

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA
INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS "JOSÉ MATAIX"
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA



BIOMARCADORES DE ESTATUS DE SELENIO EN PACIENTE
CRÍTICO CON SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA
SISTÉMICA.

SEGUIMIENTO DURANTE 7 DÍAS DE ESTANCIA EN LA
UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

Elena Millán Adame

Tesis Doctoral

2012

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Elena Millán Adame
D.L.: GR 2147-2012
ISBN: 978-84-9028-209-0

*BIOMARCADORES DE ESTATUS DE SELENIO EN PACIENTE CRÍTICO CON
SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA. SEGUIMIENTO
DURANTE 7 DÍAS DE ESTANCIA EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS*

*Memoria que presenta para aspirar al Grado de Doctor por la Universidad de
Granada la Licenciada D^a Elena Millán Adame*

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada bajo la dirección de:

Dr^a D^a Elena María Planells del Pozo

Dr D Antonio Pérez de la Cruz

Lda. D^a Elena Millán Adame

Aspirante al Grado de Doctor

Granada, 2012

D^a 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 de título:

BIOMARCADORES DE ESTATUS DE SELENIO EN PACIENTE CRÍTICO CON SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA. SEGUIMIENTO DURANTE 7 DÍAS DE ESTANCIA EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS, realizada por la Licenciada Elena Millán Adame, 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 en Febrero de 2012.

Fdo. Elena M^a Planells del Pozo

Fdo. Antonio Pérez de la Cruz



El trabajo de investigación que constituye esta Tesis Doctoral titulada “BIOMARCADORES DE ESTATUS DE SELENIO EN PACIENTE CRÍTICO CON SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA. SEGUIMIENTO DURANTE 7 DÍAS DE ESTANCIA EN LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS”, 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.

*A mis Padres, mi Hermano y a Pablo.
Sin su apoyo esta tesis no lo habría sido posible*

Agradecimientos

Quiero dar las gracias sobre todo, a mi familia.

A mi Padre, por sus consejos y experiencia

A mi Madre, por su apoyo incondicional

A mi Hermano, por su paciencia infinita

A Pablo, por permanecer a mi lado en los malos momentos, enseñarme a ver siempre el lado positivo.

A mis abuelos, mis tíos y a toda mi familia, por escuchar todas mis inquietudes, animarme siempre con cariño

A todos mis amigos por todo el ánimo que me han dado

A mis compañeros de “profesión” Laura, M^a Ángeles, Jorge, Daniela, Beatriz, Nuri, Adrian, Mario, Naroa, Patricia, Javi, Silvia... de los que he tenido la suerte de aprender mucho tanto nivel profesional como personal.

A todas la personas que del ámbito hospitalario que han facilitado la realización de esta tesis, Dr. Manuel Rodríguez Elvira, Dr. Francisco González Díaz, José Castaño Pérez, Dr. Javier Martín, así como al personal perteneciente al Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos Dr. Emilio Martínez de Victoria, del Departamento de Fisiología de la Facultad de Farmacia Dra. María López Jurado, Dra. Magdalena López Frías y a todo el personal administrativo y de enfermería que han colaborado en la realización de este proyecto.

A todas las personas y compañeros que he tenido el privilegio de conocer en el Instituto de Enfermedades Tropicales de la Universidad de La Laguna, en especial al Dr. Basilio Valladares Hernández por darme esa oportunidad, a los Dr. Mariano Hernández y Dra. Teresa Acosta por todos los conocimientos que me han transmitido y a mis compañeros Tíman, Haridian y Verónica los cuales que acogieron como una compañera y amiga más.

Me gustaría realizar un agradecimiento especial a los pacientes y personas que han participado como sujetos de estudio, ya que sin ellos esta tesis no se habría podido llevar a cabo.

Agradecer al Dr. Antonio Pérez de la Cruz su participación, colaboración y dirección durante todo este proceso así como sus palabras de animo

Y por último, un especial agradecimiento a mi Directora Elena Planells del Pozo, por darme la oportunidad de hacer de este sueño una realidad.

Índice

Capítulo I: JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	23
Capítulo II: ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	29
1.1.- El Selenio	31
1.2.- Funciones del Selenio	33
1.3.- Absorción y Metabolismo del Selenio	35
1.4.- Requerimientos de Selenio	37
1.4.1.- <i>Requerimientos Fisiológicos de Selenio</i>	37
1.4.2.- <i>Requerimientos para la prevención de Enfermedades</i>	38
1.4.3.- <i>Valoración del Estatus de Selenio</i>	38
1.5.- Selenio en la Dieta Vegetariana	39
1.6.- Ingestas Recomendadas de Selenio	40
1.7.- Ingestas estimadas de Selenio y sus fuentes Alimentaria	42
1.8.- Deficiencia en Selenio	45
1.9.- Toxicidad por excesiva ingesta de Selenio	49
1.10.- Interacciones del Selenio con otros nutrientes y medicamentos	51
1.11.- Determinación del Contenido Corporal en Selenio	53
2.- Valoración del Estado Nutricional en el Individuo Sano	54
2.1.- La Historia Clínica	55
2.2.- La Historia Dietética	56
2.3.- Calculo de los Requerimientos Nutricionales	58
2.4.- Estructura y Composición Corporal	60
2.5.- Valoración Antropométrica	63
2.5.1.- <i>Material Antropométrico para adultos</i>	63
2.5.2.- <i>Parámetros Antropométricos más usuales</i>	64
2.5.2.1.- <i>Parámetros Longitudinales: Talla y Longitud</i>	64
2.5.2.2.- <i>Peso Corporal</i>	64
2.5.2.3.- <i>Estimacion del Índice de Masa Corporal</i>	65
2.5.2.4.- <i>Perímetros</i>	66
2.5.2.5.- <i>Pliegues Cutáneos</i>	67
2.5.2.6.- <i>Estimación de Grasa Corporal</i>	68

2.5.2.7.- <i>Determinación de la Complejión</i>	70
2.5.2.8.- <i>Determinación del Área Muscular del Brazo y Área grasa</i>	71
2.5.2.9.- <i>Estimación del porcentaje de Masa Magra</i>	72
2.5.3.- <i>Evaluación Bioquímica del Estado Nutricional</i>	72
2.5.3.1.- <i>Marcadores Bioquímicos</i>	72
a) <i>Albumina</i>	75
b) <i>Prealbúmina</i>	75
c) <i>Transferrina</i>	75
d) <i>Ferritina</i>	76
3.- <i>Valoración del Estado Nutricional en el Paciente Critico</i>	77
3.1.- <i>Historia Clínica</i>	77
3.2.- <i>Historia Dietética</i>	77
3.3.- <i>Marcadores Antropométricos</i>	78
3.4.- <i>Cuestionarios Estructurados para la valoración del Estado Nutricional</i>	79
3.5.- <i>Variables Bioquímicas en la Valoración del Estado Nutricional en Pacientes Críticos</i>	80
3.5.1.- <i>Variables bioquímicas indicativas del estado de las proteínas Musculares</i>	80
3.5.2.- <i>Variables bioquímicas indicativas del estado de las proteínas Viscerales</i>	81
3.5.3.- <i>Otras proteínas</i>	82
3.6.- <i>Calculo de los Requerimientos Nutricionales</i>	82
3.6.1.- <i>Calculo de la Energía</i>	82
3.6.2.- <i>Recomendaciones Nutricionales en el Paciente Crítico</i>	86
3.6.2.1.- <i>Energía</i>	86
3.6.2.2.- <i>Lípidos</i>	86
3.6.2.3.- <i>Carbohidratos</i>	88
3.6.2.4.- <i>Proteínas</i>	89
3.6.3.- <i>Requerimientos de Energía y Macronutrientes en el Paciente Crítico</i>	91
3.6.3.1.- <i>Necesidades energéticas del paciente crítico</i>	91
3.6.3.2.- <i>Cantidad y tipo de carbohidratos que se deben de aportar al paciente crítico</i>	92

3.6.3.3.- Cantidad y tipo de lípidos que se deben de aportar al paciente crítico	93
3.6.3.4.- Cantidad y tipo de proteínas que se deben de aportar al paciente crítico	93
3.6.4.- Vitaminas y Minerales necesarios en el Paciente Crítico	95
4.- Estudios Epidemiológicos de Selenio en Población Adulta Sana	95
5.- La Salud y La Enfermedad. El Paciente Crítico	101
5.1.- Sepsis, Sepsis Severa, Shock Séptico, y Otros Trastornos Relacionados con la enfermedad Crítica	104
5.1.1.- Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SIRS) y su evolución	106
5.1.2.- Síndrome de Disfunción Orgánica (DMO)	108
5.1.3.- Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)	109
5.1.4.- Score Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE)	110
5.1.5.- Logistic Organ Dysfunction System (LODS)	111
6.- Intervención Nutricional en el Paciente Crítico	112
6.1.- Tipos de Soporte Nutricional	112
6.2.- Nutrición Enteral	115
6.2.1.- Composición de las Formulas de Nutrición Enteral	118
6.2.2.- Clasificación de las Formulas de Nutrición Enteral	120
6.3.- Nutrición Parenteral	123
6.3.1.- Composición de las Formulas de Nutrición Parenteral	124
6.4.- El Selenio en Nutrición Artificial	129
6.5.- Cantidad de Selenio contenido en las Formulas de Nutrición Enteral, Nutrición Parenteral y Suplementos nutricionales	130
6.6.- Selenio en distintas Situaciones Fisiopatológicas	132
6.6.1.- Selenio y Cáncer	132
6.6.2.- Selenio y la Enfermedad Cardíaca	134
6.6.3.- Selenio y Artritis	135
6.6.4.- Selenio y Reproducción	135
6.6.5.- Selenio y las Infecciones. Selenio y VIH	135

6.6.6.- Selenio y Tiroides	136
6.6.7.- Selenio y otras patologías	136
6.7.- El Selenio en el Paciente Crítico	138
6.7.1.- Evidencia Actual sobre la suplementación de selenio en pacientes Críticos	140
6.7.2.- Análisis de las Recomendaciones actuales sobre suplementación de selenio durante la enfermedad critica	149
6.7.3.- Suplementación con micronutrientes en terapia nutricional	153
6.7.4.- Aspectos farmacológicos de la suplementación con selenio en paciente critico	156
7.- Estrés Oxidativo	157
7.1.- Formación de Radicales Libres	159
7.2.- Diferencia entre Radicales libres (<i>RL</i>) y Especies Reactivas del Oxígeno (<i>ERO</i>)	160
7.3.- Donde se generan los Radicales Libres	161
7.4.- Tipos de Radicales Libres y Especies Reactivas del Oxígeno	162
7.5.- Antioxidantes	163
7.5.1.- Poder Antioxidante Total / Capacidad Antioxidante Total	165
7.5.2.- Antioxidantes Enzimaticos	165
7.5.2.1.- Superóxido dismutasa	166
7.5.2.2.- Glutación peroxidasa	167
7.5.2.3.- Catalasa	168
7.5.2.- Antioxidantes no Enzimaticos	169
7.5.2.1.- Glutación	169
7.5.2.2.- Vitamina E	170
7.5.2.3.- Beta-caroteno	171
7.5.2.4.- Coencima Q ₁₀ o Ubiquinol	171
7.5.2.5.- La vitamina C	172
7.6.- Estrés Oxidativo en el Paciente Critico	173
8.- Selenoproteinas	175
8.1.- Glutation Peroxidasas	176
8.1.1.- <i>Glutation Peroxidasa 1 (GPx1)</i>	177

8.1.2.- <i>Glutation Peroxidasa 2 (GPx2)</i>	177
8.1.3.- <i>Glutation Peroxidasa 3 (GPx3)</i>	178
8.1.4.- <i>Glutation Peroxidasa 4 (GPx4)</i>	178
8.2.- Yodotironinas deiodinasas	179
8.3.- Tiorredoxina reductasa	180
8.4.- Selenofosfato sintetasa	180
8.5.- Selenoproteína P	180
8.6.- Selenoproteína W	181
8.7.- Selenoproteína de 15 kDa	182
8.8.- Selenoproteína en la cápsula mitocondrial de los espermatozoides	182
9.- Aspectos generales sobre genética en nutrición	182
9.1.- Concepto de Nutrigenómica y Nutrigenética	184
9.2.- El ARN y el ADN. Similitudes y diferencias	183
9.3.- Replicación del ADN	188
9.4.- Transcripción genética	194
9.5.- Traducción del ADN	197
9.5.1.- <i>Modificaciones post-traducción</i>	198
9.5.2.- <i>Plegamiento</i>	199
9.5.3.- <i>Glucosilación</i>	199
9.5.6.- <i>Proteólisis parcial</i>	199
9.5.7.- <i>Modificación de aminoácidos</i>	200
9.6 Los intrones y los exones	200
9.7.- El Cebador o <i>Primer</i>	200
9.8.- <i>La región UTR en la Expresión Génica</i>	202
9.9.- Aspectos Genéticos del Selenio como modulador de la expresión génica	203
9.9.1.- <i>Regulación de la expresión de Selenoproteínas</i>	204
9.9.2.- <i>Mecanismo de inserción de SeCys en Células Eucariotas</i>	206
9.9.2.1.- <i>Secuencias Cis-acting. El elemento SECIS</i>	206
9.9.2.2.- <i>Proteínas Trans-acting</i>	208
a) <i>Proteína de unión Secis (Secis Binding Protein 2 "SBP2"):</i>	208
b) <i>El eEFSEC, un factor de elongación específico de Secis:</i>	208
9.9.2.3.- <i>Modelos de la sección de inserción en las células eucariotas</i>	209

Capítulo III. SUJETOS Y METODOLOGIA	211
1.- Sujetos y Metodología	213
2.- Metodología utilizada en personas sanas	213
2.1.- Sujetos del Estudio y Criterios de Inclusión	213
2.2.- Criterios de Inclusion	213
2.3.- Tipo de Muestreo	215
2.4.- Recogida de datos	215
2.5.- Análisis y Valoración de la Ingesta Dietética	215
2.6.- Determinaciones Antropométricas	216
2.7.- Tratamiento de la muestra	216
2.8.- Análisis Bioquímico	218
3.- Metodología utilizada en pacientes críticos	218
3.1.- Diseño del Estudio	218
3.2.- Sujetos del Estudio	218
3.3.- Criterios de Inclusión	219
3.4.- Tipo de Muestreo	220
3.5.- Recogida de datos	220
3.6.- Valoración de la Ingesta de Nutrientes	221
3.7.- Tratamiento de la muestra	225
3.8.- Análisis bioquímico	225
3.8.1.- <i>Determinaciones Bioquímicas</i>	226
3.8.1.1.- <i>Poder Antioxidante Total (PAO)</i>	226
3.8.1.2.- <i>Glutation Peroxidasa (GPx)</i>	228
3.8.1.3.- <i>Selenoproteína P (SEPP 1)</i>	230
3.8.1.4.- <i>Mineralización por vía húmeda</i>	232
3.8.1.5.- <i>Determinación de selenio</i>	232
3.8.1.6.- <i>Búsqueda de la secuencia genética de las proteínas seleccionadas</i>	233
3.8.1.7.- <i>Selección de los cebadores o primers</i>	234
3.8.1.8.- <i>Extracción de ARN</i>	236

3.8.1.9.- Obtención de ADN Complementario	238
3.8.1.10.- Amplificación del ADN Complementario: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	239
3.8.1.11.- Electroforesis	241
3.8.1.12.- Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (PCR – RT)	241
3.8.1.13.- Otras determinaciones bioquímicas	243
4.- Análisis estadístico de los datos	244
5.- Limitaciones del estudio	245
Capítulo IV. RESULTADOS DEL ESTUDIO	247
1.- Resultados del Estudio	249
1.1.- Características de la muestra	249
1.2.- Ingesta / Aporte de Energía y macronutrientes	250
1.3.- Ingesta / Aporte de Selenio	256
1.3.1.- Grupo Control	256
1.3.2.- Población Crítica	257
1.3.3.- Resultados en los parámetros bioquímicos	257
1.4.- Resultados en el Estatus Antioxidante	261
1.5.- Resultados de Selenoproteína P	262
1.6.- Resultados de Expresión Génica	262
1.6.1.- Selección de los cebadores	264
1.6.2.- Extracción del ARN	268
1.6.3.- Obtención de ADN Complementario	268
1.6.4.- Amplificación del ADN Complementario: Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)	270
1.6.5.- Electroforesis	271
1.6.6.- Reacción en cadena de la Polimerasa a tiempo real (RT-PCR)	272
1.7.- Resultados del subgrupo de expresión génica	278
1.7.1.- Características de la muestra	278

1.7.2.- Descripción de los pacientes	278
1.7.3.- Aporte de selenio en este subgrupo	283
1.7.4.- Evaluacion Bioquimica del estado nutricional	284
1.7.5.- Evolucion de los pacientes tras 7 dias de estancia en UCI	285
Capitulo V: DISCUSION DE LOS RESULTADOS	287
1.- Discusion de los resultados	289
1.1.- Metodología empleada en el estudio	289
1.2.- Características Generales de la Muestra	290
1.3.- Consideraciones sobre la Antropometría en nuestra población	292
1.4.- Sobre la ingesta de energía y macronutrientes	294
1.5.- Sobre la ingesta/aporte de selenio	296
1.6.- Parámetros Clínico – nutricionales	300
1.7.1.- Albumina	300
1.7.2.- Prealbumina	301
1.7.3.-Transferina	302
1.7.4.- Ferritina	303
1.7.- Selenio en plasma y eritrocito	304
1.8.- Selenio y Slenoproteina P	309
1.9.- Selenio plasmático y homocisteina	311
1.10.- Selenio y Estatus Antioxidante	316
1.11.- Selenio e inflamación	319
1.12.- Analisis de Regresion Logistica	319
1.13.- Selenio y expresión genica	320
Capitulo V: Conclusiones	323
Capturo VI: Referencias Bibliográficas	329

Producción Científica a partir de la presente tesis

ANEXO I: Nutritional Risk Screening 2002

ANEXO II: Malnutrition Universal Screening Tool (MUST)

ANEXO III: Valoración Global Subjetiva

ANEXO IV: Mini Nutritional Assessment

ANEXO V: Hoja de Consentimiento Informado

ANEXO VI: Comisión de Investigación de la Universidad de Granada

ANEXO VII: Comité Ético Hospital Virgen de las Nieves

ANEXO VIII: Meta análisis individuos sanos

ANEXO IX: Meta análisis Paciente Critico

ANEXO X: Tablas correlaciones del estudio

ANEXO XI:

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS:

Capítulo II: Antecedentes Bibliográficos

<i>Tabla 1: Forma química del selenio en el medio ambiente y en seres vivos</i>	33
<i>Tabla 2: Efecto fisiológico del selenio según la dosis</i>	38
<i>Tabla 3: Concentración de selenio en plasma para un efecto protector</i>	39
<i>Tabla 4: Cantidad diaria recomendada (CDR) de selenio en distintos países</i>	41
<i>Tabla 5: Ingesta estimada de selenio en distintos países</i>	42
<i>Tabla 6: contenido y especie química de selenio en los alimentos</i>	44
<i>Tabla 7: Principales características y funciones del selenio</i>	52
<i>Tabla 8: Metodología para la valoración del estado nutricional</i>	55
<i>Tabla 9: Clasificación de la obesidad a partir del IMC según la SEEDO 2000</i>	66
<i>Tabla 10: Clasificación de la obesidad a partir del IMC según la OMS 1998</i>	66
<i>Tabla 11: Formulas antropometricas para el cálculo del porcentaje de grasa corporal utilizando distintos pliegues cutáneos</i>	69
<i>Tabla 12: Determinacion de la complejión a partir del ancho de codo</i>	71
<i>Tabla 13: Grados de desnutrición a partir de parámetros bioquímicos nutricionales</i>	76
<i>Tabla 14: Determinacion de la talla a partir de la longitud rodilla – talón</i>	79
<i>Tabla 15: Determinacion del Gasto Energetico en Reposo aplicando la ecuación de Harris – Benedict</i>	83
<i>Tabla 16: Factor de actividad en función del grado de actividad física</i>	84
<i>Tabla 17: Factor de estrés en función de la situación clínica</i>	85
<i>Tabla 18: Recomendaciones de aporte energético en función del IMC</i>	92
<i>Tabla 19: Recomendaciones de proteínas en nutrición parenteral según la situación clínica</i>	94
<i>Tabla 20: Valores medios de selenio sérico/plasmático en distintos países de Europa y ciudades de España</i>	101
<i>Tabla 21: Secuencial Organ Failure Assessment Score (SOFA)</i>	109
<i>Tabla 22: Sistema de Valoracion APACHE II</i>	110
<i>Tabla 23: Logistic Organ Dysfunction System (LODS)</i>	113
<i>Tabla 24: Contenido en selenio y macronutrientes en las formulas comerciales en nutrición artificial</i>	122

<i>Tabla 25: Contenido en selenio y macronutrientes en formulas comerciales</i>	131
<i>Tabla 26: Variación de los requerimientos en micronutrientes en paciente critico</i>	152
<i>Tabla 27: Recomendaciones de micronutrientes en paciente critico</i>	157
<i>Tabla 28: Recomendaciones actuales para la administración de minerales en pacientes que requieren un soporte nutricional</i>	154
<i>Tabla 29: Recomendaciones actuales para la administración de vitaminas en pacientes que requieren un soporte nutricional</i>	155
<i>Tabla 30: Marcadores biológicos de estrés oxidativo</i>	174
<i>Tabla 31: Principales funciones y localización de las distintas selenoproteínas</i>	175
<i>Tabla 32: La genómica definida por varios autores</i>	185
<i>Figura 1: Sintesis de los aminoácidos SeMet y SeCys</i>	32
<i>Figura 2: Metabolismo del selenio procedente de la dieta</i>	36
<i>Figura 3: Distribución de los requerimientos individuales de un nutriente</i>	59
<i>Figura 4: Puntos para la determinación de pliegues y perímetros corporales</i>	67
<i>Figura 5: Lipocalibre</i>	68
<i>Figura 6: Fases de la enfermedad</i>	107
<i>Figuras 7 Rutas de decisión para la elección del soporte nutricional en el paciente critico</i>	114
<i>Figuras 8 y 9: Colocación de la sonda nasogástrica</i>	116
<i>Figura 10: Clasificación de las formulas en Nutrición Enteral</i>	121
<i>Figura 11: Principales consecuencias del estrés oxidativo</i>	159
<i>Figura 12: Cadena de reacción de la enzima GPx para la prevención de la peroxidación lipídica</i>	165
<i>Figura 13: Neutralización de radicales libres mediante antioxidantes enzimáticos</i>	168
<i>Figura 14: Reducción de radicales libres a través de la oxidación del GSH</i>	177
<i>Figura 15: Estructura de nucleótidos</i>	186
<i>Figura 16: Estructura primaria del ADN y ADN</i>	187
<i>Figura 17: Horquilla de replicación del ADN</i>	188
<i>Figura 18: Duplicación del ADN, cadena continua y rezagada</i>	190
<i>Figura 19: Esquema del mecanismo de traducción</i>	191
<i>Figuras 20: Codificación del ADN: Intrones, Exones y Codones codificadores de aminoácidos</i>	198
<i>Figura 21: Modelo de incorporación de Selenocisteina.</i>	201
<i>Gráfica1: Composición corporal en hombres y mujeres según la edad</i>	61

<i>Grafica 2: Contenido en selenio y macronutrientes en formulas comerciales por cada 100mL</i>	131
---	-----

Capítulo III: Sujetos y Metodología

<i>Tabla 33: Valoración y clasificación del grado de estrés</i>	223
<i>Tabla 34: Selección de la dieta en función del peso del paciente y el grado de estrés</i>	225
<i>Tabla 35: Formulas y suplementos administrados a los pacientes durante su estancia en UCI</i>	226
<i>Tabla 36: Otras determinaciones bioquímicas realizadas</i>	244
<i>Figura 22: Diseño del estudio</i>	214
<i>Figura 23: Técnica de inmunoensayo enzimático in vitro</i>	230
<i>Figura 24.- Representación esquemática del ciclo empleado en PCR – RT</i>	243

Capítulo IV: Resultados del Estudio

<i>Tabla 37: Características de la muestra en individuos controles y críticos del estudio</i>	249
<i>Tabla 38: Enfermedad de ingreso en los pacientes críticos del estudio</i>	250
<i>Tabla 39: Ingesta/ Aporte de energía y macronutrientes y adecuación a las ingestas recomendadas</i>	252
<i>Tabla 40.- Recomendaciones para el aporte energético en función del IMC</i>	253
<i>Tabla 41.- Riesgo de ingesta deficiente en selenio del grupo control (GC)</i>	256
<i>Tabla 42: Ingesta/ Aporte y valores bioquímicos de selenio y riesgo de deficiencia</i>	260
<i>Tabla 43: Resultados de GPx, PAO, SEPP1 y homocisteína en individuos controles y críticos</i>	261
<i>Tabla 44: Riesgo de deficiencia de SEPP1 en pacientes críticos</i>	268
<i>Tabla 45: Cuantificación del ARN extraído</i>	277
<i>Tabla 46: Resultados por numero de ciclos (CT) en PCR-RT para HPRT, PPIB, GPx3 y SEPP1</i>	279
<i>Tabla 47: Subgrupo Paciente Critico con análisis de la Expresion Genica de GPx3 y SEPP1</i>	280
<i>Figura 25.- ARNm GPx3</i>	265
<i>Figura 26.- ARNm Selenoproteina P (SEPP1)</i>	266
<i>Figura 27: Disposicion espacial de la Estructura secundaria para GPx</i>	267

<i>Figura 28: Disposicion espacial de la Estructura secundaria para SEPP1</i>	267
<i>Figura 29: Resultados de electroforesis tras realizar la cuantificación de los genes SEPP1</i>	272
<i>Figura 30: Resultados de electroforesis tras realizar la cuantificación de los genes: PPI, GPx y SEPP1</i>	272
<i>Figura 31.- Representación esquemática del ciclo empleado en PCR – RT</i>	274
<i>Gráfica 3.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para HPRT</i>	275
<i>Gráfica 4.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para PPIB</i>	275
<i>Gráfica5.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para GPx3</i>	276
<i>Gráfica 6.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para SEPP1</i>	276
<i>Gráfica7.- Resultados de fluorescencia por numero de ciclos en PCR-RT para HPRT, PPIB, GPx3 y SEPP1</i>	277
<i>Grafica 8.- Pacientes con aporte deficiente en selenio. Subgrupo expresion genica</i>	283
<i>Grafica 9.- Aporte de selenio deficiente según el soporte nutricional</i>	284
<i>Grafica 10.- Niveles plasmaticos y eritrocitaria de selenio a lo largo de la estancia en UCI</i>	284
<i>Grafica 11.- Porcentaje de pacientes deficientes en selenio</i>	285
<i>Grafica 12.- Variacion de los niveles de selenio y expresion de selenoproteinas tras 7 dias de estancia en UCI</i>	286

Capítulo V: Discusión de los Resultados

<i>Tabla 48.- Adecuación de ingesta/aporte de energía y macronutrientes en el grupo control y en grupo de pacientes críticos.</i>	295
<i>Tabla 49: Correlaciones entre el selenio en plasma y eritrocito con el perfil lipídico en personas sanas</i>	307
<i>Tabla 50: Correlaciones entre el selenio en plasma y eritrocito con el perfil lipídico en paciente crítico</i>	308
<i>Tabla 51: Correlaciones entre el selenio en plasma y eritrocito con otros oligoelementos en paciente crítico</i>	308
<i>Tabla 52: Correlación bivalente de Pearson entre los valores sanguíneos de selenio y los de homocisteína</i>	312
<i>Tabla 53: Correlaciones entre los distintos biomarcadores de estatus de selenio con IL2</i>	313

<i>Gráfica 13: Correlación entre los valores en la escala de gravedad APACHE y los niveles plasmáticos de selenio en paciente crítico al inicio del estudio</i>	291
<i>Gráfica 14: Situación nutricional según el IMC en grupo control (% individuos)</i>	292
<i>Gráfica 15: Situación nutricional según el IMC en paciente crítico (% individuos)</i>	293
<i>Gráfica 16: Correlación entre la desnutrición al inicio (PCi) y final (PCf) de la estancia en UCI.</i>	294
<i>Gráfica 17: Riesgo de Ingesta deficiente en selenio, por sexo</i>	297
<i>Gráfica 18: Valores medios de ingesta/aporte de selenio</i>	298
<i>Gráfica 19: Riesgo de ingesta/aporte insuficiente de selenio (% individuos)</i>	299
<i>Gráfica 20: Adecuación de ingesta/aporte de selenio en los grupos control y de pacientes críticos, población total y por sexo.</i>	300
<i>Gráfica 21: Situación nutricional de los individuos según valores de albúmina plasmática (% individuos)</i>	301
<i>Gráfica 22: Situación nutricional de los individuos según valores de ferritina plasmática (% individuos)</i>	302
<i>Gráfica 23: Situación nutricional de los individuos según valores de prealbúmina plasmática (% individuos).</i>	303
<i>Gráfica 24: Situación nutricional de los individuos según valores de transferrina plasmática (% individuos)</i>	304
<i>Gráfica 25: Grado de deficiencia en selenio plasmático (% individuos)</i>	305
<i>Gráfica 26: Grado de deficiencia en selenio en eritrocito (% individuos)</i>	305
<i>Gráfica 27: Correlación entre los valores eritrocitarios de selenio y los niveles plasmáticos de selenio en individuos críticos</i>	306
<i>Gráfica 28: Correlación entre los valores plasmáticos de selenio y los de cinc en el paciente crítico al final de la estancia en UCI.</i>	309
<i>Gráfica 29: Población de pacientes críticos con aporte deficiente en selenio ,que presentan deficiencia de SEEP1</i>	310
<i>Gráfica 30: Población de pacientes críticos deficientes o no en selenio plasmático, con deficiencia de SEEP1 al inicio</i>	311
<i>Gráfica 31: Correlación bivariante entre los valores plasmáticos de Hcy y selenio al final del estudio, en los pacientes críticos</i>	312

<i>Gráfica 32: Correlación entre los niveles de selenio plasmático y los de homocisteína en la población sana</i>	313
<i>Gráfica 33: Diagrama de cajas de los valores de homocisteína en la población sana</i>	313
<i>Gráfica 34: Diagrama de cajas de los valores de homocisteína en la población crítica</i>	314
<i>Gráficas 35: Diagrama de cajas del contenido en selenio en los compartimentos sanguíneos analizados en la población crítica</i>	314
<i>Gráficas 36: Diagrama de cajas del contenido en selenio en los compartimentos sanguíneos analizados en la población sana</i>	315
<i>Gráfica 37: Población deficiente y no deficiente en selenio plasmático, con hiperhomocisteinemia (HHcy)</i>	315
<i>Gráfica 38: Población deficiente y no deficiente en selenio eritrocitario, con Hiperhomocisteinemia</i>	316
<i>Gráfica 39: Correlación entre los valores eritrocitarios de actividad de GPx y los niveles selenio en eritrocito en individuos sanos</i>	317
<i>Gráfica 40: Correlación entre los niveles de selenio en eritrocito y los de actividad enzimática de GPx en pacientes críticos al inicio del estudio</i>	318
<i>Gráfica 41: Correlación entre los niveles plasmáticos de selenio y los valores de Poder Antioxidante en paciente crítico.</i>	319
<i>Gráfica 42: Variación de la expresión de GPx3 en el momento de ingreso en UCI y tras 7 días de estancia en UCI</i>	321
<i>Gráfica 43: Variación de la expresión de SEPP1 en el momento de ingreso en UCI y tras 7 días de estancia en UCI</i>	321

***Capítulo I:
Justificación, Hipótesis y Objetivos***

1. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En España, al igual que en la mayoría de los países desarrollados, se ha producido un notable cambio en los hábitos alimentarios como consecuencia del espectacular desarrollo económico y de las profundas transformaciones que se vienen produciendo en el aspecto sociocultural (*Sanchez y cols 2010; Varela y cols, 1995; MAPA, 2000*).

