesta de cinc del subgrupo

Con respecto a la valoración nutricional de subgrupo se puede ver en la grafica que los valores de aporte de cinc se encuentran entre los valores del grupo general (grafico 24).

#### B. Valoración bioquímica del sCG y sPC

Los valores bioquímicos de la submuestra representativa de la población general son similares a ésta.



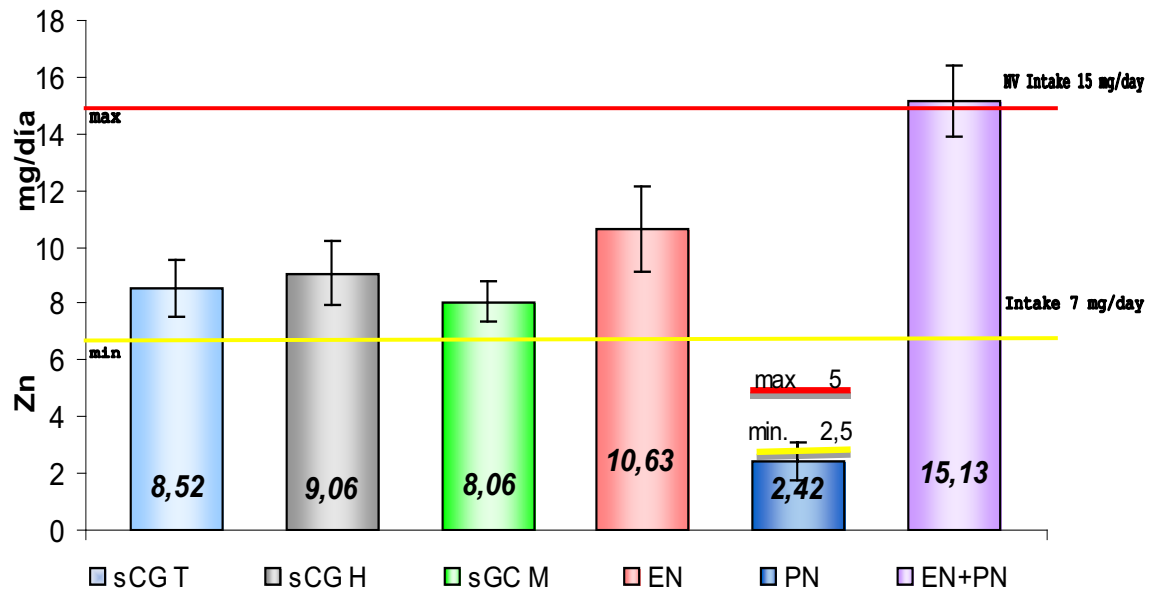


Grafico 25 Estudio comparativo entre la ingesta de cinc del sGC y sPCf , EN –Nutrición enteral, PN –nutrición Parenteral

### 5.5.1. Discusión sobre los transportadores de cinc ZnT y Zip.

El propósito del estudio fue determinar cuál de los transportadores de cinc (SCL30, SCL39) se encuentra en el tejido sanguíneo. Los estudios actuales que tratan sobre transportadores de cinc se han realizado en otro tipo de tejidos y siguiendo otro tipo de situación de enfermedad.

Como hemos comentado en el apartado de antecedentes, existen 24 tipos de transportadores de cinc susceptibles de estar presentes en el organismo humano.

En nuestro estudio, el análisis de estos transportadores de cinc nos sirvió para determinar cuál de los 24 se encuentra en tejido sanguíneo humano. Hemos utilizado sangre total, por lo tanto no podemos saber de qué tipo de célula sanguínea procede el transportador determinado.

No hay evidencia exacta sobre la distribución de estos transportadores en sangre.

Recordar que este estudio se realiza tanto en población control sana como en población de paciente crítico cuyas muestras se han recogido al inicio y a los 7 días de estancia en UCI.

**Hipótesis planteada:** Existe una diferencia de expresión en los genes que expresan los transportadores de cinc en paciente crítico en comparación con un grupo sano, lo cual se podría utilizar como biomarcador del estatus de cinc, pudiendo pronosticar a tiempo una deficiencia de cinc en paciente crítico.

Además, es conocido que para la determinación del cinc plasmático, celular o en sangre total aún no están bien establecidos los rangos de normalidad, por tanto, los transportadores de cinc también pueden ser utilizados para sugerir el estatus de cinc en sangre en una determinada situación.

#### **A. Sobre la cantidad de RNA extraída de la muestra de sangre.**

Inicialmente, decir que la cantidad de RNA extraída de las muestras de sangre de controles y críticos, se encuentra en cantidad suficiente para llevar al cabo los experimentos de q-PCR.

La cantidad de RNA obtenida se acerca a la recomendada por el protocolo aconsejado por la casa comercial y es similar a la obtenida en otros estudios (Isaksson y Nilsson, 2006) (419, 462). Isaksson et al (2006) (419) han realizado un estudio sobre los tubos de RNA utilizado el Kit comparando con tubos con EDTA y llegaron a la conclusión de que la calidad extraída era menor pero con una buena integridad. Beekman et al. 2009 (420). Smith. et al. 2007 también han concluido que el método es mejor (421).

Es de mencionar, que en el caso del ratio 260/280, el valor de las muestras de sangre es bueno (alrededor de 2). Sin embargo, al referirnos al ratio de 230/260, los valores resultaron ser un poco bajos. Este hecho puede influir en el experimento

inhibiendo la reacción de q-PCR. En nuestro caso, hemos realizado pruebas previas y se observó que no hubo inhibición, por lo que las pruebas de q-PCR se pudieron finalmente desarrollar sin problemas.

## **B. Discusión de la expresión de los transportadores de cinc**

Para observar los resultados de expresión, se utilizando los valores de  $\Delta Ct$ , se generó un mapa de calor (*heat map*: figura 31), en el que en rojo se muestran las mayores expresiones. La intensidad de color va disminuyendo hasta llegar al negro, y donde se considera que el gen probablemente desaparece.

Para verificar si el gen se encuentra en las muestras, se realiza una electroforesis en gel de agarosa.

Observando la grafica de calor (figura 31), se puede decir que en el grupo control (sGC) los genes que están en niveles bajos o posiblemente no se encuentran expresados, se presentan en color negro. Éstos son el ZnT10, Zip 2 y Zip 12 y, posiblemente, el ZnT8.

Como podemos observar en grafica de calor, los más expresados son los genes Zip 4, Zip 9 y ZnT7.

En los pacientes críticos al inicio y final del periodo de seguimiento en UCI (PCi y sPCf), se puede observar que los genes que se encuentran expresados en niveles bajos o posiblemente no están expresados (color negro), son los ZnT10, ZnT2, ZnT3, ZnT8, Zip 2 y Zip 12.

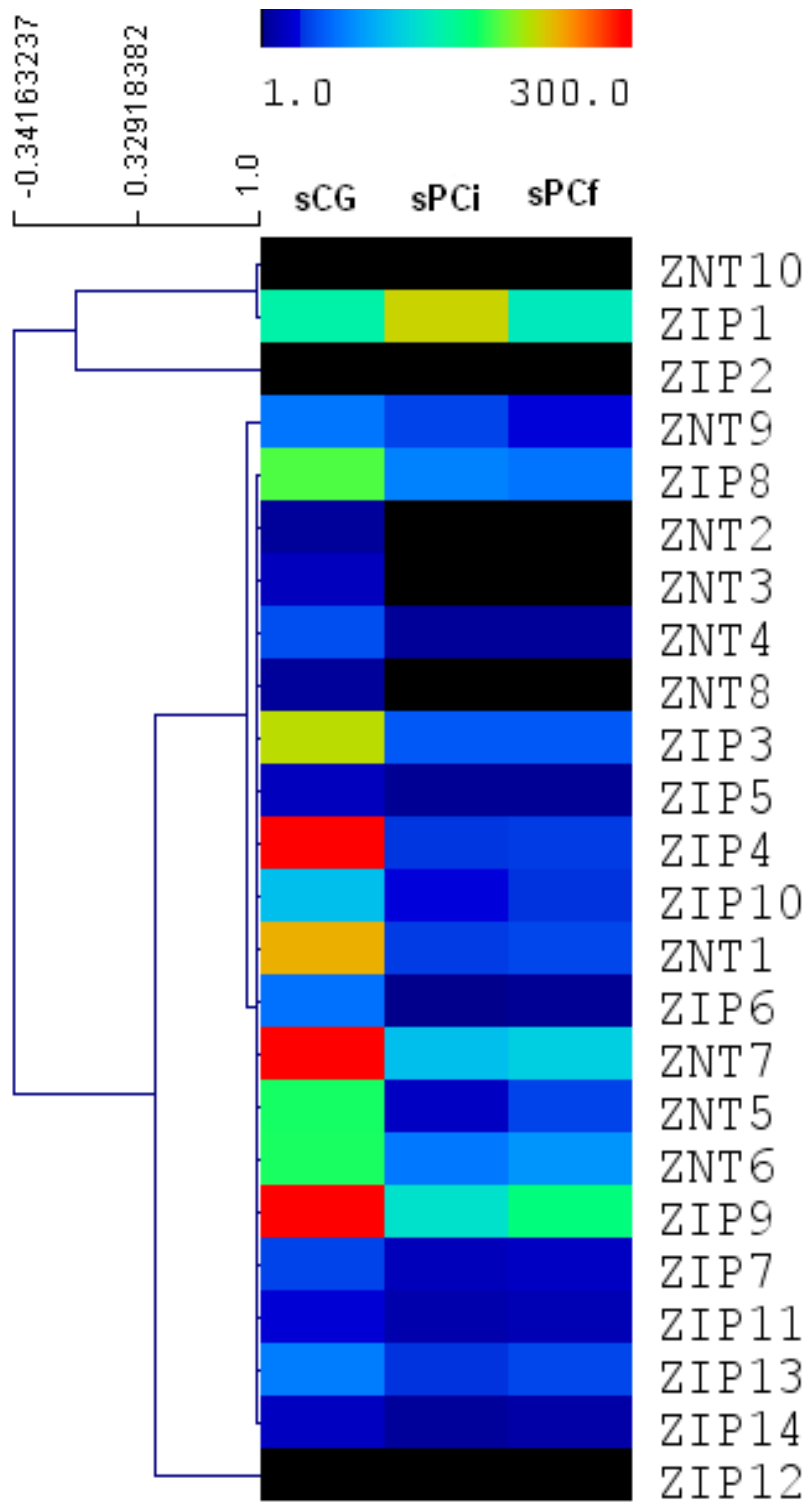
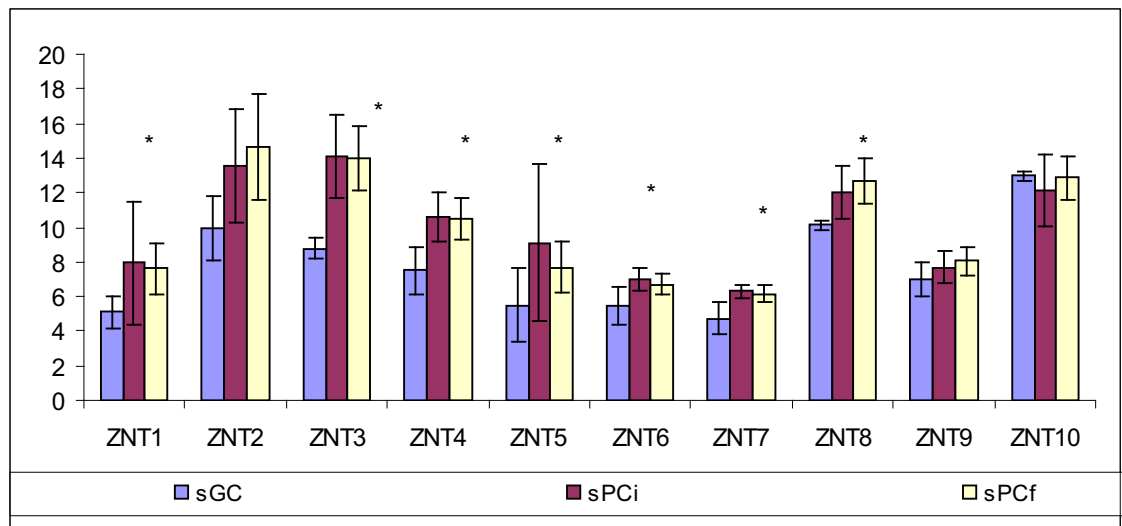


Figura 31. Heat map (las diferentes franjas corresponden a los grupos sGC, sPCi, sPCf)

Tras electroforesis en gel, se observan las bandas correspondientes de los transportadores ZnT8 y ZnT10 evidenciadas, por lo tanto, es necesario realizar más estudios sobre estos genes para confirmar los resultados obtenidos.

### C. Comparación controles - pacientes

Al realizar la prueba estadística *t de Student* entre la expresión de los transportadores de cinc de los diferentes grupos de individuos, se encontraron las diferencias significativas mostradas en el grafico 26, para los ZnT's y grafico 27 para los Zip's, respectivamente.

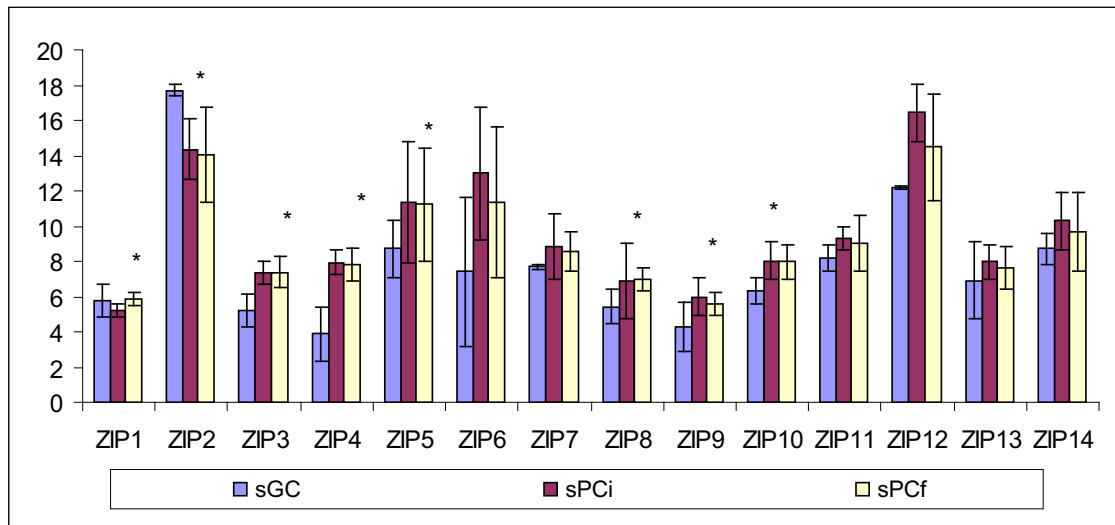


\* $p < 0,05$

Grafico 26. Los ZnT

Según los resultados obtenidos, se encontraron diferencias significativas entre la expresión de los siguientes transportadores:

- ZnT1, ZnT8 (sCG vs. sPCf)
- ZnT3, ZnT4, ZnT5, ZnT6 (sGC vs. sPCi, sCG vs. sPCf)



\*p<0,05

Grafico 27. Los Zip's

Igualmente, se encontraron diferencias significativas entre la expresión de los Zip's:

- Zip2, Zip3, Zip4, Zip5, Zip9, Zip10. (sGC vs. sPCi, sGC vs. sPCf)
- Zip8 (sGC vs. sPCf)

Al realizar el análisis estadístico comparativo mediante la prueba *t de Student*, entre los valores obtenidos en el paciente crítico al inicio y al final del periodo controlado de estancia en UCI, se encontró una diferencia significativa en el Zip1.

Al determinar la expresión relativa de los transportadores de cinc de los sPCi con SIRS comparando con sGC, se puede decir que todos los transportadores de cinc que presentan valores < 1 son bajo-regulados, por tanto la expresión del gen baja, y todos los que presentan valores >1, están alto-regulados, y la expresión del gen aumenta (grafico 28).

Al observar la expresión relativa, (grafico 28), se puede decir que los genes ZnT2, ZnT3, ZnT4, ZnT6, ZnT7 son bajo-regulados. En los ZnT1, ZnT5, ZnT8, ZnT9, la DE es demasiado grande y no se puede determinar, siendo necesarias más pruebas que confirmen los resultados. En el caso del ZnT10, se observa que es un gen alto-regulado, pero la DE es grande. Observando el mapa de calor, el gen es bajo-

expresado pero esta evidenciada la banda tras hacer la electroforesis, por lo tanto se necesitan futuras investigaciones sobre este gen para afianzar el resultado.

Un aspecto interesante, es destacar que el ZnT3 se encuentra en nuestras muestras de sangre, mientras, según literatura especializada, es específico de tejido cerebral (320, 337). En el caso de los ZnT4, ZnT5, ZnT6, ZnT7 sí hay evidencia de que se encuentran en las células sanguíneas (394).

Por otro lado, en el caso de los Zip's: Zip3, Zip4, Zip6, Zip9, Zip10, Zip11 y Zip12 se muestran estables y bajo regulados en pacientes con SIRS. En los Zip2, Zip5, Zip7, Zip8, Zip13 y Zip14 la DE es grande por lo que no se puede predecir con exactitud.

En el caso del Zip12, el gen es estable aunque la expresión es baja. En los estudios se demuestra que es un gen con expresión alta en tejido de retina. En caso de los genes Zip 3, Zip4, Zip6, Zip9, Zip10 y Zip11 son comunes de varios tejidos incluso sangre.

En general, se puede decir que la mayoría de los transportadores en sPCi son bajo- regulados, excepto los ZnT10 y Zip1.

En el caso de ZnT10 la expresión es baja. En caso de Zip1 es un gen alto regulado y el nivel de expresión es alto. Por lo tanto este gen podrá ser utilizado como biomarcador de la enfermedad crítica.

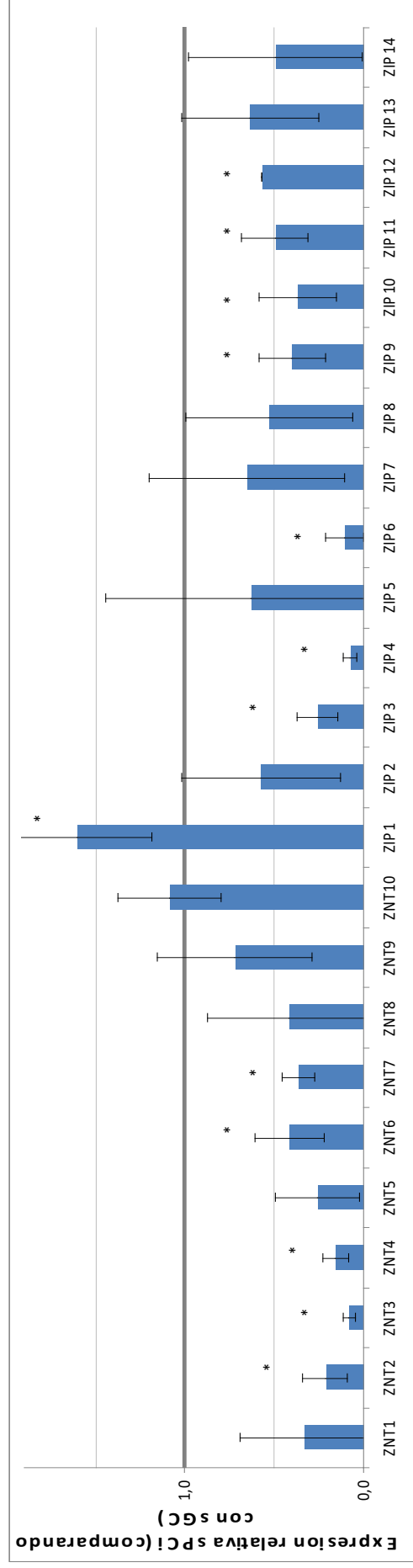


Grafico 28 Expresión relativa de los transportadores de cinc sPCi comparado con GC



#### D. Análisis de bivalente de correlación entre los transportadores de cinc y cinc de los distintos compartimentos sanguíneos

Al hablar del GC, no se encontraron correlaciones significativas entre los valores de cinc de distintos compartimentos y los transportadores de cinc.

En caso de los sPCi se encontraron las siguientes correlaciones entre la expresión de los transportadores de cinc y los valores bioquímicas

En caso de pacientes al inicio al realizar el análisis estadístico de correlación entre los valores de parámetros bioquímicos y los de ingesta de cinc, con los niveles de expresión obtenidos de los transportadores de cinc y se encontró una correlación significativa entre Zip7 y cinc plasmático ( $r=-0,883$ ,  $p=0,008$ ), y el Zip8 y cinc en sangre total ( $r= - 0,650$ ,  $p=0,022$ ), en caso de pacientes al inicio de la estancia (sPCi).

En caso de pacientes, en punto final los resultados de asociación entre los valores de cinc en distintos compartimentos y la expresión de los transportadores de cinc, se encontró significación en Zip7 y cinc plasmático ( $r=-0,841$ ,  $p=0,036$ ), en Zip14 y cinc sangre total ( $r=0,829$ ,  $p=0,042$ ), y en Zip14 e ingesta de cinc ( $r= -0,812$ ,  $p=0,05$ ). También se encontró correlación positiva entre ZnT1 y cinc en plasma ( $r=0,928$ ,  $p=0,008$ ). El ZnT1 es un gen con una importante función en la absorción y transferencia de cinc, demostrándose que con el déficit de cinc la expresión del gen baja (326).

Se encontró una correlación significativa entre los valores plasmáticos de cinc y ZnT2, ZnT10, ( $r= 0,841$ ,  $p=0,03$ ;  $r= 0,928$ ,  $p=0,008$ ), pero la expresión de los genes es baja.

Se puede observar que en caso del gen Zip7 tanto el inicio como al final, se correlaciona negativamente con el cinc plasmático. En los estudios se demuestra que el Zip7 puede ser reprimido por la suplementación de cinc (395). Se demuestra que el ZIP7 es un componente crítico en la redistribución de cinc a partir de depósitos intracelulares en citoplasma (395). La expresión génica y la localización del Zip 7 se mantienen sin cambios por el estatus de cinc.

En los estudios se demuestra que Zip8 es un gen muy importante en el sistema inmune, presentándose en nuestros resultados, correlación con el cinc en sangre total. El Zip 8 es un gen que protege el epitelio pulmonar. La inhibición de Zip8 reduce el contenido de cinc celular y produce la alteración de la función mitocondrial (400). Aydemir et al. (2009), han encontrado en células T una expresión alta del Zip 8 y está localizado en lisosomas (402).

En caso de Zip14 y cinc de sangre total se observa una correlación positiva pero se correlaciona negativamente con la ingesta.

Se encontró asociación entre Zip14 y las citoquinas inflamatorias IL<sub>6</sub> y TNF- $\alpha$  en inflamación en hígado (319, 408). Lang et al (2007), demuestra que los niveles de Zip 14 aumentan en pacientes con inflamación aguda del epitelio aéreo del pulmón que se normaliza con la suplementación pero no afecta los niveles de mRNA de la citoquinas. (339).

Otros estudios (418), demuestran “*en vitro*” que el gen Zip14 disminuye su expresión mediante el IL<sub>6</sub> y que este transportador de cinc juega su papel principal en el mecanismo responsable de la hipocinemia que acompaña en la fase de respuesta aguda a la inflamación e infección.

## **E. Los transportadores de cinc como biomarcadores de enfermedad crítica**

### **Conforme a los resultados obtenidos se puede destacar que:**

La expresión de los transportadores Zip4, Zip9, ZnT7 están bajo regulados y estables y no son influidos ni por los valores bioquímicos y ni por la ingesta de cinc de los pacientes críticos, por lo tanto se pueden utilizar como potenciales biomarcadores para la enfermedad crítica.

En caso del Zip1, se muestra que es un gen alto-regulado y es estable. Zip 1 es el único transportador que varía con la enfermedad, presentando una alta expresión, por lo tanto podemos decir que es un potencial biomarcador predictor de la enfermedad crítica.

## 5.6. Discusión sobre análisis multivariante de regresión logística

Las variables empleadas en el modelo inicialmente fueron aquellas que demostraron mediante estudios de correlación, influir de manera directa en la variable dependiente, que hemos determinado sea “deficiencia” en cinc en sangre total al 7 día de estancia en UCI del paciente crítico, con valores de 1= no deficiente y 0 = deficiente.

Se empleó el método de *introducir*, y fuimos añadiendo variables independientes que al incorporarlas al modelo iban modificando o no la significación en la relación de la variable “deficiencia” con todas las demás.

Así se llegó al modelo de regresión más sencillo a la vez que eficiente, formado por las variables que realmente mostraban su significación al comparar entre sus valores en los grupos deficiente y no deficiente.

Después de incorporar parámetros nutricionales involucrados, como el hierro, el calcio, el cobre, magnesio, en sangre (eritrocito y plasma), y parámetros clínicos como la homocisteína, transaminasas, PCR, Factor reumatoide, IL, etc este modelo finalmente quedó formado por las variable de cinc en sangre total, y la variable de magnesio y hierro en células.