Los resultados obtenidos en numerosos estudios ponen de manifiesto una clara relación entre las enfermedades crónicas y los hábitos alimentarios. Es por ello por lo que la alimentación en el hombre constituye uno de los grandes campos de investigación en los países desarrollados (*Thomson, 2004*).

La Evaluación del Estado Nutricional de un determinado colectivo es, sin duda alguna, una excelente forma de relacionar los hábitos de una población con su estado de salud (*Mataix y cols, 2009*). Además, los resultados obtenidos permitirán diseñar y planificar políticas nutricionales encaminadas a conseguir modelos de consumo alimentario más saludable.

Aunque la deficiencia pura de selenio no es muy habitual, en los casos en los que ocurre suele desencadenar en una enfermedad crónica como la enfermedad de Kesham, una cardiopatía que padecen principalmente niños y adolescentes que consumen una dieta deficitaria en selenio y cuyo tratamiento principal es el aporte de un suplemento de selenio, sin embargo, aunque esta enfermedad no es común en países desarrollados, no hemos de olvidar que el selenio es un mineral fuertemente vinculado al metabolismo antioxidante de nuestro organismo, de modo que una ingesta deficitaria estará asociada a una menor capacidad antioxidante de nuestro organismo.

Con este propósito se ha realizado un estudio en un grupo de población adulta para determinar el estado nutricional de selenio y el riesgo posible de sufrir deficiencia. Centrándonos en los siguientes aspectos: análisis de la ingesta de alimentos y nutrientes, concretamente el selenio, de la población a estudiar, evaluación de los parámetros bioquímicos y correlaciones entre los distintos niveles plasmáticos y eritrocitarios con el estilo de vida y actividad de la enzima GPx dependiente de selenio.

La evaluación de los parámetros bioquímicos constituye un objetivo muy interesante, ya que si bien el análisis de la ingesta nos puede proporcionar información sobre un posible

riesgo de deficiencia, la valoración bioquímica nos va a permitir confirmar la existencia de deficiencias o de excesos nutricionales, así como el grado en que se encuentran (Sauberlich, 1999) tanto en poblaciones en situaciones fisiológicas como patológicas crónicas y agudas.

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.

Se hace por tanto necesario la aplicación de un tratamiento a partir de un soporte nutricional que cubra la energía y los nutrientes esenciales como selenio, en cantidad suficiente debido a sus mayores necesidades, con el objetivo de preservar la vida en este tipo de enfermo agudo.

Hipótesis del estudio:

Los pacientes críticos con SRIS presentan deficiencia de selenio desde el ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos, y empeoran durante su estancia, tanto por su aporte insuficiente como por su asociación con otros minerales, así como por la complicación en la situación antioxidante e inflamatoria, y por la alteración en la expresión génica y síntesis de proteínas que dependen de este mineral.

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 selenio de pacientes críticos ingresados en la UCI, comparando con un grupo de personas sanas.

- Evaluar la evolución del estado nutricional en selenio 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 de selenio, comparando con un colectivo de adultos sanos.
- Determinar los niveles de proteínas selenodependientes Glutation Peroxidasa y Selenoproteína P y estudiar el estado y evolución de las mismas durante la estancia en UCI de los pacientes críticos, así como su asociación con los niveles de selenio y otros parámetros.
- Definir el perfil de expresión de los genes que determinan las proteínas selenodependientes Glutation Peroxidasa y Selenoproteína P en sangre total en un subgrupo de pacientes críticos, estudiando la alteración en su síntesis y su posible eficacia como biomarcador del estatus de selenio.

Capítulo II:
Antecedentes Bibliográficos

1.- ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

1.1.- EL SELENIO

Del selenio en términos generales podemos decir que es un elemento químico de la tabla periódica cuyo símbolo es Se y su número atómico 34. Fue descubierto en 1817 por el químico sueco Berzelius.

Este mineral durante muchos años no se ha considerado, debido a su similitud en cuanto a efectos fisiológicos con la vitamina E, lo que dificultaba el reconocimiento de su rol biológico.

No fue hasta 1957 cuando Shwartz y Foltz mostraron que el selenio era capaz de prevenir la necrosis hepática en ratas deficientes en vitamina E, pero no fue hasta 1973 cuando se comprobó la función reductora de la especie SeCys₂ presente en la GPx. Dicha enzima está implicada en los procesos de la defensa antioxidante contra la lipoperoxidación y, por eso, su papel se solapa con el de la vitamina E; pero desde su identificación se están estudiando sus funciones fisiológicas y bioquímicas presentes en el organismo, comprobándose una estrecha relación con los niveles adecuados de selenoproteínas y enzimas dependiente de selenio en varios órganos vitales, ya que el selenio además de poseer función antioxidante, también interviene en el metabolismo tiroideo, reproducción y sistema inmune.

Por otro lado, se ha visto una relación directa en la presencia de un estado nutricional deficiente en selenio y la aparición de la enfermedad de Kashin – Beck (una osteoartritis que aparece durante la adolescencia o preadolescencia) y la enfermedad de Keshan (una cardiopatía endémica propia de la preadolescencia y adolescencia) que suelen presentarse en áreas de China, bajas en ingesta de selenio (Thomson, 2004), siendo el tratamiento una suplementación adecuada de éste elemento.

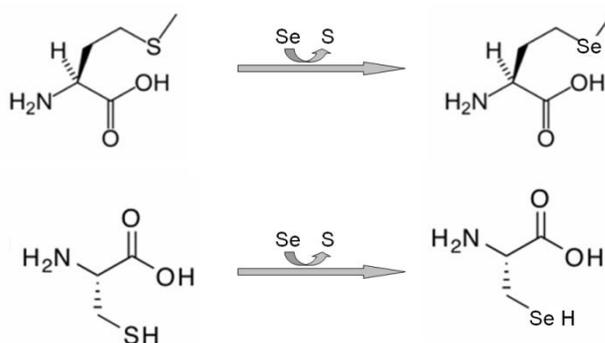
El contenido corporal de selenio es siempre un reflejo de la ingesta del mineral. De tal modo que en adultos de Nueva Zelanda el contenido en selenio es de 3 a 6 mg, en los de EE.UU. el contenido aumenta hasta los 15 mg, dado que la ingesta es mayor.

El músculo esquelético es el que contiene la mayor parte del selenio del organismo, mientras que el hígado y riñón son los órganos con mayor concentración del mismo, lo cual nos da una idea de la posible implicación de estos órganos en el metabolismo del mineral.

La mayor parte del selenio presente en los tejidos animales se encuentra en dos formas, selenocisteína (SeCys) (Lockitch, 1991) y selenometionina (SeMet), (Rayman, 2004; Waschulewski, y Sunde, 1998) siendo ambos complejos de Se –aminoácidos azufrados, en los que el azufre ha sido sustituido por selenio. Existen otras formas de incorporación de selenio a las selenoproteínas, como son la selenocisteína (CH₃SeCys) (Dong, 2001) y seleno-metil-selenocisteína (SCM) (Thompson HJ, Zhu y Ganther HE. 2000)

La selenometionina es un aminoácido esencial, por lo que no puede ser sintetizado por el organismo y ha de aportarse a través de la dieta. En cuanto a la selenocisteína, es la forma de selenio que posee actividad biológica, no siendo un metabolito esencial para el organismo, si no que es sintetizado cuando existe selenio disponible, siendo así incluido a las distintas selenoproteínas.

Figura 1.- Síntesis de los aminoácidos SeMet y SeCys



A pH fisiológico este aminoácido se encuentra en forma aniónica. Es ésta particularidad la que le brinda la capacidad de donar y aceptar electrones, comportándose como un centro catalítico ideal. La SeCys se comporta como un depósito de selenio corporal, ya que el 80 % del selenio corporal está incorporado en los residuos de las proteínas. (Manzanares y col., 2007).

Tabla 1.- Forma química del selenio en el medio ambiente y en seres vivos

Formas de selenio en la naturaleza	
Selenio elemental	Selenometionina, SeMet
Selenio elemental	Selenocisteína, SeCys
Ácido selenoso (selenito)	Selenocystina, SeCys2
Ácido selénico (selenato)	Selenoetionina, SeEt
Seleniuro de hidrogeno	Selenometilcisteína, SCM
Seleniocianato	α – glutamil – Se – metilselenociateína
Sulfuro dimetilselenio	Seleno – metil – selenometionina
Oxido dimetilselenio	Selenohomociateína
Propianato dimetilselenio	Selenourea
Metilselenol	Selenonocolina
Ácido metilselenico	Selenonobetaina
Dimetil seleniuro, DMSe	Se – adenoxil selenohomocisteína
Dimetildiseleniuro, DMDSe	Selenozucares
Trimetilselenonio, TMSe+	Selenoproteínas

Recogido de: Brown y Arthur. 2001; Rayman. 2000; Levander.1987; Brigelius-Flohé. 2008; Lockitch. 1989; Ip y Dong. 2001; Sunde. 1990.

1.2.- FUNCIONES DEL SELENIO

El selenio es un elemento traza esencial en humanos. Sus funciones biológicas las realiza como constituyente de las selenoproteínas en forma de selenocisteína (Vanda, Lu, Holmgren y col. 2007) la cual se integra en la cadena polipeptídica principal como un aminoácido más donde contribuye a su actividad catalítica (Bissinger, Pilawa y Flohé. 2000). Estructuralmente, la selenocisteína es idéntica a la cisteína, con la excepción que contiene selenio en el lugar del azufre, lo que confiere ventajas funcionales ya que los grupos selenol se ionizan más que los grupos tiol a pH fisiológico (Stadtman. 1996). Cuando en lugar de la selenocisteína se sitúa una cisteína, la actividad catalítica se reduce drásticamente. (Berry, Kieffer, Harney y col. 1991.)

La función más importante del selenio es como antioxidante, ya que se encuentra en cada uno de los cuatro centros catalíticos de la enzima glutatión peroxidasa (Tietz. 1999) Esta enzima utiliza el glutatión para reducir los peróxidos, protegiendo así las membranas y otras estructuras celulares de la acción de los peróxidos lipídicos y otros radicales libres (Simonoff M,

Sergeant C, Garnier N y col. 1992). Concretamente, la selenocisteína es oxidada rápidamente por los hidroperóxidos en lo que constituye el primer paso catalítico de la reacción peroxidasa. (*Bissinger, Pilawa y Flohé. 2002*)

El centro catalítico de la enzima Glutathion peroxidasa contiene un residuo de selenocisteína en el que el selenio sufre un ciclo de oxidación-reducción, constituyendo el selenol (E-Se-H) la forma activa que reduce los peróxidos de hidrógeno y orgánicos. El selenol es oxidado a ácido selénico (E-Se-OH), el cual reacciona con el glutatión reducido (GSH) formando un compuesto derivado del ácido selénico (E-Se-S-G). Un segundo glutatión regenera la forma activa del enzima reaccionando con E-Se-S-G y formando el glutatión oxidado (GSSG). En conjunto, dos glutationes son oxidados para reducir un hidroperóxido. Aunque la más importante función conocida es la antioxidante, el selenio tiene también otras funciones. En total se han identificado más de treinta selenoproteínas, aunque no en todas está bien establecido el papel del selenio en sus funciones (*Driscoll, Copeland. 2003*)

Es un elemento esencial para casi todas las formas de vida, y posee múltiples funciones (*Carmona-Fonseca 2010*) además de la destacada función antioxidante, tales como:

- Forma parte del centro activo de las enzimas antioxidantes (selenoenzimas)
- Induce la apoptosis
- Estimula el sistema inmunológico
- Interviene en el funcionamiento de la glándula tiroides
- Modula la expresión de genes que codifican selenoproteínas
- Interviene en la producción de energía mitocondrial junto con la vitamina E
- Estimula la producción de prostaglandinas y ubiquinonas
- Contribuye a la fertilidad al formar parte de la capsula espermática

Una de las funciones principales del selenio se centra en su actividad como mineral antioxidante como parte del centro activo de diversas selenoproteínas, estando fuertemente implicado en la actividad de la enzima Glutathion Peroxidasa, la cual se encuentra presente en células y plasma, desempeñando importantes tareas de detoxificación celular de radicales libres como peróxido de hidrógeno, así como hidroperóxidos de los ácidos grasos presentes en

los fosfolípidos... ya que son agentes muy perjudiciales y altamente tóxicos para las membranas celulares.

Recientemente se ha visto que la enzima GPx puede estar regulada a nivel de la traducción (Kim, Galindev, Sei y col. 2009) a través de la selenocisteína, pudiendo así reinterpretar el codón de parada y finalizar la traducción del polipéptido.

El selenio no solo forma parte de enzimas antioxidantes, también de las yodotironinas desyodinasas (I, II y III) que intervienen en el metabolismo de las hormonas tiroideas.

Dentro de las selenoproteínas, además de glutatión peroxidasa (GPx) y yodotironinas desyodinasas (DIO), existen otras como tioredoxin reductasa (TrxR), selenofosfato sintetasa (SPS2) y otras como Sep15, SelH, SelO, Sel M... cuya actividad es aun desconocida (Vanda, Lu, Holmgren y col 2007).

1.3.- ABSORCIÓN Y METABOLISMO

Los niveles corporales de selenio dependen principalmente de su aporte dietético, la cantidad de selenio en el organismo es de 10 a 20 mg, estando el 50% del total en el músculo esquelético, aunque son los riñones, el hígado y los testículos los órganos con mayor concentración relativa, y las células que denotan el mayor consumo de selenio son las células del sistema inmune, los glóbulos rojos y las plaquetas (Manzanares Castro.2007).

La concentración de selenio en el eritrocito es mayor que la de selenio plasmático y sérico, concretamente en una relación 2:1, siendo las concentraciones en suero y plasma muy similares. (Rayman. 2002)

La absorción de selenio no está regulada homeostáticamente, ni parece alterarse por el estado nutricional del individuo. Generalmente, la absorción de selenio de la dieta es aproximadamente del 80%, reduciendo su absorción las altas concentraciones de azufre, por competencia, al tener una estructura química similar. La absorción de SeMet es activa, y se

realiza a través de las mismas enzimas transportadoras que para la metionina. Las formas orgánicas de selenio, poseen mayor biodisponibilidad que las especies como selenito o selenato, siendo muy eficaces para aumentar las concentraciones en sangre de selenio, aunque todas las formas incrementan la actividad de las selenoenzimas (GPx).

Hay evidencias de que los suplementos alimentarios que contienen formas de selenio orgánico, este es retenido durante un largo periodo de tiempo tras la suplementación. De tal modo que el selenio aportado como SeMet es retenido 2,5 veces más que el selenito. (Rayman, Goenaga y Sargent. 2008)

La excreción de selenio se realiza principalmente a través de orina y heces, si bien hay otras rutas secundarias como el aliento, tal y como se aprecia en la *Figura 1*. El 48% del selenio se excreta a través de la orina, y el 52% por heces (Bügel S, Larsen EH, Sloth JJ y col. 2008), aunque tras una recirculación a través del hígado, páncreas, riñones y otros tejidos periféricos antes de ser excretado.

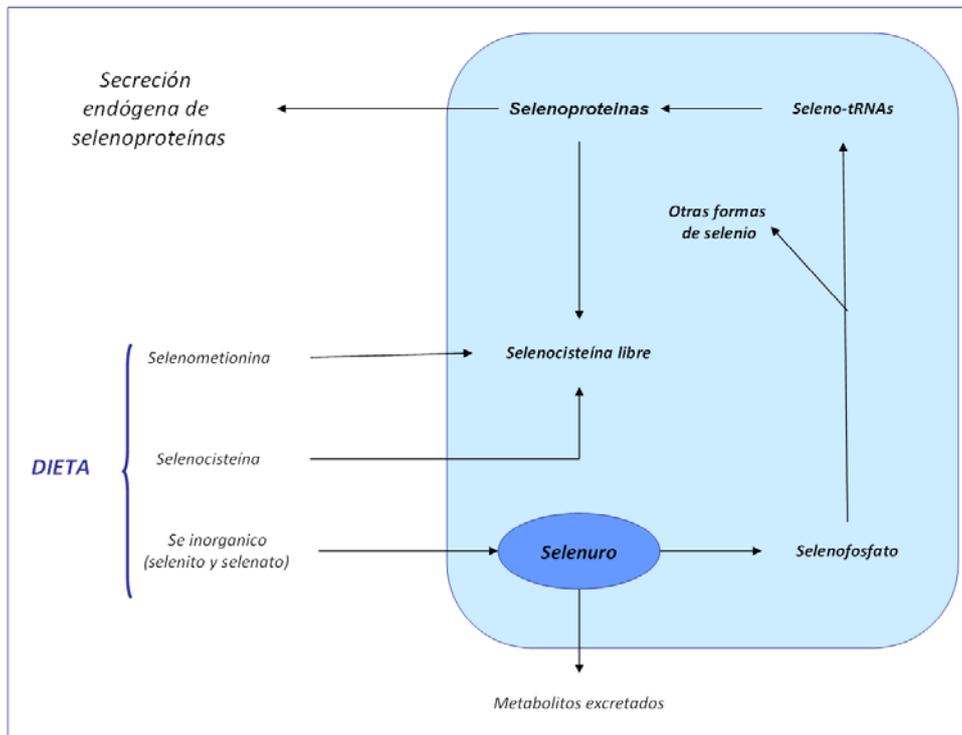


Figura 2.- Metabolismo del selenio procedente de la dieta en humanos

El selenio plasmático es transportado en un 60 - 70% contenido en la selenoproteína P, un 30% en la Glutathion Peroxidasa y un 10% ligado a albumina y lipoproteínas de baja y muy baja densidad (Harrison, Littlejohn y Fell. 1996)

1.4.- REQUERIMIENTOS DE SELENIO

La valoración de la ingesta selenio adecuada, se realiza en función de la ingesta de selenio necesaria para optimizar la actividad de la enzima selenio dependiente GPx. Recientemente este concepto ha entrado en debate, ya que es posible que con una ingesta que se traduzca en la máxima actividad enzimática no sea suficiente para beneficiar al organismo de los efectos beneficiosos que pueden promover para la salud una ingesta mayor de selenio ante diversas enfermedades.

La determinación de selenio en plasma o suero, refleja el estatus de selenio a corto plazo, mientras que valores eritrocitarios muestran el estatus a largo plazo, debido a la incorporación de selenio durante la síntesis celular.

En los tejidos las concentraciones pueden ser medidas engañosas del estado de selenio, ya que no reflejan exactamente la actividad funcional, la cual puede variar en función de la forma de selenio ingerida. La SeMet es la forma dietética más abundante, y es la de mayor contenido en los tejidos al no poseer especificidad de incorporación a las proteínas. La verdadera medida de estatus de selenio viene reflejada por la cantidad de selenio disponible para la actividad funcional de las distintas selenoproteínas.

1.4.1.- REQUERIMIENTOS FISIOLÓGICOS DE SELENIO

Se establecen una recomendación media de 55 µg de selenio al día como cantidad adecuada (Standing Comité on the Evaluation of Dietary Referente Intakes, 2000).

Otras selenoproteínas distintas a la GPx, como la Selenoproteína P, IDIs, PHGOx y tioredoxin reductasa, se podrían usar como puntos de determinación de requerimientos de

selenio, aunque la máxima actividad de algunas de estas proteínas a veces se producen con una ingesta menor a la necesaria para máxima actividad de GPx.

1.4.2.- REQUERIMIENTOS PARA LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES

Tradicionalmente las recomendaciones dietéticas estaban orientadas para prevenir estados de deficiencia en la mayoría de la población para un grupo específico de referencia, pero actualmente han evolucionado hacia el reconocimiento de una “óptima nutrición” creciendo un gran interés sobre los nutrientes y su efecto sobre la salud, incluyendo la promoción del crecimiento, mantenimiento del buen estado de salud y reducción de aparición de enfermedades que no están causadas por deficiencias nutricionales. Dentro de los posibles efectos de incrementar la ingesta de selenio se incluye:

Tabla 2.- Efecto fisiológico del selenio en función de la dosis

Efecto	Evidencia científica
Reducción de la mortalidad	Concentraciones en plasma de 87 µg/L (Akbaraly, Arnaud, Hininger-Favier y col. 2005)
Mejora del sistema inmune	Suplementación con 100 - 200 µg/día (Peretz, Neve, Desmedt y cols. 199; Broome, McArdle, Kyle y col. 2004)
Mejora en la reproducción	Suplementación con 100 µg/día (Scott y MacPherson y col, 1998)
Efecto anticancerígeno	Suplementación con 200 µg/día (Duffield-Lillico, Reid, Turnbull y col. 2002; Bjelekovic, Nikolova, Simonetti y col. 2004)
Protección del tiroides	Suplementación con 200 µg/día (Flores-Mateo, Navas-Acien, Pastor-Barriuso y col. 2006)

Recogido de: Rayman. 2008

1.4.3.- VALORACIÓN DEL ESTADO DE SELENIO

Principalmente debemos establecer los requerimiento de selenio para la prevención de la enfermedad de Kesham, la cual expondremos detalladamente mas adelante, además de para la maximización de las selenoproteinas, pudiendo estimar unos valores de corte a partir de los niveles de selenio en plasma.

Tabla 3.- Concentración de selenio en plasma para un efecto protector

<i>Parámetro</i>	<i>Concentración de Se ($\mu\text{mol/L}$)</i>
<i>Prevención de enfermedad de Kesham</i>	<i>> 0.25</i>
<i>Óptima actividad de IDIs</i>	<i>> 0.82</i>
<i>maximización en plasma de GPx y SEPP</i>	<i>> 1.00 – 1.20</i>
<i>Protección frente ciertos cánceres</i>	<i>> 1.50</i>

Recogido de: Thomson. 2004

1.5.- SELENIO EN LA DIETA VEGETARIANA

Las dietas vegetarianas se basan principalmente en cereales, verduras, frutas legumbres y frutos secos. A pesar de la aparente menor disponibilidad de selenio en las dietas vegetarianas por el alto contenido en ácido fítico y/o fibra dietética y el bajo contenido en alimento de origen animal en la dieta, el estado nutricional de selenio en la mayoría de los vegetarianos adultos parece ser adecuado.

Como ya sabemos, el contenido en selenio en los distintos alimentos es muy variado, principalmente en los alimentos de origen vegetal, ya que su contenido en selenio depende directamente del contenido del este mineral en el suelo, siendo las mejores fuentes alimentarias de selenio, el marisco, hígado y músculo en la carne, hígado y riñón en el caso del pescado y las nueces de Brasil.

Debido precisamente a que generalmente el selenio se encuentra en mayor contenido en alimentos de origen animal, los omnívoros tienden a consumir una alimentación mas rica en selenio que los vegetarianos, ya que en países como Nueva Zelanda, Bélgica u Holanda donde el contenido en selenio del suelo es baja, la carne y el pescado son a menudo las principales fuentes de selenio en la dieta. Sin embargo, en América del Norte, donde el contenido en selenio del suelo es mucho mayor, los cereales son con frecuencia las principales fuentes de selenio tanto de vegetarianos como de omnívoros.

Presencia de fitatos: El ácido fítico se encuentra en alimentos vegetales tales como cereales integrales, semillas, nueces, legumbres, algunas frutas y tubérculos, formando complejos con uniones de cationes divalentes, que crean compuestos insolubles en el intestino dificultando la absorción de las moléculas que retiene.

Tanto la cantidad como el tipo de fibra influye en la biodisponibilidad dietética de los nutrientes del alimento. Generalmente, la fibra soluble, como la pectina, contenida en alimentos como frutas, vegetales... ejerce efectos negativos sobre la absorción de selenio.

Cantidad de proteínas: La cantidad y/o calidad de la proteína en la dieta puede influir en la biodisponibilidad de selenio del resto del alimento. Por ejemplo, en las dietas basadas en el consumo de proteínas de origen animal, se encuentra aumentada la biodisponibilidad de selenio, siendo probablemente debido a la formación de complejos solubles de L-aminoácidos. De tal modo que la exclusión de este tipo de alimento altere la biodisponibilidad de selenio en las dietas vegetarianas.

El consumo de selenio es muy variable, y poco se sabe con precisión sobre la biodisponibilidad de selenio en los distintos productos alimenticios, de tal modo que, aunque inicialmente la ingesta de selenio en vegetarianos tiende a ser menor (Gibson. 1994) no se observan diferencias en los niveles de selenio en sangre entre vegetarianos y omnívoros. Siendo poco probable que los vegetarianos estén en riesgo de deficiencia de selenio.

1.6.- INGESTA RECOMENDADA DE SELENIO

Tal y como se ha comentado en el apartado anterior, las recomendaciones dietéticas estaba orientadas para prevenir estados de deficiencia de nutrientes para la mayoría de la población, diseñadas a partir de un grupo de referencia y previniendo de este modo la aparición de enfermedades asociadas a la deficiencia de este mineral.

No hemos de olvidar que la ingesta de selenio varía de un modo muy significativo en función del área geográfica estudiada, de modo que en la tabla inferior se muestran las diferentes recomendaciones de ingesta de selenio para distintos países.

Tabla 4.- Cantidad diaria recomendada de selenio en distintos países

	Sexo	CDR (μg / día)
España	Hombres	55
	Mujeres	55
Reino Unido	Hombres	75
	Mujeres	60
Países Nórdicos	Hombres	50
	Mujeres	40
Francia	Hombres	60
	Mujeres	50
Alemania, Austria y Suiza	Hombres	30 – 70
	Mujeres	30 – 70
Bélgica	Hombres	70
	Mujeres	70
Italia	Hombres	55
	Mujeres	55
Irlanda	Hombres	55
	Mujeres	55
European Comunita 1992	Hombres	55
	Mujeres	55
Estados Unidos	Hombres	55
	Mujeres	55
FAO / OMS. 2001	Hombres	34
	Mujeres	26

Recogido de: Cuervo M, Corbalán M, Baladía E y col. 2009

Tabla 5.- Ingesta estimada de selenio en distintos países

Lugar	Ingesta estimada (μg /día)
Australia	57 – 87 (Fardy, McOrist y Farra. 1989)
Austria	48 (Sima y Pfannhauser. 1998)
Bélgica	28 – 61 (Roberecht y Deelstra. 1994)
Dinamarca	38 – 47 (Danish Government Food Agency. 1995)
Francia	29 – 43 (Lamand y col. 1994)
Alemania	35 (Alfthan y Neve. 1996)
Irlanda	50 (Murphy, Hannon, Kiely y col. 2002)
Italia	43 (Allegrini, Lanzola y Gallorini. 1985)
Portugal	37 (Reis, Holzbecher, Martinho y col. 1990)
España	35 (Diaz-Alarcon, Navarro-Alarcon, Lopez-Garcia y col. 1996)
Suiza	31 – 38 (Becker. 1989)
Turquía	30 – 36,5 (Reilly. 1996)
Reino Unido	29 – 39 (Ministry of Agricultura, Fisheries and food, 1997)
EE.UU.	106 (Food and Nutrition Borradaile, 2000)
Canadá	98 – 224 (Gissel-Nielsen. 1998)

Recogido de: Rayman. 2008

1.7.- INGESTA DE SELENIO Y FUENTES ALIMENTARIAS

A la hora de hablar de ingesta de selenio no se puede generalizar, ya que en función de la región o ciudad en la que nos encontremos, la ingesta de este mineral es muy variable, y excepto en circunstancias poco frecuentes de exposición laboral o de ingesta accidental de reactivos, la única fuente significativa de aporte de selenio para el hombre es la dieta (Litov y Combs. 1991) razón por la cual los conocimientos sobre su abundancia o carencia en los alimentos son de especial interés.