## ***Conclusiones***



## **6. Conclusiones del estudio**

Respecto a las Características de la muestra

1. Los resultados de nuestro estudio muestran que durante la estancia del paciente crítico en la UCI, existe un empeoramiento significativo de los enfermos, demostrado por el incremento en escalas específicas de gravedad como el APACHE y el SOFA para 35% de la población crítica.
2. El porcentaje de pacientes que sufren desnutrición proteica al inicio de la estancia es del 68.5%, lo que demuestra que es una población especialmente frágil, aumentando hasta un 80% después de su estancia durante 7 días en UCI.

Respecto a la ingesta

3. El aporte de energía y macronutrientes en la población crítica es significativamente menor que en el grupo control y en ningún caso alcanza los 2/3 de las recomendaciones para estas situaciones extremas.
4. El porcentaje de pacientes que presentan aporte insuficiente de cinc es del 61,6% en los pacientes que reciben nutrición enteral y de un 50% si es por vía parenteral.
5. Los pacientes que reciben soporte nutricional mixto, presentan un aporte más adecuado de cinc que aquellos a los que se les administra la nutrición por vía enteral o parenteral aislada.

Respecto a los valores bioquímicos

6. Contrariamente a lo que refiere la bibliografía, en nuestros resultados hemos encontrado que los **valores plasmáticos** medios de cinc para los pacientes son superiores a los del grupo control sano..
7. Sin embargo, al analizar el contenido de cinc en **células sanguíneas** nuestros resultados muestran valores estadísticamente inferiores en la población crítica respecto a la control.
8. Por consiguiente, al realizar el análisis en **sangre total** se observan diferencias significativas lógicas entre los niveles inferiores de cinc en el paciente crítico al inicio y final de la estancia en UCI, respecto a la población control.
9. Los resultados obtenidos en nuestro estudio, muestran que los pacientes críticos duplican la deficiencia de cinc a los controles en sangre total.
10. Al analizar el análisis bivariante, se observa una asociación entre el cinc en sangre total al final del periodo de estancia estudiado en el paciente, con los valores de magnesio y hierro en las células, durante el mismo periodo de tiempo.

#### Respecto a la expresión génica

11. En el grupo control, los resultados muestran que se encontraron expresados 8 de los transportadores de la familia ZnT y 12 de la familia Zip's en la muestra de sangre total, estando disminuida o anulada en los transportadores ZnT8, ZnT 10, Zip 2 y Zip 12.
12. En caso de los pacientes críticos, los resultados muestran que en sangre total existen 6 de los transportadores de la familia ZnT y 12 de los de la familia Zip,s. Posiblemente, los transportadores ZnT2, 3, 8 y 10, y Zip,s 2 y 12, presentan una expresión baja o nula en la muestra de sangre total.

#### Conclusión final



Nuestros resultados parecen indicar que el paciente crítico con Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica presenta un riesgo de deficiencia en Cinc, desde el inicio de su estancia en UCI. Esta situación es susceptible de empeorar si no se corrige y puede alterar diferentes sistemas clave como el inflamatorio, el antioxidante y el inmunológico.

Por tanto, es importante un ajuste de las recomendaciones existentes para el enfermo crítico, estableciendo las cantidades precisas de minerales y especialmente de cinc, dada su implicación en mecanismos básicos en el equilibrio orgánico, aproximando dichos niveles a los requerimientos reales para la situación tan especial que representa el paciente crítico y monitorizar los niveles plasmáticos de minerales, especialmente el cinc, como posibles variables predictoras de alteraciones causadas por una deficiencia subclínica de las mismas.

Por otro lado, nuestros resultados muestran que los cambios de expresión en los transportadores Zip4, Zip9 y el ZnT7 posiblemente puedan ser utilizados como biomarcadores de la enfermedad crítica según nuestros resultados, pudiendo el Zip1 ser un marcador de cambio dentro de la enfermedad crítica.

Estos hechos nos sirven de punto de partida de una nueva línea de investigación que servirá para confirmar la utilidad de éstos biomarcadores en el ámbito clínico-nutricional.



## ***Abstract and conclusions***



**TITLE: CONTROLLED STUDY OF ZINC AS A BIOMARKER OF THE CLINICAL-NUTRITIONAL STATE OF THE CRITICALLY ILL PATIENT WITH SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME**

DOCTORAL STUDENT: DANIELA IOANA FLOREA C.

**ABSTRACT**

Nutritional Status Assessment in groups of healthy or ill people is a useful method to relate the habits of a population to its health status. Their metabolic stress situations makes critically ill patients a special population that requires nutrition monitoring according to specific protocols in which an attempt is made to adjust macro- and micronutrient intakes to its true needs.

Critical patients need adequate levels of the mineral zinc due to its role as a metalloenzyme and to help maintain the structural integrity of molecules involved in the metabolism of other nutrients.

Therefore, the aim of this study was to assess the zinc nutritional status of a critical population with Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) in hospitals of Granada province (Spain) in comparison to a control group in order to determine any inadequate zinc intake and clinical or subclinical deficiency and shed light on the true requirements of these patients.

This study focuses on the following issues: analysis of food and nutrient intake, clinical and anthropometric evaluation, and analysis of possible correlations between the antioxidant enzyme superoxide dismutase (zinc-dependent) and the intake and biochemical levels of zinc.

In addition, a molecular study of gene expression was used to perform a detailed analysis of zinc transporters (ZnT and Zip) in both critically ill and control

subjects, which may explain why some patients recover from the inflammation, whereas others worsen until they die.

## **SUBJECTS AND METHODOLOGY**

The general design is based on a controlled, multi-centre, prospective observational and analytical study with follow-up in critical care patients from their ICU admission to the seventh day of their stay, comparing them with a control group of healthy individuals with similar characteristics.

The healthy control group (CG) comprised 60 individuals aged between 32 and 59 years, (mean of  $46.4 \pm 7$  yrs), 28 males (47%) and 32 females (53%) from Granada province (Southern Spain). Inclusion criteria were: informed consent to participation in the study and the absence of any disease that could affect their nutritional situation.

The critical patient (CP) group comprised 40 patients aged between 37 and 74 years ( $58.1 \pm 11.6$  yrs), 23 males (58%) and 17 females (42%) from Granada province. Inclusion criteria were: meeting diagnostic criteria for SIRS, APACHE II score  $>15$ , and informed consent of close family member. The mean ICU stay was 7 days. Patients have low points of study (PCi, PCf).

The following studies were conducted in both groups:

1. Anthropometry
2. Evaluation of intake
3. Measurement of biochemical parameters.
4. Study of the expression of zinc transporter genes

### 1. Anthropometry:

- Controls: measurement of weight and height
- Critical patients:
  - Calculation of height from knee-ankle length
  - Calculation of weight from height.
  - Measurements of:  
brachial muscle circumference

tricipital skinfold  
arm muscle circumference

## 2. Evaluation of intake

Controls: a questionnaire with the following sections was used:

- personal data and consumption habits
- food intake frequency questionnaire

Critical patients: intake was assessed according to the nutritional support protocol in the ICUs during a stay of 7 days in the ICU

## 3. Measurement of biochemical parameters

Biochemical parameters were determined in both groups. In the critical patients, measurements were made at two time points: at the start of the study and after ICU stay. Biochemical parameters included: albumin, prealbumin, creatinine, total cholesterol, HDL, LDL, GOT, GGT, CPK, rheumatoid factor, IL 10, IL 6, leukocytes, and SOD, among others.

Zinc measurement: plasma and cell samples were mineralized by wet method and the zinc content was measured in triplicate by using atomic absorption spectrometry (Perkin Elmer A. Analyst 300, Norwalk, CT, USA).

Superoxide dismutase (SOD) was measured using a specific spectrophotometry assay kit for research (BIOXYTECH SOD – 525)

## 4 Study of the expression of zinc transporter genes

For this purpose, a representative sample of 12 controls and 12 critical patients was extracted, matched for age and sex. The nutritional evaluation was also performed in subgroup.

RNA extraction technique  
Blood and RNA Preparation

2.5 ml of human peripheral blood was stored in *PAXgene*<sup>™</sup> whole-blood RNA tubes (Preactix) and separated following standard methodology (Qiagen) before storage at -80°C. Total RNA was extracted and purified using *PAXgene*<sup>™</sup> *Blood RNA Kit* (Qiagen). RNA concentration and integrity were measured using NanoDrop spectrophotometer and Bioanalyser2100, respectively. Only samples with 260/280 ratio >1.9 and RNA integrity value (RIN) >7 were used.

The total RNA mean yield from 2.5 mL of whole blood was,  $138.3 \pm 71.7$  ng/ $\mu$ l for the sCPi group  $178,8 \pm 109,1$  ng/ $\mu$ l for the sCPf group and  $157.7 \pm 36,7$  ng/ $\mu$ l for the sCG . Optical density ratios (260/280) were 1.35 –2.11

#### Expression of zinc transporters in whole human blood

For cDNA synthesis, 2  $\mu$ g (2 $\mu$ l) of RNA samples were reverse-transcribed using SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen, Carlsbad). Quantitative RT-PCR was performed in HT7900 (Applied Biosystem) using cycle parameters of 95°C for 5 minutes, followed by 40 cycles of 90°C for 15 seconds and 60°C for one minute for all ZIP and ZNT SYBRgreen primers. Melt curve analysis was done to ensure specific amplification of products. Glyceraldehyde 3-Phosphate Dehydrogenase (GAPDH), Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein (YWHAZ) and Ubiquitin C (UBC) were used as controls to normalise the data. Negative controls with no cDNA included showed no amplification.

The average Ct value for the housekeeping gene, 18S, was 17. Because qPCR data are generally not reliable at Ct values above 30, this was considered the limit of quantitation. Therefore, any individual qPCR data-point of zinc transporters with a delta-Ct of 13 (=30-17) or higher were set at 13.

#### Statistical analysis

All analyses were performed with version 17.0 of the Statistical Package for Social Sciences (SPSS, Chicago, IL, USA). Differences were considered significant at the 5% probability level. Data were expressed as means and standard deviation (SD). A study of normality was performed, and the Student's t-test was used to compare mean values.



**RESULTS AND DISCUSSION:**

The critical care population showed no significant differences with the control population in any of the sociodemographic variables studied. The most frequent diseases presented by the patients on ICU admission were respiratory (25.7%), cardiovascular (31.4%) and abdominal (42.9%).

**1. Anthropometry**

Weight, height and body mass index (BMI) were similar between the critical care patients and controls and between the sexes.

In the CG, 51.9% of the whole group (45.8% of males, 56.7% of females) was within normal BMI values.

In the CP group, 11% of the males were within normal BMI range and 44.4% of the females, while a higher percentage of the male patients were overweight (44.4%) and obese (33.3%). A degree of protein malnutrition was observed in 63 % of the critical care population at the beginning of their ICU stay, and in 80% of them after 7 days in the ICU.

**2 Evaluation of intake**

Enteral nutrition (EN) was received by 41.2% of the critical care patients, parenteral nutrition (PN) by 26.5 % NP, mixed nutrition (EN + PN) by 17.6 % and artificial nutrition plus oral diet (AN + OD) by 14.7%.

Comparison of macronutrient intakes showed an energy intake < 2/3 of recommendations by only 14% of the CG in comparison to 60% of the CP group.

**Zinc intake**

There is a wide range of recommendations for zinc intake, from a minimum of 4 mg/day for women and 5.5mg/day for men to 12 mg/day for women and 15 mg/day for men.

The mean Zn intake for the whole control group was  $8.93 \pm 1.97$ , with a mean of  $8.87 \pm 2.13$  for the males and  $8.98 \pm 1.87$  for the females. For the overall population 14.3% had a Zn intake below recommendations (20% of the males and 9.7% of the females). The zinc intake in the control group was somewhat low but within the range of normality applied in Spain and the European Union (EU).

The mean zinc intake for the CP group was  $7.74 \pm 4.92$ , with a mean of  $8.47 \pm 5.23$  for the males and  $7.1 \pm 4.6$  for the females, i.e., close to the lower limit of requirements for the EU and Spain and at the limit for the United Kingdom.

The intake was  $< 2/3$  of recommendations in 23% of the patients on EN, 12.5% of those on P N and 0% of those receiving EN+PN or AN+OD. No significant differences in mean zinc intake were found between the CG and the patients on EN or EN+PN.

Among the male patients, 66.7% of those on EN and 33% of those on PN had a deficient zinc supply. Among the female patients 58% of those on EN, 60% of those on PN and 33% of those on AN+OD had a deficient supply.

The Zn intake was deficient in only 14% of the CG according to Spanish recommendations (Moreiras et al., 2004). In the CP group, 61% of those on EN and 50% of those on PN had a deficient Zn supply.

### **Biochemical assessment**

The critical care patients showed the expected alterations in biochemical variables with respect to reference values and the healthy individuals due to their hypercatabolic situation, the presence of SIRS and, in many cases, sepsis.

### **Zinc content in plasma, blood cells and whole blood**

Normal ranges for plasma zinc values are not well established. It is known that the amount of this mineral in blood is highly modifiable.

It even changes as a function of the timing of the blood extraction and the fasting or non-fasting situation of the patient is fasting, among others.

Our findings for plasma and red blood cell zinc values were similar to those reported in other studies (table 1).

	Zn Plasma		Zn Blood cells		Zn Whole blood
	$\mu\text{mol/L}$	%	$\mu\text{mol/L}$	%	$\mu\text{mol/L}$
<b>CG</b>	25.2 $\pm$ 9.51	13.24	164.6 $\pm$ 84.8	86.4	95.2 $\pm$ 47.0
<b>CPi</b>	32.7 $\pm$ 23.7	25.2	94.8 $\pm$ 41.4	73.0	64.9 $\pm$ 25.0
<b>CPf</b>	34.1 $\pm$ 25.4	27.3	98.2 $\pm$ 44.4	78.6	66.1 $\pm$ 27.1

Table1. Mean values in  $\mu\text{mol/L}$  of zinc in plasma, blood cells and whole blood and percentage of zinc supplied by each in the Control Group (CG) and the critical patients at the start (CPi) and end (CPf) of the study

### Zinc deficiency in plasma

According to the plasma levels observed, a zinc deficiency was suffered by 4.3% of the control group, 21.1% of the patients at their ICU admission and 22.6% of them after 7 days in the ICU.

The small increase in the percentage of the ICU patients with zinc deficiency over the study period did not reach statistical significance, which may be because the time period was too short to detect a significant depletion in this mineral.

### Zinc deficiency in whole blood

According to the whole-blood levels observed, a zinc deficiency was suffered by 22.4% of the healthy controls in comparison to 47% of the critical patients at the start of their ICU stay and 50% after 7 days of ICU stay.

We analyzed the contribution of each compartment to the total amount of zinc in blood. In the control group, 86% of the zinc was in blood cells and 13.2% in plasma. In the CPi group, 25.2% of the zinc was in plasma at their ICU admission and 27.3% in plasma after 7 ICU days (figure 1).

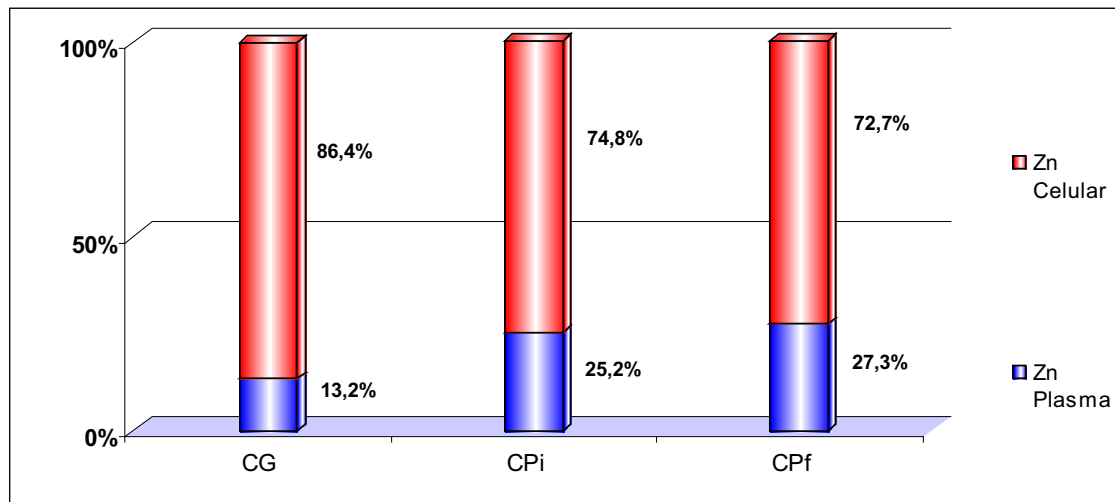


Figure1: Percentage of zinc in the different blood compartments

### Correlations between zinc values and other biochemical values

Multiple correlations were found between zinc values and other biochemical parameters.

In the CG, Zn was correlated with copper, calcium, phosphorus, potassium, C-reactive protein (CRP), and leukocytes, among others.

In the CPi group, Zn was correlated with urea, total proteins, creatinine and LDL, among others

In the CPf group, Zn was correlated with IL10, SOD, alkaline phosphatase and CRP, among others.

### Gene expression study

A representative subgroup of each study group (sCG, sCPi an sCPf) was formed for gene expression study as well as for the evaluation of the studied intake and biochemical parameters.

### ZnT and Zip zinc transporters

The purpose of this study was to determine the expression of genes encoding for the 24 known zinc transporters in blood and monitor changes in the levels of these

genes between controls and patients. Available studies on zinc transporters have been in other types of tissue and in other disease settings.

The amounts and quality RNA derived from these blood samples closely resembled those previously reported (Isaksson and Nilsson, 2006) (419).

It should be noted that the value of the samples was good for the 260/280 ratio (around 2) but somewhat low for the 230/260 ratio (< 1,8), which may influence the experiment by inhibiting the q-PCR reaction. However, the q-PCR tests could be performed without problems after preliminary tests demonstrated the absence of inhibition.

Table 2 summarises the  $\Delta$  Ct obtained using the averages of 3 housekeeping genes in the qRT-PCR measurements.

sCG	sCPi	sCPf	sCG	sCPi	sCPf
ZNT7	ZNT7	ZNT7	ZIP4	ZIP1	ZIP9
ZNT1	ZNT6	ZNT6	ZIP9	ZIP9	ZIP1
ZNT6	ZNT9	ZNT1	ZIP3	ZIP8	ZIP8
ZNT5	ZNT1	ZNT5	ZIP8	ZIP3	ZIP3
ZNT9	ZNT5	ZNT9	ZIP1	ZIP4	ZIP13
ZNT4	ZNT4	ZNT4	ZIP10	ZIP13	ZIP4
ZNT3	ZNT8	ZNT8	ZIP13	ZIP10	ZIP10
ZNT2	ZNT10	ZNT10	ZIP6	ZIP7	ZIP7
ZNT8	ZNT2	ZNT3	ZIP7	ZIP11	ZIP11
ZNT10	ZNT3	ZNT2	ZIP11	ZIP14	ZIP14
			ZIP14	ZIP5	ZIP5
			ZIP5	ZIP6	ZIP6
			ZIP12	ZIP2	ZIP2
			ZIP2	ZIP12	ZIP12

Table 2 Zinc transporters in blood samples from higher (top) to lower (bottom) expression

In the control group low or no expression was detected for ZnT10, Zip 2, Zip 12 and possibly ZnT8 genes were at low levels; Zip 4, Zip 9 and ZnT7 genes showed the highest expression.

In the critically ill patients (both sCPi and sCPf groups) low or no expression was detected of ZnT10, ZnT2, ZnT3, Zip 5, Zip 6, Zip 2 and Zip 12 genes and maybe ZnT8.

Comparison of the transporter expression data among the different groups yielded the following significant differences according Student's t test:

In ZnT1 and ZnT8 genes between sCG and sCPf and in ZnT3, ZnT4, ZnT5 and ZnT6, ZnT7, genes between sCG and sCPi and between sCG and sCPf

In Zip2, Zip3, Zip4, Zip5, Zip9 and Zip10 genes between sCG and sCPi and between sCG and sCPf, in Zip8 between sCG and sCPf.

In Zip 1 between sCPi and sPCf.

Determining the relative expression of the different transporters in the SIRS patients compared to controls we found that ZnT2, ZnT3, ZnT4, ZnT6, ZnT7 were significantly down regulated. The standard deviation was too large for ZnT1, ZnT5, ZnT8, ZnT9 results, and further tests are required to confirm these findings. ZnT10 was found to be upregulated, but the standard deviation was again too large for the results to be reliable and more studies are needed.

It was surprising finding that ZnT3 might be expressed in blood samples, given that it is described in the literature as specific to brain tissue (320, 337, and 422). ZnT4, ZnT5, ZnT6, ZnT7 have previously been reported in blood (394).

Zip 3, Zip4, Zip6, Zip9, Zip10, Zip11 and Zip12 appeared to be significantly down-regulate in SIRS.

Zip 1 was the only gene whose expression was significantly upregulated in SIRS patients

### **Bivariate analysis**

In the CG, no significant correlations were found between the zinc values in different compartments and zinc transporters.

In the sCPi group (i.e., at ICU admission), significant correlations were found between plasma zinc and Zip7 ( $r = -0.883$ ,  $p = 0.008$ ) and between whole-blood zinc and Zip8 ( $r = -0.650$ ,  $p = 0.022$ ) expressions.

In the sCPf group (i.e., at 7 days), significant correlations were found between plasma zinc and Zip7 ( $r = -0.841$ ,  $p = 0.036$ ), between whole-blood zinc and Zip14 ( $r = 0.829$ ,  $p = 0.042$ ) and between zinc intake and Zip14 ( $r = -0.812$ ,  $p = 0.05$ ).

According to these findings, Zip4, Zip9, ZnT7 are not influenced by biochemical values or the zinc intake of the patients and can therefore be used as potential biomarkers of the presence of critical illness.

Zip1 expression was low in the controls but elevated in both sCP groups. It was the only transporter affected by the presence of critical illness, for which it is also a potential biomarker to monitor the progression of critical disease.

### **Multivariate logistic regression analysis**

Variables that significantly differed between zinc-deficient and non-deficient groups were considered for the model, including nutritional variables (e.g., iron, calcium, copper, magnesium) in red blood cells and plasma and clinical variables (e.g., such as homocysteine, transaminase, PCR, rheumatoid factor, and IL values, etc). The final model was formed by zinc in total blood and magnesium and iron in cells.

### **Abbreviations**

NE - Enteral nutrition

NE –parenteral nutrition

DO – oral diet

AN – artificial nutrition

ZnT (SCL 30) - zinc transporters (Solute Carrier Family 30)

Zip (SCL 39) - zinc transporters (Solute Carrier Family 39)

CPi, CPf - critical patient initial, final (sCPi, sCPf - subgroups)

CG – control group (sCG - subgroups)

## **6. Study conclusions**

Regarding the characteristics of the sample

1. The results of our study show a significant worsening in critical patients during their ICU stay, evidenced by increases in specific severity scales such as APACHE and SOFA for 35% of critically ill.
2. The percentage of patients with protein malnutrition at the start of ICU stay was 68.5%, reflecting an especially fragile population, and this percentage rose to 80% after 7 days in the ICU.

Regarding intake

3. The supply of energy and macronutrients in this critical care population was significantly lower than in the control group and never reached two-thirds of recommendations for these extreme situations.
4. An insufficient supply of zinc was found in 61.6% of the patients on enteral nutrition and in 50% of those receiving parenteral nutrition.
5. Patients receiving mixed nutritional support had a more adequate supply of zinc in comparison to those on enteral or parenteral nutrition alone.

Regarding biochemical values

6. Contrary to reports in the literature, we found mean **plasma** zinc values to be higher in the critical patients than in healthy controls.
7. However, the zinc content of **blood cells** was found to be significantly lower in the critical patients than in healthy controls.



8. Consequently, **whole blood** levels of zinc in critical patients were significantly lower at the start and end of 7 days of ICU stay than in the healthy controls..
9. Results obtained in our study show that whole blood zinc values were two-fold higher in deficiency in the critical patients than in the controls.
10. Bivariate analyses show that whole blood zinc values at the end of the 7-day ICU stay were associated with cell magnesium and iron concentrations during the same time period.

#### Regarding gene expression

11. In the control group, 8 transporters of the ZnT's family and 12 of the Zip's family were detected in whole-blood samples. We observe low or no expression of ZnT8, ZnT10, Zip 2 and Zip 12 transporters.
12. In the critical patients, 6 transporters of the ZnT's family and 12 of the Zip's family we found in blood sample. ZnT2, 3, 8 and 10 and Zip 2 and 12 transporters possibly showed low or null expression in whole-blood samples..

#### Final conclusion

Our results appear to indicate that the critical care patient with systemic inflammatory response syndrome presents a risk of zinc deficiency from the start of their ICU stay. This situation can worsen if not corrected and can alter key inflammation, antioxidant and immunological systems, among others.