Generalmente las áreas donde los niveles de selenio en suelo son relativamente bajas, coinciden con que el selenio contenido en los alimentos también lo es. Mientras que el selenio del suelo depende principalmente de la localización geográfica, la biodisponibilidad de este en los alimentos (especialmente en las plantas) depende del pH, condiciones redox, materia orgánica del suelo, actividad microbiológica, temperatura, etc.

Aunque que el metabolismo del selenio esta bien caracterizado en el reino vegetal, en el caso de los humanos, hay mucha menos información, (Rayman. 2008). El estado y la concentración del selenio en los alimentos de origen vegetal son altamente variables y dependen principalmente de las condiciones del suelo en el que se han cultivado (Levander. 1985) puesto que los vegetales incorporan el selenio absorbido del suelo en las proteínas, principalmente en forma de selenometionina o selenocisteína.

Las principales especies de selenio en plantas son: selenato, SeMet y selenocisteina además del selenio contenido en proteínas. La enzima selenocisteina metiltransferasa es la enzima responsable de la mutilación de la selenocisteina presente en los organismos seleno-acumuladores

Las fuentes principales de selenio en la dieta humana son la carne, pescados y mariscos, en los que el selenio se encuentra unido a proteínas. Los riñones, seguidos del hígado, son los tejidos animales con mayor contenido en selenio. En general, de todos los alimentos adquiridos en la dieta, la ternera, el cerdo, el pollo y el pescado suponen, aproximadamente, el 36% del selenio total ingerido; mientras que el pan y los cereales el 22% (Holben y Smith. 1999). Las concentraciones aproximadas del selenio en los principales grupos de alimentos destinados al consumo humano se recogen en la siguiente Tabla

La cantidad de selenio contenido en los alimentos enriquecidos siempre será mayor a la de los alimentos obtenidos mediante un cultivo tradicional.

Tabla 6.- Contenido y especie química de selenio en los alimentos

<i>Alimento</i>	<i>Especie determinada</i>	<i>Contenido en selenio(μg/g)</i>
Cereales	<i>Selenio</i>	0.1 – 30 (Occidente de EE.UU.) 0.016 – 0.021 (Dinamarca) 0.007 – 0.011 (Finlandia, Suecia y Noruega)
<i>Maíz, arroz y cebada</i>	<i>Selenio</i>	≤ 30 (EE.UU.)
<i>Trigo</i>	<i>Selenato</i>	≤100
<i>Maíz</i>	<i>Selenometionina</i>	0.01 – 19.01 (China)
<i>Cebada</i>	<i>Selenio</i>	0.3 – 20.2 (Dinamarca)
<i>Nuez de Brasil</i>	<i>Selenio total</i>	35.1 (Brasil)
<i>Nueces</i>	<i>Selenio total</i>	0.38 nuez negra y 0.20 nuez blanca
<i>Anacardos</i>	<i>Selenio total</i>	0.27
<i>Nueces de Pecan</i>	<i>Selenio total</i>	0.10
<i>Vegetales (zanahorias, patatas, tomates, col, nabo, guisantes...)</i>	<i>Selenato</i>	≤ 6 (total Se)
<i>Espárragos</i>	<i>Selenato</i>	11 (Reino Unido)
<i>Col</i>	<i>Selenato</i>	94
<i>Setas</i>	<i>Selenio</i>	0.77 (<i>Agaricus bisporus</i>) 0.043 (<i>Lentinula edodes</i>)
<i>Cebolla</i>	<i>Selenato</i>	17
<i>Ajo</i>	<i>Selenato</i>	< 0.5 (natural) 68 (enriquecido)
<i>Carne</i>	<i>Selenio</i>	0.3 (EE.UU.)
<i>Carne de vacuno, cerdo y cordero</i>	<i>Selenio</i>	0.03 – 0.15 (Reino Unido)
<i>Pavo</i>	<i>Selenio</i>	0.1 – 0.2 (Reino Unido)
<i>Pescado (entero)</i>	<i>Selenio</i>	0.42
<i>Pescado blanco</i>	<i>Selenio</i>	0.4 – 4.3 (EE.UU.)
<i>Pescado azul</i>	<i>Selenio</i>	2.5 – 4.2 (EE.UU.)
<i>Pulpo</i>	<i>Selenio</i>	0.13 (España y Portugal)
<i>Sardina, pez espada y atún</i>	<i>Seleniometionina</i>	0.43, 0.47 y 0.92 (España y Portugal)
<i>Moluscos, crustáceos y vainas</i>	<i>Selenato</i>	0.15 – 4.15 (enlatados)
<i>Bacalao</i>	<i>Selenito</i>	1.5

Recogido de: Rayman, Infante y Sargent, 2008

Los granos de soja y otros granos contienen un elevado contenido de SeMet frente al de selenato o SeCys. Tal y como se aprecia en la tabla, hay un gran conocimiento del contenido total de selenio en plantas, y de las especies concretas en las que este se encuentra. Sin embargo hay mucha menos información disponible del selenio de origen animal. Un ejemplo claro de la dificultad de estos alimentos es el pescado, ya que este varía mucho las concentraciones en función de que lo determinemos en un pescado fresco, cocinado o en conserva. Además de por la gran interacción que existe entre el selenio y el mercurio.

Desde los años setenta se han venido realizando algunos estudios en los granos de cereales que han puesto de manifiesto que la forma química mayoritaria en la que se encuentra el selenio en el trigo, semillas de soja, arroz y maíz es la selenometionina (Ortuño, Ros, Periago y col. 1996) . Sin embargo, en los alimentos de origen animal el contenido de selenio no varía tanto como en los vegetales porque los animales pueden conservar el selenio en estados de bajo aporte, y excretar grandes cantidades en caso de suplementos excesivos (Fenwick y Heaney. 1983). En los animales el selenio, bajo la forma de selenocisteína, se encuentra en proteínas específicas, sobre todo en la GSHPx, mientras que la selenometionina de origen alimentario sigue la ruta metabólica de la metionina y es incorporada en su lugar en las proteínas, constituyendo así una forma de reserva. Si la selenometionina fuera necesaria para las células, sufriría una proteólisis fisiológica y se liberaría de forma retardada.

1.8.- DEFICIENCIA DE SELENIO

La deficiencia de selenio afecta a diversos tipos de tejidos por diferentes vías como consecuencia de la acción de varias selenoproteínas. La biosíntesis de selenoproteínas depende de la disponibilidad de selenio, de modo que, las selenoproteínas con una función biológica poco relevante responden más rápidamente a la deficiencia de selenio, perdiendo su actividad, mientras que las selenoproteínas con una función biológica de mayor importancia permanecen estables en estados carenciales de tipo moderado, y sólo disminuyen su actividad cuando la deficiencia es sustancial y prolongada (Flohé, Andreesen, Brigelius-Flohé y col 2000; Müller, Wrangler y Brigelius-Flohé, 2003).

Estas proteínas se recuperan rápidamente tras la ingesta de complementos nutricionales con selenio (Brigelius-Flohé. 1999). En general, el aporte de selenio al cerebro y a los órganos de los sistemas endocrino y reproductor se mantiene, en la medida de lo posible, en los niveles óptimos, mientras que el corazón, los músculos esqueléticos, el hígado y los glóbulos rojos son los menos prioritarios para este elemento, lo cual explica que estos sean los tejidos en los que primero aparecen lesiones cuando el aporte de selenio no es el adecuado.(Behne, Hilmert, Scheid y col. 1988; Behne, Weiss-Nowak, Kalcklössch y col. 1994)

En animales, los desórdenes asociados con la deficiencia en selenio han sido identificados principalmente en zonas cuyos suelos presentan bajo contenido en el elemento. Así, desde 1950 se han identificado enfermedades que afectan a la reproducción y el crecimiento, así como la llamada enfermedad del músculo blanco. En pollos y aves de corral, los estados carenciales de selenio están asociados a una disminución en la producción de huevos, problemas de fertilidad y aumento de la mortalidad embrionaria.

El descubrimiento de desórdenes clínicos asociados a la falta de selenio como la enfermedad de Keshan en China y la aparición de miopatías y cardiomiopatías en pacientes con alimentación parenteral han puesto de manifiesto la importancia del selenio en estados carenciales (Arlington. 1990) Por otro lado, existen evidencias de que la deficiencia de selenio puede aumentar la susceptibilidad a ciertas enfermedades y dificultar así el mantenimiento de un estado de salud óptimo. Niveles bajos del elemento pueden contribuir en algunos casos a las causas de la enfermedad, pero en otros pueden ser una consecuencia de la propia enfermedad capaz de agravar su progresión.

A continuación se recogen y comentan brevemente algunos de los desórdenes y enfermedades en humanos asociados con la deficiencia de selenio en la dieta. En el hombre, la aparición de enfermedades debidas a la deficiencia de selenio se produce por ingesta de cantidades inferiores a 50 µg/día (Cámara, Cobo, Palacios y col. 1995). La primera observación se hizo en la provincia de Keshan en China y desde entonces se observó en otras zonas incluyendo Nueva Zelanda y Finlandia en donde las concentraciones de Se en el suelo son también bajas. Se caracteriza por presentar unos niveles de ingesta de selenio extremadamente bajos, la cual ha podido ser controlada mediante la suplementación con selenio. Sin embargo, a pesar de la suplementación, se dan casos crónicos que sugieren que la falta de selenio predispone a la enfermedad pero no es su causa primaria, que podría tener relación con infecciones virales (Flohé L, Andreesen JR, Brigelius-Flohé y col. 2000)

La estimación de una adecuada ingesta de selenio se asume cuando también lo es de otros nutrientes. Hay un gran número de factores a evaluar que afectan a los requerimientos de selenio, ya que este tiene interacción con otros nutrientes que afectan al balance celular antioxidante/pro-oxidante.

Se considera *hiposelenemia sérica*, cuando el sujeto presenta niveles inferiores a 58,4 µg/L, siendo una hiposelenemia moderada cuando los niveles séricos o plasmáticos se encuentran entre 24 – 43,4 µg/L y una hiposelenemia intensa cuando presenta niveles inferiores a 24 µg/L (Carmona – Fonseca. 2010). Sin embargo, hay que tener en cuenta que las personas con valores “bajos” no deben de clasificarse como “enfermas” o en estado de “anormalidad” con esta única determinación.

Destacan dos enfermedades asociadas directamente con la deficiencia de este mineral: la enfermedad de Keshan y la enfermedad de Kashin – Beck.

a) La enfermedad de Keshan, una cardiomiopatía propia de zonas endémicas de China en las que la ingesta de selenio es alrededor de 10 - 15 µg/día (en comparación con los 95 µg/L de las zonas no endémicas).

La principal causa de este déficit en la ingesta es el bajo contenido en selenio del suelo, y por tanto de los alimentos obtenidos del cultivo de este, tal y como ocurre con los cereales, cuyo contenido en selenio es 0.02 µg/g.

Una suplementación a gran escala entre los años 1974 – 1977 logro reducir de un modo muy significativo la incidencia de la enfermedad. (Fordyce. 2005)

b) La enfermedad de Kashin – Beck, se produce también en zonas rurales de China, además de en el Tibet y Liberia, y al igual que la enfermedad de Keshan esta asociada a una grave deficiencia en selenio, además de, entre otros factores, un bajo estatus de yodo.

Se cree que la aparición de esta enfermedad, es como consecuencia del daño oxidativo sobre el cartílago y células óseas, todo esto asociado con una disminución e la capacidad de defensa antioxidante.

Numerosos estudios apuntan que la deficiencia de selenio está acompañada por la pérdida de inmunocompetencia que probablemente esté relacionada con el hecho de que el selenio se encuentra normalmente en tejidos del sistema inmune como hígado, bazo y nódulos linfáticos, por lo que las células del sistema inmunológico podrían tener una importante

necesidad funcional de selenio. De hecho, la suplementación con selenio, incluso cuando no hay deficiencia, produce efectos estimulantes sobre el sistema inmune.

Los dispositivos celulares de defensa frente a una infección implican a las enzimas antioxidantes, entre las que destaca la enzima Glutathion Peroxidasa (GPx) y probablemente la Selenoproteína P, de tal modo que, como la biosíntesis de estas selenoproteínas no es prioritaria en caso de deficiencia de selenio, el deterioro de la defensa antioxidante es uno de los primeros síntomas de dicha deficiencia, por lo que no sorprende que la deficiencia de selenio esté asociada con la aparición, virulencia y progresión de ciertas infecciones. *(Cabañero Ortiz. 2005)*

El selenio juega un papel esencial en la reproducción animal. De hecho, la deficiencia del mismo está relacionada con la presencia de abortos. Algunos estudios realizados en humanos han encontrado niveles de selenio significativamente bajos en el suero sanguíneo de mujeres que han sufrido abortos durante el primer trimestre o de forma recurrente *(Barrington, Lindsay, James D y col. 1996)*. Estos abortos podrían estar relacionados con una protección insuficiente de las membranas biológicas y del ADN frente a la oxidación, debido a bajos niveles de GPx. Además, el selenio es esencial en la fertilidad masculina, ya que es necesario para la biosíntesis de la testosterona y para la formación y desarrollo normal de los espermatozoides, interviniendo concretamente en la formación de la capsula espermática. *(Thomson, 2004)*

Existen evidencias de que el selenio es clave en un funcionamiento adecuado de órganos como el cerebro o el corazón. En estados carenciales, el cerebro recibe un suministro prioritario. Se ha visto que la presencia de estrés oxidativo está fuertemente implicada en enfermedades neuronales y neuromusculares, como la apoplejía, Alzheimer, Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica y distrofia muscular. Por ello el selenio, gracias a su efecto antioxidante, podría proteger al organismo frente a dichas enfermedades.

Otros efectos beneficiosos del selenio están relacionados con sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, actuando frente a la pancreatitis y mejorando los síntomas de ciertas enfermedades, como el asma o la artritis reumatoide. Por último, estudios epidemiológicos, experimentos con animales y ensayos clínicos llevados a cabo en los últimos años han demostrado la existencia de una correlación importante entre los niveles de selenio y

la incidencia de algunos tipos de cáncer. Este descubrimiento ha contribuido enormemente a que se hayan multiplicado las investigaciones en torno al papel de este elemento.

Aproximadamente una tercera parte de las afecciones cancerígenas desarrolladas en humanos tienen un origen medioambiental, observándose una disminución de un 50% en su incidencia, en dietas ricas en selenio (Clark, Combs y Turnbull. 1996). Por otro lado, estudios experimentales realizados en animales indican que exposiciones supranutricionales de selenio pueden reducir significativamente las proliferaciones tumorales. El efecto anticancerígeno dependerá de la dosis y de la forma química del selenio (Spallholz. 2001). Entre las especies naturales de selenio, las capaces de producir fácilmente especies monometiladas han demostrado ser especialmente activas (Ip, Lisk y Ganther. 1998). El monometilselenol es considerado como un metabolito crítico para la protección de ciertos cánceres. Además, algunos compuestos sintéticos de selenio, que no son utilizados en la síntesis de selenoproteínas, también muestran efectos anticancerígenos. (Tapiero, Townsend y Tew 2003)

1.9.- TOXICIDAD POR EXCESIVA INGESTA DE SELENIO

Además de los posibles efectos beneficiosos anteriormente mencionados, el selenio puede llegar a provocar efectos tóxicos cuando se ingiere en concentraciones superiores a 200 µg/día (Cámara, Cobo, Palacios y col., 1995). En España la dosis máxima tolerable es de 400 µg/día para adultos y la toxicidad producida por selenio es mucho menos generalizada que la deficiencia. Los efectos tóxicos del selenio, se conocen desde hace mucho tiempo. Ya en el siglo XIII, Marco Polo descubrió plantas seleníferas en una región montañosa de China cuya ingesta causaba la pérdida de las pezuñas en los animales. La toxicidad del selenio depende de factores tales como la forma química, la especie biológica, la concentración y las posibles transformaciones que puede sufrir en su interacción con el medio.

Generalmente las especies orgánicas de los elementos suelen considerarse más tóxicas que las especies inorgánicas, debido a su naturaleza lipofílica, al poseer mayor facilidad para difundir rápidamente a través de las membranas celulares. Sin embargo, muchas especies

orgánicas de selenio, como es el caso de los selenoaminoácidos, son esenciales y forman parte de las proteínas, por lo que su toxicidad potencial se reduce. Las especies metiladas de selenio, salvo el trimetilselenonio, son volátiles y tóxicas a niveles de concentración elevados. Las especies monometiladas son generalmente bien toleradas, debido a que pueden transformarse fácilmente en otras con menor actividad biológica y de fácil excreción por el organismo (Levander. 2001; Fishbein. 1991).

Dentro de las formas inorgánicas, el selenio elemental parece ser el menos tóxico por ser el más insoluble y por tanto difícilmente asimilable por los organismos. La especie selenito es más tóxica que el seleniato, pero a ambas se les otorgan propiedades mutagénicas (Högber y Alexander. 1986).

Algunas especies de plantas son capaces de acumular grandes cantidades de selenio que, al ser consumidas por ganado, causan un síndrome característico descrito como *blind staggers disease*. Este síndrome ocurre tras un periodo breve (desde días a pocas semanas) de ingesta diaria muy elevada de selenio por parte del animal. Se caracteriza por alteraciones de la visión, pérdida del apetito y deambulación en círculos. Si no se detiene la elevada ingesta de selenio, puede producirse una progresión a parálisis de la lengua y del mecanismo de la deglución y, finalmente, acabar en la muerte por depresión respiratoria. Otro síndrome, descrito en ganado y caballos, es la enfermedad alcalina. Este síndrome se asocia a con concentraciones menos elevadas de selenio pero mantenidas (muchas veces tarda varios años en aparecer). Se caracteriza por pérdida de pelo, deformación y desprendimiento de las pezuñas y erosión con pérdida de vitalidad en las articulaciones de los huesos largos.

El hombre se ha mostrado menos sensible que los animales a sobredosis de selenio. Se desconocen los niveles precisos en la dieta para producir intoxicación crónica, pero cantidades del orden de 2-8 mg/kg son capaces de producir graves lesiones. Se han dado casos de selenosis crónica en zonas geográficas extremadamente ricas en selenio (zonas de China y Venezuela)(Yang, Wang, Zhou y col. 1983) donde la exposición crónica a elevadas dosis de selenio se ha observado en con una ingesta de alrededor de 4.9 mg/día, lo cual lleva asociado unos niveles de selenio en plasma de 3200 µg/L y síntomas de selenosis.

Entre los años 1961 y 1964 se detectó en Enshi (China) en la población humana una enfermedad endémica manifestada por pérdida de cabello, uñas, irritación de la piel y los ojos, y debilidad de los dientes provocada por sobredosis de selenio. Otros síntomas de toxicidad son anorexia, dolor abdominal, diarrea, fatiga, irritabilidad, depresión, edema pulmonar, hemorragias, necrosis de hígado y riñón, mal aliento, deterioro neurológico, ceguera y caries dental. Este mal se atribuyó a un alto contenido de selenio en el maíz. Sin embargo, la población con más riesgo de sufrir selenosis está constituida por personas que trabajan en la industria del selenio. De hecho, existen casos de envenenamiento por exposición industrial de especies de selenio volátiles como SeO_2 , SeOCl_2 y SeH_2 (Goehring, Palmer, Olson y col. 1984).

La evaluación bioquímica de toxicidad por selenio es más difícil de valorar que el déficit de ingesta. El análisis de las selenoproteínas no es útil para determinar la potencial toxicidad ya que éstas no incrementan su actividad al aumentar la ingesta de selenio, una vez alcanzados los requerimientos necesarios. (Hambidge, 2005). El análisis de la concentración de selenio en los tejidos (incluyendo plasma y sangre) es útil para estimar el riesgo de toxicidad. El aporte de selenio en forma de selenometionina se traduce en concentraciones altas de selenio en los tejidos. Este aumento está causado por la incorporación aleatoria de selenometionina en las proteínas en lugar de la metionina. Por el contrario, las formas inorgánicas de selenio (habitualmente usadas en suplementos) no causan una elevación de la misma magnitud porque estas formas de selenio no pueden incorporarse a la metionina. Esto explica que para una misma concentración sanguínea o plasmática de selenio, éste será más tóxico si se ha ingerido en forma inorgánica (Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. 2000).

1.10.- INTERACCIONES DEL SELENIO CON OTROS NUTRIENTES Y MEDICAMENTOS

La interacción entre el selenio y la vitamina E se observa en la etiología de muchas enfermedades deficientes en animales, pero la deficiencia pura en selenio es rara. La deficiencia suele ocurrir cuando hay un bajo estado de selenio junto con un estado adicional de estrés, como por exposición a sustancias tóxicas, trauma o infección. La deficiencia combinada de selenio y vitamina E han dado como consecuencia perfiles desfavorables de

lípidos en modelos de animales. Se ha observado un efecto protector de lípidos y vitamina E sobre la peroxidación de lípidos. Esto sugiere que condiciones fisiológicas por debajo de la normal y una baja actividad de GPx se puede ver compensada por otros componentes del sistema antioxidante como la vitamina E y C, pero que el efecto protector de la GPx tiene una particular importancia cuando el organismo está expuesto a condiciones adicionales de estrés. Por otro lado, dietas bajas en vitamina E, tienen incrementadas las necesidades de selenio.

Tabla 7.- Principales características y funciones del selenio

El Selenio	
Rol del selenio	<ul style="list-style-type: none"> • Posee función antioxidante. Se encuentra principalmente en dos formas: selenometionina (Se-Met) y selenocisteína (Se-Cys). • La Se-Met puede sustituir a la metionina en varios tejidos donde no pueden ser sintetizados, y la Se-Cys es la forma biológicamente activa y se encuentra presente en los centros activos de selenoproteínas como la Glutación Peroxidasa (GPx) • Participa en la producción de hormonas tiroideas a través de yodo-tiroxina deiodinasas • Inhibe la transcripción nuclear el factor kB (NF-kB)
Metabolismo	<ul style="list-style-type: none"> • El selenoaminoácido Se – Met se absorbe en un 90% en el duodeno y yeyuno proximal • La absorción de selenio inorgánico es menos eficiente. • Se transporta en sangre unido a proteínas • El 75% del selenio de la dieta se excreta por la orina y el resto a través del tracto gastrointestinal
Estado deficiente	<ul style="list-style-type: none"> • Por una administración insuficiente de selenio libre en NP o NE • Por aumento de las pérdidas: presencia de infección, resección del duodeno o yeyuno... • Por aumento de las necesidades: procesos de hemodiálisis, traumatismos, fistulas gastrointestinales, quíloisis...
Manifestaciones clínicas	<ul style="list-style-type: none"> • Cardiomiopatía: se manifiesta como fracaso congestivo cardíaco y presencia de arritmias. Los músculos presentan miositis, debilidad y calambres musculares. • Cambios en la piel (sequedad con eritema) y del cabello cambios (adelgazamiento, coloración de la luz) estos síntomas se presentan en estados de deficiencia severa
Determinación en laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> • Los niveles plasmáticos (comúnmente utiliza para Se determinará el estado) no son precisos para reflejar la ingesta, pero sí para cambios agudos entre compartimentos. • La GPX eritrocitaria refleja los niveles de selenio a largo plazo
Recomendaciones	<ul style="list-style-type: none"> • La ingesta recomendada en nutrición parenteral es de 20-100 mg/día, siendo la dosis habitual de 60 mg. • RDA para nutrición enteral es 50-100 mg/día. monitorizando los niveles en plasma en función de la función renal del paciente crítico. • Los pacientes críticos y los inmunodeprimidos se benefician del empleo de suplementos farmacológicos en dosis de Selenito de sodio de 1000 g/día con reducción de la mortalidad
Toxicidad	<ul style="list-style-type: none"> • no hay informes de toxicidad de selenio (selenosis) en soporte de NE o PN. • En caso de toxicidad, los síntomas incluyen la fragilidad de cabello y las uñas, irritabilidad, fatiga, neuropatía, la erupción de la piel y síntomas gastrointestinales (náuseas y vómitos)

Recogido de: Instituto Internacional de Ciencias de Norte América, 1996

El selenio tiene además fuertes interacciones con metales pesados como el cadmio, plata y mercurio de alimentos marinos, protegiendo frente a efectos tóxicos de estos metales. Dos medicamentos muy usados comúnmente para el tratamiento de la artritis (penilacilamina y sales de oro) son potentes inhibidores de la GPx purificada en tejidos.

1.11.- DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO CORPORAL EN SELENIO

Los marcadores biológicos de ingesta y contenido corporal de selenio son considerados índices de buena calidad en comparación con el resto de los elementos traza. Además, el selenio es el único elemento traza en el cual las mediciones en plasma o suero son marcadores biológicos de primera elección (*Hambidge, 2005*). La concentración de selenio en plasma o suero constituye un marcador de corto plazo y también de largo plazo del contenido corporal de selenio, excepto tras alteraciones graves y prolongadas. Concentraciones plasmáticas alrededor de 0,89 $\mu\text{mol/L}$ son adecuadas para los requerimientos fisiológicos de las selenoproteínas. Un mayor aporte de selenio se traduce en un aumento de la concentración plasmática, pero la fuerza de la correlación con la ingesta depende mucho de la forma química del selenio en la dieta. Así la principal forma presente en nuestra dieta suele ser la selenometionina, que es absorbida eficientemente pero no está sujeta a control homeostático, siendo además en un elevado porcentaje incorporada rápidamente al músculo esquelético por lo que se refleja poco en las concentraciones plasmáticas.

Asimismo, la concentración de selenio eritrocitario es un indicador que aporta información a más largo plazo (*Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. 2000*) es decir responde a la ingesta durante un periodo de varios meses, mientras que la medida en suero suele reflejar la ingesta de los últimos 2 a 3 días.

El análisis de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en sangre constituye un índice funcional del contenido corporal pero sólo es útil en situaciones de déficit de este elemento. Cuando se alcanzan concentraciones de selenio normales o elevadas, la actividad glutatión peroxidasa no aumenta. Debe tenerse en cuenta que la actividad glutatión peroxidasa puede afectarse por el déficit de otros nutrientes. Se considera que la actividad de

la glutatión peroxidasa plasmática es la que mejor refleja la actividad de los selenoenzimas. (*Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids, 2000*)

La determinación de la selenoproteína P, principal proteína plasmática en contenido de selenio, es también una prueba sensible para evaluar el contenido corporal nutricional de selenio (*Allan, Lacourciere y Stadtman. 1999; Burk, Hill y Motley. 2003*) que puede determinarse mediante métodos inmunoquímicos.

Otros marcadores biológicos estudiados son la yoduroperoxidasa, la tiroredoxina reductasa y la selenoproteína W. Estos marcadores, técnicamente más complejos de determinar, no han mostrado ventajas sobre el selenio plasmático por lo que éste se considera aún de primera elección. Como se ha dicho, las concentraciones de selenio en plasma o suero varían según la localización geográfica de la población. Por tanto, los intervalos de referencia varían de forma importante de algunos países respecto a otros, e incluso dentro de un mismo país. También dentro de una misma población, los niños tienen concentraciones más bajas que los adultos. La concentración en sangre y eritrocitos es respectivamente un 15% y un 37% mayor que la plasmática (*Montel, López, de Prádena y col. 2000*).

En cuanto a su determinación en orina, se considera que su excreción urinaria aumenta con el aumento de aportes, pero no es afectada por el estado nutricional, por lo que es útil, por tanto, como control del cumplimiento terapéutico. La concentración de selenio en cabello y uñas también ha mostrado relación con la ingesta de este elemento. Sin embargo, su uso como marcador del contenido corporal de selenio está limitado por la forma química del selenio ingerido, el contenido de metionina en la dieta y el color del cabello, factores que afectan al depósito de selenio en estos tejidos (*Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids, 2000*). Además, debe tenerse en cuenta la posible presencia de selenio en algún champú.

2.- VALORACION DEL ESTADO NUTRICIONAL:

Existen diferentes métodos de valoración del estado nutricional en poblaciones, pudiendo ser objetivos o subjetivos, y diferenciándose en la capacidad para detectar cambios en un periodo corto de tiempo, en su capacidad para demostrar la presencia de desnutrición,

en su capacidad para evaluar la respuesta ante una intervención nutricional, etc. En la siguiente tabla (Tabla 8) se describen los métodos de evaluación del estado nutricional y los parámetros a determinar en cada caso.