It is therefore necessary to adjust current recommendations for the critical patient, establishing specific amounts of minerals, especially zinc, given their involvement in fundamental organic balance mechanisms. Levels should be raised to meet the real requirements in the special situation of the critical patient, and plasma concentrations of minerals, especially zinc, should be monitored as possible predictors of disorders produced by their subclinical deficiency.

Our results also reveal that changes in the expression of Zip4, Zip9 and ZnT7 transporters could possibly be used as biomarkers of critical disease and that Zip1 could be a potential biomarker to monitor the progression of critical disease.

These findings represent a starting-point for a new research line to confirm the usefulness of these biomarkers in the clinical-nutritional setting.





## ***Referencias bibliográficas***



**7.- Referencias bibliográficas**

- 1 ASPEN Board of Directors and Standars Committee. American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. Definition of terms, style, and conventions used in ASPEN guidelines and standards. *Nutr Clin Pract* 2005; 20: 281-285.
- 2 Carmuega E, Duran P. Valoración del Estado Nutricional en niños y adolescentes. *Boletín CESNI*. Junio 2000.
- 3 Passmore R, Nicol MM, Naraya Rao M. Manual sobre las necesidades nutricionales del hombre. FAO/OMS. Ginebra: 1975; 74.
- 4 de Miguel de Paz R. Valoración nutricional. *Tratato de enfermería y Cuidados Criticos Pediatricos y Neonatales* Capítulo 100, 2007 ISSN: 1885-7124.
- 5 Mattaix J y col. *Nutrición y alimentación humana*, 2007. vol I y II .Ed Ergon.
- 6 Martínez García P. Valoración del estado de nutrición en el paciente crítico. *Hospital Universitario Puerto Real*. Puerto Real (Cádiz)[editorial] Archivos de la SAMIUC.
- 7 Casanova Román M. Técnicas de valoración del estado nutricional. *Voz pediátrica* 2003; 11,1: 26-35 .
- 8 Acosta Escribano J, Gómez-TelloyV, Ruiz Santana S. Valoración del estado nutricional en el paciente grave. *Nutr Hosp* 2005; XX (Supl. 2) 5-8 ISSN 0212-1611 .
- 9 Cañete E N, Sabio C V. Valoración del estado nutricional 2001 cap 1 p 1- 28.
- 10 Hebat A, Szurpik J, Rodriguez N, Lodo E, Niembro S, Kriskovich ME, et al. Evaluación del estado de nutrición en pacientes hospitalizados. *Revista Nuestro Hospital* 1997 Año 1 N° 3.
- 11 Cousins RJ, Hempe JM. Cinc. En: Brown ML, Filer LJ, Guthire HA Conocimientos actuales sobre nutrición. OPS. Washington: 1991; 289-300.
- 12 Villa E I, Navarro B I, Martín P A. Elementos traza. En: Hernández M y Sastre A. *Tratado de Nutrición*. Ediciones Díaz de Santos, S.A. Madrid: 1999; 229-247.
- 13 Fianza F. *Nutritional status assessment*. London: Chapman Hall 1991; 355-95.
- 14 Gibson R. *Principles of nutritional assessment*. Oxford (NY): Oxford University Press 2005.
- 15 Taylor B, Krenitsky J. *Nutrition in the Intensive Care Unit: Year in Review 2008-2009*. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2010; 34(1):21-31
- 16 Merck. *Manual de diagnóstico y terapéutica*. Ed. Merck Sharp Dohme. Research Labor, 1980.
- 17 Behara AS et al. Nutrition Support in the Critically Ill: A Physician Survey. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2008; 32(2):113-119.
- 18 Sobotka L, *Basics in clinical nutrition Third Edition Galen* 2004 ISBN 80- 7262-292-7,
- 19 Adhikari N. Nutrition for critically ill patients. *Critical Care* 2005; 9:E10 (DOI 10.1186/cc2929),
- 20 Domínguez Perera MA. Algunas consideraciones bioéticas en el paciente crítico. *Rev Cub Med Int Emerg* 2003; 2:84-92,
- 21 García de Lorenzo A. et al. Scores pronósticos y criterios en el pacienye critico. Ed Ergon 2006; sec ed.
- 22 Dossier de SEPSIS. Nestlé España S.A. [www.nestle.es/nutricionclinica](http://www.nestle.es/nutricionclinica), 2006.
- 23 Ortiz Leyba C, Jiménez Jiménez FJ, Garnacho Montero J. Nutrición parenteral en el paciente crítico ;2006 cap 16 p 400- 442.
- 24 Mouly J, del Amo AN. Actualización en el Síndrome Inflamatorio de Respuesta Sistémica

- 25 Ceriani R, Masón M, Bortone F, Gandini S, Solinas C, Susini G, Parodi O. *Application of the Sequential Organ Failure Assessment. Score to Cardiac Surgical Patients Chest* 2003; 123; 1229-1239.
- 26 Gómez Candela C, Martín Peña G, de Cos Blanco AI, Iglesias Rosado C, Castillo Rabaneda R. *Evaluación del estado nutricional en el paciente oncológico. Soporte Nutricional en el Paciente Oncológico Unidad de Nutrición Clínica y Dietética. Hospital Universitario La Paz. Universidad Autónoma de Madrid* 2004 cap 4, p 43- 56.
- 27 Ballabriga A, Carrasosa A. *Nutrición en la infancia y adolescencia, Valoración del estado nutricional* 2005 cap 5 p143 - 158.
- 28 García Álvarez ML, Arranz Pérez I, Roldán Sánchez MA, Velázquez Coca C, Millán Galante M, Bernal Porcel P. *Valoración del estado nutricional de los pacientes en nuestra unidad de hemodiálisis. Prevalencia de malnutrición Clínica San Carlos. Fresenius Medical Care. Sevilla* 2004 I TRIMESTRE 99, nº 5 .
- 29 Hernández G J, Rodríguez R W, Breijo P A, Sánchez CA. *Estado nutricional de los pacientes atendidos en una unidad hospitalaria de cuidados críticos. Rev Cubana Aliment Nutr* 2007; 17(2): 129 – 135.
- 30 Martínez Costa C, Pedrón Giner C. *Nutrición - Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría Valoración del estado nutricional* 2002 Cap 9 p 375 -382
- 31 Gómez A B. *Evaluación del estado nutricional del adulto mediante la antropometría. Revista Cubana Aliment Nutr* 2002;16(2):146-52.
- 32 De La Torre I. *Nutrición Enteral y Parenteral - Nutrición artificial – editorial junio* 2009 <http://jobetancourt.wordpress.com/> .
- 33 Janezic X, O’Conor C, Bazán N. *Evaluación del estado nutricional. Manual LAFyS de Nutrición y Deporte* 2005; Capitulo 2.
- 34 Gibney MJ, Elia M, Ljungqvist O, Dowsett J. *Nutrición clínica. Ed. Acribia* 2004
- 35 Xandri Graupera JM. *Valoración nutricional. Revista de enfermería* 2003; ISSN 1695-6141.
- 36 Delgado R M, Gómez C C, Cos Blanco AI, Iglesias R C, Fernández I MV, Castillo R R, Mateo L R, González JA. *Evaluación nutricional en pacientes con gastrectomía total. Nutr Hosp* 2002; XVII (5): 236-239 .
- 37 Goiburu-Bianco ME, Jure-Goiburu MM, Bianco-Cáceres HF, Filártiga A, Lawes C, Ortiz C. *Encuesta sobre el nivel de formación en nutrición de médicos intensivistas en hospitales públicos de Asunción Nutr. Hosp. 2005 XX (5) 326-330.*
- 38 Gómez Ayala AE. *Nutrigenómica y nutrigenética. OFFARM, 2007; 26(4)*
- 39 Marti A, Moreno-Aliaga MJ, Zulet MA, Martínez JA. *Avances en nutrición molecular: nutrigenómica y/o nutrigenética. Nutr. Hosp. 2005;XX (3): 157-164.*
- 40 *Nutrientes [editorial] 2000 cap 4 p: 93 -101.*
- 41 Huarte E, Barril G, Cebollada J, Cerezo S, Coronel F, Doñate T, *Consenso nutrición y análisis. SEDYT Dial Traspl. 2006;27 :138-61. vol.27 no 04.*
- 42 González. MP, Hernandez OO, Pérez AG, Zamora DG , Olite PL *Evaluación nutricional del paciente crítico www.monografias.co.m*
- 43 Muguercia L H, Pérez DL, Pérez A H, Herrera ML, Duarte Díaz M, Arias R E, González Sánchez M. *Nutrición enteral vs. Nutrición parenteral en el paciente crítico ACTA MEDICA* 2003;11(1): 26-37.
- 44 Jensen TG. *Determination of nutritional status in critical care. J Am Diet Assoc* 1984; 84: 1345-1348.
- 45 Manning EMC, Shenking A. *Nutritional assesment in the critically ill. Crit Care Clin* 1995; 11: 603-634.
- 46 Pinto Fontanill JA, Carbajal A A, Martínez Á JR, García Me JI, Negro J A, Aguirre M R. *La dieta equilibrada, prudente o saludable. Depósito Legal: M. 44.285-2006 .*
- 47 Martínez JM. *Nutrición [editorial] www.monografias.com .*
- 48 Varela G, Moreiras O, Carbajal A, Campo M. *Encuestas de presupuestos familiares 1990-1991: Estudio nacional de nutricional y alimentación 1991. Madrid: Instituto Nacional de*



- Estadística; 1995.
- 49 Willett WC, Stampfer MJ. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. *Am J Epidemiol* 1986; 124:17-27.
- 50 Serra Majem L, Román B, Aranceta Bartrina J. Alimentación y nutrición. Informe SESPAS 2002.
- 51 Linder MC. Nutrición: aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos. EUNSA. Pamplona 1988; 505.
- 52 Hamosh P y Hamosh M. Differences in composition of preterm and term weaning milk. En: Xanthou M, ed. *New aspects of nutrition in pregnancy, infancy and prematurity*. Elsevier Science Publishers, London, 1987; pp. 129-141.
- 53 Olivares M, Pizarro F, de Pablo S, Araya M, Uauy R. Iron, zinc and copper: contents in common Chilean foods and daily intakes in Santiago, Chile. *Nutrition* 2004; 20: 205-12.
- 54 Osendarp SJ, West CE, Black RE. The need for maternal zinc supplementation in developing countries: an unresolved issue. *J Nutr* 2003; 133(3):817S-827S.
- 55 Costa Marques R y cols. Zinc Nutritional Status in Adolescents with Down Syndrome Humana Press Inc. 0163-4984 1559-0720 .
- 56 Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Consumo Alimentario en España 1990. Tomo II. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaría General Técnica 1991; 965-1801.
- 57 Tejero IS Valoración del estado de nutrición {editorial} 2002.
- 58 Resultados de la valoración nutricional de una población Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Navarra {editorial} 2006 p:22-39.
- 59 Elmadfa I, Aign W, Fritzsche C. Tablas de calorías, vitaminas y minerales. *Manuales integral*. Editorial RBA Libros, S.A. Barcelona, 1999. <http://scielo.isciii.es> .
- 60 Real Decreto 1138/90, de 14 de septiembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para el abastecimiento y control de las aguas potables de consumo público. BOE (226):27488-97.
- 61 National Research Council. Raciones Dietéticas Recomendadas. Subcommittee on the Tenth Edition of RDAs. 1ª edición española de la 10ª edición original de: Recommended dietary allowances (1991). Ediciones Consulta, S.A. Barcelona, 1991.
- 62 Dupin H y Herberg S. Epidemiología de las malnutriciones calórico-proteicas en el niño pequeño y políticas de prevención. En: Feroso J (coord). *Nutrición y Salud Pública. Abordaje epidemiológico y políticas de prevención*. Ediciones CEA, SA, Madrid, 1998; pp. 177-200.
- 63 Menéndez A M, Weisstaub A, Montemerlo H, Alloatti S, Guidoni M E, Rusi F, de Portela M L. Relación entre las cantidades de cobre y zinc administradas a pacientes graves con nutrición parenteral total y los niveles de cobre y zinc en plasma y eritrocitos. *Nutr Hosp* 2008; 23(4):373-382 ISSN 0212-1611.
- 64 Menéndez A M, Weisstaub A, Montemerlo H, Rusi F, Guidoni M E, Piñero A, de Portela M L. Contenido de zinc y cobre en los componentes individuales de las mezclas para fórmulas pediátricas de nutrición parenteral total. *Nutr Hosp* 2007; 22(5): 545-51 ISSN 0212-1611.
- 65 Mesejo Arizmendi A. *Nutrición Clínica Y Dietética* ISBN: 84-482-2579-1 Depósito Legal: V. 4507-2000.
- 66 Barranco J. Valoración nutricional integral del paciente hospitalizado –editorial
- 67 Grant JP. Nutritional Support in Critically *Annals of surgery* 1994 220 ( 5): 610-616
- 68 García Vila B, Grau T. La nutrición enteral precoz en el enfermo grave. *Nutr. Hosp.* 2005 XX (2) 93-100 ISSN 0212-1611.
- 69 Webster NR, Galley HF. Nutrition in the critically ill patient. *Academic Unit of Anaesthesia and Intensive Care, University of Aberdeen J.R.Coll.Surg.Edinb., 45, Der* 2000, 373-379.
- 70 Llubí C. Nutrición artificial en el paciente postquirúrgico {editorial} 2001.
- 71 Miguel A Nutrición enteral y parenteral [editorial] 2004.

- 72 Wøien H. Nutrition of the critically ill patient and effects of implementing a nutritional support algorithm in ICU Critical Care. *Journal of Clinical Nursing* 2006; 15: 168-177
- 73 Gottschlich MM et al. Core currículo en apoyo nutricional 2009.
- 74 Carvajal A. "Manual de nutrición"; Anatomía humana; Nutrición y Dietética [www.lucm.es/info/nutri1/carvajal/presentacion.php](http://www.lucm.es/info/nutri1/carvajal/presentacion.php).
- 75 Guillén-Mayorga D, Cáliz-Peratto E. Evaluación del estado nutricional de pacientes hospitalizados *Rev Med Post Unah* Vol.4No.2 Mayo-Agosto, 1999.
- 76 Guisan F. et al. *Manual de cuidados críticos postquirúrgicos*. ARAN 2006; ISBN 84-95913-79-8.
- 77 A.S.P.E.N: Board of Directors: *Clinical Pathways and Algorithms for Delivery of Parenteral and Enteral Nutrition Support in Adults*. A.S.P.E.N., Silver Spring; 1998.
- 78 Welsh L, Casanueva E, Zúñiga A, Meza C, Tejero E. Efecto de la cirugía (cesárea) sobre el estado de nutrición en vitamina C y Zinc en gestantes. *Sanas Perinatol Reprod Hum sep.* 2004; v.18 n.3 México.
- 79 Gómez N, Herrero J, Quiroga J. Tratamiento de las enfermedades hepáticas y biliares, La nutrición en el enfermo hepático. 2001, cap 50 p 499 -516
- 80 Dejeas CC, Klaassen J Asistencia Nutricional [editorial] 2001 <http://escuela.med.puc.cl/publ/TemasMedicinaInterna/nutricion.html>.
- 81 Leandro-Merhi VA, Díez García RW, Braga de Aquino JL. Atención nutricional convencional (ANC) en pacientes quirúrgicos hospitalizados. *Nutr Hosp, Madrid* 2007; v.22 n.4.
- 82 Nutrición Enteral, Servicio de Farmacia del Hospital Psiquiátrico de Álava Boletín informativo 2004 no 4. p 1- 22.
- 83 Rosa A, More L. Nutrición enteral, protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría 2002 cap 5 p 333 -342.
- 84 Ortega P, Martí E, Villalobos JL, de La Morena L, Llop J, Cardona D, et al. Farmacia Hospitalaria, Terapéutica nutricional 2002 cap 22 p 1517 - 1562.
- 85 Leandro-M AV, Díez G RW, Mònaco DV, Marqués de Oliveira MR. Comparación del estado nutricional, consumo alimenticio y tiempo de hospitalización de pacientes de dos hospitales, uno público y otro privado *Nutr. Hosp.* v.21 n.1 Madrid ene.-feb. 2006
- 86 Echeverri de Pimiento S, Patiño JF, Vergara A, Carvajal CM, Castillo M. Guía para nutrición enteral. *Actual Enferm* 2005; 8(1): 32 - 39.
- 87 Gómez C C, Iglesias R C, de Cos Blanco AI. *Manual de nutrición clínica. Unidad de Nutrición Clínica y Dietética. Hospital Universitario LA PAZ. Madrid* 2001.
- 88 Pérez Rodrigo MA, Planas M. Nutrición desde principio SENPE, SEMER 2008.
- 89 Solórzano-Sandoval N, Cáliz-Peraito E. Evaluación del estado nutricional de pacientes hospitalizados en salas de medicina interna *Rev Med Post Unah* Vol. 5 No. 2 Mayo-Agosto, 2000
- 90 García de Lorenzo y Mateos A, Acosta Escribano J, Bonet Saris A. Nutrición artificial en el paciente politraumatizado. *Nutr. Hosp.* 2005; XX (Supl. 2): 47-50 ISSN 0212-1611
- 91 A.S.P.E.N. Board of Directors and the clinical Guidelines Taskforce. Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. *JPEN* 2002; 26 (Supl.): 95SA-96SA.
- 92 Moreno Villares JM, Gomis Muñoz P. Nutrición parenteral Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría cap. 6 p 343 - 351 2002.
- 93 García de Lorenzo A, Álvarez J, Bermejo T, Gomis P, Piñeiro G. Micronutrientes en nutrición parenteral. BAXTER - SENPE 2009.
- 94 Santini MG. Zinc su uso parenteral Revisión 3 : *Biotecnológica C.A.* 5-11-2002.
- 95 Dejeas CC, Klaassen J Asistencia Nutricional 2001 - editorial.
- 96 SENPE Protocolos para la prescripción de nutrición parenteral y enteral Documento 2-C-EP-1998.
- 97 Arias J, Aller MA, Fernández ME, Arias JI, Lorente L *Propedéutica quirúrgica* 2004 ISBN 84- 954447-59-2.

- 98 Echeverri de Pimiento S, Patiño JF, Vergara A, Carvajalo CM, Castillo M. Guía para nutrición parenteral. *Actual Enferm* 2003; 6(3):31-38.
- 99 Montejo JC, Zarazaga A, Lopez-Martinez J, Blesa AL, Celaya S, Conejero R, Galban C, Garcia De Lorenzo A, Grau T, Mesero A, Ortiz-Leyba C, Planas M, Ordonez J, Jiménez FJ. Immunonutrition in Critically Ill Patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2004; 28: 192.
- 100 Griffiths RD. Is parenteral nutrition really that risky in the intensive care unit?. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7(2):175-81.
- 101 Singer P et al. ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: Intensive care Clinical Nutrition 2009; 28: 387-400.
- 102 Protocolo de nutrición enteral y parenteral del Hospital Virgen de la Nieve 2009 Granada
- 103 National Research Council. Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc. Institute of Medicine/Food and Nutrition Board. National Academy Press. Washington DC, 2001.
- 104 Maret W. Metallothionein redox biology in the cytoprotective and cytotoxic functions of zinc. *Experimental Gerontology* 2008; 43: 363-369.
- 105 Martínez JA. Nutrición y Recomendaciones Dietéticas. *Fundamentos Teórico-Prácticos de Nutrición y Dietética*. Ediciones EUNATE, Pamplona, 1996; pp. 71-79.
- 106 Russel R et al. Dietary reference intake. ISBN 0-309-072794 – ISBN 0-309-07290-5 USA 2002.
- 107 Zinc: papel en la inmunidad, el estrés oxidativo y la inflamación crónica. *Nutrition Learning* 2009 .
- 108 Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA). La alimentación en España. Madrid: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Dirección General de Alimentación; 2008.
- 109 Ibs KH y Rink L. Zinc-altered immune function. *J Nutr* 2003; 133(5 Supl. 1):1452S-1456S.
- 110 Sandstead H. Requirements and toxicity of essential trace elements, illustrated by zinc and Koper. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 621S-4S.
- 111 Prieto M, Imboden R. Vitaminas y Minerales <http://www.nutrinfor.com.ar>.
- 112 Minerales Nutrición K, ABC de la nutrición, 2008.
- 113 Phillips GD, Garnys VP. Parenteral administration of trace elements to critically ill patients. *Anaesth Intensive Care* 1981 Aug; 9(3): 221-5.
- 114 Crouser E, Exline M, Knoell D, Wewers MD. Sepsis: links between pathogen sensing and organ damage. *Current Pharmaceutical Design*. Volume 14 Issue 19 ISSN: 1381-6128 pp.1840-1852.
- 115 Hurtado Bredda FJ, Nin Vaeza N, Rubbo Amonini H. Estrés oxidativo y nitrosativo en la sepsis *Med Intensiva*. 2005; 29(3):159-65.
- 116 Hurtado Bredda FJ, Nin Vaeza N, Rubbo Amonini H. Estrés oxidativo y nitrosativo en la sepsis. *Med Intensiva*. 2005; 29(3):159-65.
- 117 Abilés J, Lobo G, Pérez de la Cruz A, Rodríguez M, Aguayo E, et al. Valoración de la ingesta de nutrientes y energía en paciente crítico bajo terapia nutricional enteral. *Nutr. Hosp*. 2005 XX (2) 110-114 ISSN 0212-1611
- 118 Bertolini G, Iapichino G, Radizzani D et al. Early enteral immunonutrition in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med* 2003; 29:834-840
- 119 Hehir DJ, Phelan DM. Nutrition in the critically ill. *Ir Med J*. 1992 Mar; 85(1): 25-8.
- 120 Ortega F FJ, González O FJ, Malpica B AL. Soporte nutricional del paciente crítico: ¿a quién, cómo y cuándo?. *Nutr. Hosp*. 2005; XX (Supl. 2) 9-12 ISSN 0212.
- 121 Kobayashi K, Katsuya Y, Abdulah R, Koyama H. Rapid and Direct Determination of Selenium, Copper, and Zinc in Blood Plasma by Flow Injection-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry 0163-4984/(Online) 1559-0720/07/11501-087.
- 122 Huerta EH, Rodríguez AV Metodología recomendada para la medición del contenido de zinc en especímenes biológicos *Química Clínica* 2003; 22 (1).