Tabla 8.- Metodología para la valoración del estado nutricional

METODOS EMPLEADOS EN LA VALORACION DEL ESTADO NUTRICIONAL		
METODOS OBJETIVOS	Antropométricos	<ul style="list-style-type: none"> • Índice de Masa Corporal (IMC) • Pérdida de peso • Pliegues y perímetros corporales
	Bioquímicos	<ul style="list-style-type: none"> • Albumina • Prealbumina • Transferrina • Feritina • Proteína transportadora de retinol (RBP) • Balance nitrogenado • Índice creatinina - altura
	Composición Corporal	<ul style="list-style-type: none"> • Bioimpedancia • Densitometría
METODOS SUBJETIVOS		<ul style="list-style-type: none"> • Valoración Global Subjetiva • Mini nutritional Assesment

En la realización de una evaluación del estado nutricional de tanto de una población como a nivel individual, además de realizar un completo estudio antropométrico debemos de recoger la Historia Dietética completa y una adecuada historia clínica de los sujetos.

2.1.- LA HISTORIA CLÍNICA

Es un factor muy importante para poder identificar el riesgo o presencia de una enfermedad o de malnutrición de un individuo, debiendo prestar especial en aquellos antecedentes personales o familiares que suponen un riesgo para el individuo como son la presencia de:

- Enfermedades crónicas
- Patología Gastrointestinal
- Procesos que aumentan las demandas metabólicas

- Procesos que incrementan las pérdidas de nutrientes
- Tratamientos farmacológicos que alteran la biodisponibilidad de nutrientes
- Disfagia
- Dificultades en la masticación
- Alergias e intolerancias
- Ansiedad o depresión

2.2.- LA HISTORIA DIETÉTICA

La valoración de la dieta es un aspecto muy importante para detectar un posible riesgo de desnutrición, ya que proporciona una información objetiva para poder diseñar una intervención nutricional.

La valoración de la dieta se puede hacer a través de distintos métodos, tanto retrospectivos como prospectivos, aunque todos están destinados a identificar aspectos cuantitativos y cualitativos de los hábitos alimentarios.

Existen tres sistemas fundamentales para determinar la ingesta de alimentos y nutrientes:

II) Determinación directa por pesada de los alimentos implicados, y análisis químico de los nutrientes contenidos en los mismos. Es la situación ideal, pero no es viable en términos prácticos.

III) Determinación directa por pesada de los alimentos ingeridos y determinación de los nutrientes de los nutrientes contenidos en ellos mediante tablas de composición de alimentos (TCA).

IV) Determinación directa de alimentos ingeridos mediante encuestas alimentarias, y determinación de los nutrientes ingeridos mediante tablas de composición de alimentos (TCA).

Este último sistema es el más utilizado, aunque en un principio puede parecer menos preciso, es más cómodo, factible, y a nivel poblacional nos aporta una información bastante completa y fiable.

Hay tres niveles donde se puede estimar la ingesta de alimentos:

1) Nacional

2) Familiar

- Método “cesta de la compra”
- Método de inventario
- Método de registro familiar
- Método de recuerdo por lista de alimentos

3) Individual

- Determinación de la ingesta actual de nutrientes (prospectivos)
- Método de la dieta duplicada
- Método mediante pesada
- Método mediante medidas caseras
- Determinación de la ingesta de nutrientes en el pasado (retrospectivos)
 - ✓ Recuerdo 24 horas
 - ✓ Frecuencia de consumo de alimentos
 - ✓ Historia dietética

✓ **Recordatorio de consumo de 24 horas:** En esencia, este método consiste en preguntar al individuo que esta siendo entrevistado sobre alimentos consumidos, tanto cualitativa como cuantitativamente, ingeridos durante en un periodo de 24 horas (correspondiente al día anterior).

Este método es muy útil para realizar estudios epidemiológicos en grandes poblaciones. Aunque lo indicado para este método suele ser el recordatorio de 24 horas, este sistema se puede aplicar a periodos de tiempo mas cortos (de tan solo unas horas) o mas largos (de varios días), pasando a ser recordatorios de 48 horas, 72 horas... pudiendo llegar incluso a recordatorio de 1 semana. No hemos de olvidar que, tal y como su nombre indica, este sistema

se basa en preguntar al encuestado por la ingesta de los alimentos, basándonos únicamente en la memoria de este, por lo que cuanto mayor sea el periodo de tiempo a recordar, menor será la fiabilidad de la información recogida.

Con el fin de precisar en la medida de lo posible en la cantidad de alimento ingerido (tamaño de raciones...), podemos emplear álbum de fotografías, utensilios domésticos, platos preparados...

✓ **Recordatorio de frecuencia de consumo de alimentos:** Debido a las claras limitaciones del recordatorio de 24 horas para evaluar la ingesta de alimentos a medio y largo plazo (desde unos días, unas semanas, meses o incluso un año), en estos casos se prefiere la utilización de encuestas de frecuencia de consumo. En este método se parte del principio de que las diferencias en las ingestas de nutrientes están en parte determinadas por la frecuencia en la que se consumen los alimentos.

El objetivo de este método será el de obtener, a partir de un conjunto o listado de alimentos, la frecuencia habitual de consumo en un periodo de tiempo determinado en el pasado. Respondiendo el encuestado al número de veces que, como promedio, ha ingerido un alimento en un periodo de tiempo.

Es un método muy usado en estudios epidemiológicos nutricionales.

2.3.- CÁLCULO DE LOS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES

Existen diversos organismos nacionales e internacionales que establecen recomendaciones de ingesta tanto para la energía como nutrientes, los más importantes a escala internacional son:

- El Comité de Expertos de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y La Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS)
- Food and Nutrition Board del National Research Council de los Estados Unidos

Siendo este último el que, desde hace seis décadas, establece las Raciones Dietéticas Recomendadas (RDA).

Las RDA se definen como el nivel de ingesta de un nutriente suficiente para cubrir las necesidades de la mayoría de la población sana según la edad y el sexo.

Estas recomendaciones son revisadas periódicamente de acuerdo con los nuevos conocimientos científicos.

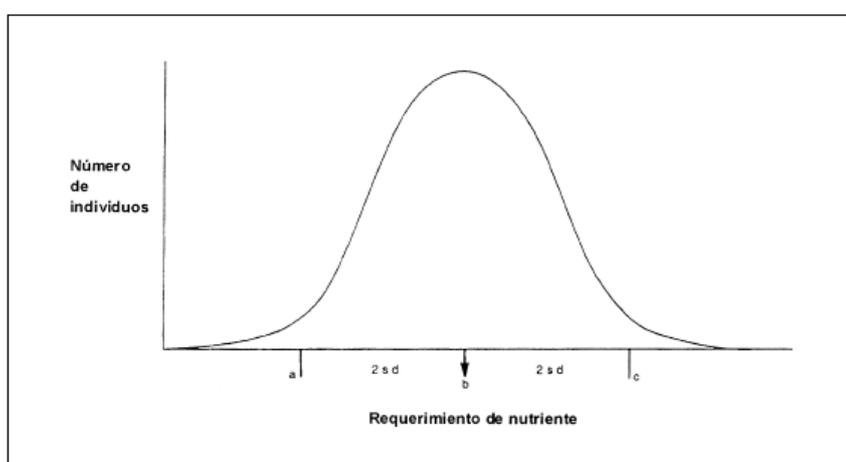


Figura 3.- Distribución de los requerimientos individuales de un nutriente

Actualmente se establecen las ingestas dietéticas de referencia (RDI), que determinan otros conceptos como:

- los niveles máximos de cada nutriente que no presentan riesgos de efectos secundarios
- la estimación del gasto energético según las recomendaciones adaptadas a las características de la población

En nuestro país las recomendaciones de ingesta de nutrientes para la población española la realizan:

- La Sociedad Española de Dietética y Ciencias de la Alimentación (SEDCA)
- La Universidad Complutense de Madrid

2.4.- ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN CORPORAL

La composición corporal se puede clasificar según niveles de compartimentos:

1º nivel: Atómico

2º nivel: Molecular

3º nivel: Celular

- Celular o masa celular (MC)
- Líquidos extracelulares (LE)
- Sólidos extracelulares (SE)

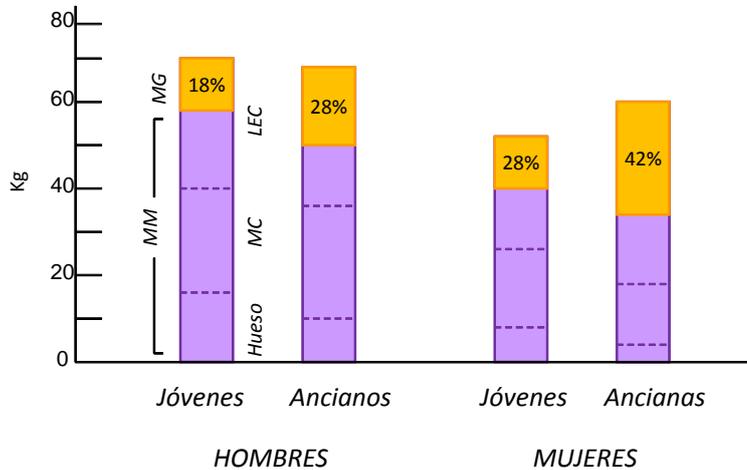
4º nivel: Tisular

- Tejido muscular
- Tejido adiposo
- Tejido óseo
- Sangre
- Otros

5º nivel: Cuerpo completo

- Talla
- Peso total y relaciones peso talla como el IMC
- Forma corporal determinadas a través de anchuras
- Características externas y físicas del organismo

Gráfica1.- Composición corporal en hombres y mujeres según la edad



MM: Masa Magra; MG: Masa Grasa; MC: Masa celular; LEC: Líquido Extracelular

Composición corporal en compartimentos corporales:

Para determinar la composición corporal del organismo se pueden emplear diferentes métodos, como son:

- I) Antropometría
- II) Densitometría hidrostática
- III) Métodos isotópicos
- IV) Métodos basados en la conductancia eléctrica: Bioimpedancia
- V) Métodos de diagnóstico por imagen: tomografía axial computarizada, ultrasonidos, radiología, resonancia magnética nuclear...

2.5.- VALORACIÓN ANTROPOMÉTRICA

Etimológicamente, el término *antropometría* deriva del griego *anthropo*, que se identifica con el hombre, y *metry* traducido como medida, de modo que se trata de la medida del ser humano.

La antropometría es una técnica ampliamente utilizada en la evaluación nutricional, tanto para la vigilancia del crecimiento y el desarrollo, como para la determinación de la composición corporal.

La medición de diferentes parámetros antropométricos, así como la obtención de indicadores derivados de los mismos, permite conocer el estado de las reservas proteínicas y calóricas además del contenido en materia grasa.

- Los objetivos de la antropometría son:

- 1) Evaluación del estado nutricional.
- 2) Control del crecimiento, desarrollo y maduración.
- 3) Valoración del efecto de las intervenciones nutricionales.

- La antropometría posee ciertas características generales:

- 1) Constituye un método en cierto grado objetivo y no invasivo para medir la constitución y composición corporal.
- 2) Las medidas realizadas son relativamente sencillas, rápidas y económicas.
- 3) datos obtenidos son capaces de reflejar cambios e la ingesta nutricional producidos a largo plazo y corto plazo, siendo el periodo mínimo para apreciar cambios a través de la antropometría de cuatro semanas.
- 4) Los resultados obtenidos deben evaluarse comparando con referencias estándar de acuerdo a la edad y sexo del individuo.

- La antropometría posee ciertas limitaciones:

- 1) Pueden ocasionarse errores debido a la inexperiencia del examinador o por la no cooperación del individuo o material inadecuado.
- 2) Algunos cambios significativos del estado nutricional que no pueden ser detectados antropométricamente porque se producen lentamente.
- 3) Las medidas antropométricas pueden alterarse por determinadas patologías como la osteoporosis, cifosis y edema.
- 4) Puede que las referencias estándar no sean las más apropiadas.
- 5) presenta limitaciones para la estimación del perfil de distribución de grasa corporal, sobre todo en personas obesas.
- 6) Diferencias en la compresión del tejido adiposo subcutáneo puede alterar las mediciones.

2.5.1.- MATERIAL ANTROPOMÉTRICO PARA ADULTOS:

- **Báscula:** para determinación de peso corporal
- **Tallímetro:** para medir la talla o estatura del individuo
- **Antropómetro:** para medir alturas, longitudes y grandes diámetros (precisión 1mm)
- **Paquímetro:** para medir pequeños diámetros (precisión 1mm)
- **Lipocalibre:** para medir el espesor del tejido adiposo subcutáneo. Permite medir pequeñas anchuras de hasta 48mm, con una precisión de 0,2mm y ejerciendo un presión de 10g/mm².
- **Cinta métrica:** para medir perímetros y localización del punto medio entre dos referencias anatómicas.
- **Marcador** para señalar los puntos anatómicos y referencias anatómicas.

2.5.2.- PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS MÁS USUALES:

2.5.2.1.- Parámetros longitudinales: Talla

Se puede realizar la estimación de la **talla completa**, para ello el sujeto debe estar de pie y descalzo, con los talones juntos y sobre la marca del estadiómetro y los pies formando un ángulo entre 45 y 60 grados.

Para estimar la **talla sentado**, el individuo estará sentado sobre la caja de medición en la postura lo mas erecta posible, con las rodillas formando un ángulo de 90º y los pies formando a su vez un ángulo de 90º con los brazos reposados a ambos lados del cuerpo.

2.3.2.2.- Peso Corporal

Se empleara para este destino una báscula. Para llevar a cabo la correcta medición, el individuo deberá situarse de pie en el centro de la plataforma de la bascula distribuyendo el peso por igual e ambas piernas.

El peso mide, de forma simplificada, el total de los componentes corporales. El peso puede usarse como herramienta antropométrica en numerosas ocasiones, como son:

- **Peso actual:** Corresponde al peso en el momento de la valoración. Este peso se debe de medir con el sujeto en ropa interior y preferiblemente en ayunas
- **Peso ideal:** Se establece a partir de formulas o tablas de estándares poblacionales calculadas en función de la talla y la complejión. Este peso también se puede calcular a partir de la formula de Lorentz:

$$\text{En hombres: } \text{Peso ideal (Kg)} = (\text{talla (cm)} - 100) - ((\text{talla (cm)} - 150) / 4)$$

$$\text{En mujeres: } \text{Peso ideal (Kg)} = (\text{talla (cm)} - 100) - ((\text{talla (cm)} - 150) / 2)$$

- **Peso ajustado:** Se estima calculando el 25% del peso actual del sujeto y sumándole el peso ideal calculado según la fórmula anterior:

$$\text{Peso ajustado (Kg)} = (\text{peso real (Kg)} \times 0,25) + \text{peso ideal (Kg)}$$

En el caso en el que los sujetos puedan padecer alguna enfermedad o deficiencia nutricional, se puede utilizar el peso como herramienta de detección mediante:

- **Peso habitual:** El peso habitual del individuo nos sirve de referencia a la hora de determinar el efecto que puede tener una enfermedad sobre el peso corporal.
- **Porcentaje de pérdida de peso:** La utilidad mas importante de este parámetro radica en la capacidad de apreciar cambios recientes en el peso.

$$\% \text{ pérdida de peso} = \left(\frac{[\text{peso habitual} - \text{peso actual}]}{\text{peso habitual}} \right) \times 100$$

2.5.2.3.- Estimación del Índice de Masa Corporal

Otras de las determinaciones que se pueden realizar a través de la antropometría es la estimación del Índice de Masa Corporal (IMC) o Índice de Quetelet, siendo estos unos de los indicadores más frecuentemente utilizados. Se calcula a partir del peso corporal en kilogramos dividido por el cuadrado de la talla en metros, mediante la siguiente formula:

$$\text{IMC} = \text{Peso (Kg)} / \text{Talla (m}^2\text{)}$$

Estableciéndose unos criterios para definir la obesidad en función de este parámetro, tal y como se muestra en la grafica inferior:

Tablas 9.- Clasificación de la obesidad a partir del IMC según la SEEDO 2000

SOCIEDAD ESPAÑOLA PARA EL ESTUDIO DE LA OBESIDAD (SEEDO 2000)	
Normopeso	18,5 – 24,9
Sobrepeso de grado I	25 – 26,9
Sobrepeso de grado II (preobesidad)	27 – 29,9
Obesidad de tipo I	30 – 34,9
Obesidad de tipo II	35 -39,9
Obesidad de tipo III (mórbida)	40 – 49,9
Obesidad de tipo IV (extrema)	≥50

Tablas 10.- Clasificación de la obesidad a partir del IMC según la OMS 1998

CLASIFICACION WHO – OMS (1998)	
Normopeso	18,5 – 24,9
Sobrepeso	25 – 29,9
Obesidad de grado I	30 – 34,9
Obesidad de grado I	35 -39,9
Obesidad de grado II	≥40

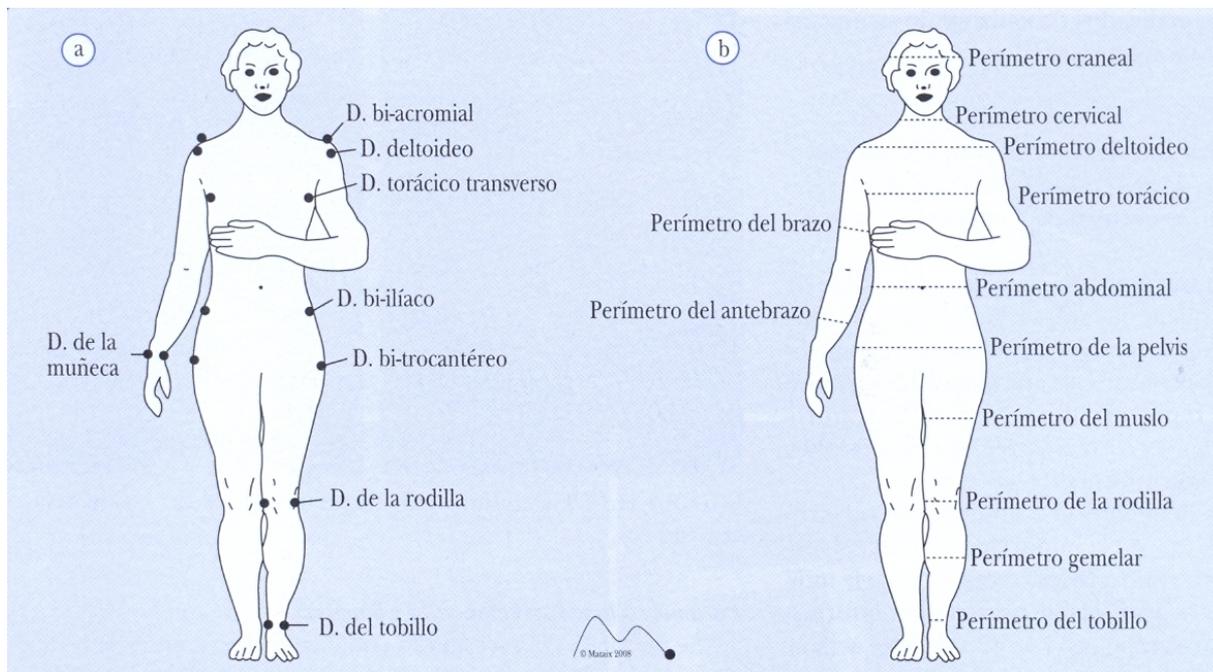
2.5.2.4.- Perímetros

Los lugares que se consideran más importantes para cuantificar y describir la distribución del tejido adiposo son:

- **Perímetro del tórax:** Se mide a nivel de los pezones tras la espiración no forzada del aire respiratorio y sin comprimir los tejidos blandos.
- **Perímetro del brazo:** Es el perímetro tomado en el punto medio del brazo, entre el acromion y el olécranon. Con el brazo extendido y relajado.
- **Perímetro de la cintura (abdominal):** Se localiza el mínimo perímetro del abdomen y se sitúa la cinta en este punto perpendicular al eje corporal.

- **Perímetro de la cadera (pelviano):** es el perímetro que pasa por la región más saliente de los glúteos, tomando así el máximo perímetro.

Figura 4.- Puntos para la determinación de pliegues y perímetros corporales



Recogido de: Mataix y col., 2009

2.5.2.5.- Pliegues Cutaneos

El hecho de que una parte importante de la grasa corporal se acumule a nivel subcutáneo por todo el cuerpo, va a permitir que la medición de pliegues cutáneos en distintas zonas corporales, conduzca a la determinación del componente graso a través de distintas tablas y formulas.

Los pliegues cutáneos se determinan con el lipocalibre indicado anteriormente. Para ello se debe de traccionar la piel junto con los tejidos subcutáneos, separándolos del músculo tal y como se ve en la imagen.

Zona superior del cuerpo:

.- **Pliegue tricipital (PB):** Se mide el punto medio del brazo, entre el borde inferior del acromion y el olécranon en la cara posterior del brazo. Pliegue perpendicular.

.- **Pliegue bicipital (PT):** Se mide el punto medio acromio – radial, marcando el punto medio y realizando ahí la medida. Pliegue perpendicular.

.- **Pliegue subescapular (PSE):** Se localizará del pico inferior de la escápula realizando una marca en este punto, midiendo aproximadamente un centímetro por debajo de ese punto. Pliegue oblicuo.

.- **Pliegue abdominal (PA):** Se localiza el pliegue situado lateralmente a la derecha 5cm del ombligo en su punto medio. Pliegue oblicuo.

.- **Pliegue suprailíaco o de la cresta iliaca (PIL):** Se tomara el pliegue en la línea medioaxilar, justo por encima de la cresta iliaca. Pliegue vertical.

.- **Pliegue supraespinal (PSEP):** Situado en le punto de corte entre una línea imaginaria paralela que va desde la cresta iliaca y otra que partiendo de la axila derecha, va dirigida a la ingle. Pliegue oblicuo.

Zona inferior del cuerpo:

.- **Pliegue del muslo anterior (PM):** Situado en el punto medio entre el pliegue inguinal y la parte superior de la rotula. Pliegue vertical.

.- **pliegue de la pierna (PP):** A la altura del gemelo en el punto en el que el perímetro es máximo. Pliegue vertical.

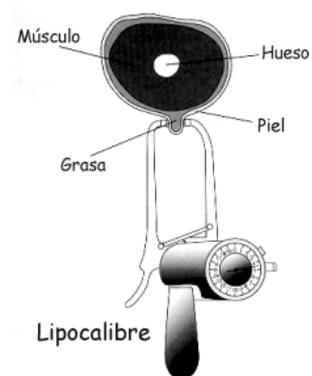


Figura 5.- Lipocalibre

2.5.3.6.- Estimacion de la Grasa Corporal

A continuación se muestran una relación de formulas muy utilizadas en antropometría, las tres primeras se emplean para determinar la densidad corporal del sujeto, para a partir de

la misma, estimar el porcentaje de grasa corporal mediante la formula indicada debajo de las tres citadas.

En la parte inferior de la tabla se muestran dos formulas para predecir la cantidad de grasa del organismo, siendo estas, debido al mayor numero de pliegues empleados, las mas adecuadas para realizar el cálculo correspondiente.

Tabla 11.- Fórmulas antropométricas para el cálculo del porcentaje de grasa corporal utilizando distintos pliegues cutáneos

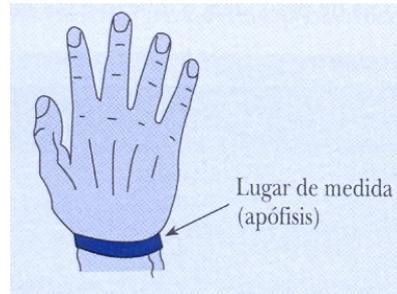
Nº de pliegues	FORMULA	
1 Tricipital	Siri	
	$Densidad\ Corporal\ (D) = 1,11 - 0,062 \times \log\ PT$	
2 Muslo anterior Subescapular	Sloam	
	$D = 1,1043 - (0,001327 \times PMA) - (0,001310 \times PS)$	
4 Bíceps Tríceps Subescapular Cresta ilíaca	Durnin – Womersley	
	Años	Formula
	17 – 19	$D = 1,1620 - 0,0630 \times \log (\Sigma 4\ PL)$
	20 – 29	$D = 1,1631 - 0,0632 \times \log (\Sigma 4\ PL)$
30 - 39	$D = 1,1422 - 0,0544 \times \log (\Sigma 4\ PL)$	
$Grasa\ (\%) = [(4,95/D) - 4,5] \times 100$		
4 Tríceps Subescapular Abdominal Supraespinal	Faulkner (modificada de Yuhasz)	
	$Grasa\ (\%) = (\Sigma 4\ PL \times 0,153) + 5,783$	
6 Tríceps Subescapular Abdominal Supraespinal Muslo anterior Pierna medial	Yuhasz	
	$Grasa\ (\%) = (\Sigma 6\ PL \times 0,1051) + 2,585$	

Recogido de Mataix, 2009

2.5.2.7.- Determinacion de la Complexion

1) **Mediante la altura y circunferencia de la muñeca:** Se determina dividiendo la talla en centímetros, entre el perímetro de la muñeca. Se mide la circunferencia de la muñeca en posición distal a la apófisis estiloide, en el pliegue de la muñeca del brazo derecho.

$$r = \frac{\text{Talla (cm)}}{\text{Perimetro muñeca (cm)}}$$



Complexión	Hombre	Mujer
Pequeña	> 10,4	> 11
Mediana	9,6 – 10,4	10,1 – 11
Grande	< 9,6	<10,1

2) **Mediante la anchura del codo:** Este parámetro parece ser un buen indicador de complexión corporal, ya que se ve poco influenciado por la obesidad ni otros factores. Se realiza midiendo la distancia entre las prominencias óseas del codo cuando este esta flexionado, empleando para ello un pie de rey.

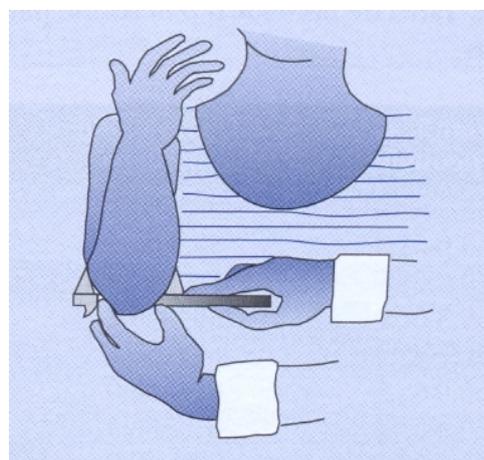
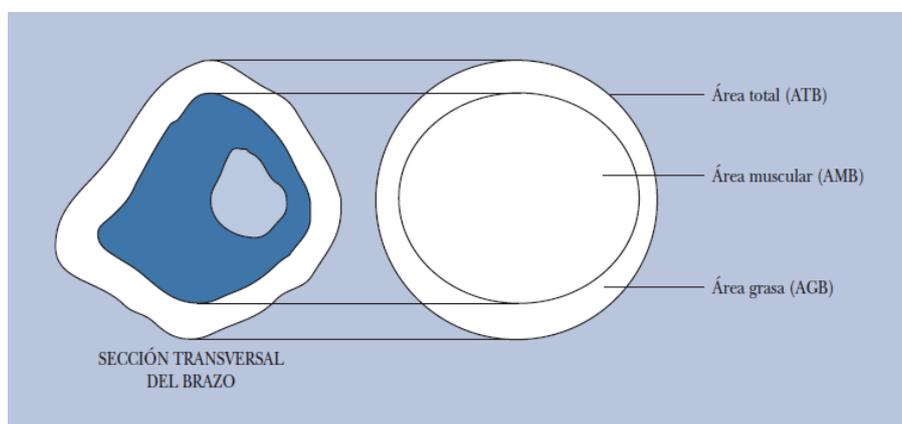


Tabla 12.- Determinación de la complejión a partir del ancho de codo

Sexo	Altura (m)	Ancho codo	Ancho codo	Ancho codo
		Pequeña	Mediana	Grande
Hombres	1,55 – 1,57	< 6,2	6,2 – 7,2	> 7,2
	1,60 – 1,67	< 6,5	6,5 – 7,2	> 7,2
	1,70 – 1,77	< 6,0	6,0 – 7,5	> 7,5
	1,80 – 1,86	< 6,9	6,9 – 7,8	> 7,8
	1,90	< 7,2	7,2 – 8,1	> 8,1
Mujeres	1,45 – 1,47	< 5,6	5,6 – 6,2	> 6,2
	1,50 – 1,57	< 5,6	5,6 – 6,2	> 6,2
	1,60 – 1,67	< 6,0	6,0 – 6,5	> 6,5
	1,70 – 1,77	< 6,0	6,0 – 6,5	> 6,5
	1,80	< 6,2	6,2 – 6,9	> 6,9

2.5.2.8.- Determinación del área muscular del brazo y área grasa

Los cálculos de medida que nos permiten determinar el área muscular del brazo y el área grasa, se basan en las medidas de perímetro del brazo y del pliegue tricúspital. Para esto se asume que el brazo es un cilindro determinando el área transversal con la ecuación correspondiente. La determinación del área muscular del brazo es especialmente útil en niños.



Recogido de: Mataix, 2009

Las áreas grasa y muscular del brazo son más indicativas como índices de compartimento graso y muscular que el pliegue tricípital y el perímetro muscular del brazo, ya que estos subestiman la magnitud de los cambios del depósito adiposo y la masa proteica muscular.

Perímetro muscular del brazo (PMB)	Área total del brazo (ATB)
$PMB = PB - \pi \times PT \quad (\text{expresado en cm})$	$ATB \text{ (mm}^2\text{)} = \frac{PB^2 \text{ (mm)}}{4 \pi}$
PB: perímetro del brazo	
PT: pliegue tricípital	
π : 3,14	
Área muscular del brazo (AMB)	Área grasa del brazo (AGB)
$AMB \text{ (mm}^2\text{)} = \frac{[PB \text{ (mm)} - \pi \times PT \text{ (mm)}]^2}{4 \pi}$	$AGB = ATB - AMB$

Recogido de: Mataix, 2009.

2.5.2.9.- Estimación del porcentaje de masa magra

Este porcentaje se calcula fácilmente una vez es conocido el porcentaje de masa grasa corporal, por simple diferencia.

2.5.3.- EVALUACIÓN BIOQUÍMICA DEL ESTADO NUTRICIONAL

Con la determinación bioquímica de parámetros nutricionales, determinaremos a nivel plasmático o celular las concentraciones o cantidades de los marcadores que nos proporcionarán información relativa a la de las funciones metabólicas o corporales en las que están directamente implicadas.

Ante una situación de disminución de los depósitos tisulares o celulares, los métodos que generalmente se emplean son:

- **Determinación de los niveles de reserva:** Los tejidos de depósito por excelencia son el hígado y tejido adiposo, pero para realizar una valoración de los niveles de reserva, esto exigiría una biopsia, lo cual descarta la utilización clínica de este método. En algunos casos existen medidas indirectas para valorar los depósitos, como es el caso de la ferritina sérica para valorar los depósitos de hierro.
- **Determinaciones de niveles circulantes de nutriente:** los niveles circulantes en sangre de un nutriente pueden indicar una posible deficiencia. De modo que los niveles disminuirán no solo cuando haya una ingesta deficiente, si no también cuando debido a reducción en la ingesta, aumenta la demanda celular, lo cual puede impedir que los niveles en sangre aumenten.
- **Determinación de niveles de excreción urinaria:** la deficiencia nutricional de un nutriente conduce como consecuencia a unos menores niveles de excreción del mismo a causa de un aumento de la reabsorción tubular y por tanto una menor eliminación del mismo en orina.

Para ver la situación de los niveles de nutrientes cuando estos están por debajo de los requerimientos, los métodos usados son:

- **Determinación de niveles de reserva:** Para la detección de esta deficiencia, debe de aparecer una disminución muy acusada de los depósitos o niveles celulares del nutriente.
- **Determinación de niveles de metabolitos:** Aumentan los niveles de metabolitos previos al lugar donde el nutriente ejercía su función metabólica y/o se incrementan algunos metabolitos de rutas alternativas que arrancan de aquellos metabolitos previos a la etapa afectada. Un ejemplo significativo es la determinación de piruvato y lactato, por deficiencia de vitamina B₁, y consiguiente disminución de la actividad de la primera deshidrogenada.

- **Determinación de actividades enzimáticas:** Algunos nutrientes, como las vitaminas, que pueden actuar como enzimas o coenzimas, de modo que la determinación de una actividad enzimática puede reflejar la existencia de una deficiencia nutricional, ya que se ve afectada su actividad.
- **Determinación de niveles sanguíneos de componentes con significación fisiológica:** Estos métodos se basan en la estimación de sustancias que tienen funciones fisiológicas concretas y cuya síntesis depende muy directamente de un adecuado aporte de nutrientes. Un ejemplo claro es la determinación de la creatina, para determinar la cantidad de proteína visceral.
- **Determinación de lesiones celulares directamente relacionadas con una deficiencia nutricional:** Gran parte de estos métodos indican una función alterada. Los ejemplos mas conocidos son la del estudio de formas eritrocitarias anormales en las deficiencias de hierro, vitamina B₁₂ y folatos.

El estudio de parámetros bioquímicos permite no solo detectar estado carenciales de nutrientes, si no también alteraciones metabólicas como consecuencia del exceso, como es el caso de la determinación del colesterol- LDL sanguíneo, pudiendo utilizarlo como herramienta de carácter preventivo antes de que aparezcan los signos clínicos derivados del exceso de este elemento e sangre (ateromas...).

Sin embargo, no hemos de olvidar que no todos los métodos son adecuados a todas las situaciones fisiológicas, especialmente en situaciones patológicas. Siendo un claro ejemplo el uso de la creatinina como índice que masa muscular, que no puede ser aplicable a individuos con fallo renal.

Mediante diversos métodos bioquímicos se pueden determinar parámetros que faciliten la valoración del estado nutricional de un individuo, ya que nos proporcionan información tanto de una ingesta reducida, como de una función alterada (FA) o una depleción celular (DC).

2.5.3.1.- Marcadores Bioquímicos

Albúmina: Es el parámetro bioquímico más utilizado como marcador nutricional. Es una proteína de síntesis hepática, posee una vida media relativamente larga (entre 14 – 22 días) y un gran *pool* corporal, de modo que no es un marcador adecuado ante cambios agudos del estado nutricional.

Sus niveles pueden verse afectados en situaciones patológicas como la presencia de alteraciones renales, cutáneas o gastrointestinales, así como ante la deshidratación o hiperhidratación.

Cuando un sujeto se encuentra en una situación patológica aguda este parámetro puede ser empleado en lugar de como marcador del estado nutricional, como un reflejo de la severidad de la enfermedad.

Los valores de referencia se encuentran entre los 3,5 – 5 g/dL

Prealbúmina: Es una proteína de transporte de hormonas tiroideas, posee una vida media de 2,5 días, por lo que en un principio es un parámetro bastante sensible para la valoración de una intervención nutricional.

Se sintetiza en el hígado, y se cataboliza parcialmente en el riñón.

Al igual que ocurre con la albúmina, existen situaciones fisiológicas que pueden alterar las concentraciones plasmáticas de esta proteína, como son la presencia de una enfermedad aguda grave, una enfermedad hepática, presencia de un síndrome nefrótico, presencia de deshidratación, insuficiencia renal crónica...

Los niveles de referencia se sitúan entre los 19,5 – 35,8 mg/dL

Transferrina: es una betaglobulina transportadora de hierro. Tiene una vida media de 8 – 10 días y sus cambios agudos son reflejo de modificaciones de las proteínas viscerales. Su principal inconveniente para su uso como marcador nutricional, es que sus cambios están muy

ligados al metabolismo del hierro, por lo que en presencia de déficit de este mineral sus niveles en sangre se ven aumentados, mientras que disminuye ante enfermedades hepáticas, renales o infecciosas.

Los valores de referencia se encuentran entre los 170 - 370 mg/dL

Ferritina: La ferritina es una proteína especializada en el depósito del hierro, se encuentra presente principalmente en hígado, el bazo, la médula ósea y el músculo esquelético. Pero también ha sido identificada en muchos otros tejidos en casi todas las células corporales, incluyendo los leucocitos, el plasma e incluso tejidos neoplásicos

Su vida media es de aproximadamente 50 a 75 horas.

La ferritina plasmática es considerada en la actualidad como la principal prueba para detectar estados de deficiencia o de sobrecargas de hierro corporal, ya que cada microgramo de ferritina plasmática por litro equivale a 8 a 10 mg de hierro de depósito, siendo su valor proporcional a los depósitos de hierro, indicando por tanto, la cantidad de hierro disponible en el organismo.

Su cuantificación en sangre y fluidos se utiliza en medicina principalmente para el diagnóstico de las anemias ferropénicas.

Los niveles de referencia en plasma se establecen entre los 20 – 250 ng/mL en el caso de los hombres, y entre 10 – 120 ng/mL en las mujeres.

Tabla 13.- Grados de desnutricion a partir de parámetros bioquímicos nutricionales

	<i>Normal</i>	<i>Desnutrición leve</i>	<i>Desnutrición moderada</i>	<i>Desnutrición severa</i>
<i>Albúmina (g/dL)</i>	3,5 – 5	2,8 – 3,5	2,1 – 2,7	< 2,1
<i>Prealbúmina (mg/dL)</i>	19,5 – 5,8	15 – 19,5	10 - 15	< 10
<i>Transferrina (mg/dL)</i>	170 – 370	150 – 170	100 – 150	< 100
<i>Ferritina (ng/dL)</i>	10 - 250	---	---	---

3.- VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL EN PACIENTE CRÍTICO

3.1.- HISTORIA CLÍNICA

Es un factor muy importante para identificar aquellos factores que pueden producir un riesgo de malnutrición:

- Enfermedades crónicas
- Patología gastrointestinal
- Procesos que aumentan las demandas metabólicas
- Procesos que aumentan las pérdidas de nutrientes
- Tratamientos farmacológicos que alteran la biodisponibilidad de nutrientes
- Dificultades en la masticación, disfagia
- Alergias o intolerancias alimentarias
- Otros

3.2.-HISTORIA DIETETICA

La valoración dietética nos proporciona una información objetiva del paciente, para poder realizar una adecuada estimación de las necesidades nutricionales, así como un adecuado soporte nutricional.

El paciente crítico suele presentar al inicio de su patología, cierto grado de desnutrición. Se ha demostrado que el estado nutricional afecta en la evolución del paciente, y que precisamente un estado nutricional deficiente aumenta la morbimortalidad. De modo que es importante poder identificar a los pacientes desnutridos o con riesgo de desnutrición para poder corregir el déficit que presenten de forma precoz mediante un soporte nutricional adecuado.

3.2.1.- Examen físico y marcadores antropométricos:

La exploración física de los pacientes es importante detectar signos de malnutrición, ya que hay ocasiones en los que pueden ser muy evidentes, de modo que la exploración debemos centrarla fundamentalmente en cuatro estructuras:

- Piel y faneras
- Dentadura
- Sistema musculo esquelético
- Sistema nervioso

3.3.-MARCADORES ANTROPOMÉTRICOS

En el caso de los pacientes críticos, en numerosas ocasiones, las determinaciones de las medidas antropométricas pueden sufrir pequeñas variaciones con respecto a las realizadas para individuos sanos.

Determinación de la talla: En condiciones normales, la determinación de la talla se realiza con el sujeto de pie, pero en pacientes encamados (como es nuestro caso) existen variaciones de determinación, como son:

- 1) *Determinación rodilla – talón:* Se realiza sobre la pierna izquierda, empleando un calibrador, con el paciente en posición de cubito supino y con las rodillas flexionadas en ángulo de 90° midiendo la distancia desde debajo del talón hasta el músculo proximal de a la rotula. Una vez realizada la medida, se aplicara la Formula de Chumlea para el calculo de la talla.

Tabla 14.- Determinación de la talla a partir de la longitud rodilla – talón

Sexo	Edad	Fórmula
Mujeres	19 - 59	$Talla (cm) = (1,86 \times distancia RT (cm)) - (0,05 \times edad) + 70,25$
	60 - 80*	$Talla (cm) = (1,83 \times distancia RT (cm)) - (0,24 \times edad) + 84,88$
Hombres	19 - 59	$Talla (cm) = (1,88 \times distancia RT (cm)) + 71,85$
	60 - 80*	$Talla (cm) = (2,02 \times distancia RT (cm)) - (0,04 \times edad) + 64,19$

*r = 0,93

- 2) *Longitud del antebrazo:* Se estima la talla a partir de la medición de los huesos largos de la longitud del antebrazo, entre el olécranon y la apófisis estiloides con una cinta métrica, y una vez realizada esta medida, el valor obtenido se consulta en las tablas de referencia ajustada por sexo y edad.

3.4.- CUESTIONARIOS ESTRUCTURADOS PARA LA VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL

Existen diversos cuestionarios estructurados que permiten realizar un “cribado nutricional”, es decir, una valoración inicial de los pacientes destinada a detectar desnutridos o en riesgo de desnutrición con el fin de remitirlos a una valoración más específica y elaborar un adecuado plan nutricional.

Entre estos cuestionarios figuran:

- Nutritional Risk Screening 2002, desarrollado por la European Society for Parenteral and Enteral Nutrition (ESPEN) (*Anexo 1*)
- Malnutrition Universal Screening Tool (MUST) desarrollado por la British Association of Parenteral and Enteral Nutrition (BAPEN) (*Anexo 2*)

Existen otros cuestionarios estructurados de valoración nutricional, en los que se pueden incluir medidas antropométricas y datos relativos a los hábitos alimentarios, datos

extraídos de la exploración física... como síntomas que pueden influir en el estado nutricional, entre ellos destaca por su sencillez y elevado grado de validación:

- Valoración Global Subjetiva (VGS) (*Anexo 3*)
- Mini Nutritional Assessment (*Anexo 4*)

3.5.- VARIABLES BIOQUÍMICAS EN LA VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL EN PACIENTES CRÍTICOS

Al igual que ocurre con los parámetros antropométricos, las variables bioquímicas se pueden encontrar alteradas por los cambios que tienen lugar en los pacientes críticos, por lo que su interés en la interpretación del estado nutricional en muchas ocasiones es limitado (*Acosta, 2005*)

3.5.1.- VARIABLES BIOQUÍMICAS INDICATIVAS DEL ESTADO DE LAS PROTEÍNAS MUSCULARES

Índice creatinina/altura: Mide el catabolismo muscular. Sus valores están influenciados por la cantidad y contenido proteico de la dieta y por la edad.

En el paciente crítico el índice creatinina/altura *detecta la malnutrición al ingreso*, pero carece de valor pronóstico o de seguimiento de forma aislada.

3-Metil-histidina: Es un aminoácido derivado del metabolismo muscular proteico. Sus valores aumentan en situaciones de hipercatabolismo y disminuyen en ancianos y en pacientes desnutridos. En el paciente crítico es un *parámetro de seguimiento nutricional*, renutrición y catabolismo muscular.

Excreción de urea: Es un método habitual de medición del catabolismo proteico. También estima la pérdida de creatinina y ácido úrico. Sus valores presentan variaciones en relación con el volumen intravascular, el aporte nitrogenado y la función renal. En el paciente crítico es un *índice de la intensidad de la respuesta metabólica al estrés*.

Balance nitrogenado: Es un buen parámetro de renutrición en pacientes postoperados con estrés o desnutrición moderada. En el paciente crítico, no es válido como parámetro de desnutrición y seguimiento nutricional, pero sí como *índice de pronóstico nutricional*.

3.5.2.- VARIABLES BIOQUÍMICAS INDICATIVAS DEL ESTADO DE LAS PROTEÍNAS VISCERALES

Albumina: Es el parámetro bioquímico más frecuentemente utilizado en la valoración nutricional. Una reducción significativa de los valores de albúmina se asocia con un incremento en la aparición de complicaciones y en la mortalidad. Los valores de albúmina al ingreso de los pacientes críticos tienen valor pronóstico. No obstante, dichos valores son *poco sensibles a los cambios agudos del estado nutricional* (por la elevada vida media de la albúmina: 20 días).

La albúmina sérica tampoco es un buen parámetro de seguimiento nutricional, aunque sus valores pueden relacionarse con la extensión de la lesión.

Prealbumina: Su vida media corta (2 días), la convierte en un parámetro de evolución y seguimiento en el paciente crítico⁹, habiéndose apreciado que la prealbúmina es el *parámetro más sensible a los cambios en el estado nutricional*. No obstante, sus valores están interferidos por factores no relacionados con el estado nutricional: disminuyen en la infección y en la insuficiencia hepática y aumentan en el fracaso renal.

Transferrina: Presenta una baja sensibilidad y especificidad cuando se analiza de forma individual. Sus niveles plasmáticos están aumentados en la anemia ferropénica y disminuidos en la enfermedad hepática, sepsis, síndrome de malabsorción y alteraciones inespecíficas inflamatorias.

El déficit crónico de hierro, la politransfusión y las alteraciones en la absorción intestinal, lo invalidan como parámetro nutricional en el paciente crítico. Su vida media es de (8-10 días).

Somatomedina: Se trata de un péptido de bajo peso molecular, cuya síntesis está regulada por la hormona de crecimiento y el factor I de la insulina. Mide la intensidad de la

respuesta metabólica de la agresión y es un buen parámetro de seguimiento nutricional. La complejidad en su determinación y su elevado coste limitan su uso.

3.5.3.- OTRAS PROTEINAS

La **proteína C, alfa-1-antritripsina, alfa-1-glicoproteína, alfa-2-macroglobulina, la fibronectina, el fibrinógeno y la haptoglobina**, son proteínas inespecíficas cuyo valor puede encontrarse relacionado con la intensidad de la respuesta metabólica. No obstante, pueden alterarse también por un gran número de situaciones no relacionadas con el estado nutricional.

3.6.- CÁLCULO DE LOS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES

El cálculo o determinación de las necesidades nutricionales de los pacientes es un paso indispensable para la realización de un adecuado soporte nutricional con nutrición artificial, siendo ideal la realización de fórmulas adaptadas a los requerimientos específicos de cada uno de los pacientes en función tanto de la composición corporal como de las características fisiopatológicas.

3.6.1.- CÁLCULO DE LA ENERGÍA

Las necesidades energéticas de un individuo vienen determinadas en función de:

- Gasto energético basal (GEB)
- Gasto derivado de la actividad física o Gasto Energético por Enfermedad
- Gasto calórico inducido por los alimentos
- Gasto derivado de la termorregulación

1) Gasto Energético Basal (GEB): Es el componente más importante a la hora de determinar el gasto energético total de un individuo, ya que se trata de la energía necesaria para mantener las funciones corporales vitales, correspondiente a las

necesidades del individuo en situación de reposo, ayunas y en condiciones de neutralidad térmica.

En el caso en el que la medición se realiza en condiciones de ayuno menos estrictas, se obtienen unos valores ligeramente superiores, correspondientes al **Gasto Energético en Reposo (GER)**, este último depende de:

- La edad
- El sexo
- La composición corporal, principalmente dependiente de la masa magra

La *Ecuación de Harris – Benedict* es la más ampliamente utilizada en la práctica clínica diaria para la determinación del GER en adultos

Tabla 15.- Determinación del GER aplicando la ecuación Harris - Benedict

Ecuación Harris - Benedict	
Hombres	$66,47 + (13,74 \times P) + (5,03 \times T) - (6,75 \times E)$
Mujeres	$665,1 + (9,56 \times P) + (1,85 \times T) - (4,68 \times E)$
<i>E: edad (años); P: peso (Kg); T: talla (cm)</i>	

2) Actividad física: Cualquier movimiento de la musculatura esquelética produce un incremento del GER, este factor es el más variable del gasto energético, ya que puede ser prácticamente nulo en un paciente encamado con ventilación mecánica, o muy elevado como en el caso de personas que practican deporte de forma intensa.

En adultos sanos se consideran tres niveles de actividad por los que multiplicar el GER: actividad leve, moderada o intensa.

- **Actividad leve:** cuando no se requiere andar mucha distancia, o los desplazamientos son en vehículos de motor (coche, autobús...), el

individuo no practica actividad física con regularidad y se dedica la mayor parte del tiempo a actividades sedentarias (leer, ver la televisión, uso de ordenadores...). Generalmente se trata de personas con trabajos sedentarios, que realizan tareas domesticas con sistemas mecánicos (aspiradoras...) y que realizan actividades de tiempo libre que requieran esfuerzo físico.

- **Actividad moderada:** en el caso de personas que aun teniendo un trabajo sedentario, realizan desplazamientos importantes sin vehículo o que realizan actividades de tiempo libre que requieren esfuerzo físico (como actividades deportivas), o personas con una actividad laboral mas energética (agricultura, construcción...)
- **Actividad intensa:** cuando la actividad laboral es intensa o practican deporte varias horas al dia.

Tabla 16.- Factor de actividad en función del grado de actividad física

	<i>Actividad Leve</i>	<i>Actividad moderada</i>	<i>Actividad intensa</i>
ADULTOS	1,40 – 1,69	1,70 – 1,99	2,00 – 2,40
<i>Human energy requeriments: FAO/WHO/UNU Expert consultatio 2001</i>			

En la práctica, se utilizan mayoritariamente los factores siguientes según la actividad:

- Paciente limitado en cama o silla NAF =1,2
- Trabajo sentado sin levantarse y con escasa actividades de tiempo libre NAF = 1,4 – 1,5
- Trabajo sentado pero con necesidad de levantase y moverse, con escasas actividades de tiempo libre y poco energéticas NAF = 1,6 – 1,7
- Trabajo de pie NAF = 1,8 – 1,9

- Practica de deporte y actividad de tiempo libre energética (30 – 60 minutos; 4 – 5 veces a la semana) NAF = +0,3
- Trabajo muy energético o actividades de tiempo libre o deportivas con esfuerzo intenso NAF = 2,0 – 2,4

3) Gasto energético en la enfermedad: El estrés metabólico es una situación que se desencadena como respuesta a determinados procesos patológicos. Esta situación esta inducida por citoquinas y mediadores neuroendocrinos, favoreciendo en cierto modo la recuperación del proceso, pero cuando la causa no se resuelve adecuadamente, se produce una respuesta inflamatoria sistémica que puede conducir a un fracaso multiorgánico.

Este estrés metabólico produce una elevación del GER de un modo proporcional a la gravedad del paciente. Existiendo distintas propuestas para la determinación de estos factores de estrés:

Tabla 17.- Factor de estrés en función de la situación clínica

Situación	Factor de Estres
Cirugía menor	0,7 – 0,85
Cirugía mayor	1,1 – 1,2
Infección moderada	1,2
Politraumatismo	1,4 – 1,5
Sepsis	1,2 – 1,7
Quemaduras	1,5 - 2

4) Gasto Energético Total (GET): Se obtiene a partir del Gasto Energético en Reposo (GER) multiplicado por el factor de actividad física (NAF), y en caso de los pacientes, también por el factor de estrés o agresión. No hemos de olvidar que tanto el cálculo del GER como el resto de los factores, pueden comprender un margen de error considerable.

$$GET = GER \times NAF \times F. \text{ Estres}$$

Sin embargo, la estimación de los requerimientos en paciente críticos, en las unidades de cuidados intensivos es muy difícil, ya que existen numerosas variables que dificultan la aplicación de las formulas predictivas mencionadas hasta el momento, pueden alterar los resultados, como son la obesidad, caquexia, presencia de edema, por lo que existen una serie de recomendaciones para este tipo de pacientes

3.6.2.- RECOMENDACIONES NUTRICIONALES EN EL PACIENTE CRÍTICO

ENERGÍA: A partir de numerosos estudios sobre el gasto energético se ha estimado un aumento sobre el gasto energético basal del 20% al 60% (Plank, Connolly y Hill, 1998).

Las estimaciones de las necesidades energéticas en los enfermos críticos con sepsis han ido evolucionando desde el concepto de “infraalimentación permisiva” en los primeros días de ingreso en UCI (Heyland, Dhaliwal, Drover y col. 2003).

En 1997 el Colegio Americano de Neumólogos indicó que las calorías aportadas a los pacientes ingresados en UCI deberían de ser suficientes para promover una situación anabólica, realizando una recomendación de 25 Kcal/kg/día para pacientes con IMC normal. Recientemente en un estudio publicado en la *Journal of the American Dietetic Association* realizado sobre 77 paciente críticos, con sepsis y fallo multiorgánico, se estimaron unos requerimientos energéticos de 25 – 35 Kcal/kg/día para pacientes con IMC normal (Hise, Halterman, Gajewski y col. 2007).

PROTEÍNAS: Las proteínas del organismo se degradan y resintetizan continuamente, siendo necesario un suministro para reponer las pérdidas que se producen. El organismo es incapaz de sintetizar nueve aminoácidos, que se consideran esenciales, y deben ser aportados a través de la alimentación.

En situación de estrés metabólico se incrementan la pérdida de nitrógeno, y los aminoácidos liberados del músculo esquelético se emplean para la gluconeogénesis y síntesis de otras proteínas necesarias para el sistema inmunológico y reparación de otros tejidos afectados.

Los requerimientos de proteínas para una persona sana esta entre 0,8 – 1 g/kg/día, en pacientes en situación de estrés metabólico pueden oscilar entre 0,8 – 2 g/kg/día, y en pacientes con sepsis se estima que las proteínas a administrar se encuentran entre 1,5 - 2g/kg/día (Martindale, Shikora, Nishikawa y col. 2002; Shaw, Wildbore y Wolfe. 1987), sin embargo los requerimientos pueden ser mas altos en los pacientes con perdidas de nitrógeno excesivas, con en los pacientes con quemaduras graves o con heridas grandes abiertas, y además la cantidad y calidad de las proteínas pueden ser alteradas en los pacientes con insuficiencia renal aguda o hepática (Gottschlich, 2009). Además en situaciones de estrés, las necesidades proteicas son proporcionalmente mayores a las de energía, es decir, que el porcentaje de la energía procedente de las proteínas, es mayor en personas con estrés metabólico que en las personas sanas.

Datos recientes apoyan el empleo de proteínas séricas y de caseína en pacientes críticos, ya que el valor biológico, el coeficiente de eficiencia proteica y de utilización neta son mayores para el suero y la caseína que para la soja (Lefton y Lopez. 2005).

Sin embargo, sigue siendo polémica la idea de que los suplementos de aminoácidos mejoren el resultado o reduzcan la morbilidad y la mortalidad en los pacientes críticos con sepsis. La arginina y la glutamina han sido han sido los mas estudiados (Furst y Stehle. 2004).

En cuanto a la arginina, una corriente sostiene que es potencialmente toxica (Heyland y Samis. 2003), mientras que otra corriente argumenta que es escasa en los pacientes con sepsis y que debería de suplementarse (Luiking, Poeze, Dejong y col. 2005) Se sabe que la arginina tiene efectos citotóxicos por la vía óxido nítrico, incluyendo el daño a las estructuras celulares, como la peroxidación lipídica, la nitración de la tirosina y la oxidación de los grupos sulfidriilo. También se han descrito roturas de la cadena del ADN, siendo también el sustrato para el óxido nítrico, el cual teóricamente podría inducir a la hipotensión en el paciente crítico ya inestable hemodinámicamente (Gottschilch, 2009).

Aunque actualmente no están disponibles datos clínicos prospectivos que demuestren que el suplemento de la arginina sola, en la cantidad vigente estipulada en las formulas inmunomoduladoras, es perjudicial, hay datos en grupos de pacientes seleccionados, que han sido alimentados con formulas enterales suplementadas con arginina, que sugieren que estas

formulas pueden ser perjudiciales (Heyland y Novac. 2001) En general, la población quirúrgica y con traumatismos parece haber sido la mas beneficiada por la suplementación de arginina (Heyland y Samis. 2003).

La glutamina es considerada esencial en el individuo con estrés. Durante los veinte últimos años se ha comprobado que la glutamina posee numerosos beneficios bioquímicos y clínicos, incluida la estabilidad del equilibrio ácido – base, el aprovisionamiento de combustible primario para las células de rápida proliferación, la interacción de la mucosa gastrointestinal, la disminución de las infecciones, la síntesis de glutatión y arginina, y la disminución de la resistencia a la insulina y la respuesta inflamatoria, funcionando además como sustrato para a gluconeogénesis (Grimble. 2005; Wischmeyer, Lynch, Liedel y col.2001; Newsholme, Procopio, Lima y col. 2003)

La evidencia reciente de que la glutamina puede inducir una proteína de *shock* térmico es también otro efecto molecular beneficioso de este aminoácido. La proteína de *shock* térmico es un tipo de proteína celular chaperona que mantienen plegadas las proteínas apropiadas mientras se sintetizan en el ribosoma (Gottschilch, 2009).

En un ensayo clínico aleatorizado y controlado en pacientes de la UCI, de los cuales el 71 % tenían sepsis, la suplementación con glutamina dio lugar a un descenso de 24 % de la mortalidad (Griffiths, Jones y Palmer. 1997). Estos resultados se vieron confirmados por un metaanálisis sobre el empleo de glutamina en la UCI, mostrando una reducción del tiempo de estancia, la disminución de las complicaciones infecciosas en los pacientes quirúrgicos y una mejoría de la mortalidad en los pacientes críticos (Novak, HeylandK, Avenell y col.2002). En otro estudio realizado en pacientes alimentdos con NP suplementada con glutamina, se observó una disminución de la gravedad valorada con SOFA a lo largo de la estancia, ademas de un aumento de la concertación de glutatión asi como de la actividad de la enzima GPx con un incremento en algunos de hasta el 62 % (ABiles, Moreno-Torres, Moratalla y col. 2008).

CARBOHIDRATOS: La oxidación de la glucosa aumenta en los pacientes con sepsis y hasta cierto punto puede proporcionar la ruta adecuada para la administración exógena de glucosa. Wolfe en una serie de estudios realizados, concluyo que el aporte de calorías no proteica a los pacientes con sepsis debería ser en gran parte a través de hidratos de carbono con insulina exógena añadida para estimular el anabolismo proteico (Wolfe. 1997)

La administración de hidratos de carbono debería de suministrar del 50 al 60 % de la energía total, para evitar la oxidación excesiva de glucosa y contribuir la lipogenesis, en términos absolutos, no debe realizarse un aporte superior a 7 g/kg/día de hidratos de carbono, ya que un aporte excesivo de hidratos de carbono eleva las concentraciones de glucosa en sangre (Gottschilch, 2009).