- 123 Sauberlich HE. In: Wolinsky I, editor. *Laboratory tests for the assessment of nutritional status*. Boca Raton (fla): CRC Press; 1999. p. 313.
- 124 Henriquez P, Díaz C, Rodríguez E, López F, Álvarez E, Díaz J, et al. *Biochemical assessment of nutritional status in the Canary Island population*. *Archivo Latinoam Nutr* 2000; 50 (Suppl 1):43-53.
- 125 Barberá R, Farré R. *Biodisponibilidad de los elementos traza*. *Rev Esp Cienc Tecnol Alim* 1992; 34(4): 381-399.
- 126 *Assessing population zinc status with serum zinc concentration IZiNCG 2007*.
- 127 Tondo M, Lambruschini N, Gomez-Lopez L, Gutierrez A, Angels García-Cazorla JM, Pérez-Dueñas B, Pineda M, Campistol J, Vilaseca MA, Artuch R. *The monitoring of trace elements in blood samples from patients with inborn errors of metabolism J Inherit. Metab Dis* 2009 Jan 6.
- 128 Stutman O. *Interleuquinas y función de las células T*. *Inmunología* 1983; vol, 2, no 4.
- 129 Christou NV, Meakins JL, MacLean LD. *The predictive role of delayed hypersensitivity in preoperative patients Surg Gynecol Obstet*. 1981 Mar; 152(3):297-301.
- 130 *Inmunonutrición en pacientes críticos*. en CD\_ROM. (Monografía en CD- ROM). Cristobal G. primer Congreso de Medicina Crítica en Internet. *Critical web design*. 1999
- 131 *Evaluación nutricia [editorial]* 2007.
- 132 Silvia I. *Nutrición enteral en el paciente crítico. Causas de la inadecuación entre lo indicado y lo recibido*. *Enfermería global* ISSN 1695-6141 2005.
- 133 Habashi F. *Discovering the 8th Metal. A History of Zinc*, International Zinc Association (IZA), 2002.
- 134 *Quantifying the risk of zinc deficiency IZiNCG 2007*.
- 135 *Zinc is... Natural [editorial, ] www.zincworld.org 2004*.
- 136 Torres Acosta R, Bahr Valcarcel P. *El zinc: la chispa de la vida*. *Rev Cubana Pediatr Ciudad de la Habana* oct.-dic. 2004; v.76 n.4.
- 137 Stefanidou M, Maravelias C, Dona A, Spiliopoulou C. *Zinc: a multipurpose trace element Arch Toxicol* 2008; 80: 1-9 doi 10.1007
- 138 *ERNA Zinc 2004 [editorial]. www.erna.org*.
- 139 *Vinson JA. Zinc bioavailability 1991 [editorial]*.
- 140 Briefel RR, Bialostosky K, Kennedy-Stephenson J, McDowell MA, Ervin B, Wright JD. *Zinc intake of the U.S. population: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988- 1994*. *J Nutr* 2000; 130:1367S- 3S.
- 141 Grohnert O M, Castil Durán C, Arredondo Olguín M, Uauy Dagach-Imbarack R. *Cobre y zinc, 2005, cap 1.29. p 993- 996*.
- 142 Carruth BR. *Adolescencia*. En: Brown ML, Filer LJ, Guthrie HA y cols. (eds). *Conocimientos actuales sobre nutrición*. Washington: OPS: 1991; 375-384.
- 143 Hannon EM, Kiely M, Harrington KE, Robson PJ, Strain JJ, Flynn A. *The North/South Ireland food consumption survey: mineral intakes in 18-64 years-old adults*. *Public Health Nutr* 2001; 4:1081-8.
- 145 Lombardi-Boccia G, Aguzzi A, Cappelloni M, Di Lullo G, Lucarini M. *Total-diet study: dietary intakes of macro elements and trace elements in Italy*. *Br J Nutr* 2003; 90:1117-21.
- 146 Van Dokkum W. *The intake of selected minerals and trace elements in European countries*. *Ntr Res Rev* 1995; 8:271-302.
- 147 Santos Rocha PB, de Castro AA, de Sousa AF, do Monte SJ, da Mata Sousa LC, do Nascimento N N, et al. *Expression of the Zinc Transporters Genes and Metallothionein in Obese Women Biol Trace Elem Res*. 2010 Oct 30.
- 148 Serra-Majem L, Ribas L, García R, Ramón JM, Salvador G, Farran A, et al. *The evaluation of nutritional status in Catalonia, Spain 1992-9*. Barcelona: Departament de Sanitat i Seguretat Social. Generalitat de Catalunya; 1996.
- 149 Picciano MF. *Trace elements in human milk and infant formulas*. En: Chandra RK (ed). *Trace elements in nutrition of children*. Nestlé Nutrition. Vevey/Raven Press. New York:

- 1985; 157-174.
- 150 Ruano A, Poschenrieder Ch, Barceló J. El zinc, nutriente esencial para los seres vivos. *Circ Farm* 1989; 303: 181-200.
- 151 Soghoian S, Sinert RH. DO Toxicity, Heavy Metals Toxicity, Heavy Metals - eMedicine Emergency Medicine 2009.
- 152 Roney N, Smith CV, Williams M, Osier M, Paikoff SJ. Toxicological profile for zinc U.S. Department of health and human services. Public Health Service 2005.
- 153 Instituto de Estadística de Andalucía (IEA). Andalucía. Datos Básicos. Sevilla: Consejería de Economía y Hacienda, Junta de Andalucía; 2007. <http://www.juntadeandalucia.es/institutodeestadistica/>.
- 154 Rosado JL. Deficiencia de zinc y sus implicaciones funcionales. *Salud Pública, México* 1998; 40: 181-188.
- 155 Maverakis E, Fung MA, Lynch PJ, Draznin M, Michael DJ, Ruben B, Fazel N. Acrodermatitis enteropathica and an overview of zinc metabolism. *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 116-24.
- 156 Tuerk MJ, Faze N. Zinc deficiency Current Opinion in Gastroenterology 2009; 25: 136-143.
- 157 Salgueiro MJ, Weill R, Hernández-Triana M, Zubillaga M, Lysionek A, Goldman C, et al. Deficiencia de zinc en relación con el desarrollo intelectual y sexual. *Rev Cubana Salud Pública. Ciudad de La Habana abr.-jun. 2004; v.30 n.2.*
- 158 Beattie JH, Kwun IS ¿La Deficiencia de Zinc es un Factor de Riesgo Para la Aterosclerosis? *British Journal of Nutrition* 2004; 91:177-181.
- 159 Determining the risk of zinc deficiency: Assessment of dietary zinc intake IZiNCG 2007
- 160 Chiplonkar SA, Agte VV. Predicting Bioavailable Zinc from Lower Phytate Forms, Folic Acid and Their Interactions with Zinc in Vegetarian Meals *Journal of the American College of Nutrition* 2005; 25: 26-33.
- 161 Menéndez A M, de Portela M L, Weisstaub A, Montemerlo H, Guidoni M E, Rusi F, S. Zeni. Influencia del zinc administrado a pacientes críticos con nutrición parenteral sobre los niveles de zinc plasmático, proteína C reactiva, interleuquina-6 y receptor soluble de interleuquina-6. *Nutr Hosp* 2009; 24(3): 340-346 ISSN 0212-1611.
- 162 Fleming CR. Trace element metabolism in adult patients requiring total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 573-579.
- 163 Berger MM. Zinc: A Key Pharnaconutrient in Critically ill Patients? *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2008; 32: 582-587.
- 164 Hardy G. et al. Trace element supplementation in parenteral nutrition: Pharmacy, posology, and monitoring guidance *Nutrition* 25 2009 1073-1084.
- 165 Sriram K, Lonchyna VA. Micronutrient Supplementation in Adult Nutrition Therapy: Practical Considerations. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2009; 33: 548.
- 166 Rubio B, González Weller D, Martín-Izquierdo RE, Revert C, Rodríguez I, Hardisson A. El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp* 2007; 22(1): 101-107 ISSN 0212-1611
- 167 González-Reimers E, Martínez-Riera A, Santolaria-Fernández F. Relative and combined effects of ethanol and protein deficiency on zinc, iron, koper, and manganese contents in different organs and urinary and fetal excretion. *Alcohol* 1998; 16: 7-12.
- 168 Forbes G, Fracp MD, Forbes A. Micronutrient status in Patients Receiving Home Parenteral Nutrition. *Nutrition* 1997; 13:941- 44.
- 169 Conor Reilly B. Metal contamination of foods. *Applied Science Publishers Ltd. London: 1980; 354.*
- 170 Cámara F, Amaro MA. Nutritional aspect of zinc availability. *Int J Food Sci Nutr* 2003; 54(2): 143-151.
- 171 Reyes K, Orozco Y, Montero I, Montero T, Rivera M, Jiménez J Valor nutricional de los alimentos [editorial] 2008.

- 172 Schuhmacher MS, Domingo JL, Corbella J. Zinc and copper levels in serum and urine: relationship to biological, habitual and environmental factors. *Sci Total Environ* 1994; 148:67-72.
- 173 Willis MS, Monaghan SA, Miller ML, McKenna RW, Perkins WD, Levinson BS, et al. Zinc-induced copper deficiency: a report of three cases initially recognized on bone marrow examination. *Am J Clin Pathol* 2005; 123(1):125-131.
- 174 Scholmerich J et al. Bioavailability of zinc from zinc-histidine complexes. Comparison with zinc sulfate in healthy men. *J Clin Nutr* 1987; 45:1480-6.
- 175 Workshop papers 1999 Food and Nutrition Bulletin 2001; 22 (2) © The United Nations University.
- 176 Cousins RJ. Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev* 1985; 65:238-309.
- 177 Koizumi N, Inoue Y, Niomiya R. Relationship of cadmium accumulation to zinc or copper concentration in horse liver and kidney. *Environ Res* 1989; 49:104-114.
- 178 Bremner I, Beattie JH. Metallothionein and the trace minerals. *Annu Rev Nutr* 1990; 10:63-83.
- 179 Winichagoon P. Limitations and resolutions for dietary assessment of micronutrient intakes. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; 17 Suppl 1:296-8.
- 180 Kido T, Tsuritani I, Honda R. Selenium, zinc, copper and cadmium concentration in livers and kidneys of people exposed to environmental cadmium. *J Trace Elem Electroly* 1988; 2:101-104.
- 181 Goyer RA. Toxic and essential metal interactions. *Annu Rev Nutr* 1997; 17: 37-50.
- 182 Sandstead H. Trace elements in human nutrition. En: Winick M.. *Nutrition in the 20th Century*. John Wiley Sons. New York: 1984; 37-46.
- 183 Honda R, Tsuritani I, Ishizaki M. Zinc and copper levels in ribs of cadmium-exposed persons with special reference to osteomalacia. *Environ Res* 1997; 75: 41-48.
- 184 Lutostawska G, Fornal-Urban A. Zinc contribution to the regulation of glucose disposal, lipid metabolism and striated muscle contractions. *Medicina Sportiva Med Sport* 2009; 13: 28-34.
- 185 Queiroz de M AC, Almeida MG, Teixeira de Lima V, Azevedo D, Costa Lima K, dos Santos TL, de Fátima Campos L. Alteraciones En El Metabolismo Del Zinc Relacionadas A La Edad. 2008 [editorial].
- 186 Fairweather-Tait S, Harvey LJ, Ford D. Does ageing affect zinc homeostasis and dietary requirements? *Experimental Gerontology* 2008; 43: 382-388
- 187 Zalewski PD, Truong-Tran AQ, Grosser D, Jayaram L, Murgia C, Ruffin RE. Zinc metabolism in airway epithelium and airway inflammation: basic mechanisms and clinical targets. A review. *Pharmacol Ther* 2005; 105(2):127-149.
- 188 Spinneker A, Sola R, Lemmen V, Castillo MJ, Pietrzik K, González-Gross M. Vitamin B6 status, deficiency and its consequences-an overview. *Nutr Hosp*. 2007; 22:7-24
- 189 Harris W.R, Keen, C. Calculations of the distribution of zinc in a computer model of human serum. *J. Nutr.* 1989 119: 1677-1682.
- 190 Grundreiff K, Reinhold D. "Liver cirrhosis and liver diabetes mellitus are linked by Zn deficiency". *Med Hypotheses* 2005; 64(2): 315-7
- 191 Ilback NG, Benyamin G, Lindh U, Fohlman J, Friman G. "Trace element changes in the pancreas during viral infection in mice". *Páncreas* 2003; 26(2): 190-6.
- 192 Marchesini G, Bugianesi E, Ronchi M, Flamia R, Thomaseth K, Pacini G. "Zinc supplementation improves glucose disposal in patients with cirrhosis". *Metabolism* 1998; 47(7): 792-8.
- 193 Barceloux DG. Zinc. *J Toxicol Clin Toxicol* 1999; 37(2):279- 292.
- 194 Arnold LE, Pinkham SM, Votolato N. Does zinc moderate essential fatty acid and amphetamine treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder? *J Child Adolesc Psychopharmacol* 2000 Summer;10(2):111-7.

- 195 MacDonald RS. The role of zinc in growth and cell proliferation. *J Nutr* 2000; 130: 1550S-8S.
- 196 Hotz C and Brown KH. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) Technical Document; Assessment of the Risk of Zinc Deficiency in Populations and Options for Its Control *Food and Nutrition Bulletin*, 2004; vol. 25, no.1(suppl 2) ISSN 0379-5721.
- 197 Riba Bosch A, Miró Bernié N, Balet Sindreu C, Perez Clausell J. Changes in cerebral zinc distribution after kainic acid treatment. *Departament de Biologia celular, Universitat de Barcelona. Spain. Jun 2005 [editorial]*.
- 198 Silverman W.F. "Localization and function of zinc homeostatic proteins". Department of Morphology and The Zlotowski center for Neuroscience. Ben Gurion University of the Negev, Beer-Sheva, Israel. Jun 2005.
- 199 Grahm BH, Paterson PG, Gottschall-Pass KT, Zhang Z. Zinc and the eye. *J Am Coll Nutr* 2001; 20(2 Supl.): 106-118.
- 200 Levenson CW. Zinc supplementation: neuroprotective or neurotoxic. *Nutr Rev* 2005; 63(4): 122-125.
- 201 Mocchegiani E, Bertoni-Freddari C, Marcellini F, Malavolta M. Brain, aging and neurodegeneration: role of zinc ion availability. *Prog Neurobiol* 2005; 75(6):367-390.
- 202 Hsu JM. Current knowledge on zinc, copper and chromium in aging *World Rev Nutr Diet*. 1979; 33:42-69.
- 203 Dinsmore W, Callender M, McMaster D, Love A The absorption of zinc from a standardized meal in alcoholics and in normal volunteers *Am J Clin Nutr* 1985: 42:688 – 693.
- 204 Russell R, Munro I, Murphy S et al. DRI – reference intake- vitamin full report- Washington 2001, ISBN 0-309-07279-4 .
- 205 Rodríguez CM, Acosta M, Mira CG, Rivas CM. Deficiencia de cinc en niños con desnutrición aguda grave. *Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia* 2005; 13: 49-62.
- 206 Sanchez SB, Rovira R F *Importancia del cinc en la alimentación Nutricion Clinica* 1985p 61 -70
- 207 Rink L and Haase H. Zinc homeostasis and immunity. *Trends in Immunology* Vol.28 No.1 2006.
- 208 Hambidge KM, Miller LV, Westcott JE, Sheng X, Krebs NF. Zinc bioavailability and homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(suppl): 1478S–83S.
- 209 Zinc transporters and the cellular trafficking of zinc. *Biochimica et Biophysica Acta* 1763 2006; 711–722 Review.
- 210 *Minerales y Oligoelementos [editorial internet]*.
- 212 Bertoni-Freddari C, Fattoretti P, Casoli T, Di Stefano G, Giorgetti B, Baliatti M. Brain aging: The zinc connection *Experimental Gerontology* 2008; 43: 389–393 (Mini Review)
- 213 Person OC, dos Santos Botti A, Lancia MC. Cury Féres Repercussões clínicas da deficiência de zinco em humanos. *Arq Med ABC* 2006; 31(1): 46-52.
- 214 Passamai de Zeitune MI, Ramón AN, Cadena MEC. Un nutriente esencial en la adolescencia – valoración nutricional del cinc. *Adolescencia Latinoamericana* 1414-7130/2-61-66.
- 215 Mocchegiani E, Santarelli L, Fabris N. Zinc, human diseases and aging. En: *Metal Ions in Biology and Medicine*; vol 4, Eds. Ph. Collery, J. Corbella, J. L. Domingo, J. C. Etienne, J. M. Llobet: 1996; 566-568.
- 216 Colev V, Badescu M, Paduraru I, Mandrecci I, Bohotin C. The zinc metabolic disorder relation in experimental diabetes mellitus *Rom J Intern Med* 1994; 32(1): 71-75.
- 217 Boyd L. O'Dell Role of Zinc in Plasma Membrane Function. *J Nutr* 2000. 130: 1432S – 1436S.
- 218 Ho E. Zinc deficiency, DNA damage and cancer risk. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2004; 15: 572– 578.

- 219 Robert M. *Dégradation de la qualité des sols: risques pour la santé et l'environnement*. Bull Acad Natle Med 1997; 181:21-42.
- 220 Cornelis R, Borguet F, De Kimpe J. *Trace elements in medicine*. Anal Chim Acta 1993; 283: 183-189.
- 221 Chan S, Gerson B, Subramaniam S. *The role of copper, molybdenum, selenium, and zinc in nutrition and health*. Clin Lab Med 1998; 18(4):673-685.
- 222 Rubio Arredáriz C, González Weller D, Alonso S, Revert Girones C, Hardisson de la Torre A. Zn, Mn, Cu, Se, Cr: *Nutrición y suplementación Alimentaria* 2004; 353: 37-44.
- 223 Bertelli G, Cortona G, Odone P, Alessio L. *Indicadores biológicos para la valoración de la exposición a los compuestos químicos industriales: Cinc Comunidades Europeas, Bruselas, Luxemburgo, 1984*.
- 224 Dardenne M. *Zinc and immune function*. Eur J Clin Nutr 2002; 56 Supl. 3:20-23.
- 225 Gardner JM, Powell CA, Baker-Henningham H, Walker SP, Cole TJ, Grantham SM. *Zinc supplementation and psychosocial stimulation: effects on the development of undernourished Jamaican children*. Am J Clin Nutr 2005; 82(2): 399-405.
- 226 Bhatnagar S y Natchu UC. *Zinc in child health and disease*. Indian J Pediatr 2004; 71(11):991-995.
- 227 Arvanitidou V, Voskaki I, Tripsianis G, Athanasopoulo H, Tsalkidis A, Filippidis S, et al. *Serum copper and zinc concentrations in healthy children aged 3-14 years in Greece*. Biol Trace Element Res 2007; 115: 1-12.
- 228 Farvid MS, Jalali M, Siassi F, Saadat N, Hosseine M. *The impact of vitamins and/or mineral supplementation on blood pressure in type 2 diabetes*. J Am Coll Nutr 2004; 23(3):272-279.
- 229 Sang-Eul K Sang K N, Sung Ik. *"Marginal deficiency lowers the lymphatic absorption of alfa-Tocopherol in rats"*. J Nutr 1998; 128: 265-270.
- 230 Ferraz IS, Daneluzzi C, Vannucchi H, Jordão AA, Ricco RG, Del Ciampo LA, et al. *Zinc serum levels and their association with vitamin A deficiency in preschool children*. J Pediatr 2007; 83(6): 512-517.
- 231 Serrano del Castillo A, Jurado Chacón D, Sánchez Campos M, López Frias M. *Antioxidantes Vitaminas A, C y E en la prevención del cáncer*. Nutrición Clínica 1991; 11: 34-44.
- 232 López F M, Morales A O, Ochoa H J, Mataix V J. *Ingesta de vitamina A en la población adulta de la comunidad autónoma andaluza*. Nutr Hosp. Madrid 2005; v.20 supl.1.
- 233 Villegas García JA. *¿Son necesarios los suplementos de vitaminas y minerales?* VOLUMEN XXI - N.º 106 - 2005.
- 234 Peretz A, Papadopoulos T, Willems D, Hotimsky A, Michiels N, Siderova V, Bergmann P, Neve J. *Zinc supplementation increases bone alkaline phosphatase in healthy men*. Trace Elem Med Biol 2001; 15(2-3): 175-178.
- 235 Suzuki T, Ishihara K, Migaki H, Ishihara K, Nagao M, Yamaguchi-Iwai Y, Kambe T *Two different zinc transport complexes of cation diffusion facilitator proteins localized in the secretory pathway operate to activate alkaline phosphatases in vertebrate cells*. J. Biol. Chem. 2005 Sep 2;280(35):30956-62.
- 236 Favier M, Hininger-Favier I. *Zinc and pregnancy*. Gynecol Obstet Fertil 2005; 33(4): 253-258.
- 237 Merialdi M, Caulfield LE, Zavaleta N, Figueroa A, Costigan KA, Dominici F, Dipietro JA. *Randomized controlled trial of prenatal zinc supplementation and fetal bone growth*. Am J Clin Nutr 2004; 79(5):826-830.
- 238 Dillon JC. *Nutrición, defensas inmunes e infecciones*. En: Hermosos J. *Nutrición y Salud Pública. Abordaje epidemiológico y políticas de prevención*. Ediciones CEA SA, Madrid, 1988; pp. 343-358.
- 239 Ferencik M y Ebringer L. *Modulatory effects of selenium and zinc on the immune system*. Folia Microbiol (Praha) 2003; 48(3):417-426.
- 240 Prasad AS y Kucuk O. *Zinc in cancer prevention*. Cancer Metastasis Rev 2002; 21(3-4):291-295.



- 241 Prasad AS. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidant roles of zinc. *Exp Gerontol.* 2008 May;43 (5):370-7.
- 242 Bodgen JD. Influence of zinc on immunity in the elderly. *J Nutr Health Aging* 2004; 8(1):48-54.
- 243 Pincemai J, Vanbelle S, Gaspard U, Collette G, Haleng J, Cheramy-Bien JP et al . Effect of different contraceptive methods on the oxidative stress status in women aged 40–48 years from the ELAN study in the province of Liège, Belgium. *Human Reproduction* 2007; Vol.22, No.8: 2335–2343.
- 244 Lima Hernández LB. Estrés oxidativo y antioxidantes [editorial] 2004 [http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres\\_oxidativo\\_y\\_antioxidantes.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/estres_oxidativo_y_antioxidantes.pdf).
- 245 Tanaka T, Fernandes G, Tsao C, Pih K, Good RA. Effects of zinc deficiency on lymphoid tissues and immune function of A/Jax mice. *Fed Proc.* 1978, 37:931.
- 246 Fraker PJ, DePasquale-Jarlew P, Zwickl CM, Leuke RW. Regeneration of T-cell helper functions in zinc deficient adult mice. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1978: 75:5660
- 247 Cunningham-Rundles S. Zinc and Immune Function. *The Importance of Zinc for Health International Zinc Association (IZA).*
- 248 Prasad AS. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2009 Nov; 12(6):646-52.
- 249 Schiffer RB, Sunderman FW Jr, Baggs RB, Moynihan JA. The effects of exposure to dietary nickel and zinc upon humoral and cellular immunity in SJL mice *J Neuroimmunol.* 1991 Nov; 34(2-3):229-39
- 250 Jacob, R.A., Sandstead, H.H.; Solomons, N.W. et al. Zinc status and vitamina A transport in cystic fibrosis. *Am.J. Clin. Nutr.* 1978, 31: 638-644.
- 251 Mavarakis E, Lynch PJ, Fazel N. Acrodermatitis enteropathica *Dermatol. Online J.* 2007 Jul 13; 13(3):11.
- 252 Zinc [editorial] <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/natural/patient-zinc.html>
- 253 Hershfinkel M. "Zinc as a Signaling Molecule: The story of the Zinc Sensing receptor". Department of morphology and The zlotowski Center for Neuroscience, Ben Gurion University of the Negev, Beer- Sheva, Israel Jun 2005.
- 254 Lizardi-C J, Almeda P, Guevara L, Uribe M. Hepatic encephalopathy: a review. *Ann Hepatol.* 2003; 2:122-130.
- 255 Isbir T, Tamer L, Taytor A, Isbir M. "Zinc copper and magnesium status in insulin-dependent diabetes". *Diabetes Res* 1994; 26(1): 41-45.
- 256 Moyad MA. Zinc for prostate disease and other conditions: a little evidence, a lot of hype, and a significant potential problem. *Urol Nurs* 2004; 24(1):49-52.
- 257 Sánchez C, Jurado M L, Planells E, Llopis J, Aranda P Assessment of iron and zinc intake and related biochemical parameters in an adult Mediterranean population from southern Spain: influence of lifestyle factors *Journal of Nutritional Biochemistry* 20 2009, 125–131
- 258 García CC. Las versátiles proteínas zinc fingers. *Revista Química Viva* 2006; número 1, año 5.
- 259 Castro E Nutrient effects on DNA and chromatin structure *Ann. Rev. Nutr.* 1987, 7:407-21.
- 260 Fang Yz, Yang S, Wu G. "Free radicals, antioxidants, and nutrition". *Nutrition* 2002 Oct; 18(10): 872-9.
- 261 Ke K, Kornatowska D, Szezwczyk-Golec K, Czuczejko J, van Marke de umen K, Pawluk H, Motyl J, Karasek M, zef Ke J. Effect of melatonin on the oxidative stress in erythrocytes of healthy young and elderly subjects. *Journal compilation Blackwell Munksgaard Journal of Pineal Research* 2006.
- 262 Pérez DL y Larrondo Muguercia H. Medicina crítica y estrés oxidativo. *Rev Cubana Invest Biomed* 2000; 19(3): 196-8.
- 263 Abilés J, Pérez de la Cruz A, Castaño J, Rodríguez-Elvira M, Aguayo E, Moreno-Torres R, et al. Oxidative stress is increased in critically ill patients according to antioxidant vitamins intake, independent of severity: a cohort study. *Critical Care* 2006. 10(5):R146.

- 264 Torres-Domínguez A. Zinc: Relación con el estrés oxidativo y la diabetes. 2009; 34(4):190-196.
- 265 Andresen, Regueira, Leighton. Estrés oxidativo en el paciente crítico. *Rev Méd Chile* 2006; 134: 649-656.
- 266 Pérez de la Cruz A, Abilés J, Castaño Pérez J. Estrés oxidativo y su implicación en distintas patologías, *Nutrición clínica en medicina* 2008; II: 45-64.
- 267 Valentine SJ, Doucette PA, Zittin Potter S. Copper-zinc superoxide dismutase and amyotrophic lateral sclerosis *Annu. Rev Biochem* 2005; 74: 563-93.
- 268 Dhawan DK, Chadha VD. Zinc: a promising agent in dietary chemoprevention of cancer *Indian J Med Res.* 2010 Dec; 132(6):676-82.
- 269 Davies KJA and Pryor WA. The evolution of Free Radical. *Biology & Medicine: A 20-year history Free Radical Biology Medicine* 2005; 39: 1263- 1264.
- 270 Noor R, Mittal S, Iqbal J. Superoxide dismutase - applications and relevante to human diseases. *Med Sci Monit* 2002; 8(9): RA210-215.
- 271 Knoell DL, Liu MJ. Impact of zinc metabolism on innate immune function in the setting of sepsis. *Int J Vitam Nutr Res.* 2010 Oct; 80 (4-5):271-7.
- 272 Song Mk, Hwang Ik, Rosenthal Mj, Harris Dm, Yamaguchi Dt, Yip I, Go Vl. "Antidiabetic action of arachidonic acid and zinc in genetically diabetic Goto- Kakizaki rats". *Metabolism* 2003 Jan; 52(1): 7-12.
- 273 Sánchez-Rodríguez MA, Santiago-Osorio E, Vargas LA, Mendoza-Núñez VM. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. Volumen 29 No. 3 Julio-Septiembre 2004. p. 81-90.
- 274 Tenorio Borroto ME, Cortes R, Gonzáles E, Correa AM. El Cu, Zn y Mn Cofactores de la Superóxido dismutasa como indicadores de estrés oxidativo en la Hipertensión Arterial Esencial.
- 275 Ríos de Molina MC. El estrés oxidativo y el destino celular *Quimicaviva* Vol 2 No. 1, 2003, ISSN 1666-7948.
- 276 Nozik-Grayck E, Suliman HB, Piantadosi CA. Extracellular superoxide dismutase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005; 37: 2466-2471.
- 277 Gunaydin B, Sancak B, Candan S, Sariahmetog M, Özçag G, Tunçtan B, Çakici I, Akçabay M. Temporal variation of oxidant stress in critically ill patients. *Minerva Anesthesiol* 2007; 73: 261-6.
- 278 Casado A, de la Torre R, López-Fernández ME. Copper/zinc superoxide dismutase activity in newborns e young people in Spain *Indian. J Med Res* 125, May 2007, pp 655-660.
- 279 Rabbani et al. Dietary model for production of experimental zinc deficiency in man. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 1514-25.
- 280 Bhatnagar S Effects of zinc supplementation on child mortality Vol 369 March 17, 2007.
- 281 de Bortoli MC, Franciscato Cozzolino SM. Zinc and Selenium Nutritional Status in Vegetarians. *Biol Trace Elem Res* 2007; 12011-008-8245-1.
- 282 Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency and studies in an experimental human model. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 403-412.
- 283 Hambidge KM. Zinc deficiency in man: *Phil Trans R Soc Lond* 1981; B294: 129-144.
- 284 Kornhuber J, Lange KW, Kruzik P. Iron, Copper, Zinc, Magnesium and Calcium in postmortem brain tissue from schizophrenic patients. *Biol Psychiat* 1994; 36:31-34.
- 285 Brooks WA, Santosham M, Naheed A, Goswami D, Wahed MA, Diener-West M, Faruque AS, Black RE. Effect of weekly zinc supplements on incidence of pneumonia and diarrhoea in children younger than 2 years in an urban, low-income population in Bangladesh: randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366(9490):999-1004.
- 286 Kilic M, Baltaci AK, Gunay M. Effect of zinc supplementation on hematological parameters in athletes. *Biol Trace Elem Res* 2004; 100(1):31-38.
- 287 Grandío Zequeira O, Alfonso Novo L, Amador García M, Sánchez Peralta L. Efecto de la suplementación con cinc en la recuperación nutricional. *Rev Cubana de Pediatría* vol 67,

- No 1, 1995, ISSN 0034-7531.
- 288 Vilas MM, Fernández Montequín JI, García Lara L. Suplementos de cinc y función de las células inmunes en diabéticos. Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular. Vol. 5 No 1, ene - dec. 2004.
- 289 Fischer Walker C y Black RE. Zinc and the risk for infectious disease. *Annu Rev Nutr* 2004; 24:255-275.
- 290 Black MM, Baqui AH, Zaman K, Ake Persson L, El Arifeen S, Le K, et al. Iron and zinc supplementation promote motor development and exploratory behavior among Bangladesh infants. *Am J Clin Nutr* 2004; 80(4):903-910.
- 291 Cruz García LR. Efecto del zinc, como suplemento, para prevenir las infecciones respiratorias superiores en niños. Tesis 2004.
- 292 Pizarro F, Olivares M, Kain J. Hierro y cinc en la dieta de la población de Santiago. *Rev Chil Nutr* 2005 Vol 32 no 1.
- 293 Preventing zinc deficiency through diet diversification and modification IZiNCG 2007
- 294 Daniels WM, Hendricks J, Salie R, Van Rensburg SJ. A mechanism for zinc toxicity in neuroblastoma cells. *Metab Brain Dis* 2004; 19(1-2): 79-88.
- 295 Bogden JD, Oleske JM, Munves EM, Lavenhar MA, Bruening KS, Kemp FW, et al. Zinc and immunocompetence in the elderly: baseline data on zinc nutriture and immunity in unsupplemented subjects *Am J Clin Nutr*. 1987 Jul; 46(1):101-9.
- 296 Rosalind S, Gibson, Hess S, Hotz Kenneth C, Brown H. Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *British Journal of Nutrition* 2008; 99, Suppl. 3: S14-S23.
- 297 English JL, Hambidge K M, Plasma and serum zinc concentrations: effect of time between collection and separation *Clinica Chimica Acta* 175 (1988) 211 -216.
- 298 Sampson B, Fagerhol MK, Sunderkötter C, Golden BE, Richmond P, Klein N, Kovar IZ, Beattie JH, Wolska-Kusnierz B, Saito Y, Roth J. Hyperzincemia and hypercalprotectinaemia: a new disorder of zinc metabolism *Lancet*. 2002 Nov; 30: 360(9347).
- 299 Farzin L, Moassesi ME, Sajadi F, Amiri M, Shams H. Serum Levels of Antioxidants (Zn, Cu, Se) in Healthy Volunteers Living in Tehran. *Biol Trace Elem Res* 2009; 129:36-45
- 300 Lowe NM, Woodhouse LR, Sutherland B, Shames DM, Burri BJ, Abrams SA, et al. Kinetic parameters and plasma Zinc concentrations correlate well with net loss and gain of Zinc from men. *J Nutr* 2004; 134: 2178-81.
- 301 Armenteros VR *Nutricion del recién nacido* 2010 ISBN: 978-959-212-414-1 Cuba.
- 302 Zago L, Dupraz H, Torino F, Río ME Preoperative nutritional status and surgical risk. Identification of promissory biochemical markers *Nutr. Hosp.* 2010 25 -1.
- 303 Kim KH, Ishizaki N, Iguchi E, Funaba M, Matsui T Effect of Magnesium Deficiency on Various Mineral Concentrations in Rat Liver *Biol Trace Elem Res*. 2011 Apr 5.
- 304 Fischer Walker C, Kordas K, Stoltzfus RJ, Black RE. Interactive effects of iron and zinc on biochemical and functional outcomes in supplementation trials. *Am J Clin Nutr* 2005; 82(1): 5-12.
- 305 Meadows NJ, Grainger SL, Ruse W, Keeling PW, Thompson RP. Oral iron and the bioavailability of zinc. *Br Med J Clin Res* 1983 Oct 8; 287(6398):1013-4.
- 306 Abdulhamid I, Beck FWJ, Millard S, Chen X, Prasad A. Effect of Zinc Supplementation on Respiratory Tract Infections in Children With Cystic Fibrosis *Pediatric Pulmonology*. 2008; 43: 281-287.
- 307 Hein MS. Copper deficiency anemia and nephrosis in zinc-toxicity: a case report. *S D J Med* 2003; 56(4): 143-147.
- 308 Fischer W CL, Bhutta ZA, Bhandari N, Teka T, Shahid F, Taneja S, Black RE and the Zinc Study Group. Zinc during and in convalescence from diarrhea has no demonstrable effect on subsequent morbidity and anthropometric status among infants \_6 mo of age *Am. J Clin Nutr* 2007; 85:887-94.
- 309 Durán Castellón MC. Efecto del zinc en la osteopatía, hepatopatía y miopatía alcohólica I.S.B.N.: 84-7756-645-3.

- 310 Taylor CG. Zinc, the pancreas, and diabetes: Insights from rodent studies and future directions. *BioMetals* 2005; 18: 305–312.
- 311 Su JC y Birmingham CL. Zinc supplementation in the treatment of anorexia nervosa. *Eat Weight Disord* 2002; 7(1):20–22.
- 312 Sistema inmune [editorial] <http://www.greatplainslaboratory.com/spanish/immune.html>.
- 313 Heyland DK, Jones N, Cvijanovich NZ, Wong H. Zinc Supplementation in Critically Ill Patients: A Key Pharmacconutrient? *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 2008; 32:509.
- 314 Macready N. Zinc supplements improves children's health. *Brit Med J* 1998; 317:369.
- 315 Alan Shenkin The key role of micronutrients *Clinical Nutrition* 2006 25, 1–13.
- 316 Knoell DL, Julian MW, Bao S, Besecker B, Macre JE, Leikauf GD, DiSilvestro RA, Crouser ED. Zinc deficiency increases organ damage and mortality in a murine model of polymicrobial sepsis. *Crit Care Med* 2009; 37, No. 4.
- 317 Bao S, Liu M, Lee B, Besecker B, Lai J, Guttridge DC, Knoell DL. Zinc modulates the innate immune response in vivo to polymicrobial sepsis through regulation of NF-KB. *Am. J Physiol Lung Celi Mal Physiol* 2010; 298: L744 – L754.
- 318 Harris ED. Cellular Transporters for Zinc. *Nutrition Reviews*, Vol. 60, No. 4 2002, 77843-2128.
- 319 Lichten LA, Robert J. Cousins Mammalian Zinc Transporters: Nutritional and Physiologic Regulation. *Annu Rev Nutr* 2009; 29: 153–76.
- 320 Liuzzi JP, Robert J. Cousins Mammalian Zinc Transporters. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 151–72.
- 321 Eide DJ. The Zip Family of Zinc Transporters Zinc Finger Proteins: From Atomic Contact to Cellular Function, edited by Shiro Iuchi and Natalie Kuldell. Landes Bioscience/Eurekah.com and Kluwer Academic/Plenum Publishers 2005.
- 322 Eide DJ. The SLC39 family of metal ion transporters *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 2004; 447:796–800.
- 323 Kambea T, Yamaguchi-Iwai Y, Sasaki R, Nagao M. Overview of mammalian zinc transporters CMLS, *Cell. Mol. Life Sci.* 2004; 61: 49–68.
- 324 Liuzzi JP, Blanchard RK, Robert J. Differential Regulation of Zinc Transporter 1, 2, and 4 mRNA Expression by Dietary Zinc in Rats. *J Nutr* 2001; 131: 46–52.
- 325 Cousins RJ, Liuzzi JP, Lichten LA. Mammalian Zinc Transport, Trafficking, and Signals *The Journal of biological chemistry* 2006; 281: 24085-24089.
- 326 Yu YY, Kirschke CP, Huang L. Immunohistochemical analysis of ZnT1, 4, 5, 6 and 7 in the mouse gastrointestinal tract. *J Histochem Cytochem* 2007. Mar;55(3):223-34
- 327 Cousins RJ, McMahon RJ. Integrative aspects of zinc transporters. *J Nutr.* 2000 May; 130 (5S Suppl) 1384S-7S.
- 328 Lönnerdal B. Trace element transport in the mamary gland. *Annu Rev Nutr* 2007. 27:165-77 (Review).
- 329 Jou MY, Hall AG, Philipps AF, Kelleher SL. Tissue-specific alterations in zinc transporter expression in intestine and liver reflect a threshold for homeostatic compensation during dietary zinc deficiency in weanling rats. *J. Nutr.* 2009 May; 139(5):835-41.
- 330 McMahon RJ, Robert J. Cousins Mammalian Zinc Transporters. *J Nutr* 1998; 128: 667–670.
- 331 Idei M, Miyake K, Horiuchi Y, Tabe Y, Miyake N, Ikeda N, Miida T. The serum zinc concentration decreases with age and is associated with anemia in middle-aged and elderly people. *Rinsho Byori.* 2010 Mar; 58(3):205-10.
- 332 Sun D, Zhang L, Wang Y, Wang X, Hu X, Cui F, Kong F. Regulation of zinc transporters by dietary zinc supplement in breast cancer. *Mol Biol Rep* 2007; 34: 241–247.
- 333 Lopez V, Kelleher SL. Zinc transporter-2 (ZnT2) variants are localized to distinct subcellular compartments and functionally transport zinc. *Biochem. J.* 2009 Jul 29; 422

- (1):43-52.
- 334 Lopez V, Kelleher SL. Zinc transporter-2 (ZnT2) variants are localized to distinct subcellular compartments and functionally transport zinc. *Biochem J* 2009; 422: 43–52.
- 335 Gilmour PS, Schladweiler MC, Nyska A, McGee JK, Thomas R, Jaskot R et al Systemic imbalance of essential metals and cardiac gene expression in rats following acute pulmonary zinc exposure. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* 2006 Nov; 69(22):2011-32.
- 336 Palmiter RD. ZnT-2, a mammalian protein that confers resistance to zinc by facilitating vesicular sequestration. *EMBO J.* 1996 Apr 15; 15(8):1784-91.
- 337 Salazar G, Falcon-Perez JM, Harrison R, Faundez V. SLC30A3 (ZnT3) oligomerization by dityrosine bonds regulates its subcellular localization and metal transport capacity. *PLoS ONE* 2009 Jun 12; 4(6).
- 338 Palmiter RD, Cole TB, Quaipe CJ, Findley SD. ZnT-3, a putative transporter of zinc into synaptic vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996 Dec 10; 93(25):14934-9.
- 339 Lang C, Murgia C, Leong M, Tan LW, Perozzi G, Knight D, Ruffin R, P Zalewski. Anti-inflammatory effects of zinc and alterations in zinc transporter mRNA in mouse models of allergic inflammation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007; 292: L577–L584.
- 340 Ho LH, Ruffin RE, Murgia C, Li L, Krilis SA, Zalewski PD. Labile zinc and zinc transporter ZnT4 in mast cell granules: role in regulation of caspase activation and NF-kappaB translocation. *J Immunol* 2004 Jun 15; 172(12):7750 -60.
- 341 Chimienti F, Aouffen M, Favier A, Seve M. Zinc homeostasis-regulating proteins: new drug targets for triggering cell fate. *Current drug targets* 2003 May; 4(4):323-38.
- 342 Overbeck S, Uciechowski P, Ackland ML, Ford D, Rink L. Intracellular zinc homeostasis in leukocyte subsets is regulated by different expression of zinc exporters ZnT-1 to ZnT-9. *J. Leukoc. Biol.* 2008 Feb; 83(2):368-80.
- 343 Huang L, Kirschke CP, Gitschier J. Functional Characterization of a Novel Mammalian Zinc Transporter, ZnT6. *The Journal Of Biological Chemistry* 2002; 277: 26389-26395.
- 344 Devirgiliis C, Zalewski PD, Perozzi G, Murgia C. Zinc fluxes and zinc transporter genes in chronic diseases *Mutation Research* 2007; 622: 84–93.
- 345 Kambe T, Narita H, Yamaguchi-Iwai Y, Hirose J, Amano T, Sugiura N, et al. Cloning and characterization of a novel mammalian zinc transporter, zinc transporter 5, abundantly expressed in pancreatic beta cells. *J. Biol. Chem.* 2002 May 24; 277(21):19049-55.
- 346 Cragg RA, Christie GR, Phillips SR, Russi RM, Küry S, Mathers JC, Taylor PM, Ford D. A novel zinc-regulated human zinc transporter, hZTL1, is localized to the enterocyte apical membrane. *J. Biol. Chem.* 2002 Jun 21; 277(25):22789-97.
- 347 Jackson KA, Valentine RA, Coneyworth LJ, Mathers CJ, Ford D. Mechanisms of mammalian zinc-regulated gene expression. *Biochemical Society Transactions* 2008; Volume 36, part 6.
- 348 Fukunaka A, Suzuki T, Kurokawa Y, Yamazaki T, Fujiwara N, Ishihara K, et al.. Demonstration and characterization of the heterodimerization of ZnT5 and ZnT6 in the early secretory pathway. *J. Biol. Chem.* 2009 Nov 6; 284(45):30798-806.
- 349 Helston RM, Phillips SR, McKay JA, Jackson KA, Mathers JC, Ford D. Zinc transporters in the mouse placenta show a coordinated regulatory response to changes in dietary zinc intake. *Placenta* 2007 May-Jun; 28(5-6):437-44.
- 350 Coneyworth LJ, Mathers JC, Ford D. Does promoter methylation of the SLC30A5 (ZnT5) zinc transporter gene contribute to the ageing-related decline in zinc status?. *Proceedings Nutrition Society* 2009 May; 68(2):142-7.
- 351 Suzuki T, Ishihara K, Migaki H, Matsuura W, Kohda A, Okumura K, et al. Zinc transporters, ZnT5 and ZnT7, are required for the activation of alkaline phosphatases, zinc-requiring enzymes that are glycosylphosphatidylinositol-anchored to the cytoplasmic membrane. *J. Biol. Chem.* 2005 Jan 7; 280(1):637-43.
- 352 Devergnas S, Chimienti F, Naud N, Pennequin A, Coquerel Y, Chantegrel J, Favier A, Seve M. Differential regulation of zinc efflux transporters ZnT-1, ZnT-5 and ZnT-7 gene

- expression by zinc levels: a real-time RT-PCR study. *Biochem. Pharmacol.* 2004 Aug 15; 68(4):699-709.
- 353 Inoue K, Matsuda K, Itoh M, Kawaguchi H, Tomoike H, Aoyagi T, Nagai R, Hori M, Nakamura Y, Tanaka T. Osteopenia and male-specific sudden cardiac death in mice lacking a zinc transporter gene, *Znt5*. *Hum. Mol. Genet.* 2002.
- 354 Lyubartseva G, Smith JL, Markesbery WR, Lovell MA. Alterations of Zinc Transporter Proteins ZnT-1, ZnT-4 and ZnT-6 in Preclinical Alzheimer's Disease Brain Brain Pathology2010; ISSN 1015-6305: 343-350.
- 355 Kirschke CP, Huang L. ZnT7, a novel mammalian zinc transporter, accumulates zinc in the Golgi apparatus. *J. Biol. Chem.* 2003 Feb 7; 278(6):4096-102.
- 356 Chimienti F, Devergnas S, Pattou F, Schuit F, Garcia-Cuenca R, Vandewalle B, Kerr-Conte J, Van Lommel L, Grunwald D, Favier A, Seve M. *In vivo* expression and functional characterization of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. *J. Cell. Sci.* 2006 Oct 15; 119(Pt 20):4199-206.
- 357 Chimienti F, Devergnas S, Favier A, Seve M. Identification and cloning of a beta-cell-specific zinc transporter, ZnT-8, localized into insulin secretory granules. *Diabetes* 2004 Sep; 53(9):2330-7.
- 358 Achenbach P, Lampasona V, Landherr U, Koczwara K, Krause S, Grallert H, et al. Autoantibodies to zinc transporter 8 and SLC30A8 genotype stratify type 1 diabetes risk. *Diabetologia* 2009 Sep; 52(9):1881-8.
- 359 Gohlke H, Ferrari U, Koczwara K, Bonifacio E, Illig T, Ziegler AG. SLC30A8 (ZnT8) Polymorphism is Associated with Young Age at Type 1 Diabetes Onset. *Review Diabetic Studies: Rev. diabete study* 2008 Spring;5(1):25-7.
- 360 Séverine Devergnas FC, Pattou F, Schuit R, Garcia-Cuenca R, Vandewalle B, Kerr-Conte J, et al. *In vivo* expression and functional characterization of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. *Journal of Cell Science* 2006; 119: 4199-4206.
- 361 Hu C, Zhang R, Wang C, Wang J, Ma X, Lu J, Qin W, Hou X, Wang C, Bao Y, Xiang K, Jia W. PPAR $\gamma$ , KCNJ11, CDKAL1, CDKN2A-CDKN2B, IDE-KIF11-HHEX, IGF2BP2 and SLC30A8 are associated with type 2 diabetes in a Chinese population. *PLoS ONE* 2009 Oct 28; 4(10):e7643.
- 362 Chistiakov DA, Voronova NV. Zn (2+)-transporter-8: a dual role in diabetes. *Biofactors* 2009 Jul-Aug; 35(4): 356-63.
- 363 Sim DL, Yeo WM, Chow VT. The novel human HUEL (C4orf1) protein shares homology with the DNA-binding domain of the XPA DNA repair protein and displays nuclear translocation in a cell cycle-dependent manner. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2002 May; 34(5):487-504.
- 364 Seve M, Chimienti F, Devergnas S, Favier A. *In silico* identification and expression of SLC30 family genes: an expressed sequence tag data mining strategy for the characterization of zinc transporters' tissue expression. *BMC Genomics* 2004 May 23; 5(1): 32.
- 365 Golovine K, Makhov P, Uzzo RG, Shaw T, Kunkle D, Kolenko VM. Overexpression of the zinc uptake transporter hZIP1 inhibits nuclear factor-kappaB and reduces the malignant potential of prostate cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Clin. Cancer Res.* 2008 Sep 1; 14(17): 5376-84.
- 366 Franklin RB, Ma J, Zou J, Guan Z, Kukoyi BI, Feng P, Costello LC. Human ZIP1 is a major zinc uptake transporter for the accumulation of zinc in prostate cells. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2003; 96: 435-442.
- 367 Franklin RB, Feng P, Milon B, Desouki MM, Singh KK, Kajdacsy-Balla A, Bagasra O, Costello LC. hZIP1 zinc uptake transporter down regulation and zinc depletion in prostate cancer. *Mol Cancer* 2005 Sep 9; 4:32.
- 368 Gaither LA, Eide DJ. The human ZIP1 transporter mediates zinc uptake in human K562 erythroleukemia cells. *J Biol Chem* 2001 Jun 22; 276(25):22258-64.

- 369 Cragg RA, Phillips SR, Piper JM, Varma JS, Campbell FC, Mathers JC, Ford D. Homeostatic regulation of zinc transporters in the human small intestine by dietary zinc supplementation. *Gut* 2005 Apr; 54(4):469-78.
- 370 Desouki MM, Geradts J, Milon B, Franklin RB, Costello LC. *hZip2 and hZip3 zinc transporters are down regulated in human prostate adenocarcinomatous glands* *Mol. Cancer* 2007 Jun 5; 6:37.
- 371 Andree KB, Kim J, Kirschke CP, Gregg JP, Paik HY, Joung H, Woodhouse L, King JC, Huang L. Investigation of Lymphocyte Gene Expression for Use as Biomarkers for Zinc Status in Humans. *J. Nutr.* 2004; 134: 1716-1723.
- 372 Kim IS, Wang F, Dufner-Beattie J, Andrews GK, Eide DJ, Petris MJ. *Zn<sup>2+</sup>-stimulated Endocytosis of the mZIP4 Zinc Transporter Regulates Its Location at the Plasma Membrana. The Journal of biological chemistry.* 2004; 279: 4523-4530.
- 373 Xu T, Wang X, Yang J, Hu X, Wu W, Guo L, Kang L, Zhang L. Overexpression of Zip-2 mRNA in the Leukocytes of Asthmatic Infants *Pediatric Pulmonology* 2009; 44:763-767 .
- 374 Rishi I, Baidouri H, Abbasi JA, Bullard-Dillard R, Kajdacsy-Balla A, Pestaner JP, Skacel M, Tubbs R, Bagasra O. Prostate cancer in African American men is associated with downregulation of zinc transporters. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.* 2003 Sep; 11(3):253-60.
- 375 Phillips GD, Garnys VP Trace element balance in adults receiving parenteral nutrition: preliminary data. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1981 Jan-Feb;5(1):11-4.
- 376 Cao J, Bobo JA, LiuzziJO, Cousins RJ. Effects of intracellular zinc depletion on metallothionein and ZIP2 transporter expression and apoptosis. *Journal of Leukocyte Biology* 2001 Oct; 70(4):559-66.
- 377 Gaither LA, Eide DJ. Functional Expression of the Human hZIP2 Zinc Transporter *The Journal of biological chemistry* 2000; 275: 5560-5564.
- 378 Dufner-Beattie J, Langmade SJ, Wang F, Eide D, Andrews GK. Structure, function, and regulation of a subfamily of mouse zinc transporter genes. *J. Biol. Chem.* 2003 Dec 12;278(50):50142-50
- 379 Wang K, Zhou B, Kuo YM, Zemansky J, Gitschier J. A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica *Am. J. Hum. Genet.* 2002 Jul;71 (1):66-73.
- 380 Wang F, Kim B E, Petris MJ, Eide DJ. The mammalian Zip5 protein is a zinc transporter that localizes to the basolateral surface of polarized cells *J. Biol. Chem.* 2004 Dec 3; 279 (49):51433-41.
- 381 Dufner-Beattie J, Wang F, Kuo YM, Gitschier J, Eide D, Andrews GK. The acrodermatitis enteropathica gene ZIP4 encodes a tissue-specific, zinc-regulated zinc transporter in mice *J. Biol. Chem.* 2003.
- 382 Li M, Zhang Y, Liu Z, Bharadwaj U, Wang H, Wang X, et al. Aberrant expression of zinc transporter ZIP4 (SLC39A4) significantly contributes to human pancreatic cancer pathogenesis and progresión. *PNAS* 2007; 104: 18636-18641.
- 383 Li M, Zhang Y, Bharadwaj U, Zhai QJ, Ahern CH, Fisher WE, et al. Down-regulation of ZIP4 by RNA interference inhibits pancreatic cancer growth and increases the survival of nude mice with pancreatic cancer xenografts. *Clin. Cancer Res.* 2009 Oct 1; 15(19):5993-6001.
- 384 Li M, Zhang Y, Liu Z, Bharadwaj U, Wang H, Wang X, et al. Aberrant expression of zinc transporter ZIP4 (SLC39A4) significantly contributes to human pancreatic cancer pathogenesis and progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007 Nov 20; 104 (47):18636-41.
- 385 Mao X, Kim B E, Wang F, Eide DJ, Petris M. A histidine-rich cluster mediates the ubiquitination and degradation of the human zinc transporter, hZIP4, and protects against zinc cytotoxicity. *J. Biol. Chem.* 2007 Mar 9; 282(10):6992-7000.
- 386 Ford D. Intestinal and placental zinc transport pathways. *Proceedings of the Nutrition Society* 2004; 63: 21-29.