En un estudio realizado en pacientes críticos sometidos a ventilación mecánica (Van Den Berghe, Wouters, Weekers y col. 2001) analizó la influencia del mantenimiento de las concentraciones de glucosa en sangre entre 80 – 110 mg/dl, sobre mas de 1500 pacientes poniendo de manifiesto que un control de la glucemia durante la estancia en UCI disminuyo los niveles de mortalidad y además se produjo un 46 % menos de episodios de septicemia en comparación con los pacientes que tuvieron concentraciones de glucosa en sangre superiores (entre 180 – 200 mg/dl)

LIPIDOS: Los lípidos exógenos pueden utilizarse con eficacia como fuente de energía durante la sepsis, aunque la composición óptima de varias fuentes de lípidos sigue siendo polémica. Hay dos características de los lípidos que los hacen una fuente de energía valiosa para los pacientes con sepsis (Gottschilch, 2009).

- La primera es que son muy energéticos, aportando 9 Kcal/g, lo que permite administrar más calorías en poco volumen, siendo esto una gran ventaja en los pacientes con restricción de volumen
- La segunda es que poseen un coeficiente respiratorio inferior al de los hidratos de carbono, por lo que la oxidación de los lípidos puede reducir las concentraciones sanguíneas de dióxido de carbono.

Debemos tener en cuenta que la sepsis provoca una disminución de la capacidad celular de transportar los ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial, como consecuencia de la alteración inducida por la sepsis en el transportador de la acil carnitina (Hasselmann y Reimund, 2004), mientras que los ácidos grasos de cadena media no requieren carnitina para el transporte a la mitocondria. Se han publicado datos que apoyan los beneficios de los ácidos grasos de cadena corta producidos en la oxidación bacteriana de las fibras solubles en la luz gastrointestinal (Bengmark, 2005). Los beneficios van desde el mantenimiento de la integridad de la membrana de la mucosa gastrointestinal, a la mejora

sistemática de la función inmunitaria por la vía de los receptores en las líneas de los leucocitos (Bengmark, 2005).

Los ácidos grasos omega – 3 del aceite de pescado tienen efectos beneficiosos en los pacientes con sepsis, incluyendo la modulación de la función leucocitaria y la regulación de la liberación de citosinas a través de la señalización nuclear y de la expresión génica (Sweeney, Puri y Reen. 2005) Recientemente se ha publicado que los lípidos ω – 3 mejoran la producción de un grupo de derivados de las prostaglandinas llamadas resolvinas y neuroprotectinas que están implicadas en la aceleración de la resolución del estado proinflamatorio (Gottschilch, 2009).. Datos abundantes demuestran la influencia de los ácidos grasos ω – 3 sobre la señalización nuclear y la expresión génica. Por ejemplo los ácidos grasos poliinsaturados interactúan con varias proteínas de los receptores nucleares, como el receptor activo proliferador de los peroxisomas, el cual altera el NFK- β y la expresión génica. Por disminución de la migración del NFK- β al núcleo, los ácidos grasos ω – 3 bajan la regulación de la respuesta proinflamatoria por los estímulos activadores (Mayer, Grimm, Grimminger y col. 2002).

Utilizando una vía enteral se requieren entre 3 y 5 días para alcanzar las concentraciones adecuadas de ácidos grasos ω – 3 en la membrana celular para obtener los efectos beneficiosos sobre la distribución de las prostaglandinas. Sin embargo, mediante nutrición parenteral, se puede alcanzar una respuesta clínicamente relevante en 3 horas (Roy, Bouthillier, Seidman y col. 2004; Mayer, Gokorsch, Fegbeutel y col. 2003). Heller et al publicó en 2006 un estudio en el que participaron 661 pacientes que recibían una mezcla de ω – 3 mediante nutrición parenteral, los cuales presentaron una disminución del uso de antibióticos, disminución de la estancia hospitalaria y una tendencia a una menor mortalidad (Heller, Stehr, Litz y col. 2006)

Otras funciones importantes de los lípidos para el soporte nutricional son:

- Transporte de vitamina liposolubles
- Formación de estructuras en las membranas celulares
- Precursores de eicosanoides
- Producción de citosinas
- Interacción con la expresión génica

3.6.3.- REQUERIMIENTOS DE ENERGIA Y MACRONUTRIENTES EN EL PACIENTE CRÍTICO:

El aporte de los requerimientos energéticos y proteicos a los pacientes críticos es complejo, ya que se deben de tener en cuenta tanto las circunstancias clínicas del paciente como su momento evolutivo. Es importante considerar no sólo el aspecto cuantitativo del aporte de estos macronutrientes sino la calidad de los mismos, seleccionando entre las diversas posibilidades disponibles.

El papel de los micronutrientes, hasta hace poco considerado de segundo orden, se muestra cada día más importante en los pacientes críticos

3.6.3.1.- Necesidades energéticas del paciente critico:

Varios estudios (*Frankenfield, Smith y Cooney. 1997*) sobre pacientes con politraumatismo y buen estado nutricional previo, encuentran que aportes isonitrogenados y con aporte calórico superior, igual o inferior al gasto energético en reposo no previenen el catabolismo proteico, sugiriendo, de acuerdo con otros estudios (*Muller, Muller, Bachem y col. 1995; Streat, Beddoe y Hill. 1987*) que no parece necesario aportar todo el gasto energético medido, al menos durante las primeras fases del estrés, ya que no se consigue disminuir las pérdidas nitrogenadas con aportes calóricos por encima del mismo, produciéndose depósitos de grasas y apareciendo complicaciones metabólicas secundarias a la sobrealimentación.

En pacientes en los que se determine el gasto energético mediante calorimetría indirecta, se recomienda comenzar con un aporte energético alrededor del 80% durante los primeros 7-10 días tras la fase de estabilización, dado lo próximos que están el gasto energético en reposo y el gasto energético total durante esta primera fase (*Weissman y Kemper. 1995; Frankenfield, Wiles y Siegel. 1994*) Posteriormente se debería aumentar el aporte energético pero sin sobrepasar en las primeras semanas el 120-130% del gasto energético medido, dado el aumento del mismo durante la segunda semana y la fase de convalecencia (*Uehara, Plank y Hill. 1999*)

En pacientes con desnutrición previa importante y sin altos niveles de agresión se pueden utilizar aportes en el rango más alto. En pacientes donde no se pueda medir el gasto

energético son aplicables las recomendaciones de la ACCP (Cerra, Benitez, Blackburn y col. 1997) y de la ASPEN (ASPEN. 1998)

Estas Recomendaciones abarcan todo tipo de paciente crítico, estando contempladas diferentes situaciones clínicas y metabólicas, por lo que no son muy ajustadas.

Una recomendación válida sería la de aportar una cantidad de 25-30 kcal / kg de peso. El peso a utilizar debería ser el previo a la agresión o el peso ajustado en caso de obesidad. La AGA (AGA. 2001) recomienda que el aporte energético se haga en relación al Índice de Masa Corporal según la *Tabla 18*

Tabla 18.- Recomendaciones de aporte energético en función del IMC

Recomendaciones para el aporte energético en función del IMC (según la AGA)	
Índice de Masa Corporal (Kg/m²)	Necesidades Energeticas (Kcal/Kg/día)
< 15	35 - 40
15 – 19	30-35
20 - 29	20-25
≥ 30	15 – 20 (sin exceder >2000 Kcal /día en pacientes críticos)

Recogido de: Ortiz, Gómez-Tello y Serón. 2005

El aporte energético puede hacerse también en relación al aporte nitrogenado. La proporción KcalNP/gN₂ media es de 110-130 cal/gN₂. No obstante, si el paciente se encuentra en grados de estrés avanzados, con presencia de disfunción multiorgánica, esta relación puede descender hasta 80 cal/gN₂.

3.6.3.2.- Cantidad y tipo de carbohidratos que se deben de aportar en el paciente crítico

La glucosa continúa siendo el principal substrato calórico en el paciente crítico en general, aún cuando en algunas situaciones de agresión la fuente energética sea mixta (hidratos de carbono y grasa). Los hidratos de carbono constituyen entre el 50 y el 70% de las calorías no proteicas en el metabolismo. Una perfusión de glucosa a 4 mg/kg/min sólo suprime la

neogluco Génesis al 50% y además suprime el catabolismo proteico en un 10%-15%; por lo tanto se recomienda que el aporte de glucosa no sobrepase el valor de 5 g/kg/d.

El aporte de glucosa debe ajustarse para intentar que los niveles de glucemia sean inferiores a 140 mg/dL, recurriendo a la administración de la cantidad necesaria de insulina. Esta recomendación estara basada en los resultados de algunas publicaciones que indican una mayor morbi-mortalidad en los pacientes que tienen niveles de glucemia elevados, (*Van den Berghe, Wouters, Weekers y col. 2001*) aunque es cierto que el valor óptimo de glucemia en pacientes críticos está aún por definir.

3.6.3.3.- Cantidad y tipo de lípidos que hay que aportar en el paciente crítico

Dado que en el hombre no existe la desaturasa hepática, que produce las series de ácidos grasos n-3 y n-6, tanto el ácido linoleico como el linolénico son ácidos grasos esenciales. El aporte de lípidos es, por tanto, imprescindible para evitar el déficit de ácidos grasos esenciales (debe aportarse al menos un 2% de las calorías en forma de ácido linoleico y un 0,5% como ácido linolénico) y para mantener la estructura de las membranas celulares y la función de éstas en la modulación de las señales intracelulares (*Ortiz, Gómez-Tello y Serón. 2005*).

En el soporte nutricional se emplean actualmente triglicéridos de cadena larga (TCL) pertenecientes a las series n-3, n-6 y n-9, bien de manera individual o en combinación con triglicéridos de cadena media (TCM) en una mezcla física 50:50, o como lípidos estructurados.

Se deben aportar lípidos alcanzando hasta el 40% del aporte calórico no proteico. La cantidad mínima sera la de 1 g/kg/d, con el fin de evitar déficit de ácidos grasos esenciales. El aporte de grasas no debe exceder la cantidad de 1,5 g/kg/d. El aporte de lípidos debe suspenderse si los niveles plasmáticos de triglicéridos son superiores a 400 mg/dL.

3.6.3.4.- Cantidad de proteínas que hay que aportar al paciente crítico:

El paciente crítico es un paciente hipercatabólico que presenta intensa destrucción proteica. Por tanto el aporte proteico es absolutamente necesario. Aunque las pérdidas nitrogenadas puedan ser muy altas, especialmente en pacientes traumatizados y quemados, no

se recomiendan aportes muy elevados dado que ello podría conducir a un aumento de la degradación proteica neta. (Un aporte de 1,5 g/kg/d reduce el catabolismo proteico en un 70%, pero si se incrementa a 2,2 g/kg/d la degradación proteica neta se ve incrementada). Por tanto parece que la elevación del aporte proteico por encima de un determinado nivel crítico incrementaría la tasa de *catabolismo* (Campbell. 1997).

El 15-20% de las calorías totales diarias deben ser dadas en forma de proteínas. Debe iniciarse con aportes de 1,2-1,5 g/kg/d, ajustándose de acuerdo con controles periódicos de balance nitrogenado y cambios en la urea plasmática. El aporte protéico puede incrementarse en situaciones de aumento de pérdida proteica, como sería el caso de los pacientes con quemaduras, heridas abiertas, nefropatía o enteropatía con pérdida proteica.

Existen diferentes soluciones de aminoácidos que pueden ser utilizadas en la nutrición parenteral del paciente crítico: soluciones estándar, soluciones enriquecidas en aminoácidos de cadena ramificada, fórmulas hepáticas. Respecto a la nutrición enteral, el aporte puede llevarse a cabo mediante proteínas intactas, hidrolizados proteicos, aminoácidos libres o mezclas de todos ellos en diferentes proporciones.

En la *Tabla 19* se recogen las recomendaciones para el aporte proteico en función de la situación clínica (según la AGA).

Tabla 19: Recomendaciones de proteínas en nutrición parenteral según la situación clínica

Recomendaciones proteicas en nutrición parenteral, en función de la situación clínica (según la AGA)	
Situación clínica	Necesidades proteicas diarias (g/kg de peso ideal/día)
Normal	0,8
Estrés metabólico	1,0-1,5
Fracaso renal agudo sin diálisis	0,8-1,0
Hemodiálisis	1,2 – 1,4

Ortiz, Gómez-Tello y Serón. 2005

3.6.4.- VITAMINAS Y MINERALES NECESARIOS EN EL PACIENTE CRÍTICO

Se desconoce, por el momento, cuáles y en qué cantidad son necesarios.

Se considera que el Zn es necesario para el proceso reparador de las heridas y que su déficit acarrea diferentes aspectos de inmunocompetencia. En situaciones de agresión, es necesario añadirlo en cantidades elevadas en la nutrición artificial. Pueden administrarse hasta 13 mg/d, aunque un aporte de 4,5-6,0 mg/d, más un suplemento de 12,2 mg/d si el paciente presenta pérdidas intestinales importantes, debe ser suficiente. Un exceso de aporte de Zn puede producir interferencias en el metabolismo del Cu.

Respecto al Cu, se considera que aportes de 2-3 mg/d podrían ser suficientes en los pacientes que reciben nutrición enteral. No obstante, hay que tener en cuenta que existen situaciones, como la sepsis y el trauma, donde los valores plasmáticos de Cu se encuentran elevados en las fases iniciales.

Otros elementos traza que debieran incorporarse al soporte nutricional son el manganeso (0,8 mg/d), el cromo (0,1 mg/d), el selenio (hasta 120 mg/d).

Respecto a las vitaminas, se consideran imprescindibles los aportes de vitamina A, complejo B, C y E. No obstante, los requerimientos de vitaminas no están establecidos para la nutrición artificial del paciente crítico. Las diferentes recomendaciones publicadas (AMA-NAG, RDA, ASPEN) podrían infravalorar las necesidades de vitaminas para estos pacientes (Ortiz, Gómez-Tello y Serón. 2005).

4.- ESTUDIOS EPIDEMIOLOGICOS DE SELENIO EN POBLACION ADULTA SANA

Se sabe que el selenio es un nutriente, concretamente un mineral que forma parte del grupo de los micro nutrientes, siendo a su vez un elemento esencial para la salud del ser humano, de tal modo que bajos niveles en suero de esta sustancia están íntimamente relacionados con la patogénesis de enfermedades crónicas severas, además la disponibilidad de selenio y los niveles de selenoproteínas específicas pueden afectar al riesgo de cáncer e

influir en la capacidad de los agentes perjudiciales para la estabilidad del ADN y mutaciones. De hecho, bajos niveles de selenio en plasma están asociados con enfermedades crónicas como hipertensión, enfermedad coronaria, asma, diabetes y cáncer (anteriormente mencionado).

El rol del selenio en estas enfermedades se puede explicar por la implicación de enzimas como la Glutación Peroxidasa (GPx) junto con otras selenoproteínas como la Selenoproteína P, que intervienen en procesos de defensa antioxidante del organismo protegiendo de los daños inducidos por el peróxido de hidrógeno, lípidos peroxidados y otros derivados. Mientras que los niveles plasmáticos de selenio son indicadores de una ingesta reciente del mineral, la Selenoproteína P y GPx representan la tasa de biosíntesis como indicador del estado funcional de selenio, es decir, son indicadores a largo plazo.

De modo que tras estas aclaraciones, se puede establecer que a través de una adecuada determinación de selenio en suero se podría realizar una valoración óptima del estado nutricional de la población. Además se intentara reflejar la existencia de una asociación entre los niveles de selenio obtenidos y la influencia de la dieta sobre estos.

En un estudio realizado (*Rasmussen, Hollenbach, Laurberg y col. 2009*) en una población de Dinamarca en la que se llevó a cabo un seguimiento durante 8 años en el que se tomaron muestras de 817 sujetos con edades de entre los 18 a los 65 años, aplicándose una encuesta de frecuencia de consumo, se obtuvieron niveles de selenio de $98 \pm 19,8$ $\mu\text{g/L}$ y niveles de Selenoproteína P de 2,72 mg/L. Los mayores niveles de selenio se observaron en hombres frente a mujeres y en ambos casos los niveles plasmáticos aumentaron con la edad. Estos investigadores consideraron que la GPx está saturada a niveles de selenio en plasma de 70 – 80 $\mu\text{g/L}$ mientras que la selenoproteína P se satura a 100 $\mu\text{g/L}$.

Los resultados obtenidos fueron el de una ligera asociación entre el consumo de pescado y niveles de selenio en plasma, mientras que no se produjo dicha asociación en los niveles de selenoproteína, así como tampoco se apreció asociación entre los niveles de selenio en plasma con el consumo de pan o leche, ser o no fumadores, ser o no bebedores, tampoco en la práctica de ejercicio ni en el consumo de medicamentos.

Por otro lado, otros autores (Arnaud, Bertrais, Roussel y col. 2006), realizaron un estudio sobre la determinación de niveles de selenio en distintas regiones de **Francia** junto con una serie de encuestas de estilo de vida, área demográfica, estado familiar, actividad física... con fin de establecer una relación entre niveles de selenio y determinantes ambientales. Se estudiaron 13.017 sujetos entre 35 – 60 años obteniendo unos niveles medios de selenio de $90,01 \pm 15,79 \mu\text{g/L}$ en el caso de los hombres, mientras que para las mujeres los valores medios obtenidos fueron algo mas bajos, de $86,06 \pm 15 \mu\text{g/L}$.

En este estudio se observó que el 75% de los hombres y el 83% de las mujeres se encontraban con niveles de selenio por debajo del umbral óptimo para la actividad de la GPx, considerando dicho nivel, valores medios en plasma superiores a $98,7 \mu\text{g/L}$.

En lo referente a la implicación de los hábitos de vida en los niveles plasmáticos de selenio, se observó una asociación positiva con el consumo de alcohol, carne, pescado y en fumadores, mientras que un incremento en el consumo de leche, frutas, vegetales y alimentos ricos en almidón producen una disminución de dichos niveles.

Posteriormente, (Kim, Galindev, Sei y col. 2009) realizaron un seguimiento en 100 voluntarios coreanos con edades comprendidas entre 21 – 69 años (50 mujeres y 50 hombres) obteniendo valores niveles medios de selenio en plasma de $112,05 \pm 30,42 \mu\text{g/L}$, apreciándose mayores niveles de selenio en los sujetos con edades comprendidas entre 60 – 69 años, obteniendo los niveles de selenio mas altos en hombres que en mujeres, dando para este aspecto como explicación el mayor consumo de alimentos de mayor contenido en selenio por parte de este grupo.

En comparación con otros estudios, en esta población se han obtenido mayores niveles de selenio que en lugares como India, sureste de España, Polonia y sur de Suecia, mientras que en comparación con lugares como Singapur, USA, Taiwán y norte de España los valores medios registrados son menores.

En ese mismo año Farzin, Moassesi, Sajadi y colaboradores (2009), realizaron un estudio sobre 115 voluntarios de Teherán, con edades comprendidas entre los 2 - 62 años (60 mujeres y 55 hombres), y se obtuvieron valores medios de $99,10 \pm 21,78 \mu\text{g/L}$, siendo la media de los

resultados de $104,31 \pm 24,70 \mu\text{g/L}$ para los hombres y de $94,33 \pm 17,60 \mu\text{g/L}$ para las mujeres, apreciándose un ligero aumento de los niveles en los grupos de mayor edad.

Igualmente, en Grecia (*Letsiou, Nomikos, Panagiotakos y col. 2010*) se realizó un estudio de cohorte sobre 506 voluntarios con edades entre 26 – 51 años y valores medios de selenio de $91,8 \pm 33,7 \mu\text{g/L}$, de los cuales el 87,6% de las mujeres y el 88,5% de los hombre presentaban valores de selenio en plasma por debajo de los $125 \mu\text{g/L}$, considerados adecuados para la óptima actividad de la GPx.

Al igual que en otros estudios similares, se observó una asociación positiva entre los niveles de selenio y la edad, y por el contrario no se observó asociación positiva entre los niveles de selenio y el sexo de los sujetos a pesar de que los índices de salud eran peores en hombres.

En la población española, concretamente un estudio realizado sobre la población Canaria (*Díaz, López, Henríquez y col. 2001*) en el que se determinaron valores de selenio en plasma en 395 sujetos procedentes de las siete islas (187 hombres y 208 mujeres), con una media de edad de 38 ± 20 años, y obtuvieron concentraciones de selenio en plasma de $74,7 \pm 24,2 \mu\text{g/L}$.

Se estimó una ingesta diaria de selenio de 50 y 49 $\mu\text{g/día}$ para hombres y mujeres respectivamente a partir de la excreción de selenio en orina.

Las concentraciones de selenio en mujeres fueron muy similares a las encontradas en hombres, aunque los hombres siempre tienen mayor concentración de selenio en plasma. No se observaron diferencias entre sexos en los niveles de selenio en grupos de población menores a 14 años, y a partir de los 20 años si se observó una correlación positiva entre concentraciones de selenio y la edad de los individuos.

En cuanto a la influencia del estilo de vida sobre los niveles de selenio, se vio que, en lo referente al consumo de alcohol, tanto cerveza, como vino como bebidas espirituosas, muestran cierta tendencia a incrementar los valores de selenio en suero. No se encontraron diferencias significativas en concentraciones de selenio entre fumadores y no fumadores, ni tampoco parece influir la práctica de ejercicio físico.

Por otro lado, comentaremos de un modo mas detallado un estudio realizado en Andalucía (*Sánchez, López-Jurado, Aranda y col. 2010*) en el que se analizaron en los niveles de selenio en plasma la influencia debida a la edad, la obesidad y a otros factores del estilo de vida. Se evaluaron adultos de entre 25 – 60 años, recogiendo un total de 340 sujetos (167 hombres y 173 mujeres). Dichos sujetos mostraron unos niveles de selenio en plasma de $82 \pm 1,99 \mu\text{g/L}$.

El 56% de la población era no fumadora, observándose que los fumadores tenían menor nivel de selenio que los no fumadores. No se observaron diferencias significativas entre los niveles plasmáticos de selenio en hombres y mujeres. La población sedentaria presentó unos niveles de selenio en plasma ligeramente mayor que la población mas activa, y se vió un nivel de selenio inferior en la población con menor nivel de estudios. Se apreció una correlación positiva entre los niveles de selenio y la edad, y una relación inversamente proporcional entre el consumo de grasa, dulces y carne y los niveles de selenio. Dentro de la población andaluza estudiada, los mayores niveles de selenio se encontraron en Granada, Jaén y Almería.

En una revisión publicada en 2010 (*Carmona – Fonseca. 2010*) en la que se pretendieron establecer unos niveles de referencia para los países de Europa y América Latina, a partir de la revisión de 161 estudios publicados desde 1972, ya que en Europa a pesar de existir numerosos trabajos dedicados a Selenio en suero y plasma en humanos sanos, no existen unos valores de referencia establecidos. En Europa, donde generalmente el suelo es pobre en selenio, se han encontrado unos niveles medio de selenio en plasma que oscilan entre 48,2 y 124 $\mu\text{g/L}$, siendo el valor medio ponderado de selenio en suero/plasma de $85,19 \pm 14,58 \mu\text{g/L}$.

En este mismo año otros autores (*Hurst, Armah, Dainty y col. 2010*) realizaron un estudio doble ciego, con placebo controlado, con una población de 119 hombre y mujeres sanas de entre 50 y 64 años residentes en Reino Unido, a los que se suplementaron diariamente con placebo o selenio en dosis de 50, 100 o 200 $\mu\text{g/día}$, obteniendo en el punto inicial del estudio, para todos los sujetos, los niveles medios de selenio en plasma fueron de $95,7 \pm 11,5 \mu\text{g/L}$, viéndose estos niveles incrementados tras diez semanas de suplementación a concentraciones de $118,3 \pm 13,1 \mu\text{g/L}$, $152,0 \pm 24,3 \mu\text{g/L}$ y $177,4 \pm 26 \mu\text{g/L}$ en los casos en los que el consumo fue de 50, 100 y 200 $\mu\text{g/día}$ respectivamente.

También se determinaron niveles de selenoproteína P como marcador del estado nutricional, obteniendo niveles medios de $4,99 \pm 0,80 \mu\text{g/L}$ antes de comenzar la suplementación, y produciéndose un incremento significativo en los grupos suplementados, obteniendo valores medios de $6,17 \pm 0,85 \mu\text{g/L}$, $6,73 \pm 1,01 \mu\text{g/L}$ y $6,59 \pm 0,64 \mu\text{g/L}$ en los casos en los que el consumo de selenio fue de 50, 100 y 200 $\mu\text{g/día}$ respectivamente.

A partir de estos resultados se concluyó que la selenoproteína P era un adecuado biomarcador del estatus de selenio para poblaciones con ingestas relativamente bajas de selenio, ya que se apreció un aumento significativo en los sujetos que recibieron un suplemento dietético de 50 $\mu\text{g/día}$ (estimando que la ingesta diaria en este grupo se encontraría dentro de los 55 $\mu\text{g/día}$ recomendados como RDA), pero que estos niveles se estabilizaron en los sujetos que recibieron suplementaciones de 100 y 200 $\mu\text{g/día}$.

Por último, en un estudio publicado en 2011 (Combs, Watts, Jackson y col. 2011), en el que para evaluar el estatus nutricional de selenio en una población de 261 sujetos sanos Americanos, se determinaron niveles plasmáticos de selenio, niveles de selenoproteína en plasma, y niveles de actividad de GPx. Igualmente, se analizó la ingesta energética, de macronutrientes y de selenio, obteniéndose niveles medios de selenio en plasma de $142,0 \pm 23,5 \mu\text{g/L}$, y una ingesta de $109,1 \pm 43,6 \mu\text{g}$ de selenio al día, $122 \pm 51 \mu\text{g/día}$ en hombres y $101 \pm 35 \mu\text{g/día}$ en las mujeres. El mayor aporte dietético de selenio se realizó principalmente a partir de la ingesta de pan, huevos y pasta.

No se apreció una asociación significativa entre la ingesta de selenio y los niveles plasmáticos de selenio, ni se encontraron diferencias entre hombres y mujeres. Tampoco se apreciaron diferencias significativas asociadas a la edad o índice de masa corporal.

Tabla20: Valores medios de selenio sérico/plasmático en distintos países de Europa y ciudades de España

PAIS	Número de casos	Promedio (µg/L)	Desviación estándar (±DS)	Fuente
Rusia	556	103,1	± 13	Golubkina y Alfthan. 2002
Finlandia	2.150	76,5	± 14,9	Virtamo J y cols, 1985
Noruega	1.317	117,2	± 15,7	Overvad, Wang, Olsen y col. 1991; Ringstad, Knutsen, Nilssen y col. 1993
Suecia	208	84,1	± 12,6	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Wang, Heinonen, Mäkelä y col. 1995
Dinamarca	3.489	89,2	± 14,4	Bro, Berendtsen, Norgaard y col. 1988; Suaadani, Hein, Gyntelberg y col. 1992
Holanda	611	108	± 13,6	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Bukkens, de Vos, Kok y col. 1990; Kok, Bruijn, Hofman y col. 1987
Bélgica	861	91,6	± 11,8	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Kellen, Zeegers, Buntinx y col. 2006
Austria	200	68,6	± 16,1	Li, Rossipal y Micetic-Turk. 1999; Tiran, Tiran, Petek y col. 1992
Alemania	952	80,5	± 20,5	Meissner. 1997; Winnefeld, Streck, Treffy y col. 1999.
Suiza	2.777	96	± 12,8	Burri, Heldimann, Dudler y col. 2008; Haldimann, Venner y Zimmerli. 1996
Francia	15.410	86,7	± 15,1	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Arnaud, Bertrais, Roussel y col. 2006; Lecomte, Herbeth, Pirolet y col. 1994
Irlanda	425	81,4	± 16,2	McMaste, Bell, Anderson y col. 1990; Murphy y Cashman. 2002
Reino Unido	862	75,1	± 14,5	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Short, Duthie, Robertson y col. 1994
Italia	5.726	88,4	± 11,2	Bellisola, Perona, Galassini y col. 1993; Olivieri, Girelli, Azzini y col. 1995
Grecia	876	81,6	± 26,8	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Charalabopoulos, Kotsalos, Batistaou y col. 2009
Turquía	397	108,4	± 23,4	Delilbasi, Turan, Yücel y col. 1991; Odabasi, Turan, Aydin y col. 2008
Portugal	507	90	± 16	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Lopes, Santos, Vicente y col. 2004; Viegas – Crespo, Pavao, Paulo y col. 2000
España	2.677	74,7	± 16	Thorling, Overvad, Geboers y col. 1986; Cabré, Periago, Mingorance y col. 1992
Canarias	395	74	± 24,2	Dicaz, López, Henríquez y col. 2001
Andalucía	340	82	± 1,99	Sanchez, López-Jurado, Aranda y col. 2010
Barcelona	150	Rango: 60 – 106 µg/L		Torra, Rodamilans, Montero y col. 1997
Valencia	287	Rango: 53,03 – 108,96 µg/L		Alegria, Barberá, Clemente y col. 1996

Recogido de Carmona – Fonseca. 2010

5.- LA SALUD Y LA ENFERMEDAD

La **salud** del latín "*salus, -ūtis*" se define desde un punto de vista fisiológico como la ausencia de infecciones o enfermedades ligeras, fuertes o graves. Según la Organización

Mundial de la Salud realizada en su constitución de 1946 también puede definirse como el nivel de eficacia funcional o metabólica de un organismo tanto a nivel celular como social.

La **enfermedad** está caracterizada por una alteración del estado ontológico de salud. La cual puede ser provocada por diversos factores, tanto intrínsecos como extrínsecos al organismo enfermo: estos factores se denominan *noxas del griego νόσος, nósos*: «enfermedad», «afección de la 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 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. Aunque esto no es frecuente» (Rozman. 2000). En España, tanto los diagnósticos como los procedimientos se codifican según el criterio de la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10ª Edición).

La salud y la enfermedad son parte integral de la vida, del proceso biológico y de las interacciones medioambientales y sociales. Generalmente, se entiende a la enfermedad como una entidad opuesta a la salud, cuyo efecto negativo es consecuencia de una alteración o desarmonización de un sistema a cualquier nivel.

Por consiguiente **el enfermo** es aquel ser humano que padece una enfermedad, sea consciente o no de su estado. Joan Riehl-Sisca define el rol del enfermo como «la posición que asume una persona cuando se siente enferma» (Mosby. 1996).

El **paciente crítico** es aquel paciente, que presenta una alteración en la función de uno o varios de sus órganos o sistemas, de un modo que puede comprometer su supervivencia en algún momento de su evolución.

El paciente crítico viene definido por cuatro aspectos fundamentalmente:

- Estar gravemente enfermo (con proceso potencialmente reversible)
- La inflamación
- La disfunción orgánica
- La alta mortalidad

En numerosas ocasiones requieres de un “**Apoyo vital**”, siendo esto toda técnica que, aplicada al organismo, puede sustituir la función fisiológica de un órgano cuando su disfunción pone en peligro la vida, como son el soporte ventilatorio, soporte hemodinámico...

La **Unidad de Cuidados Intensivos (UCI)**, es el lugar destinado para el manejo de pacientes críticos con disfunción de órganos y/o sistemas, que debe contar, con tecnología de punta, y con la participación de un equipo multidisciplinario en el que forman parte especialistas (médicos, enfermeros...) capacitados en el manejo de este tipo de pacientes.

La respuesta metabólica en el paciente crítico que se genera ante una enfermedad grave, la podemos dividir en dos fases:

- 1) **Fase inicial:** Aparece e las primeras 24 horas. Se caracteriza por hipotensión, hipovolemia e hipoxia tisular.
- 2) **Fase tardía:** Se caracteriza por una primera respuesta aguda en la que predomina el catabolismo. En esta fase tiene lugar una secreción exagerada de catecolaminas y de mediadores inflamatorios, fundamentalmente citoquinas y eicosanoides, que actúan de forma directa o indirecta mediante modificaciones del flujo sanguíneo. El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 1 (IL-1) van a favorecer el aumento del gasto energético, la degradación proteica y el aumento de la glucogenolisis, así como la

activación de la lipoproteínlipasa y el aclaramiento elevado de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

Si durante la evolución surgen complicaciones infecciosas, esta respuesta puede perpetuarse y el paciente puede desarrollar un *Síndrome de Fracaso Multiorgánico* (FMO).

La respuesta a la agresión tiene efectos importantes sobre la respuesta inmunitaria. Inicialmente, se produce un aumento de mediadores inflamatorios, seguido de una respuesta mas prolongada de inmunosupresión. Las causas que, en el paciente crítico, contribuyen a la depresión inmunitaria son:

- Desnutrición aguda como respuesta metabólica a la agresión
- Exceso de producción de citoquinas
- Liberación de metabolitos del ácido araquidónico
- Déficit de nutrientes específicos
- Alteración de la flora intestinal
- Exceso de producción de radicales libres (aniones superóxido, hidroxilos y peróxidos), con daño tisular asociado

5.1.- SEPSIS, SEPSIS SEVERA, SHOCK SÉPTICO, Y OTROS TRASTORNOS RELACIONADOS CON LA ENFERMEDAD CRÍTICA

En 1992 la *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine* realizó un panel con el fin de llegar a un consenso de los siguientes términos que son relevantes en la discusión de shock séptico.

Infección: Infección es un fenómeno microbiano caracterizado por una respuesta inflamatoria en presencia de microorganismos o la invasión del tejido del huésped normalmente estéril por estos organismos.

Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica: El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) es una respuesta inflamatoria generalizada de una variedad de injurias clínicas severas.

Sepsis: Sepsis es la respuesta sistémica a la infección. Por lo tanto, en sepsis, los signos clínicos describiendo SRIS están presentes junto con evidencia definitiva de infección.

Sepsis severa: Sepsis es considerada severa cuando está asociada con disfunción orgánica, hipoperfusión, o hipotensión. Las manifestaciones de hipoperfusión se pueden incluir pero no están limitadas a acidosis láctica, oliguria, o alteración aguda en el estado mental.

Shock séptico: Shock séptico es sepsis con hipotensión a pesar del adecuado aporte de fluidos. Esto incluye trastornos de la perfusión como la acidosis láctica, oliguria, o alteración aguda en el estado mental. Los pacientes que se encuentran recibiendo agentes inotrópicos o vasopresores pueden no tener hipotensión en el momento que las anomalías de perfusión son mensuradas.

Síndrome de disfunción multiorgánica: El síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO) se refiere a la presencia de función orgánica alterada en un paciente agudamente enfermo en el que la homeostasis no puede ser mantenida sin intervención. El síndrome de disfunción multiorgánica es clasificado como primario o secundario.

- **SDMO primaria** es el resultado de una injuria bien definida en el cuál la disfunción orgánica ocurre en forma precoz y puede ser atribuible directamente a la injuria por si misma (por ej, fallo renal debido a rabdomiólisis).
- **SDMO secundaria** es un fallo orgánico que no se debe a una respuesta directa de la injuria misma, pero es una consecuencia de la respuesta del huésped. En el contexto de las definiciones de sepsis y SRIS, SDMO representa el más severo final del espectro de severidad de la enfermedad caracterizada por SRIS/sepsis. (Levy, Fink, Marshall y col. 2001)

Siendo este el año en el que se dispuso 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).

5.1.1.- SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA (SIRS) Y SU EVOLUCION

El **síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS)** o SIRS (del inglés: *Systemic Inflammatory Response Syndrome*) se caracteriza por ser una reacción pro-inflamatoria anormal y generalizada que se presenta en órganos a distancia de la agresión inicial. Una vez iniciada la respuesta inflamatoria, se ponen en marcha mecanismos compensatorios, siendo la evolución dependiente del balance entre SIRS y los mecanismos compensadores de la respuesta inflamatoria, pudiendo desencadenar en un **Síndrome de disfunción-fracaso multiorgánico (DMO / FMO)** o incluso la muerte.

Algunos mecanismos de control inflamatorio se desencadenan inmediatamente, como es el caso de la respuesta antiinflamatoria, mientras que otros son dependientes de las carencias o aportes de algunos sustratos y/o de las actuaciones terapéuticas.

Las causas del SIRS son muy variadas, desde infecciones (en cuyo caso se habla de sepsis, con independencia de que haya o no bacteriemia/viremia/funguemia), hasta traumatismos, procesos inflamatorios (ej: pancreatitis), quemaduras, etc...

Durante los últimos años se ha desarrollado una intensa investigación sobre este síndrome, especialmente para caracterizar los mediadores químicos de la respuesta inmune.

Este síndrome es reconocido clínicamente por la presencia de 2 o más de los siguientes síntomas:

- Temperatura $>38^{\circ}\text{C}$ o $<36^{\circ}\text{C}$
- Frecuencia cardiaca >90 latidos/min
- Frecuencia respiratoria >20 respiraciones/min o $\text{PaCO}_2 <32$ mmHg
- Recuento de glóbulos blancos >12.000 células/mm³, <4000 células/mm³, o $>10\%$ de formas inmaduras (en banda)

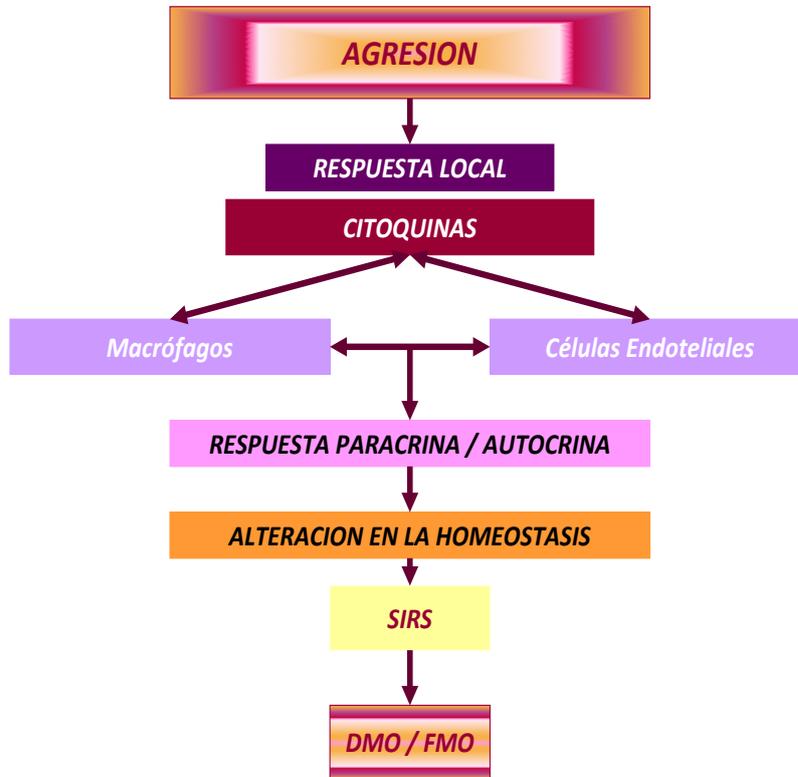
El tiempo que transcurre para que una enfermedad se considere aguda o crónica son:

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. Si la enfermedad sigue evolucionando, entrara en última fase (fase IV) de fallo multiorgánico (FMO) o disfunción multiorgánica (DMO) que es la última fase que puede inducir la muerte. En la *figura 4* se muestran las fases que transcurren en la enfermedad así como la respuesta del organismo a la infección. (Meadows, Grainger, Ruse y col. 1983)

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 más 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 (Queiroz, Almeida, Teixeira y col. 2008; Serrano, Chacon, Sanchez y col. 1991; Meadows, Grainger, Ruse y col. 1983).

Figura 6.- Fases de la enfermedad



Recogido de Sosa, Lombardo y col 2006

5.1.2.- SÍNDROME DE DISFUNCIÓN ORGÁNICA MÚLTIPLE

Se define el **Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple (DMO)** como el fallo funcional de dos o más órganos vitales, en la cual la homeostasis de los mismos no puede mantenerse sin ningún tipo de intervención. En la actualidad el DMO es la mayor causa de morbilidad y mortalidad en pacientes críticos, inicialmente solo se asociaba este síndrome con los cuadros de sepsis incontrolada, pero actualmente se acepta que no necesariamente tiene que existir un cuadro infeccioso para que se produzca.

El desarrollo de nuevas intervenciones terapéuticas redujo en parte la incidencia y severidad de esta entidad, pero para lograr este propósito es fundamental poder determinar su presencia y poder valorar su progresión a través del tiempo.

5.1.3.- SEQUENTIAL ORGAN FAILURE ASSESSMENT (SOFA)

Por ello, en la actualidad existen scores que permiten objetivar la presencia de dicho síndrome. En la conferencia de consenso realizado en París en 1994, organizado por la European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), se creó el **Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)**, de todos los scores existentes, el SOFA es uno de los más utilizados a la hora de evaluar la existencia del DMO, ya que este score evalúa morbilidad de los pacientes, teniendo una finalidad descriptiva y fácil de calcular de manera individualizada el grado de disfunción orgánica de forma cuantitativa obtenida periódicamente, por intermedio del estudio de seis órganos.

Tabla 21: Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score

PUNTUACION SOFA	0	1	2	3	4
Respiratorio: PaO ₂ / FiO ₂	> 400	≤400	≤ 300	≤ 200 con soporte respiratorio	≤ 100 con soporte respiratorio
Coagulación: Plaquetas x 1000	>150	≤ 150	≤ 100	≤ 50	≤ 20
Hepático: Bilirrubina (μmol/L)	< 1,2 (< 20)	1,2 – 1,9 (20 – 32)	2,0 – 5,9 (33 – 101)	6,0 – 11,9 (102 – 204)	≥ 12 (≥ 205)
Cardiovascular	No hipotensión	TAm < 70 mm Hg	*Dopa ≤ 5 Dobuta (cualquier dosis)	*Dopa > 5 ó A ≤ 0,1 ó NA ≤ 0,1	*Dopa > 15 ó A > 0,1 ó NA > 0,1
Neurológico: Glasgow	15	13 – 14	10 – 12	6 – 9	< 6
Renal: Creatinina mg/dl (μmol/L) o diuresis / 24h	< 1,2 (< 110)	1,2 – 1,9 (110 – 170)	2,0 – 3,4 (171 – 299)	3,5 – 4,9 (300 – 440) ó < 500 ml/día	≥ 5,0 (> 440) ó < 200 ml/día
<i>inotrópicos administrados durante al menos una hora; TAm: tensión arterial media; A: adrenalina; NA: Noradrenalina</i>					

Para facilitar el diagnóstico, prever la posible evolución del paciente crítico durante su estancia en UCI, se han elaborado escalas (scores) y/o tablas para determinar la gravedad de la enfermedad como SOFA o SIRS, descritos anteriormente, o como APACHE II, LODS y SEPSIS descritos a continuación.

5.1.4. - SCORE ACUTE PHYSIOLOGY AND CHRONIC HEALTH EVALUATION II

El **Score Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II)**, es un sistema de valoración pronóstica de mortalidad, que consiste en detectar los trastornos fisiológicos agudos que atentan contra la vida del paciente y se fundamenta en la determinación de las alteraciones de variables fisiológicas y de parámetros de laboratorio, cuya puntuación es un factor predictivo de mortalidad, siendo este índice válido para un amplio rango de diagnósticos, fácil de usar y que puede sustentarse en datos disponibles en la mayor parte de las UCI.

Tabla 22.- Sistema de Valoración APACHE II

4	3	2	1	0	Puntuación	1	2	3	4
> 41,0	39 - 40,9		38,5 - 38,9	36 - 38,4	Temperatura Central (°C)	34 - 35,9	32 - 33,9	30 - 31,9	< 29,9
> 160	130 - 159	110 - 129		70 - 109	Presión arterial media (mmHg)		50 - 69		< 49
> 180	140 - 179	110 - 139		70 - 109	Ritmo cardiaco (latidos/min)		55 - 69	40 - 54	< 39
> 50	35 - 49		25 - 34	12 - 24	Frecuencia respiratoria	10 - 11	6 - 9		< 5
> 500	350 - 499	200 - 349		< 200 > 70	Oxigenación (mmHg) Si FiO ₂ > 0,5, considerar la A-sDO ₂ Si FiO ₂ < 0,5, considerar la PaO ₂	61 - 70		55 - 60	< 55
> 7, 70	7,60 - 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 - 3,4	2,5 - 2,9		< 2,5
> 3,5	2 - 3,4	1,5 - 1,9		0,6 - 1,4	Creatinina (mg/100mL) (doble puntuación en fallo renal crónico)		< 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 ⁹ /L)		1 - 2,9		< 1

El índice APACHE II calculado en el momento de ingreso o al final del día de internación del paciente, nos proporciona información relativa al paciente del correspondiente al momento de la determinación.

Además, en el sistema de valoración APACHE se puntúan aspectos como la edad del paciente y el estado de salud crónico del paciente, es decir, el motivo de ingreso en UCI:

<i>Edad (años)</i>	<i>Puntuación</i>
≤ 44	0 puntos
45 – 54	2 puntos
55 – 64	3 puntos
65 – 74	5 puntos
≥ 75	6 puntos

El estado de salud previo al ingreso: Si el paciente antes de ingresar en el hospital, tiene historia de insuficiencia severa de órganos o de compromiso inmunitario, se asignara una puntuación de la manera siguiente:

- Pacientes no quirúrgicos o postoperatorio de cirugía urgente: 5 puntos
- Pacientes con postoperatorio de cirugía programada: 2 puntos

5.1.5.- LOGISTIC ORGAN DYSFUNCTION SYSTEM

El ***Logistic Organ Dysfunction System (LODS)*** es un método objetivo de valoración de la disfunción orgánica en los pacientes ingresados en la UCI durante el primer día de estancia. Identifica tres niveles de disfunción para 6 sistemas de órganos: neurológico, cardiovascular, renal, pulmonar, hematológico y hepático. (*Tabla 23*)

Es un sistema de puntuación global que permite cuantificar la disfunción orgánica de un modo objetivo, pudiendo relacionar la *puntuación* obtenida con la *probabilidad de muerte*.

6.- INTERVENCIÓN NUTRICIONAL EN EL PACIENTE CRÍTICO

El paciente crítico además se caracteriza, además, por presentar diferentes alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas, que suponen un aumento tanto de los requerimientos energéticos como del catabolismo proteico. Todos estos cambios metabólicos contribuyen no solo a alterar el sistema inmune, si no también, el tracto gastrointestinal, y generan consecuencias sobre la morbimortalidad, así como un retraso en el tiempo de recuperación del paciente.

Como consecuencia de todo ello, las estrategias de actuación nutricional se centran en evitar la desnutrición aguda, y frenar la producción de metabolitos del ácido araquidónico y en administrar antioxidantes y nutrientes supuestamente esenciales para el sistema inmunitario, como son la glutamina, los ácidos grasos ω -3, la arginina, nucleótidos, aminoácidos de cadena ramificada y la fibra.

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 (*Grant. 1994; Webster y Galley. 2000; Webster y Galley. 2000*).

6.1.- TIPOS DE SOPORTE NUTRICIONAL

El soporte nutricional debe considerarse como un parte más dentro del tratamiento de los enfermos en estado crítico. Con el soporte nutricional se persiguen varios objetivos:

- Corregir el déficit específico de nutrientes originados por la enfermedad
- Realizar un aporte dietético adecuado en función de los requerimientos metabólicos y nutricionales.

Prevenir la desnutrición y evitar las complicaciones derivadas de la misma

Tabla 23.- Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score

Puntuacion sistemas organicos	5	3	1	0	1	1	3	1	5
NEUROLOGICO:									
Glasgow Coma Score.	3 - 5	6 - 8	9 - 13	14 - 5	---	---	---	---	---
RESPIRATORIO									
PaO2 mmHg/FiO2 ratio VM o CPAP	---	< 150	≥ 150	No ventilacion	---	---	---	---	---
PaO2 (kPa)/FiO2	---	< 19,9	(≥ 19,9)	No IPAP	---	---	---	---	---
CARDIOVASCULAR									
Ritmo cardiaco, latidos/mn	< 30	---	---	30 - 139	---	---	---	---	---
Tension arterial sistólica, mm Hg	< 40	40 - 69	70 - 89	90 - 239	---	---	---	---	---
RENAL									
Urea sérica, mmol/L (g/L)	---	---	---	< 6 (< 0,36)	6 - 9,9 (0,36 - 0,59)	10 - 19,9 (0,6-1,19)	≥ 20 (≥ 1,20)	---	---
Nitrógeno uréico, mmol/L (mg/dl)	---	---	---	< 6 (< 17)	6 - 9,9 (17 - < 28)	10 - 19,9 (28 - < 56)	≥ 20 (≥ 56)	---	---
Creatinina μmol/L (mg/dl)	---	---	---	< 106 (< 1,20)	106 - 140 (1,2-1,59)	> 141 (>1,6)	---	---	---
Diuresis L/d	< 0,5	0,5 - 0,74	---	0,75 - 9,99	---	≥ 10	---	---	---
HEMATOLOGICO									
Formula leucocitaria x 10 ⁹ /L	---	< 0,1	1,0 - 2,4	2,5 - 49,9	≥ 50	---	---	---	---
Plaquetas x 10 ⁹ /L	---	---	< 50	≥ 50	---	---	---	---	---
HEPÁTICO									
Bilirrubina μmol (mg/dl)	---	---	---	< 34,2 (< 2,20)	≥ 34,2 (≥ 2,20)	---	---	---	---
Tiempo de protombina (% estándar)	---	---	< 25 %	≤ 3 (≥ 25 %)	> 3	---	---	---	---

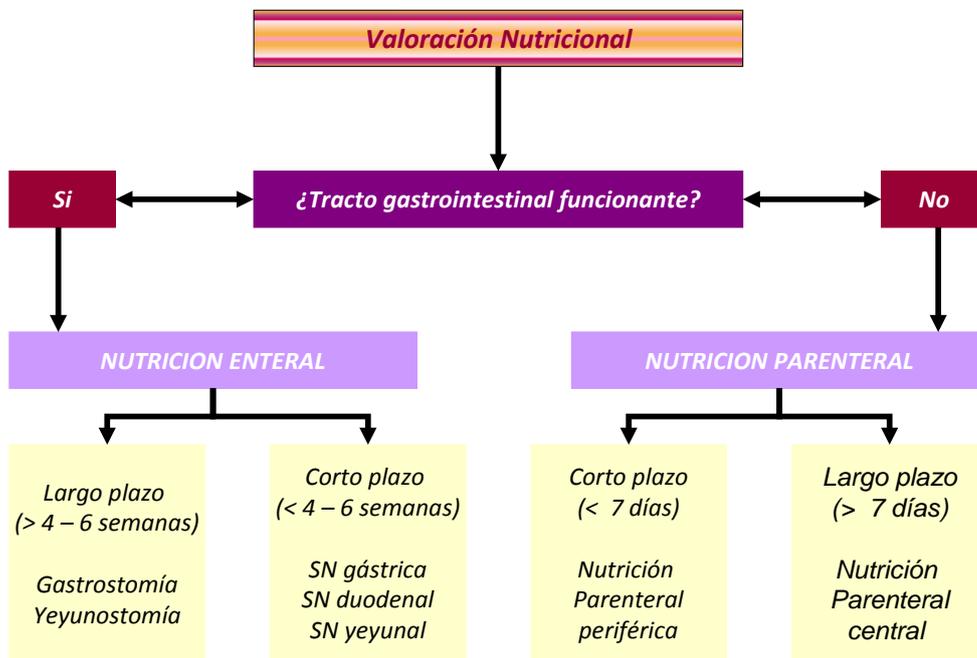
Puntuacion	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Mortalidad hospitalaria previsible (%)	3,2	4,8	7,1	10,4	15	21,1	28,9	38,2	48,4	58,7	68,3	76,6	83,3	88,3	92	94,6	96,4	97,6	98,4	98,9	99,3	99,5	99,7

Es preferible realizar la intervención nutricional de forma precoz, independientemente de estado nutricional previo del paciente. Aunque no está claramente definido el tiempo de espera necesario para iniciar el soporte nutricional, lo ideal es no retrasarlo más de 48 horas desde el momento de ingreso en la unidad de cuidados intensivos.

Además es preferible, siempre que no existan contraindicaciones específicas, utilizar el tracto digestivo (con nutrición enteral), ya que mantiene los mecanismos inmunitarios intestinales y la función absorbente de la mucosa, y asegura el efecto de la barrera intestinal.

En la figura inferior se muestran las rutas de decisión para la selección de la ruta más recomendable para la nutrición.

Figura 7.- Rutas de decisión para la elección del soporte nutricional en el paciente crítico



6.2.- NUTRICIÓN ENTERAL:

Se denomina Nutrición Enteral (NE), a aquel soporte nutricional que se realiza aportando directamente el alimento al tracto digestivo. Generalmente se emplea siempre que el aparato digestivo es competente tanto anatómica como funcionalmente, siendo preferible que se realice de la manera mas temprana posible.

Esta contraindicado su uso cuando hay presencia de:

- Obstrucción del tracto gastrointestinal
- Perforación gastroduodenal
- Íleo gastrointestinal agudo
- Hemorragia digestiva alta
- Diarrea grave intratable
- Lesiones abdominales que obliguen a cirugía de urgencia
- Inestabilidad hemodinámica

A la hora de elegir una vía de acceso digestiva, se deben tener en cuenta una serie de factores, como son:

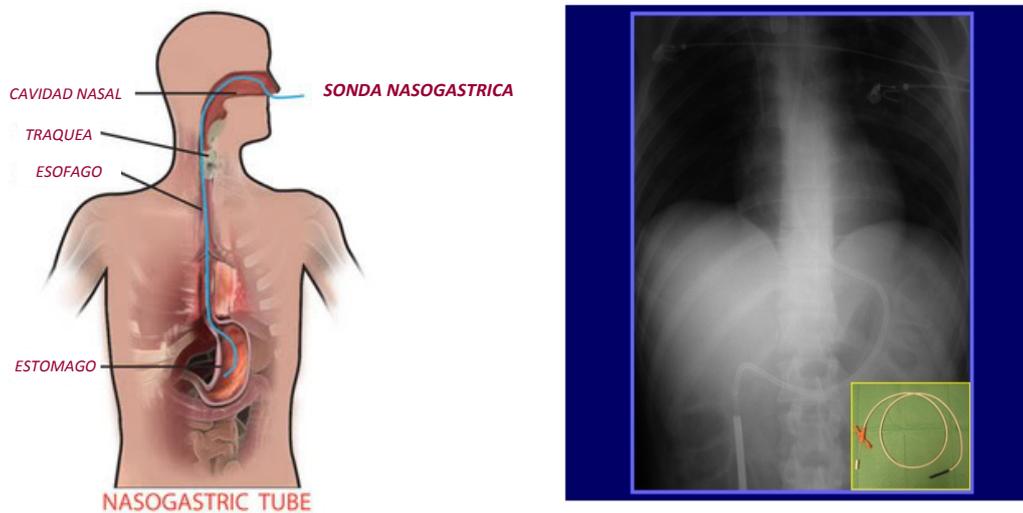
- La enfermedad base
- La situación clínica y el estado nutricional del paciente
- Sus requerimientos nutricionales y metabólicos
- El soporte nutricional previo
- La duración prevista de tratamiento
- La fórmula elegida

Se debe intentar optimizar al máximo la dieta oral mediante suplementos dietéticos y una adecuada selección de la formula. Si tras 5 – 7 días la ingesta fuera inferior al 60 % de los requerimientos diarios, estaría indicada la administración de NE mediante sonda nasointestinal.

La nutrición por vía nasointestinal esta indicada en todo paciente que es incapaz de alcanzar sus requerimiento nutricionales por vía oral y posee un tracto digestivo funcionante.

El acceso gástrico está contraindicado en pacientes con problemas de vaciamiento gástrico, íleo paralítico y con riesgo de broncoaspiración. Por otro lado, los accesos postpilórico y yeyunal, exigen una mínima funcionalidad del intestino delgado y están indicados en pacientes que tienen limitado el uso gástrico.

Figura 8 y 9: Colocación de la sonda nasogastrica



La sonda nasogástrica es de elección para el soporte nutricional en el paciente crítico a medio y corto plazo, siendo preferibles las sondas nasoduodenales y nasoyeyunales cuando existe riesgo de complicaciones con la nutrición gástrica, como dificultades para el vaciamiento gástrico, aumento del reflujo gastroesofágico, o enfermedades que afectan al estómago, duodeno, vías biliares o páncreas.

Cuando no es posible una nutrición nasoenteral, o se prevé la necesidad de un soporte nutricional durante un periodo de tiempo superior a cuatro semanas, se puede colocar una sonda para nutrición enteral, con técnica invasiva, por gastrostomía endoscópica percutánea o bien por yeyunostomía endoscópica percutánea.

Parte del éxito en la tolerancia de la nutrición enteral va a depender de la forma en que sea administrada. Para poder decidir cual es la forma mas adecuada de administración, deben tenerse en cuenta varios factores, como son:

- La patología de base del paciente
- Su estado nutricional
- Sus requerimientos calóricos y proteicos
- Las necesidades hídricas
- La vía de acceso elegido
- El tipo de formula
- La duración prevista del tratamiento nutricional

La administración intragástrica continua gota a gota es la forma de alimentación mas frecuente en este tipo de pacientes. Generalmente se utilizan nutribombas para regular la velocidad de infusión y así perfundir un volumen concreto en un tiempo determinado, normalmente mL/h, reduciendo así tanto el riesgo de broncoaspiración como el residuo gástrico y se mejora la tolerancia.

A pesar de que la nutrición enteral es una técnica sencilla y segura, no esta exenta de sufrir complicaciones, pudiendo dividirlas en:

- Mecánicas
- Infecciosas
- Gastrointestinales
- Metabólicas

Las **complicaciones mecánicas** normalmente están relacionadas con la técnica de inserción de la sonda de alimentación, el tiempo de permanencia de la misma y por las deficiencias en su mantenimiento.

Entre las **complicaciones infecciosas** mas frecuentes se encuentran la sinusitis y la otitis media, sobre todo en pacientes con ventilación mecánica. Esta infección se puede

producir por colonización ascendente de la flora gástrica, como por colonización descendente de la flora orofaríngea.