- 387 Bertoni-Freddari C, Fattoretti P, Casoli T, Di Stefano G, Giorgetti B, Baliotti M. The LZT proteins; the LIV-1 subfamily of zinc transporters. *Experimental Gerontology* 2008; 43: 389–393.
- 388 Taylor KM. A distinct role in breast cancer for two LIV-1 family zinc transporters. *Biochem. Soc. Trans.* 2008; 36: 1247–1251.
- 389 Taylor KM, Hiscox S, Nicholson RI. Zinc transporter LIV-1: a link between cellular development and cancer progression. *Trends Endocrinol. Metab.* 2004 Dec; 15(10):461-3.
- 390 Shen H, Qin H, Guo J. Concordant correlation of LIV-1 and E-cadherin expression in human breast cancer cell MCF-7 *Mol. Biol. Rep.* 2009 Apr;36(4):653-9.
- 391 Taylor KM, Morgan HE, Johnson A, Hadley LJ, Nicholson RI. Structure-function analysis of LIV-1, the breast cancer-associated protein that belongs to a new subfamily of zinc transporters *Biochem. J.* 2003 Oct 1; 375(Pt 1):51-9.
- 392 Kasper G, Weiser AA, Rump A, Sparbier K, Dahl E, Hartmann A, Wild P, Schwidetzky U, Castañón-Vélez E, Lehmann K. Expression levels of the putative zinc transporter LIV-1 are associated with a better outcome of breast cancer patients. *Int. J. Cancer* 2005 Dec 20; 117(6):961-73.
- 393 Unno J, Satoh K, Hirota M, Kanno A, Hamada S, Ito H, Masamune A, Tsukamoto N, Motoi F, Egawa S, Unno M, Horii A, Shimosegawa T. LIV-1 enhances the aggressive phenotype through the induction of epithelial to mesenchymal transition in human pancreatic carcinoma cells *Int. J. Oncol.* 2009 Oct; 35(4):813-21.
- 394 Hogstrand C, Kille P, Nicholson RI, Taylor KM. Zinc transporters and cancer: a potential role for ZIP7 as a hub for tyrosine kinase activation. *Trends Mol Med* 2009 15(3):101-11.
- 395 Taylor KM, Vichova P, Jordan N, Hiscox S, Hendley R, Nicholson RI. ZIP7-mediated intracellular zinc transport contributes to aberrant growth factor signaling in antihormone-resistant breast cancer Cells. *Endocrinology* 2008 149(10):4912-20.
- 396 Huang L, Kirschke CP, Zhang Y, Yiu Yu Y. The ZIP7 Gene (Slc39a7) Encodes a Zinc Transporter Involved in Zinc Homeostasis of the Golgi apparatus. *The Journal Of Biological Chemistry* 2005; 280: 15456–15463, 2005.
- 397 Ryu MS, Lichten LA, Liuzzi PJ, Cousins RJ. Zinc Transporters ZnT1 (Slc30a1), Zip8 (Slc39a8), and Zip10 (Slc39a10) in Mouse Red Blood Cells Are Differentially Regulated during Erythroid Development and by Dietary Zinc Deficiency. *J. Nutr.* 2008; 138: 2076–2083.
- 398 Bao S, Knoell DE. Zinc modulates cytokine-induced lung epithelial cell barrier permeability *Am. J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 291: L1132 – L1141.
- 399 Bao S, Liu M, Lee B, Besecker B, Lai J, Guttridge DC, Knoell DL. Zinc modulates the innate immune response in vivo to polymicrobial sepsis through regulation of NF- $\kappa$ B *Am. J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2010; 298: L744 – L754.
- 400 Besecker B, Bao S, Bohacova B, Papp A, Sadee W, Knoell DL. The human zinc transporter SLC39A8 (Zip8) is critical in zinc-mediated cytoprotection in lung epithelia. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2008 Jun; 294(6):L1127-36.
- 401 Aydemir TB, Liuzzi JP, McClellan S, Cousins RJ. Zinc transporter ZIP8 (SLC39A8) and zinc influence IFN- $\gamma$  expression in activated human T cells. *Journal of Leukocyte Biology* 2009; Aug; 86(2):337-48.
- 402 Aydemir TB, Liuzzi JP, McClellan S, Cousins RJ. Zinc transporter ZIP8 (SLC39A8) and zinc influence IFN- $\gamma$  expression in activated human T cells. *J. Leukoc. Biol.* 2009 Aug; 86(2):337-48.
- 403 He L, Girijashanker K, Dalton TP, Reed J, Li H, Soleimani M, Nebert DW. ZIP8, Member of the Solute-Carrier-39 (SLC39) Metal-Transporter Family: Characterization of Transporter Properties. *Mol Pharmacol* 2006; 70: 171–180.
- 404 Matsuura W, Yamazaki T, Yamaguchi-Iwai Y, Masuda S, Nagao M, Andrews GK, Kambe T. SLC39A9 (ZIP9) regulates zinc homeostasis in the secretory pathway: characterization of the ZIP subfamily I protein in vertebrate cells. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2009 May; 73(5):1142-8.
- 405 Kagara N, Tanaka N, Noguchi S, Hirano T. Zinc and its transporter ZIP10 are involved



- in invasive behavior of breast cancer cells. Cancer Sci.* 2007 98(5):692-7.
- 406 Zheng D, Feeney GP, Kille P, Hogstrand C. Regulation of ZIP and ZnT zinc transporters in zebrafish gill: zinc repression of ZIP10 transcription by an intronic MRE cluster. *Physiol Genomics* 2008; 34: 205–214.
- 407 Fukada T, Civic N, Furuichi T, Shimoda S, Mishima K, Higashiyama. et al. The zinc transporter SLC39A13/ZIP13 is required for connective tissue development; its involvement in BMP/TGF-beta signaling pathways. *PLoS ONE* 2008, 3(11):e3642
- 408 Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, Blanchard RK, Aydemir TB, Knutson MD, Ganz T, Cousins RJ. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2005 May 10; 102(19):6843-8.
- 409 Taylor KM, Morgan HE, Johnson A, Nicholson RI. Structure-function analysis of a novel member of the LIV-1 subfamily of zinc transporters, ZIP14. *FEBS Lett.* 2005 Jan. 17; 579(2):427-32.
- 410 Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. In: Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C, editors. *Ingestas recomendadas de energía y nutrientes para la población española*. Ediciones Pirámide, Madrid: Tablas de composición de alimentos; 2004.
- 411 Hammerle-Fickinger A, Riedmaier I, Becker C, Meyer HHD, Pfaffl MW, Ulbrich SE. Validation of extraction methods for total RNA and miRNA from bovine blood prior to quantitative gene expression analyses. *Springer Science+Business Media B.V.* 2010 Jan;32(1):35-44.
- 412 Zinc fortification IZiNCG 2007.
- 413 Cvijanovich NZ, King JC, Flori HR, Gildengorin G, Wong HR. Zinc Homeostasis in pediatric critical illness. *Pediatr Crit Care Med* 2009; 10( 1).
- 414 Iskra M, Barańkiewicz D, Majewski W, Piorun M, Stolzmann. Serum magnesium, copper and zinc concentration changes in lower limb ischemia and postoperative treatment. *Magnesium Research* 2005; 18 (4): 261-7.
- 415 Cander B, Dundar ZD, Gul M, Girisgin S. Prognostic value of serum zinc levels in critically ill patients. *Journal of Critical Care* 2010 Feb; 26(1):42-6.
- 416 Cutinha D, Vaja S, Treacher D, Swaminathan R. Erythrocyte zinc content in critically ill patients. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43(9): 930–933.
- 417 Kajiyama H et al. Micronutrient Status and Glutathione Peroxidase in Bedridden Patients on Tube Feeding. *The Journal of International Medical Research* 2001; 29: 181 – 188.
- 418 Vallee BL, Gibson JG The zinc content of normal human whole blood, plasma, leucocytes, and erythrocytes *J Biol Chem.* 1948 Oct;176(1):445-57.
- 419 Isaksson HS, Nilsson TK Preanalytical aspects of quantitative TaqMan real-time RT-PCR: Applications for TF and VEGF mRNA quantification *Clinical Biochemistry* 2006 39.
- 420 Beekman J M, Reischl J, Henderson D, Bauer D, Ternes R, et al. Recovery of microarray-quality RNA from frozen EDTA blood samples *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 59 2009 44–49.
- 421 Smith CL, Dickinson P, Forster T, Khondoker M, Craigon M, Ross A, Storm P, Burgess S, Lacaze P, Stenson BJ, Ghazal P. Quantitative assessment of human whole blood RNA as a potential biomarker for infectious disease. *The Royal Society of Chemistry* 2007 Dec; 132(12):1200-9.
- 422 Nakano A, Nakano H, Hanada K, Nomura K, Uitto J ZNT4 gene is not responsible for acrodermatitis enteropathica in Japanese families. *Hum Genet* 2002 Feb;110(2):201-2
- 423 Bravo A, Araujo S, Vargas ME, Mesa J, Souki A, Bermúdez V, Cano C. Actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa y niveles de cobre y zinc en pacientes con diabetes mellitus tipo. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal* 2007, 0798 – 0264.
- 424 García MY. Cuantificación y evaluación de calcio, magnesio, estroncio, cobre, zinc y hierro en muestras óseas y suero sanguíneo de pacientes con artrosis. *VitAE* Octubre - Diciembre 2006.

- 425 Cinar V, Mogulkoc R, Baltaci AK, Nizamlioglu M. Effect of Magnesium Supplementation on Some Plasma Elements in Athletes at Rest and Exhaustion. *Biol Trace Elem Res* 2007; 119: 97-102.
- 426 Feliu, Piñeiro A, López C, Haydée Slobodianik N. Valores de referencia de cobre, zinc y selenio en niños. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.* v.39 n.4 La Plata sept./dic. 2005.
- 427 Gracia B, de Plata C, Rueda A, Mosquera M, Suárez MF, Pradilla A. Efecto de la complementación con zinc en la velocidad de crecimiento en niños preescolares. 2005; 36 N° 4 (Supl 3).
- 428 de Paoli IR, Henríquez Pérez G, Azuaje Sánchez A. Niveles séricos de zinc y su relación con la ingesta de nutrientes en gestantes eutróficas. *An Venez Nutr* v.17 n.1 Caracas 2004.
- 429 Berger MM, Shenkin A, Revely JP, Roberts E, Cayeux MC, Baines M, Chioleró RL. Copper, selenium, zinc and thiamine balances during continuous venovenous hemodiafiltration in critically ill patients. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 410-6.
- 430 Çulha G, Kemal Sangün M. Serum Levels of Zinc, Copper, Iron, Cobalt, Magnesium and Selenium Elements in Children Diagnosed with *Giardia Intestinalis* and *Enterobiosis Vermicularis* in Hatay, Turkey. *Biol Trace Elem Res* 2007; 118:21-26
- 431 Zuo XL, Chen JM, Zhou X, Li XZ, Mei GY. Levels of Selenium, Zinc, Copper, and Antioxidant Enzyme Activity in Patients with Leukemia. 0163-4984/ (Online) 1559-0720/06/114(1-3)-0041.
- 432 Marriott LD, Foote, Kimber AC, Deloos HT, Morgan JB. Zinc, copper, selenium and manganese blood levels in preterm infants *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2007 Nov; 92(6):F494-7.
- 433 Ore R, Valdivieso R, Suarez S, Huerta D, Nuñez M, Durand J. Marcadores de estrés oxidativo en hipertensión leve. *An Fac Med Lima* 2007; 68 (4) ISSN 1025 - 5583: 351-355.
- 434 Sriram K. Lonchyna VA Micronutrient Supplementation in Adult Nutrition Therapy: Practical Considerations *J Parenter Enteral Nutr.* 2009 33: 548-562.
- 435 Oakesa EJC, Lyona TDB, Duncana A, Graya A, Talwara D, O'Reillya DJ. Acute inflammatory responses do not affect erythrocyte concentrations of copper, zinc and selenium. *Clinical Nutrition* 2008; 27: 115-120.
- 436 Menéndez AM, Montemerlo H, Weisstaub AR, Alloatti S, Rusi F, Guidoni ME, et al. Niveles plasmáticos y eritrocitarios de zinc y cobre en pacientes críticos con nutrición parenteral y su relación con el contenido de las fórmulas: estudio preliminar. *Nutr. Hosp.* mayo-junio. 2005 v.20 n.3 Madrid.
- 437 Bao B, Prasad AS, Beck F, Fitzgerald JT, Snell D, Bao GW, Singh D, Cardozo LJ. Zinc decreases C-reactive protein, lipid peroxidation, and inflammatory cytokines in elderly subjects: a potential implication of zinc as an atheroprotective agent. *Am J Clin Nutr* 2010; 91: 1634-41.
- 438 Sanchez A M, FavierH I, Meunier N, Toti E, Zaccaria M, Brandolini-Bunlon M, et al. Zinc intake and status in middle-aged and older European subjects: the ZENITH study. *European Journal of Clinical Nutrition* 2005; 59(2): S37-S41.
- 439 Imataki O, Ohnishi H, Kitanaka A, Kubota Y, Ishida T and Tanaka T. Pancytopenia Complicated with Peripheral Neuropathy Due to Copper Deficiency: Clinical Diagnostic Review. *Inter Med* 2008; 47: 2063-2065.
- 440 Soares FM et al. Plasma and erythrocyte zinc concentrations in elderly patients with and without senile cataract in a tertiary eye care center at Teresina-Piauí *Arq Bras Oftalmol.* 2008; 71(5): 674-8.
- 441 Kumar N. Copper Deficiency Myelopathy (Human Swayback) *Mayo Clin Proc.* 2006; 81(10): 1371-1384.
- 442 Pita Martín ML, Weisstaub A, Vazquez L, Lopez B L. Niveles de zinc en plasma y glóbulo rojo en estudiantes universitarias 2009 Vol. 36, N°3.
- 443 Borowskai MH, Markiewic R, Hakalowicz K, Wiikowska M, Czykewska E. Serum zinc concentrations in certain diseases.

- 444 Alieva TU, Fedorov SV, Soiridov SV. Blood plasma zinc and copper concentrations in patients with purulent soft tissue wounds. *Anesteziol Reanimatol*. 2010 May-Jun;(3):8-12
- 445 Fessatou S, Fagerhol MK, Roth J, Stamoulakatou A, Kitra V, Hadarean M, et al. Severe anemia and neutropenia associated with hyperzincemia and hypercalprotectinemia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2005 Sep; 27(9): 477-80.
- 446 Hedera P, Fink JK, Bockenstedt PL, Brewer GJ. Myelopolyneuropathy and pancytopenia due to copper deficiency and high zinc levels of unknown origin: further support for existence of a new zinc overload syndrome. *Arch Neurol*. 2003 Sep; 60(9):1303-6.
- 447 Asare GA, Nani A. Serum levels of Cu, Se, and Zn in adult rural/urban residents in Ghana: paradigm shift? *Biol Trace Elem Res*. 2010 Nov; 137(2):139-49.
- 448 Masood N, Baloch GH, Ghorri RA, Memon IA, Memon MA, Memon MS. Serum zinc and magnesium in type-2 diabetic patients. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2009 Aug; 19(8) :483-6.
- 449 Joseph-Gabriel AO. Nivells de seleni i zinc en la població de Catalunya relació amb altres indicadors de salut. Tesis doctoral 1999.
- 450 Nahar Z, Azad MA, Rahman MA, Rahman MA, Bari W, Islam SN, Islam MS, Hasnat A. Comparative analysis of serum manganese, zinc, calcium, copper and magnesium level in panic disorder patients. *Biol Trace Elem Res*. 2010 Mar; 133 (3):284-90.
- 451 Shokrzadeh M, Ghaemian A, Salehifar E, Aliakbari S, Saravi SS, Ebrahimi P. Serum zinc and copper levels in ischemic cardiomyopathy *Biol Trace Elem Res*. 2009 Feb; 127(2): 116-23.
- 452 Goodhart D Fundamentos de la nutrición Oligoelementos [editorial] 1985 p 387 - 394
- 453 Speich M, Robinet N, Arnaud P, Pineau A, Nicolas G. Correlation and regression studies between magnesium, calcium, zinc, potassium, cholesterol and total creatinekinase in two populations with preinfarction syndrome. *Mag.Bul* 8 1986.
- 454 Wana, Ternlund, King, Zinc utilization from adequate to low zinc intake 1985.
- 455 Bogden JD. Zinc and immunocompetence in the elderly: baseline data on zinc nutrition and immunity in unsupplemented subjects 1-3. *Is J Clin Nutr* 1987; 46: 101-9.
- 456 Alper BOZ et al. The value of serum zinc, copper, ceruloplasmin levels in patients with gastrointestinal tract cancers. *Turk J Gastroenterol* 2005; 16 (2): 81-84.
- 457 Strítecká H, Hlubík P. Selenium, zinc and magnesium: serum levels in members of the Czech Republic rescue fire brigada *Interdiscip. Toxicol*. 2010; Vol. 3(4): 140-144
- 458 Salzman MB, Smith EM, Koo C. Excessive oral zinc supplementation. *J Pediatr Hematol Oncol* 2002; 24(7): 582- 584.
- 459 Carmeli E, Bachar A, Barchad S, Morad M, Merrick J. Antioxidant status in the serum of persons with intellectual disability and hypothyroidism: A pilot study. *Research in Developmental Disabilities*. 2008; 29: 431-438.
- 460 Valda W Bunker et al. Metabolic balance studies for zinc and copper in housebound elderly people and the relationship between zinc balance and leukocyte zinc concentrations *Am J Clin Nutr* 1987;46:353-9.
- 461 Girijashanker K, He L, Soleimani M, Reed JM, Li H, Liu Z, Wang B, Dalton TP, Nebert DW. Slc39a14 gene encodes ZIP14, a metal/bicarbonate symporter: similarities to the ZIP8 transporter. *Mol. Pharmacol*. 2008 May; 73(5):1413-23.
- 462 Carro ED, Salway F, Pepper SD, Saunders E, Mankambo LA, Ollier WE, Hart CA, Day P. Successful downstream application of the Paxgene Blood RNA system from small blood samples in paediatric patients for quantitative PCR analysis *BMC. Immunology* 2007; 8: 20 doi: 10.1186/1471-2172-8-20.
- 463 Wolfgang M, Sandstead HH. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2006; 20: 3-18
- 464 Sekler I, Sensi SL, Hershfinkel M, Silverman WF. Mechanism and Regulation of Cellular Zinc Transport. *Mol med* 2007; 13: 337- 343.
- 465 Prasad AS. Impact of the discovery of human zinc deficiency on health. *Am Coll Nutr*. 2009 Jun; 28(3):257-65.

- 466 Ananda S Prasad Zinc in Human Health: Effect of Zinc on Immune Cells MOLMED 14 May-June 2008 (5-6) 353 -357.
- 467 WHO Production of Zinc Tablets and Zinc Oral Solutions – Guidelines for Programme Managers and Pharmaceutical Manufacturers 2007 ISBN 92 4 159494 2
- 468 Base de datos: [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov); [www.ihpo.org](http://www.ihpo.org); [www.medscape.com](http://www.medscape.com)  
[www.thecochranelibrary.com](http://www.thecochranelibrary.com).





***Anexos***





## 8. Anexos

### Anexo 1

#### Indicadores antropométricos

##### Área muscular del brazo

Es el parámetro que refleja la masa muscular. Su cálculo presenta errores relacionados con la medición de los distintos observadores. Se ajusta a las siguientes ecuaciones:

$$\text{CMB} = \text{CB (cm)} - 0.314 \times \text{PT (mm)}$$

$$\text{AMB} = \text{CMB}^2 / 4 \times 0.313$$

CMB= circunferencia muscular del brazo.

CB perímetro braquial.

PT pliegue tricípital.

AMB= Area muscular del brazo

En el paciente crítico tiene escaso valor, ya que su medición está muy relacionada con la retención de líquidos (6).

Esta ecuación no se puede utilizar en casos de la desnutrición energética proteica porque el pliegue cutáneo del tríceps es dos veces la media del diámetro del rebote graso y que hueso se atrofia en proporción con la pérdida de músculo.

**Area grasa del brazo** (AGB; en mm<sup>2</sup>), según las siguientes fórmulas: .

$$\text{AGB} = \text{AB} - \text{AMB}$$

Con las nuevas variables AMB y AGB, la edad y el sexo se realizó una evaluación según las tablas de percentiles de Frisancho. Finalmente se clasificaron a los pacientes según los puntos de corte de los índices de área muscular y grasa (42).

Interpretación de los parámetros antropométricos para evaluar estado nutricional <sup>1</sup>

Area muscular del brazo		Area grasa del brazo	
Reserva proteica alta	> 90 percentil	Obesidad	> 95 percentil
Reserva proteica normal	> 10 percentil y ≤ 90p	Reserva calórica alta	> 90 percentil y ≤ 95p
Reserva proteica baja (riesgo de desnutrición)	> 5 percentil y ≤ 10p	Reserva calórica normal	> 10 percentil y ≤ 90p
Reserva proteica muy baja (desnutrición proteica)	≤ 5 percentil	Reserva calórica baja (riesgo de desnutrición)	> 5 percentil y ≤ 10p
		Reserva calórica muy baja (desnutrición calórica)	≤ 5 percentil

**Perímetro muscular braquial (PMB):** Expresada en cm.

*Cálculo:* La desviación se calcula aplicando la siguiente fórmula:

**Porcentaje de desviación: Valor del PMB del paciente/ Percentil 50 x 100**

*Interpretación:* Según el porcentaje de desviación en relación al percentil 50 o normalidad, el déficit puede ser leve, moderado o grave.

	Leve	Moderada	Grave
Mujeres	85 – 77 %	76 – 69 %	< 69 %
Varones	81 – 73 %	72 – 64 %	< 64 %

### Circunferencia muscular del brazo

**Circunferencia muscular del brazo en el punto medio = circunferencia del brazo en el punto medio - ( $\pi$  x grosor del pliegue cutáneo del tríceps)**

#### *Interpretación*

- Desnutrición proteica leve o moderada < percentil 25
- Desnutrición grave < percentil 10

Para valorar proteína muscular se utiliza los parámetros de CB y CBM.

Esta ecuación no se puede utilizar en casos de la desnutrición energética proteica porque el pliegue cutáneo del tríceps es dos veces la media del diámetro del rebote graso y que hueso se atrofia en proporción con la pérdida de músculo.

## Anexo 2

Altura	Mujeres		Hombres	
	M	DS	M	DS
1,45	49,85	4,22	-	-
1,47	50,11	3,58	-	-
1,50	50,11	8,55	-	-
1,51	51,33	5,09	-	-
1,52	51,85	6,45	-	-
1,53	52,11	4,51	60,53	5,01
1,54	53,29	6,68	61,90	8,27
1,55	54,25	7,10	63,00	3,87
1,56	54,63	7,67	63,00	8,25
1,57	55,08	9,17	63,14	4,45
1,58	55,08	6,81	63,90	9,74
1,59	55,37	6,33	64,56	5,50
1,60	55,83	7,61	65,28	7,08
1,61	54,82	5,72	65,45	5,84
1,62	55,94	8,72	67,17	7,97
1,63	57,78	6,97	68,10	8,43
1,64	58,17	5,62	69,49	9,77
1,65	58,86	8,13	69,85	8,63
1,66	60,31	9,58	69,50	8,33
1,67	61,38	5,29	69,47	8,53
1,68	63,20	5,89	69,89	7,22
1,69	65,90	12,34	71,36	9,43
1,70	65,33	4,92	71,66	8,40
1,71	65,11	5,30	73,76	9,14
1,72	65,33	4,56	73,69	9,49
1,73	65,50	3,92	74,32	7,97
1,74	66,50	3,20	73,28	8,36
1,75	-	-	76,41	10,70
1,76	-	-	76,78	7,81
1,77	-	-	77,76	9,38
1,78	-	-	80,02	9,39
1,79	-	-	80,11	8,55
1,80	-	-	80,57	9,46
1,81	-	-	81,00	9,41
1,82	-	-	81,06	8,80
1,83	-	-	82,00	8,81
1,84	-	-	83,33	1,24
1,85	-	-	83,55	6,41
1,86	-	-	83,83	8,57
1,87	-	-	86,00	8,00

M- peso medio DS – desviación estándar; Fuente: Alastrué et al 1982

Fuente : Mataix J. et al 2007

Peso en función de la altura. (5)

Los parámetros bioquímicas en sangre.

<b>Proteínas</b>	<p>Proteínas Totales                  Albúmina                  Prealbúmina                  Transferrina                  Proteína transportadora de retinol                  Ferritina                  Fibronectina                  Ribonucleasa C                  alfa1-antitripsina                  Alfa 1- glicoproteína</p>	<p>Estados recientes o leve-moderado de malnutrición proteico energética                  La deficiencia de hierro se bloquea con el déficit de vitamina A.                  deprivación nutricional aguda.                  pacientes afectados de cáncer</p>	
<b>Acidos grasos</b>	<p>Colesterol total HDL, LDL                  Triglicéridos.                  Acido palmítico plasmático<sup>36</sup>                  Acido palmítico                  Acido linoleico                  Relación Triene/tetraene                  20:3 w9 Mead                  Acido araquidónico</p>	<p>Se trata de los parámetros inespecifico de desnutrición. Su disminución se asocia con la intensidad de la agresión                  Aterosclerosis</p>	
<b>Hidratos de carbono</b>	<p>Glucemia                  HB – Glicosilada (HBA1C)</p>	<p>Glucosa: no muy utilizada en evaluación nutricional pero se un buen parámetro para determinar hiper o hipoglucemias</p>	
<b>Vitaminas</b>	<p>Vitamina B1 (tiamina)                  * Vitamina B2 (riboflavina)                  * Vitamina B3 (niacina)                  * Vitamina B5 (ácido pantoténico)                  * Vitamina B6 (piridoxina)                  * Vitamina B8 (biotina)                  * Vitamina B9 (ácido fólico)                  * Vitamina B10 (nicotinamida)                  * Vitamina C (ácido ascórbico)                  * Vitamina B12 (Cianocobalamina)                  * Vitamina A (caroteno)                  * Vitamina D (colecálciferol) - La 25-OH-Vitamina D3 se determina en suero                  * Vitamina E (tocoferol) - se utiliza en la defensa oxidativa de la membrana celular; cuando no exista la vitamina se</p>	<p>Beriberi, encefalopatía de Wernicke                  Glositis, queilosis                  Pelagra                    Dermatitis, neuropatía                  Anemia megaloblástica                  Escorbuto                    Anemia megaloblástica, diarrea, neuromiopatía                  Xerofalmia, ceguera nocturna, infecciones                  Osteomalacia</p>	280

	aumenta la susceptibilidad de hemólisis de los glóbulos rojos * Vitamina K ( ) – se utiliza en la coagulación del sangre.		
<b>Minerales</b>	calcio, fósforo, magnesio, sodio, cinc, hierro, cobre, potasio  Vitaminas, minerales y elementos traza No se determinan de manera rutinaria para utilizarlo en determinar el estado nutricional, aunque sería muy útil ya que las alteraciones pueden dar lugar a una serie de síntomas específicos de malnutrición	Anemia, sarpullidos, retraso del crecimiento, alopecia, hipotiroidismo, cardiomiopatías, miositis, anemia, neutropenia, infecciones	280
<b>Balance nitrogenado</b>	Urea OTROS NOMBRES Nitrógeno ureico en sangre Ácido Úrico	Valoración del metabolismo proteico producto final del metabolismo de algunos aminoácidos	
<b>Hormonas</b>	Tiroideas TSH Gonadotropinas Leptina Homocisteína PTH Osteocalcina	Disminuye consumo energético  Información reservas energéticas Valores aumentadas riesgo cardiovascular	66
<b>Inmunológicos</b>	Antiestreptolisinas O (ASLO)  Proteína C Reactiva VN < 1 mg/ml  Factor reumatoide (latex) Inmunoglobulina I, G, A, M, Complementul C3, C4  Inteleuquinas 1, 6, 10, Leucocitos,	indican una infección por la bacteria Estreptococo beta hemolítico del tipo A  La proteína C reactiva se produce en el hígado cuando hay una infección o inflamación aguda en el cuerpo.  Información sobre inmunidad  Información sobre inmunidad  Información sobre anemias, infecciones,	
<b>Hemograma</b>	Hemafíes, Hemoglobina, hematocrito, RDI, IDE, VCM, HCM, CHCM, Plaquetas, VPM, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos, LUC, velocidad de		

	sedimentación	
<b>Enzimas</b>	Lipasa	ayudar a la absorción de grasas.
	Fosfatasa alcalina	Raquitismo, < desnutrición
	Láctico deshidrogenasa	
	Amilasa,	glándulas se inflama derrama la amilasa a la sangre
	CK (creatina-cinasa)	ataque cardíaco, daño a un músculo
	Bilirrubina	enfermedades del hígado
	Colinesterasa	< Infección aguda, Desnutrición crónica
	CPK	
	LDH	Daño muscular, Enfermedades auto inmunes
	Creatinina Vn 0.6 y 1.2 mg/dl	Disminuye En individuos desnutridos, con poca masa muscular
	Transaminasas GOT Valor normal entre 0 y 37 U/L GPT - AST: Valor normal entre 0 y 41 U /L GGT: Valor normal entre 11 y 50 U/L	Aumentan La inflamación del hígado produce una destrucción de los hepatocitos y estos enzimas salen a la sangre.

Algunos parámetros bioquímicos analizados en sangre

Anexos 4

<b>Creatinina urinaria</b>	ICA= Creatinina en orina de 24 h/ Creatinina predecible en orina de 24 h x 100	ICA (%)Grado de desnutrición 110-90 Normal 89-80 Leve 79-70 Moderado <70 Grave	Marcador de masa muscular
<b>Balance nitrogenado</b>	Nitrógeno exógeno (24 hs) – nitrógeno ureico (24 hs) + 4 =	La constante 4 se utiliza para corregir las pérdidas de nitrógeno por otras vías (heces, pérdidas sensibles, etc).	Valoración del metabolismo proteico Balance entre nitrógeno ingerido y eliminado por orina piel y heces
	Balance de nitrógeno= I – (U - Uc)+ (F- Fc)+ S I= ingesta de nitrógeno (prot(g)/6,25) U= nitrógeno urinario endógeno Uc = nitrógeno urinario endógeno F= nitrógeno eliminado por heces Fc = perdías de nitrógeno fecal endógeno S = perdías de nitrógeno por piel	Mide cambios netos de masa poética Balance nitrogenado (B.N.): viene a ser cero o levemente positivo en condiciones normales, pero no en situación de crecimiento o enfermedad, viene a ser negativo	Es muy difícil de determinar con esta formula en ámbito clínico, por lo tanto muy poco utilizado El ingreso de nitrógeno se estima por la cantidad de proteínas de la dieta dividido por 6,25 que es la proporción media en nitrógeno de la mayor parte de proteínas dietéticas. La constante 4 se utiliza para corregir las pérdidas de nitrógeno por otras vías (heces, pérdidas sensibles, etc).
<b>Hidroxi-prolina y 3-metil – histidina</b>		Hidroxi-prolina – es un producto del metabolismo del colágeno 3-metil – histidina – se encuentra en la actina de las fibras musculares	Se excreta en pacientes con depleción de proteínas - la excreción se puede interpretar como la degradación de las proteínas musculares (462)

Algunos parámetros se puede determinar en orina

## Anexo 5

## D.3.B.24. Ingestas de referencia para el zinc (mg/día)

Edad	Ingesta de referencia inferior	Reino Unido Requerimiento medio	Ingesta de referencia	EE.UU. (1989) RDA	OMS <sup>a</sup> (1996)	Europa <sup>c</sup> Ingesta de referencia
0-3 meses	2,6	3,3	4,0	5,0	5,3	
4-6 meses	2,6	3,3	4,0	5,0	3,1	
7-12 meses	3,0	3,8	5,0	5,0	5,6	4,0
1-3 años	3,0	3,8	5,0	10,0	5,5	4,0
4-6 años	4,0	5,0	6,5	10,0	6,5	6,0
7-10 años	4,0	5,4	7,0	10,0	7,5	7,0
<b>Varones</b>						
11-14 años	5,3	7,0	9,0	15,0	12,1	9,0
15-18 años	5,5	7,3	9,5	15,0	13,1	9,0
19 años y más	5,5	7,3	9,5	15,0	9,4	9,5
<b>Mujeres</b>						
11-14 años	5,3	7,0	9,0	12,0	10,3	9,0
15-18 años	4,0	5,5	7,0	12,0	10,2	7,0
19 años y más	4,0	5,5	7,0	12,0	6,5	7,0
<b>Gestación</b>	b	b	b	15,0	7,3-13,3	b
<b>Lactancia</b>						
0-4 meses			+6,0	19,0	14,0	+5,0
Más de 4 meses			+2,5	16,0	14,0	+5,0

<sup>a</sup> Normativa para dietas con una disponibilidad de zinc moderada

<sup>b</sup> Sin incremento

Ingesta recomendada de cinc: Fuente Mataix et al 2007(5)



## Anexo 6

TABLE 1. Zinc and phytate contents of different foods, and estimated amount of zinc available for absorption

Food group	Zn content		Phytate content		Absorbable Zn <sup>a</sup> mg/100 g
	mg/100 g	mg/100 kcal	mg/100 g	Phytate:zinc molar ratio	
Liver, kidney (beef, poultry)	4.2–6.1	2.7–3.8	0	0	2.1–3.1
Meat (beef, pork)	2.9–4.7	1.1–2.8	0	0	1.4–2.4
Poultry (chicken, duck, etc.)	1.8–3.0	0.6–1.4	0	0	0.9–1.5
Seafood (fish, etc. <sup>b</sup> )	0.5–5.2	0.3–1.7	0	0	0.2–2.6
Eggs (chicken, duck)	1.1–1.4	0.7–0.8	0	0	0.6–0.7
Dairy (cow's milk, cheese)	0.4–3.1	0.3–1.0	0	0	0.2–1.6
Seeds, nuts (sesame, pumpkin, almond, etc.)	2.9–7.8	0.5–1.4	1760–4710	22–88	0.3–0.8
Bread (white flour, yeast)	0.9	0.3	30	3	0.4
Whole-grain cereal (wheat, maize, brown rice, etc.)	0.5–3.2	0.4–0.9	211–618	22–53	0.1–0.3
Beans, lentils (soy, kidney bean, chickpea, etc.)	1.0–2.0	0.9–1.2	110–617	19–56	0.1–0.2
Refined cereal grains (white flour, white rice, etc.)	0.4–0.8	0.2–0.4	30–439	16–54	0.1
Fermented cassava root	0.7	0.2	70	10	0.2
Tubers	0.3–0.5	0.2–0.5	93–131	3–27	< 0.1–0.2
Vegetables	0.1–0.8	0.3–3.5	0–116	0–42	< 0.1–0.4
Fruits	0–0.2	0–0.6	0–63	0–?	< 0.1–0.2

a. Amount of zinc available for absorption estimated as 45%–55% if phytate:zinc(P:Z) molar ratio < 5, and 30%–35% if P:Z = 5–15, 10–15% if P:Z > 15.

b. Excluding oysters.

Data sources: refs. 59–61.

Contenido de cinc y fitatos en distintas comidas y la estimación de cinc disponible para absorción (175)

## Anexos 7

## Revisión bibliográfica sobre los niveles de cinc en plasma (y/o suero), células sanguíneas y sangre total

<b>Autores</b>	<b>Plasma</b>	<b>Células Sanguíneas</b>	<b>Valores normales</b>	
<b>Queiroz et al. 2007</b>	Grupo joven ( $\mu\text{g Zn/dL}$ ) $N = 57$ ; $104.19 (\pm 14.13)$ Grupo edad ( $\mu\text{g Zn/dL}$ ) $n = 14$ ; $82.86 (\pm 14.02)$		NV plasma : 70 - 120 $\mu\text{g Zn/dL}$ ,	185
<b>Rosado 1998</b>	En el estudio de México, niños zinc en plasma - zinc en plasma mujeres embarazadas ( $< 8.1 \mu\text{mol/l}$ ). - prescolares de una zona rural de zinc en plasma ( $< 10.7 \mu\text{mol/l}$ ).		Punto de corte $< 70 \mu\text{g/dl}$ ,	154
<b>Menéndez et al. 2008</b>	zinc plasmático ( $\mu\text{g/dl}$ ): inicio $80 \pm 45 (29-205)$ ; final: $122 \pm 56 (37-229)$ ;	zinc eritrocitario ( $\mu\text{g/dl}$ ): inicio: $2.300 \pm 1.070 (790-5280)$ ; final: $2.160 \pm 920 (790-4.440)$ ;	Val. de referencia: $\mu\text{g/dl}$ Plasma: $46 - 161$ Eritrocitos: $1130 - 1600$	63
<b>Menéndez et al. 2009</b>	Zn Plasma ( $\mu\text{g/dl}$ ): $T0: 104 \pm 46 (35-177)$ ; Tf: $120 \pm 55 (52-229)$ ;		VR ZnPI ( $\mu\text{g/dl}$ ): $49-131$	161
<b>Xu et al. 2009</b>	Suero zinc (mg/dl): Asma: $67.54 (59.5-73.6)$ Controles: $78.23 (76.7-82.3)$		Niños asmáticos y controles NV (mg/dl): $72-130$	373
<b>Bravo et al. 2007</b>	Plasma Diabéticos ( $119,59 \pm 6,731 \mu\text{g/dl}$ ) Controles ( $134,74 \pm 9,43 \mu\text{g/dl}$ )	Eritrocitos Diabéticos ( $39,13 \pm 1,05 \mu\text{g/g Hb}$ ) Controles ( $31,62 \pm 1,75 \mu\text{g/g Hb}$ )		423
<b>Rodríguez et al 2004</b>	Zn en plasma: - 4 y 72 meses de edad, $10,95 - 12,83 \text{ mmol/L}$ , - niños con diferentes grados de desnutrición aguda disminuyó $6,32 - 6,95 \text{ mmol/L}$ , - en niños con desnutrición crónica $6,37 - 11,92 \text{ mmol/L}$ , - concentraciones cayeron $5,14 - 6,31 \text{ mmol/L}$ - retraso en estatura ( $< 9,18 \text{ mmol/L}$ ).			205
<b>Gibson et al. 2008</b>	Personas sanas valor en suero: aproximadamente $12 - 15 \text{ mmol/L}$ ; $78 - 98 \text{ mg/dL}$ (Recomendado por WHO/UNICEF/IAEA/ZINCG)		El menor punto mínimo de corte para distintas poblaciones para el cinc plasmático es $\text{Zn } \mu\text{g/dL}$ : Mi: $70$ (mañana desayunado) 66 (mañana no desayunado) 59 (por la tarde)	296

			H: 74 (mañana desayunado) 70 (mañana no desayunado) 61 (por la tarde) NHANES II(27)	
<b>García et al. 2006</b>	N= 17 Paciente artrosis: Sangre mg/ml: T – 1,06 ± 0,06 (0,99 – 1,29) M – 1,02 ± 0,03 (0,99 – 1,08) H – 1,13± 0,013 (0,99 – 1,29)			424
<b>Melanie . et al. 2009</b>	Plasma zinc representa solo 0.1% rango: 10–15 micromol/l El Zn se une con la albúmina y representa 80% de la concertación de cinc plasmática			156
<b>Cinar et al 2007</b>	Plasma Zinc Levels (mcg/dl) Group 1 Sedentary subjects receiving 10 mg magnesium Group 2 Subjects supplemented Group 3 Subjects training sin Mg			425
<b>Feliu et al. 2005</b>	Zn sérico Dorner et al. y Lockitch G et al. para adulto (5 - 18 años), Piñeiro A et al.	0,82 – 2,80 µg/ml 0,64 - 1,10 µg/mL, 1,48 - 2,46 µg/mL		426
<b>Person et al. 2006</b>	Cinc plasmático normalmente é de 12 a 20 µmol/L.			213
<b>Iskra et al. 2005</b>	Zn (µmol/L) AO (atherosclerosis obliterans) N = 54 ; 14,0 ± 4.5 CI critical ischemia N = 29 ; 13,8 ± 4.4 MI moderate ischemia N = 25; 14,2 ± 4.5 Control N = 24 ; 14,6 ± 2.1	Cinc en suero en pacientes antes y depoes de un cirugía (n = 50). Zn µmol/L O 13,8 ± 2.9 1–4 13,8 ±4,3 07-12 16,6 ± 7,7 >12 13,9 ±2.3		414
<b>Zeitune et al. 2001</b>	Rükgaver y cols. N= 68, Zn: 16,6 mmol/l, (9,3 y 23,1 mmol/l) - niñas de 10 a 14 años 13,3 mmol/l, - mujeres de 14 a 18 años de 13,5 mmol/l - mayores de 18 años de 16,6 mmol/l Alarcón et al. cinc en suero: 78 y 75 mg/dL (10 años), 84 y 79 mg/dL (12 años) y 89 y 89 mg/dL (14 años), (18 a 25 años): varones (84±15 mg/100 ml) mujeres (121±30 mg/100 ml)			214
<b>Zequeira et al 1995</b>	valores normales del cinc son: 10,4 - 14,4 mmol/L.			287
<b>Gracia et al. 2005</b>	Zn plasmático - antes de la intervención fue 11.1 µmol/l (10.9 en el grupo que recibió complemento de Zn y 11.3 en el control). - finalizar el período de complementación a 15.6 y 16.6 µmol/l, Los niveles iniciales eran inferiores a 12.2 µmol/l (80 µg/dl)			427

<b>Paol et al. 2004</b>	- Los valores séricos promedio de zinc fueron $14,6 \pm 2,7$ $\mu\text{mol/L}$ y $12,6 \pm 2,9$ $\mu\text{mol/L}$ en el primero y tercer trimestre respectivamente		428
<b>Berger et al. 2004</b>	Plasma Zinc ( $\mu\text{mol/L}$ ): Inicio : $6.68 \pm 0.66$ 8H: $6.10 \pm 0.66$	NV: $12.7-20.2$ $\mu\text{mol/L}$	429
<b>Vilas et al.</b>	Control: N=20; Pacientes: N=20 ( $\mu\text{mol/L}$ ) Control: $13,3 \pm 1,2$ ; Pretratamiento; $7,8 \pm 2,6$ (diabético isquemico) $8,9 \pm 3,1$ (diabético neuroinfecioso) Control: $13,6 \pm 1,0$ ; Posttratamiento: $11,4 \pm 2,1$ (diabético isquemico); $10,8 \pm 1,7$ (diabético neuroinfecioso)		228
<b>Ferraz et al. 2007</b>	N=140 Zn suero: $61.89 \pm 3.21$ to $65.24 \pm 3.60$ $\mu\text{g/dl}$		230
<b>Çulha et al. 2007</b>	N= 60 Zn mg/L $122.5 \pm 50.64$ N control = 25 $49.53 \pm 12.08$		430
<b>ZUO et al. 2006</b>	N=29 Controles; Suero; Zn $\mu\text{g/ml}$ $0,984 \pm 0,226$ En pacientes con leucemia val. mas bajos.	Mononuclear Cell: Zn $\text{morcomol/L} / 10^6$ $2,686 \pm 2,355$	431
<b>Marriott et al. 2007</b>	Suero cinc en niños $12.0$ ( $2.6$ ) $\mu\text{mol/l}$ and $13.8$ ( $2.5$ ) $\mu\text{mol/l}$ ;		432
<b>Ore et al. 2007</b>	N=20: Zn plasma $\mu\text{g/dl}$ $87,60 \pm 7,4$ (normo tensos ) $75,88 \pm 9,3$ (hipertensos )		433
<b>Bortoli y Cozzolino, 2007</b>	N=30 Zinc plasma - H $71$ $\mu\text{g/dL}$ - M $62,5$ $\mu\text{g/dL}$	Eritrocitos $37$ $\mu\text{g/gHb}$ (H y M)	281
<b>Santini, 2002</b>		VALOR NORMAL : *plasma: $70-150$ $\mu\text{g/dL}$ *suero: $5$ a $15\%$ mayor que en plasma	94
<b>Sriram et al. 2009</b>		Suero: (valor normal) $70-150$ $\mu\text{g/dL}$	434
<b>Soghoian et al. 2009</b>		Normal range: $0.6-1.1$ $\text{mg/L}$ (plasma) $10-14$ $\text{mg/L}$ (red cells)	136
<b>Farzin et al. 2009</b>	Suero Zn ( $\text{mg/L}$ ) H: $0.91 \pm 0.16$ M: $0.87 \pm 0.15$ T: $0.89 \pm 0.16$	VN: suero/ plasma: $0.7-1.2$ $\text{mg/L}$ Para Zn,	299
<b>Oakes et al. 2008</b>	N=11 ; (< 40%) Plasma zinc ( $\mu\text{mol/L}$ ) $14.9$ ( $13.1-17.9$ ) $168\text{h}$ $14.4$ ( $12.4-20.3$ )	Zinc eritrocitario ( $\text{mmol/mmol Fe}$ ) $10.2$ ( $8.6-11.2$ ) $168\text{h}$ $10.6$ ( $9.2-11.8$ )	435
<b>Menendez et al. 2005</b>	N=5 Zn-PI ( $\mu\text{g/dl}$ ): $88 \pm 72$ ( $29-205$ ); Zn-PI ( $\mu\text{g/dl}$ ): $77 \pm 22$ ( $60-102$ );	VN plasma zinc ( $\mu\text{mol/L}$ ) ( $12-18$ )	436
<b>BAO et al. 2010</b>	N=20 Zinc ( $\mu\text{mol/L}$ ) Zn suplementado $91.9 \pm 7.4$ $101.5 \pm 9.2$	Valor normal: Plasma $42 - 111$ $\mu\text{g/dL}$ eritrocitos: $1.100$ y $1.700$ $\mu\text{g/dL}$ de Weisstaub A. et al.2003	437

	N=20 Zinc (µmol/L) Placebo 92.0 ± 3.85 90.8 ± 5.0			
<b>Cander et al. 2010</b>	N=36 (< 89%) SOFA scores = 8 or mas 6.74 ± 1.63 µmol/L SOFA scores menos de 8 9.17 ± 2.76 µmol/L APACHE II <25 8.87 ± 2.91 µmol/L APACHE II ≥25 7.54 ± 2.03 µmol/L	VN suero zinc I (11.1-19.5 µmol/L)		415
<b>Cutinha et al., 2005</b>		Contenido de cinc en eritrocitos (µmol/L of cells) Control sanos (ns33): 202 (117-309) 207 (148-302) Pacientes con hipotiroidismo (ns26): 266 (130-414)* 289 (169-400)* Pacientes con hipertiroidismo (ns4): 131 (113-141)* 127 (99-131)* Grupo sin cirugia (ns22): 256 (136-324)* 236 (119-363) Grupo con cirugia (ns22): 197 (58-313) 218 (92-341) Pacientes criticos (ns44): 234 (58-324)* 227 (92-363)		416
<b>Brown et al., 2001</b>	Valor normal: plasma, 15 µmol/L (about 100 µg/dl).			175
<b>Grohnet et al.</b>	zinc plasmático 11 - 17,6 µmol/l (0,72-1,15 µg/ml), existiendo pequeñas diferencias entre hombre y mujer. Analizando diversos estudios se ha concluido que 12,3 µmol/l (80 µg/dl) es el punto de corte más adecuado para sospechar deficiencia de zinc.			141
<b>Idei et col.</b>	N= 453 Zn suero: 77.4 +/- 9.7 microg/dL H; 79.1 +/- 10.4 microg/dL M; (p= 0.09).			331
<b>Kajiyama et al. 2001</b>	N= 30; Suero zinc Nutrición enetral 70.8 ± 13.6 µg/dl Nutrición normal 71.00 ± 13.6 µg/dl;			417
<b>Sánchez et al. 2009</b>	N= 354 Plasma Zn (µg/dl) 110.00 ±41.95 (< 17,80 %) Hombres 114,.30 ± 43,65 (< 17,06 %) Mujeres 106,69 ± 40,.61 (< 18,48%)	Sauberlich HE et al. 1999 (ha establecido val de referencia )		257
<b>Sanchez et al 2005</b>	N=387 55 - 70 años; Serum Zn (µmol/l) M: 13.01 ± 1.37 (<3.15%) H: 12.96 ± 1.63 (<6.45%) T 12.98 ± 1.50 (< 4.8%) > 70 de años M: 13.18 ± 2.31 (<6.25%) H 13.23± 1.70 (<4.95%) T 13.21± 1.72 (<5.6%)	Punto de corte < 10.7 µmol/l (%) in suero		438
		Erythrocyte Zn (µmol/l) M 216.2 ± 53.7 H 229.8 ± 57.3 T 222.9 ± 55.8 > 70 de años M: 201.9±62.9 H: 201.5 ± 56.2* T: 201.7 ±56.7*		

<b>Imataki et al. 2008</b>	N=1 Zn suero: 66 µg/dL (64-111),					439
<b>Soares et al. 2008</b>	N= 56 zinco plasmático 70,99 ± 18,63 µg/dL		zinc eritrocitario, 44,33 ± 9,15 µg/gHb		Deficiencia Zn en plasma (<70 ug/dL) erythrocyte (<40 ug/gHb)	440
<b>Kumar 2003</b>	N=25 Zn en suero 0,43 – 1,95 µg/ml		Zinc rango de referencia (0.66-1.1 µg/mL)			441
<b>Martín d et al. 2009</b>	ZnP (µg/dL): 95 ± 20, [50 - 175] (< PC 6.3%)		ZnE(µg/dL): 1320 ± 260, [760 - 1850]		El punto de corte utilizado como referencia para el zinc en plasma fue el propuesto por el International Zinc Nutrition Consultative Group (IZINCG): 70 µg/dL (6).	442
<b>Borawska et al.</b>	Zn suero: pacientes cáncer urinario: 0.762 ± 0.267 mg/l Controles : 0,977 + 0.267 mg/l cáncer de laringea :0.737 ± 0.213 mg/l Controles : 1,037 ± 0,260 mg/l Zn suero: N= 19 0,76 ± 0,16 (0,47 – 1,25 mg/L) N=55; 58.4 ± 10.9 µg/dL		38.7 ± 9.1 µg/g Hb			443
<b>Rocha et al 2010</b>	< 47.5% menos que (7 micromol/l.)		Valor normal : 1.1-19.5 micromol/L			147
<b>Alieva et al. 2010</b>	N=1 Hyperzincemia : serum zinc - 310 microg/dL					444
<b>Fessatou et al 2005</b>	N=1 184 µg/dL [28.2 µmol/L].				Valor normal, 80-120 µg/dL (12.3-18.4 µ mol/L)	445
<b>Hedera P et al 2003</b>	N=200 rural 312 ± 218 µg/L and urban 150 ± 102 µg/L, Zn Mujers rural 428 ± 204 µg/L; Mujeres urban (166 ± 103 µg/L) Zin estuvo mayor en mujeres rural mujeres rural (428 ± 204 µg/L) hombres (172 ± 116 µg/L)					446
<b>Asare , Nani 2010</b>	N= 42 Zn en suero: 2.03 ± 0.39 mg/dL (diabéticos ) 4.84 ± 4.217 mg/dL, (controles )					447
<b>Masood N et al. 2009</b>	N= 421 normal del zinc en suero es de 0.94 µg/ml					448
<b>Ortuño Josep 1999</b>	N= 54 (pacientes ) Pacientes 0.67 ± 0.20 mg/L N=52 (control) Control 0.86 ± 0.3 mg/L					449
<b>Nahar et al. 2010</b>	N=30 pacientes 1.05 ± 0.28 mg/L N=25 contoles 1.12 ± 0.42, mg/L					450
<b>Shokrzadeh et al. 2009</b>	hyperzincemia (77-200 µmol/L)					451
<b>Sampson et al 2005</b>	N=115 Zn en 0.89 ± 0.16 mg/L				VN 11-18 µmol/L)	288
<b>Farzin et al 2009</b>	pacientes con cirrosis 66 ± 19 µg/100ml coma hepática 30 µg/ 100					299
<b>Oligoelementos</b>	N= 37 (pacientes) N= 111 (controles)				Sangre total 900 µg/100 ml. VN suero : 121 ± 19 µg/100 ml. Controles Nv 58 h 53 m P-Zn Zn (µmol/l)	452
<b>Speich et al. 1986</b>	Síndrome preinfección n=26 h, 11 m					453

	Síndrome preinfección n=26 h, 11 m Zn $\mu\text{mol/l}$ P-Zn $9.12 \pm 1.88$ $10.2 \pm 1.44$	Zn $\mu\text{mol/l}$ E-Zn $166 \pm 27.7$ $176 \pm 22.8$	$10.8 \pm 2.09$ $9.80 \pm 1.17$ Nv 58 h 53 m E-Zn Zn ( $\mu\text{mol/l}$ ) $157 \pm 20.4$ $154 \pm 15.4$ NS	
<b>Ternlund y King 1985</b>	N = 6 hombres Zn suero $114 \mu\text{g/dl}$ $108 \mu\text{g/dl}$			454
<b>Scholmerich et al 1987</b>	N=10 Suero zn (despes de 120 min) – dosis zinc-histidina - $66.2 \pm 16.3 \mu\text{g/dL}$ at 15 mg, $95.1 \pm 28.2 \mu\text{g/dL}$ at 30 mg, and $132.6 \pm 38.5 \mu\text{g/dL}$ at 45 mg; - zinc sulfate – $43.5 \pm 16.7 \mu\text{g/dL}$ at 15mg, $57.9 \pm 19.5 \mu\text{g/dL}$ at 30 mg, and $74.8 \pm 20.2 \mu\text{g/dL}$ at 45 mg (n = 4 para cada grupo) .			174
<b>Bunker et al 1987</b>	N=7 hombres y n= 13 mujeres Plasma ( $\mu\text{mol/l}$ ): Viejos $11.3$ ( $8.6-14.1$ )		VN $11,0$ ( $8.0-13.4$ ) ( $1 \mu\text{mol/l}$ Zn/L = $6,54 \mu\text{g/dl}$ )	460
<b>Bogden et al. 1987</b>	Plasma zinc n=95 (<14,6%) Edad $84,8 \pm 15,5 \mu\text{g/dl}$ ( $13,0 \pm 2,4 \mu\text{M}$ ) Hombres $86,6 \pm 18,2 \mu\text{g/dl}$ ( $13,2 \pm 2,9 \mu\text{M}$ ) mujeres $84,0 \pm 13,5$ ( $12,8 \pm 2,1 \mu\text{M}$ ) PI zinc $\mu\text{g/dl}$ N = 19 Non resp $87,0 \pm 17,4$ ( $13,3 \pm 2,7$ ) N=66 responden $84,4 \pm 14,7$ ( $12,9 \pm 2,2$ )	VN: $70-120 \mu\text{g/dl}$ ( $10.7-18.3 \mu\text{M}$ ) Los estudios demuestran en individuo en edad: $92 \pm 20 \mu\text{g/dl}$ ( $14,1 \pm 3,1 \mu\text{M}$ ) Vir SC 1979; $93 \pm 16 \mu\text{g/dl}$ ( $14,2 \pm 2,4 \mu\text{M}$ ) Brooks CB, 1984; $72 \pm 8 \mu\text{g/dl}$ ( $11,0 \pm 1,2 \mu\text{M}$ ) Bunker VW 1984; $72 \pm 16 \mu\text{g/dl}$ ( $11,0 \pm 2,4 \mu\text{M}$ ) Paterson PO, 1981		455
<b>Rabbani et al 1987</b>	Zn eritocitario ( $\mu\text{g/dl}$ ) n=5 8s ( $13,9 \text{mg Zn}$ ) – $34 \pm 1$ 28s ( $2,7 \text{mg Zn}$ ) – $34 \pm 3$ 16 s ( $30 \text{mgZn}$ ) – $33 \pm 3$			279
<b>Boz A. et al 2005</b>	Suero cinc ( $\mu\text{g/dl}$ ) GIS Cancer n=25 $129,30 \pm 13,39$ Control n= 20 $154,11 \pm 18,98$			456
<b>448</b>	VN	<a href="http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/622/1/Valores-normales-de-los-analisis-clinicos-">http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/622/1/Valores-normales-de-los-analisis-clinicos-</a>		
	Zinc: $75-120 \mu\text{g}/100 \text{ml}$	Bioquimica-serica-o-plasmatca.html		
	Gattás Zoror V, 1987 Chile Zinc P (media $\pm$ DE): $94 \pm 19 \mu\text{g/dl}$ (n= 21) 9.5 % con valores < a $70 \mu\text{g/dl}$			
	Meertens L, 2002 Venezuela Zinc S (media $\pm$ DE): $77 \pm 12 \mu\text{g/dl}$ (n= 60) 41.5 % con valores < a $70 \mu\text{g/dl}$			
	Villaipando S, 2003 México Zinc P (media, 95% IC): $76$ ( $75-77$ ) ( $543$ ) 29.7% con valores inferiores a $65 \mu\text{g/dl}$			
Saliba L, 2006 Brasil Zinc P (media $\pm$ DE): $98 \pm 14 \mu\text{g/dl}$ (n= 12) Ninguna con valores < a $75 \mu\text{g/dl}$ Zinc E /Hb(media $\pm$ DE): $24.4 \pm 3.6 \mu\text{g/g}$				

	de Mateo Silleras B, 2002 España Zinc P (media, 95% IC): 97 µg/dl (95 – 99) (n= 186 de ambos sexos)
	Díaz Romero C, 2002 Islas Canarias Zinc S (media ± DE): 116 ± 52 µg/dl (n= 208)
	Weisstaub A, 2008 Argentina Zinc P (mediana 80: rango 49 - 131 µg/dl) (n= 19) Zinc E.P Mediana: 1360 (1130 – 1610 µg/dl Zinc/Hb: Mediana 40.2 (:34.4 –47.5 (n=24)
	Gonçalves dos Santos, 2005 Brasil Zinc E/Hb (media ± DE): 38.2 ± 5 µg/g (n=24)
	DE: Desviación Estándar, Zinc P: Zinc en plasma, Zinc E: Zinc en eritrocito , Hb: Hemoglobina, PC: punto de corte
<b>Bertelii et al 1984 (241)</b>	Cinc plasma µg/dl Piper y Miggins, 1967 ; n=30 84 ±36 (10 -210) Davies et al., 1968 95 ± 13 (71 - 130) Hackley et al., 1968 118 ± 13 Farina et al., 1970 n=10 125 Halsted y Smith, 1970 n= 62 96 ± 12 (72 -115) Cirila et al., 1978 n= 262 103 ± 22 (64 -220) D'Andrea et al. 1981 n= 24 108 ± 18 Bruzzzone et al., 1982 n=100 176 ± 52 (55-296)  Cinc en suero µg/dl Pecora y Laccarino. 1962 n=15 101 ± 8,3 Nicolescu et al., 1981 n=40 118,74 ± 22,49 (82 -170) Bruzzono et al. 1982 n=100 167 ± 45 (58 -275) N = 933 18,25 ± 2,54 µmol/l
<b>Střítecká H, Hlubik P et al 2010</b>	457
<b>Tondo M et al 2009</b>	Zn sangre total n = 92 (rango) µg/L - 2,944–5,243 68



## Anexos 8

Tabla puntuación APACHE II:

4	3	2	1	0	Puntuación				
>41,0	39,0 - 40,9		38,5	36,0 – 38,4	Temperatura central C	1	2	3	4
>160	130 - 159	110 - 129		70 - 109	Presión arterial media (mmHg)		32,0 – 33,9	30,0 – 31,9	< 29,9
> 180	140 - 179	110 -139		70 -109	Ritmo cardiaco (latidos/min.)		50 -69	40 -54	< 49
> 50	35 -49		25 - 34	12 -24	Frecuencia respiratoria (con o sin VM)	10- 11	6 -9		< 5
> 500	350 - 499	200 -349		< 200 > 70	Oxigenación* (mm Hg): si FiO2> 0,5 considerar A-aDO5, y si F105 <0,5, la PaO2 A-aDO2 PaO	61 -70		55- 60	< 55
>7,70	7,70 - 7,69		7,50 -7,59	7,33 – 7,49	pH arterial		7,25 – 7,32	7,15 – 7,24	< 7,15
> 180	160 - 179	155 - 159	150 - 154	130 - 149	Sodio (mmol/L)		120 - 129	111 - 119	< 110
> 7,0	6,0 – 6,9		5,5 – 5,9	3,5 – 5,4	Potasio (mMol/L)	3,0 – 3,4	2,5 – 2,9		< 2,5
> 3,4	2 – 3,4	1,5 -1,9		0,6 – 1,4	Creatinina ** (mg/100ml )		<0,6		
> 60		50 – 59,9	46 – 49,9	30 – 45,9	Hematocrito (%)		20 – 29,9		< 20
> 40		20 -39,9	15 – 19,9	3 – 14,9	Leucocitos (x10/L)		1 - 2,9		< 1

\*\*La creatinina tendrá doble puntuación en presencia de fracaso renal agudo

**Además se añade:**

*Glasgow Coma Scale*: El GCS del paciente se restará de 15, y el valor de la diferencia 15-GCS se consignará como puntos.

*Edad*: Años < 44 ..... 0

45- 54	.....2
55-64	.....3
65-74	.....5
> 75	.....6

*Proveniencia* del paciente: no quirúrgico o postoperatorio de cirugía urgente – 5 puntos  
Quirúrgico de cirugía electiva – 2 puntos

La suma de los valores de ambos componentes constituye la puntuación APACHE II. La puntuación máxima posible de este sistema es 71, pero muy pocos pacientes sobreviven pasando los 55 puntos.

## ***Índice de tablas, figuras, graficas***



## Índice de tablas, figuras, graficas

### *Antecedentes bibliográficos*

Figura 1 Límites comparativos entre salud y enfermedad .....	10
Tabla 1. Modelo multicompartimental .....	12
Tabla.-2 Valores medios de peso corporal .....	12
Figura 2. Fuente: .....	13
Figura. 3 Fases en desarrollo de la enfermedad .....	19
Figura 4 Fases de la respuesta del organismo a la infección .....	20
<i>Figura 5. Perspectiva actual de la valoración de las proporciones del cuerpo humano.....</i>	<i>28</i>
Tabla 3 Técnicas de estudio de la composición corporal Fuente .....	30
Tabla 4 Fuente : Nutrición clínica: Michael J. & col. 2004 Ed. Acribi .....	32
Tabla 5, Clasificaciones según el IMC .....	36
Figura 6. Algoritmo de decisión clínica: Ruta del soporte nutricional .....	48
Tabla 6.Recomendaciones de vitaminas y minerales . .....	57
Tabla 7.- Soporte nutricional en el paciente séptico. ....	59
Tabla 8. Gasto energético en la sepsis. ....	59
Tabla 9.Otros sitios de exploración nutricional .....	68
Tabla 10. Sistemas de puntuación del grado de la desnutrición .....	70
Figura 7. Nutrigenética y Nutrigenética .....	72
Figura 8 Destino y papel de los nutrientes en las células .....	73
Grafica 1.- Perfil de ingesta de Cinc .....	76
Tabla 11. Ingesta de Cinc (IR Zn: 13.4 mg/persona/día) .....	76
Grafica 2. Ingesta de zinc en diferentes países .....	77
Tabla 12. Dosis de Zn según diferentes Sociedades Científicas .....	78
Tabla 13. EN, enteral nutrition; PN, parenteral nutrition .....	79
Tabla 14. Dosificación de cinc para NP en función de la enfermedad .....	79
Tabla 15.- Cantidad de cinc en alimentos .....	81
Grafica 3. Contribución de los distintos grupos de alimentos a la ingesta de zinc .....	82
Figura 9. ....	86
Figura 10. Distribución del cinc en cuerpo .....	87
Figura 11. Homeostasis del cinc en la célula mamaria. ....	90
Tabla16 Principales metaloenzimas dependientes de cinc .....	93
Tabla 17. Funciones fisiológicas del cinc .....	94
Figura 12 implicaciones del cinc en el sistema inmune .....	98
Figura 13. Estructura del ADN con los dedos de cinc .....	101
Figura. 14 Dedo de cinc .....	102
Tabla 18. Síntomas de la deficiencia de cinc .....	106
Figura 15 Deficiencia de cinc en el mundo .....	180

Tabla 19. Factores que influyen en el estatus de cinc en plasma .....	112
Tabla 20. Valores de cinc en algunos medios biológicos. ....	112
Tabla 21 Punto de corte para determinar la deficiencia de cinc en distintas poblaciones .....	112
Tabla 22. Niveles de cinc en suero en distintas poblaciones .....	113
Figura 16 Cinc y enfermedades .....	119
Figura 17. Familia ZnT y ZIP .....	123
Figura 18: Estructura de los trasportadores de cinc familia Zip y familia ZnT.....	125
Figura 19 Localización de algunos transportadores la nivel celular .....	126

### Material y método

Figura 20. Diseño del estudio ... ..	149
Tabla 23. Referencia de ingesta de zinc .....	163
Figura 21 Espectrofotómetro de absorción atómica .....	166
Figura 22. Lector de placas .....	167
Tabla 24 Técnicas analíticas .....	168
Tabla 25. Características generales de los subgrupos GC y PC .....	169
Figura 23. PAXgeneBlood RNA kit; PreAnalytiX , QIAGEN, BD Company Switzerland.....	172
Figura 24 Espectrofotómetro NanoDrop .....	173
Figura 25 Bioanalyser 2100 .....	173
Figura 26. Incubator .....	174
Tabla 26 – Secuencias de los <i>primers</i> humanos. ....	175
Tabla 27. Uso común de diseño de RT-PCR es para la placa de 96 pocillos.....	176
Figura 27 Applied Biosystems 7900.....	177

### Resultados

Tabla 28. Características generales de los pacientes del estudio .....	188
Tabla 29 Resultados de peso, talla e IMC del grupo control . ....	189
Tabla 30. Resultados de grado de malnutrición según IMC en el grupo control .....	190
Tabla 31. Resultados de peso, talla e IMC de los pacientes críticos (PCi) .....	190
Tabla 32. Resultados de grado de malnutrición según IMC en paciente crítico.....	191
Tabla 33. Porcentaje de individuos críticos con desnutrición proteica .....	191
Tabla 34. Consumo medio de energía y macronutrientes .....	192
Tabla 35. Ingesta media y DE de cinc para el grupo control .....	193
Tabla 36. Adecuación de la ingesta de cinc en población total .....	194
Tabla 37.- Adecuación de la ingesta de cinc en población total: hombres y mujeres GC.....	194
Tabla 38. Aporte medio y DE de cinc para pacientes críticos .....	195
Tabla 39. Aporte de Zn SD (min – max) en función del tipo de nutrición artificial y % NA .....	195

Tabla 40. Aporte medio de cinc en PC con nutrición artificial según sexo .....	196
Tabla 41. Adecuación de la ingesta de cinc PC en total .....	196
Tabla 42. Adecuación del aporte de cinc PC para hombres .....	197
Tabla 43. Adecuación del aporte de cinc PC para mujeres .....	197
Tabla 44. Ingesta inadecuada de cinc .....	198
Tabla 45. <i>Resultados de parámetros</i> .....	199
Tabla 46. Valores hematológicos de GC y PCi, PCf; .....	200
Tabla 47. Valores medios en $\mu\text{mol/L}$ de cinc .....	201
Tabla 48. Porcentaje de cinc en plasma respecto a los valores de referencia para CG .....	203
Tabla 49. Porcentaje de cinc en plasma respecto a los valores de referencia para PCi y PCf. ....	203
Tabla 50. Porcentaje de individuos deficientes en cinc según los niveles en sangre total respecto a los valores de referencia, en CG .....	204
Tabla 51.- Porcentaje de individuos deficientes en cinc según los niveles en sangre total respecto a los valores de referencia, en PCi y PCf .....	204
Tabla 52. Correlaciones entre los niveles de cinc en PCi y PCf .....	205
Tabla 53 Correlaciones entre los valores de cinc: Ingesta y parámetros bioquímicas en GC .....	206
Tabla 54 Correlaciones entre los valores de cinc: Ingesta y parámetros bioquímicas en PCi .....	206
Tabla 55 Correlaciones entre los valores de cinc y los parámetros bioquímicas en PCf .....	207
Tabla 56. Características generales de los pacientes del subgrupo estudio .....	208
Tabla 57. Aporte de cinc para sGC y sPC .....	209
Tabla 58. Valores de cinc en plasma, células sanguíneas y sangre total de sCG, sPCi, sPCf .....	209
Tabla 59. Cuantificación del RNA en la muestra de sangre de sGC y sPCi, sPCf.....	210
Figura 28. Resultados obtenidos en el NanoDrop .....	211
Figura 29. Integridad del ARN utilizando el Bioanalyser.....	212
Tabla 60. Valores de Ct en las muestras de sangre del sGC; .....	213
Tabla 61. Valores de Ct obtenidos en las muestra de sangre de los pacientes en el punto inicial sPCi, DE = Desviación Estándar .....	214
Tabla 62. Resultados en muestra de sangre de los pacientes al final sPCf ; DE = Desviación Estándar .....	215
Tabla 63. Resultados de $\Delta$ Ct obtenidos en las muestras de sangre de los grupos control sGC, pacientes críticos inicial sPCi, y pacientes críticos final sPCf; DE = Desviación Estándar.....	215
Tabla 64. Valores de $\Delta$ Ct obtenidos en la muestras de sangre de los grupo sGC, sPCi, y sPCf, con la expresión de cada gen. ....	216

Tabla 65. Transportadores de cinc encontrados en muestras de sangre de mayor a menor expresión .....	217
Figura 30. Transportadores evidenciados tras correr el gel de agarosa .....	218
Tabla 66. Resultados del estudio comparativo de medias <i>t de Student</i> , entre los diferentes grupos experimentales significación ** $p < 0,05$ .....	218
Tabla 67. Resultados de expresión relativa de los trasportadores de cinc en sPCi comparando con sGC .....	219

### Discusión

Grafico 4. IMC del grupo control .....	227
Grafica 5. IMC de los pacientes críticos al ingreso .....	228
Grafica 6. Desnutrición proteica de los pacientes críticos al ingreso y final del estudio .....	228
Grafica.7 Correlación desnutrición PCi y PCf .....	229
Tabla 68. Porcentaje de deficiencia para energía y macronutrientes de GC y PC .....	230
Grafico 8. Medias de ingesta de cinc en grupo control (GC) comparativo con las diferentes recomendaciones del mundo.....	232
Grafica 9. Adecuación de la ingesta de cinc en hombres y mujeres del GC.....	233
Grafico 10. T. GC – $\bar{x}$ , DE ingesta de cinc total control; H. CG – $\bar{x}$ , DE ingesta de cinc hombres grupo control; M. GC – $\bar{x}$ , DE ingesta de cinc mujeres grupo control; NE – $\bar{x}$ ; DE, aporte de cinc nutrición enteral; NP – $\bar{x}$ , DS aporte de cinc nutrición parenteral; NE+NP – $\bar{x}$ , DE aporte de cinc nutrición enteral y nutrición parenteral; AN+DO – $\bar{x}$ , DE aporte de cinc de la NE+NP y dieta oral; T. PC – total $\bar{x}$ , DE aporte de cinc pacientes críticos; H. PC – $\bar{x}$ , DE aporte de cinc hombres pacientes críticos; M. PC – $\bar{x}$ , DE aporte de cinc mujeres pacientes críticos;	234
Grafico 11. Adecuación de la ingesta de cinc PC en total .....	235
Grafico 12. Adecuación del aporte de cinc para los hombres críticos (PC) .....	236
Grafico 13. Adecuación de la ingesta de cinc para las mujeres (PC) .....	237
Tabla 69. Valores medios en mg/dL, DS, y mínimo y máximo de cinc en plasma, células sanguíneas y sangre total en los diferentes grupos experimentales * $p < 0.05$ , PC vs CG .....	238
Grafica 14 Valores medios y DE de cinc plasmático en GC y PCi, PCf .....	239
Grafica 15. Valores medios y DE de cinc en la células sanguíneas en GC y PCi, PCf.....	239
Grafica 16 Valores medios y DE de cinc en sangre total en GC y PCi, PCf .....	240
Grafica 17. Porcentaje de individuos con riesgo de deficiencia del cinc en plasma del GC vs. PCi, PCf .....	242
Grafico 18. Porcentaje de la deficiencia de cinc plasmática con distintos puntos de corte de varios estudios .....	243
Grafica 19. Porcentaje de riesgo de deficiencia del cinc en sangre total del grupo de GC,. PCi y PCf .....	244



Grafica 20. Porcentaje de la cantidad de cinc en los distintos compartimentos sanguíneos...	244
Grafica 21 Correlaciones entra los valores de cinc .....	245-246
Grafica 22. Correlaciones ente los valores de cinc y PCR en GC .....	247
Grafica 23. Correlaciones entre los valores de Zn en células sanguíneas y total con Cu plasmático en PCi .....	247
Grafica 24. Correlaciones entre los valores de Zn en células sanguíneas y Zn kj con Cu plasmático .....	248
Grafico 25 Estudio comparativo entere la ingesta de cinc del sGC y sPCf , EN –Nutrición enteral, PN –nutrición Parenteral .....	249
Figura 31. Heat graph .....	252
Grafica 26. Los ZnT: sGC vs. sPCi, sCG vs.sPCf, sPCi vs.sPCf .....	253
Grafica 27. Los Zip's: sGC vs. sPCi, sCG vs. sPCf, sPCi vs. sPCf .....	254
Grafico 28 Expresión relativa de los transportadores de cinc sPCi comparado con GC .....	256