Las **complicaciones gastrointestinales** se producen en aproximadamente el 30 – 50 % de los pacientes graves que reciben nutrición enteral, ya que los pacientes críticos, generalmente con ventilación mecánica y sedación, tienen un aumento del residuo gástrico siendo esta la complicación mas frecuente. La principal consecuencia de estas complicaciones, es la necesidad de reducir el volumen de la formula, lo que conlleva a un aumento del riesgo de desnutrición y presencia de carencias nutricionales, en cuyo caso se recomienda el uso de alimentación parenteral complementaria (nutrición mixta) o incluso la nutrición parenteral tota (NPT).

Otras complicaciones gastrointestinales, aunque menos frecuentes, son los vómitos, la regurgitación, el estreñimiento y la distensión abdominal. Las **complicaciones metabólicas** no son frecuentes con las dietas actuales, completas y equilibradas, y cuando aparecen, generalmente son fáciles de controlar.

6.2.1.- COMPOSICIÓN DE LAS FÓRMULAS DE NUTRICIÓN ENTERAL

La composición de las fórmulas empleadas en nutrición enteral es una mezcla de proteínas, grasas e hidratos de carbono, suplementados con vitaminas y oligoelementos.

Proteínas: Poseen proteínas de alto valor biológico por contener una proporción adecuada de aminoácidos esenciales, pueden ser tanto de origen vegetal (soja) como de origen animal (leche, huevos, carne...), y se obtienen por homogeneización o extracción química. Disponen de:

- Proteína intacta: caseína, proteína de soja, lactoalbúmina
- Hidrolizados de proteína: caseína, proteína de soja, lactoalbúmina (para pacientes con la capacidad digestiva disminuida)
- Aminoácidos libres (L-aminoácidos): al ser moléculas pequeñas aumentan la osmolaridad de la formula

- Aminoácidos especiales añadidos: aminoácidos de cadena ramificada, aminoácidos esenciales, glutamina, arginina...

Hidratos de Carbono: Extraídos de cereales o leguminosas. Su complejidad determina su osmolaridad, el sabor dulce y la digestibilidad. Suelen ser:

- Polisacáridos: > 10 moléculas, generalmente polímeros de glucosa y dextrinomaltosa, son de baja osmolaridad y digestión lenta.
- Oligosacáridos: 2 – 10 moléculas, como la maltodextrina y oligosacáridos de glucosa.
- Disacáridos: 2 moléculas, son la lactosa, maltosa, sacarosa, etc.
- Monosacáridos: 1 molécula como la glucosa, fructosa, galactosa, etc.. son más dulces y se absorben rápidamente, pero tienen una mayor osmolaridad.

Lípidos: Mejoran el sabor y la palatabilidad de la fórmula si aportan prácticamente osmolaridad, y modulan la producción de eicosanoides. Se extraen de aceites vegetales, grasas lácteas y aceites de pescado. Se obtienen de estas fuentes:

- Ácidos grasos de cadena larga: aceite de maíz, soja, cártamo, girasol, y su absorción es compleja
- Ácidos grasos de cadena media: aceite de coco y palma, son ácidos grasos de muy fácil digestión y absorción.
- Ácidos grasos ω -3: a partir de aceite de pescado.

Fibra: Esta constituida por hidratos de carbono cuya estructura no puede ser atacada por las enzimas del tracto digestivo. Se divide en:

- Fibra soluble: polímeros de soja, pectinas, gomas y mucílagos) sufren un proceso de fermentación a partir del cual se obtienen ácidos grasos de cadena corta, siendo este el principal sustrato energético de los colonocitos. Esta indicada en el síndrome de intestino corto, la

enfermedad inflamatoria intestinal y diarreas, ya que se reduce el volumen fecal.

- Fibra insoluble: celulosas y hemicelulosas, son menos atacables por las bacterias del colon aumentando considerablemente el volumen de las heces, de modo que esta mas indicada en el caso de estreñimiento.

Agua: La mayoría de las formulas la cantidad de agua esta alrededor del 80 % del volumen total, excepto en las formulas concentradas, donde la cantidad de agua es menor, y se encuentran aumentadas las cargas de solutos y la osmolaridad.

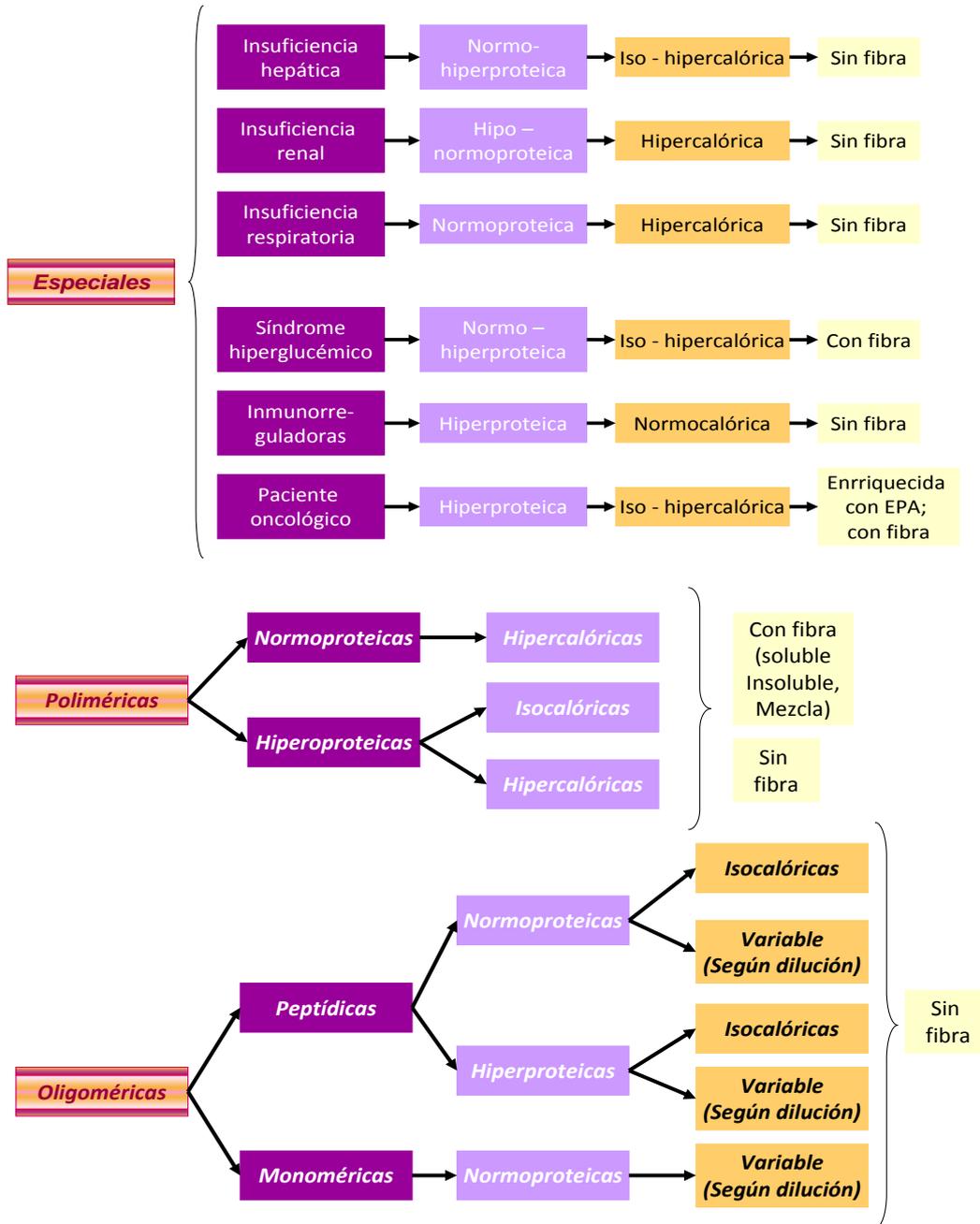
Micronutrientes:

- Electrolitos: Los contienen la mayorías de las formulas en cantidad suficiente, salvo en aquellas en las que se encuentras restringidos.
- Vitaminas y Oligoelementos: Las formulas completas aportan las raciones dietéticas recomendadas siempre que se superen las 1200 – 1500 Kcal/día.
- Existen también formulas con restricción de algunos micronutrientes y otras formulas especiales enriquecidas.

6.2.2.- CLASIFICACION DE LAS FORMULAS DE NUTRICION ENTERAL

Desde un punto de vista clínico, el principal criterio de selección de las formulas de nutrición enteral, se realiza en función de la complejidad de las proteínas, y como criterio secundario, teniendo en cuenta la cantidad de proteínas, la densidad energética, la osmolaridad y la presencia de fibra. *Figura9.*

Figura 10.- Clasificación de las formulas en Nutricion Enteral



Fórmulas oligoméricas: En estas formulas los nutrientes están predigeridos para facilitar su absorción, siendo las formulas de elección en pacientes con una capacidad digestiva y una absorción intestinal muy reducida.

Las proteínas se presentan como hidrolizados proteicos, pudiendo ser peptídicas (con péptidos de entre 2 a 6 aminoácidos) o monoméricas. Encontrando tanto formulas normoprotéicas como hiperprotéicas.

Los hidratos de carbono son disacáridos u oligosacáridos. Tiene un bajo contenido en grasas con un elevado porcentaje de ácidos grasos de cadena media.

Tabla 24.- Contenido en selenio y macronutrientes en las formulas comerciales en nutrición artificial

	Hepatopatía			Nefropatía			Insuficiencia respiratoria	Diabetes Intolerancia a la glucosa		
	Polimérica Normoproteica Iso/hipercalórica	Oligomérica normoproteica	Oligomérica hiperproteica	Polimérica Normoproteica hipercalórica		Oligomérica normoproteica	Polimérica normoproteica hipercalórica	Polimérica isocalórica Normoproteica Con fibra	Polimérica isocalórica Normoproteica con Con fibra	Polimérica hiperproteica calorica
				Dialisis	Predialisis					
Proteínas (%VCT)	12 - 14	14	17	14	6	11	16,5	15 – 17	17	20
Kcal no proteicas/g N ₂	148 – 178	202	65	154	400	257	129	122 – 142	125	102
Densidad calórica (Kcal /mL)	1,3/ variable	variable	Variable	2	2	1	1,5	0,9	1	1,2
Osmolaridad (mosmol / L)	371 – 789	799	940	446	427	590	384	230 – 340	300	389
Hidratos de Carbono	48 – 69	76	73	43	51	73	28	45 – 51	33	40
Fibra (g/L)	---	---	---	---	---	---	---	15	15	5
Soluble/insoluble (%)	---	---	---	---	---	---	---	67/33, 80/20	100/0	100/0
Grasas	16,3 – 40	8	---	43	43	15	55	33 – 40	50	40
AGCM / AGCL (%)	35/65, 50/50	77/33	---	0/100	0/100	78/22	25/70	0/100, 15/85	0/100,	10/85

Fórmulas especiales: Se trata de formulas adaptadas a una determinada patología o situación del paciente en la que los requerimientos nutricionales se alejan de la normalidad. En

la *tabla 24* se describen las características principales de las formulas diseñadas para patologías específicas como:

- Insuficiencia hepática
- Insuficiencia renal
- Insuficiencia respiratoria
- Síndromes hiperglucémicos

6.3.- NUTRICIÓN PARENTERAL:

Se define nutrición parenteral (NP) como el conjunto de técnicas de administración de nutrientes por vía intravenosa. Se recurre a la nutrición parenteral cuando la función intestinal esta afectada y/o cuando falla la nutrición enteral, otras veces se usa como complementaria a la nutrición enteral, cuando con esta ultima no se puede conseguir un aporte completo, administrándose una nutrición mixta.

La nutrición parenteral esta indicada en casos de:

- Obstrucción intestinal
- Sangrado gastrointestinal agudo
- Dolor y distensión abdominal que impide la ingesta
- Fístula intestinal de alto debito (>500 mL/día)
- Diarrea intratable grave (1500 mL/día)
- Pancreatitis aguda grave si no se puede administrar nutrición yeyunal
- Fase inicial del síndrome del intestino corto
- Inestabilidad hemodinámica grave
- Traumatismo craneoencefálico en fase precoz
- Anastomosis gastrointestinal cercana al lugar de percusión de la nutrición

La administración de la nutrición parenteral puede realizarse por vía central o periférica:

- **La vía periférica:** se utiliza en cortos periodos de tiempo y no suele ser de gran utilidad en el paciente crítico. Para evitar que se produzcan complicaciones locales (como flebitis o trombosis), la osmolaridad de la solución debe encontrarse entre 600 – 900 mosmol/L.
- **La vía central:** es habitual en pacientes graves, y permite administrar macro y micronutrientes de alta osmolaridad sin riesgo. Las vías centrales más utilizadas son la yugular interna y la subclavia.

Las complicaciones más frecuentes de la nutrición parenteral están relacionadas con la colocación de la vía central en el momento de la inserción, siendo las más frecuentes por la malposición del catéter y el neumotórax, siendo este último especialmente peligroso en pacientes con ventilación mecánica. También pueden aparecer complicaciones derivadas del mantenimiento de la vía, salida accidental de la vía y la infección en el lugar de la punción. Las complicaciones tardías como la trombosis de la vena subclavia y cava son menos frecuentes.

6.3.1.- COMPOSICION DE LAS FÓRMULAS DE NUTRICIÓN PARENTERAL

Los principales componentes de las fórmulas de nutrición parenteral por las que se caracterizan las mezclas de nutrición parenteral son:

- **Osmolaridad:** determina la vía por la que se ha de administrar la fórmula, en general, se considera que para valores superiores a 800 – 900 mosmol/L debe utilizarse una vía central
- **Tipo de preparado:** Existen distintos tipos de preparados en función de que los macronutrientes estén contenidos o no en la misma mezcla, denominándose

como mezclas “2 en 1” (bicompartimentales) o mezclas “3 en 1” (tricompartimentales).

- **Lugar de preparación, estandarización e individualización:** La preparación de las formulas de nutrición parenteral puede realizarse en la propia farmacia del hospital, o a partir de laboratorios farmacéuticos que se dedican a la elaboración de este tipo de preparados, disponiendo de mezclas estandarizadas tanto completas (con hidratos de carbono, lípidos y proteínas), como incompletas (solo proteínas e hidratos de carbono), mezclas para accesos centrales y periféricos y mezclas de mantenimiento para situaciones de estrés. Las mezclas individualizadas son las realizadas por el servicio de farmacia del hospital
- **Carga de nitrógeno:** La cantidad de nitrógeno dependerá de las necesidades de cada paciente (1g de nitrógeno, equivale a 6,25 g de proteínas)
- **Presencia o no de electrolitos:** Las mezclas estándar preparadas por la industria farmacéutica pueden estar preparadas con o sin electrolitos, de modo que el servicio de farmacia del hospital complementa las preparaciones de un modo personalizado.

Hidratos de carbono: Son una fuente rápida de energía para el organismo. La principal fuente de carbohidratos en la formulas parenterales es la dextrosa (D-glucosa). Antiguamente se utilizaban también el xilitol, la fructosa, el glicerol, el sorbitol, etc, pero ya no están aconsejados y la mayoría de estas soluciones se ha retirado del mercado.

Lípidos: Son también una fuente de energía para el organismo, pero además proporcionan ácidos grasos esenciales y vitaminas liposolubles, tienen funciones estructurales y forman parte de diferentes enzimas y receptores. Su incorporación a las formulas parenterales, presenta grandes ventajas como son las de aportar gran cantidad de energía en poco volumen y con menor osmolaridad, además de prevenir procesos de peroxidación y de degradación de vitaminas.

Los distintos tipos de emulsiones lipídicas disponibles son:

- Emulsiones de triglicéridos de cadena larga
- Mezcla de triglicéridos de cadena larga y triglicéridos de cadena media al 50%
- Mezclas de triglicéridos de cadena larga y triglicéridos de cadena media estructuradas
- Emulsiones enriquecidas en ácido oleico ($\omega - 9$)
- Mezclas de triglicéridos de cadena larga y triglicéridos de cadena media enriquecidas con ácido graso $\omega - 3$
- Mezclas de triglicéridos de cadena larga y triglicéridos de cadena media, ácido graso $\omega - 3$ y ácido graso $\omega - 9$

Proteínas: Son los constituyentes básicos del organismo, además de su función estructural, desempeñan funciones enzimáticas, de transporte... aunque originalmente se empleaban para las formulas de nutricio parenteral hidrolizados de proteínas naturales (caseína...) actualmente se emplean, soluciones estériles de aminoácidos libres, ya que esto nos permite obtener una composición conocida y constante de la mezcla.

Los aminoácidos incorporados son los *levo* (L – aminoácidos), ya que esta es su forma proteinogénica, aunque en ocasiones se incorporan dipéptidos como la glutamina, ya que aumentan a estabilidad de la formula y disminuyen su osmolaridad.

Generalmente los aminoácidos incorporados, son los aminoácidos esenciales, aunque existen en el mercado preparaciones de mezcla de aminoácidos para situaciones especiales (insuficiencia renal o hepática, situaciones de estrés...).

Las soluciones de aminoácidos de las que disponemos actualmente se pueden clasificar en:

- **Soluciones estándar:** contienen todos los aminoácidos esenciales (AAE) y casi todos los aminoácidos proteicos, en unas proporciones que deben ser aproximadamente del 40 % AAE, el 18 – 20 % de aminoácidos de cadena

ramificada (AACR: isoleucina, leucina y valina) y el 8 -9% de aminoácidos aromáticos (AAA: fenilalanina, tirosina y triptofano).

- **Soluciones específicas del órgano:** este tipo de soluciones están diseñadas para corregir desequilibrios en el aminograma plasmático como consecuencia de ciertos fallos orgánicos, o para suplementar ciertos aminoácidos con efecto terapéutico en distintas circunstancias.

- **soluciones para encefalopatía hepática:** estas soluciones contienen una mayor concentración de AACR (alrededor del 34,5 %) y una menor proporción de AAA y metionina.
- **Soluciones para la insuficiencia renal:** estas soluciones contienen solo AAE e histidina. Incluyen además un 5,5 % de L- aminoácidos.
- **Soluciones para situaciones de estrés:** Existen principalmente dos soluciones para situaciones de estrés, en la que existe un aumento del metabolismo muscular, y por tanto los requerimientos de AACR.

1) Una solución, conocida como “HBC” (*High Branched Chain*) en la que aparece un 36 – 45 % de AACR, recomendada para pacientes en fase crítica, de estrés o sepsis.

2) La otra solución es rica en cisterna, tirosina y serina, enriquecida con AACR y pobre en metionina, glicina y fenilalanina. Esta mezcla esta recomendada en pacientes críticos o en fase de estrés y en situaciones de deficiencia en pre y postoperatorios así como en situaciones postraumáticas.

- **Soluciones específicas de sistema (con farmaconutrientes):** Son soluciones diseñadas para la recuperación sistémica mediante la modificación de la inmunidad, empleando aminoácidos como farmaconutrientes.

- **Soluciones enriquecidas con glutamina o dipéptidos de glutamina.**
- **Soluciones enriquecidas con taurina.**

Vitaminas: Como ya sabemos, las vitaminas son esenciales dentro del aporte diario de nutrientes, ya que la mayoría de ellas el cuerpo es incapaz de sintetizarlas y son nutrientes indispensables múltiples procesos bioquímicos al actuar como cofactores enzimáticos. En los preparados de nutrición parenteral, las vitaminas vienen en presentaciones de mezclas de vitaminas hidrosolubles, mezclas e vitaminas liposolubles y en ocasiones como vitaminas aisladas, siendo añadidas de este modo a las formulas parenterales.

Oligoelementos: Al igual que las vitaminas son nutrientes esenciales, es complicado realizar una individualización de los requerimientos, y al igual que las vitaminas, se adicionan a las formulas parenterales como suplementos de preparaciones de mezcla de oligoelementos, existiendo preparaciones individuales de elementos como el hierro.

Existe una problemática con las diferentes presentaciones comerciales de los oligoelementos-ET debido a las importantes variaciones en la composición de cada una de ellas. Por tanto no es de extrañar su desigual utilización en los diferentes protocolos de NP de los hospitales españoles, en los que se contempla una periodicidad y alternancia muy diferente en la administración de estos micronutriente (*García de Lorenzo, Alvarez, Bermejo y col. 2009*).

Algunos aspectos claves a tener en cuenta a la hora de realizar pautas y para determinar su posicionamiento se derivan de las siguientes premisas.

- Los micronutrientes están en *pools*: Ferritina (Fe), hormonas tiroideas (I), cobalaminas (Co), selenoproteínas (Se), metalotioneínas (Cu, Zn, Mn, Mo) o fluoroapatita (F).
- Están unidos a transportadores proteicos: Albumina (Mn, Cu, Zn, Se), transferrina (Fe, Cr), ceruloplasmina (Cu), cianocobalamina (Co), selenometionina (Se); transportadores proteicos (F, I, Mo).
- En la respuesta de fase aguda está alterada la distribución de micronutrientes.

- Eliminación se realiza por:
 - Bilis: Fe, Cu, Mn, Zn
 - Orina: I, F, Mo, Co, Se, Cr

- Contaminación por elementos traza: Los componentes individuales utilizados para preparar las mezclas de NP suelen estar contaminados con elementos traza no declarados en las etiquetas.

- Evaluación del estatus de micronutrientes en el organismo:
 - Determinación en plasma
 - Carencia de marcadores bioquímicos que permitan una rápida medición de sus niveles y de sus reservas corporales

- Se deben individualizar requerimientos en función de riesgos previos de deficiencia o patologías que conlleven incremento de pérdidas o incremento de requerimientos.
- Desde un punto de vista económico, no deben asumirse posibles complicaciones clínicas derivadas de un deficitario aporte de micronutrientes, ya que el soporte nutricional ha demostrado ser coste-efectivo.

6.4.- EL SELENIO EN NUTRICIÓN ARTIFICIAL DEL PACIENTE CRÍTICO

El Selenio puede ser suplementado por vía enteral o parenteral, bajo forma de Selenio orgánico (SeMet o SeCys) o inorgánico: Selenito (SeO_3^{-2}) y ácido selenioso (H_2SeO_3). Existen diferencias fundamentales en el metabolismo de la Se-met y del Selenito. El Selenio inorgánico puede ser utilizado para la síntesis de las selenoproteínas pero solamente la Se-met puede ser incorporada en las proteínas corporales. El Selenio inorgánico aportado es rápidamente reducido por el GSH a Selenio-Glutatión (GS-Se-GS) e incorporado al pool de Selenio bajo forma de Selenosulfuro o Selénico de Hidrógeno (H_2Se), este compuesto es de importancia

fundamental, puesto que el mismo aporta el Selenio necesario para la síntesis de las selenoenzimas. Sin embargo, la administración de Se-met debe ser convertida inicialmente en Se-cis la cual es degradada a nivel hepático en serina y H₂Se (Klein, Nielsen y Moser-Veillon. 2008; Schrauzer. 2000). Esto demuestra que el Selenio inorgánico está más fácil y rápidamente disponible para la síntesis de selenoenzimas.

En un metaanálisis realizado por Heyland D y cols en 2005, (Heyland, Dhaliwal y Drover. 2004) se afirma que la dosis de selenio asociada con una reducción de la mortalidad en pacientes críticos, debe de ser de 500 a 1000 mg/día.

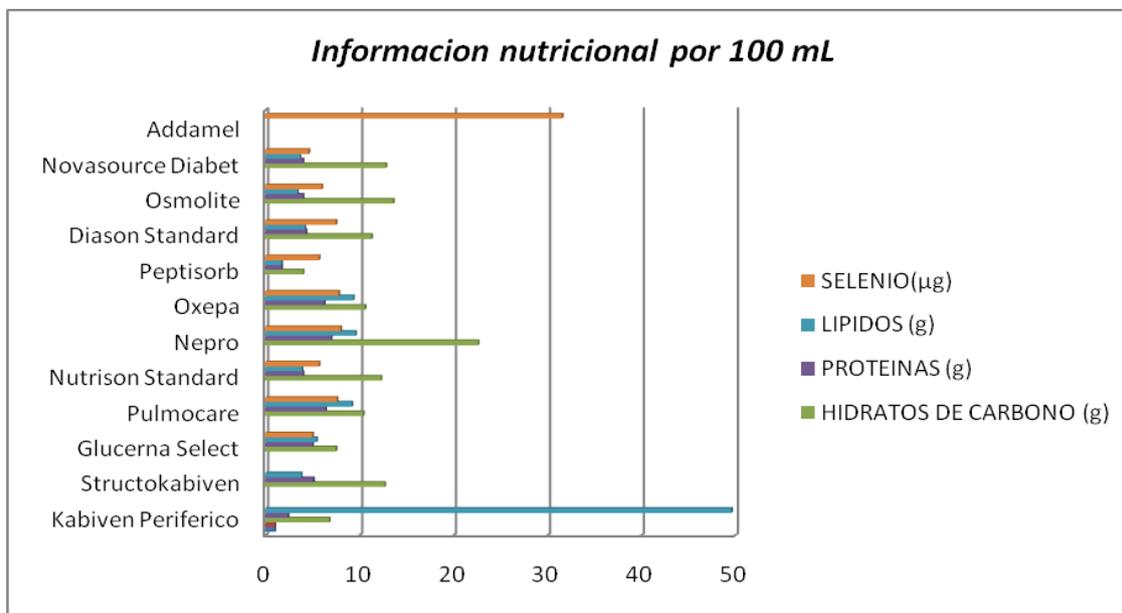
6.5.- CANTIDAD DE SELENIO CONTENIDO EN LAS FÓRMULAS DE NUTRICIÓN ENTERAL Y PARENTERAL Y SUPLEMENTOS.

El selenio contenido en las distintas formulas de nutrición, se encuentra en diferente concentración en función de la vía de administración de la formula, forma química... a continuación se muestran en la *tabla 25* la cantidad de energía, macronutrientes y selenio contenido en distintas formulas de nutrición artificial, tanto de formulas de alimentación enteral como parenteral, además de el contenido del mismo en suplementos poliminerales, expresando estas concentraciones en función del volumen de presentación comercial y por 100 ml. En la *gráfica 1* se muestra igualmente el contenido de los diferentes nutrientes en las fórmulas comerciales por 100mL.

Tabla 25.- Contenido en selenio y macronutrientes en fórmulas comerciales

FORMULA	TIPO DE FORMULA	VOLUMEN	ENERGIA	HIDRATOS DE CARBONO	PROTEINAS	LIPIDOS	SELENIO
Kabiven Periferico	NP	1920	1400	130	45	68	---
		100	72,9	6,8	2,4	49,6	---
Sturctokabiven	NP	1970	2100	250	100	75	---
		100	106,6	12,7	5,1	3,8	---
Glucerna Select	NE	500	499	37,3	25	27,2	25
		100	99,8	7,5	5	5,44	5
Pulmocare	NE	250	378	26	16	23	19
		100	151,2	10,4	6,4	9,2	7,6
Nutrison Standard	NE	500	500	61,5	20	19,5	28,5
		100	100	12,3	4	3,9	5,7
Nepro	NE	500	1000	113,2	35	48	40
		100	200	22,64	7	9,6	8
Oxepa	NE	500	759	53	31,25	46,8	39
		100	151,8	10,6	6,25	9,36	7,8
Peptisorb	NE	500	88	20	8,5	8,5	28,5
		100	17,6	4	1,7	1,7	5,7
Diason Standard	NE	500	500	56,5	21,5	21	37,5
		100	100	11,3	4,3	4,2	7,5
Osmolite	NE	500	504	68	20	17	30
		100	100,8	13,6	4	3,4	6
Novasource Diabet	NE	500	500	64	20	18,3	23
		100	100	12,8	4	3,66	4,6
Addamel	Suple-mento	10	---	---	---	---	31,58

Grafica 2.- Contenido en selenio y macronutrientes en formulas comerciales por cada 100 mL



6.6.- SELENIO EN SITUACIONES FISIOPATOLÓGICAS

6.6.1.- SELENIO Y CÁNCER

La relación entre selenio y cáncer parece estar muy bien documentada. Diversos estudios epidemiológicos han establecido que existe una relación clara y directa entre un bajo nivel de selenio en sangre y el desarrollo de cáncer.

Los estudios epidemiológicos proporcionan evidencia de una relación inversa entre la ingesta de selenio y mortalidad por cáncer. En un estudio prospectivo realizado en una muestra de 34.000 hombres de la *Harvard-based Health Professional's Cohort*, los situados en el quintil inferior en contenido corporal de selenio presentan tres veces más posibilidades de desarrollar cáncer de próstata (Giovannucci. 1998; Yoshizawa, Willet, Morris y col 1998) (no se tuvieron en cuenta los casos diagnosticados en menos de dos años después de la toma de la muestra con el fin de evitar la posibilidad de confusión de que la misma enfermedad fuera la causante de la baja concentración de selenio, por baja ingesta, disminución de la absorción o mala alimentación). Varios estudios demuestran que la suplementación de la dieta con selenio en cantidades de 200-300 µg/día disminuyen las cifras de algunos tipos de cáncer (Rayman. 2000). Un posible mecanismo de los efectos protectores del selenio podría relacionarse con la inhibición de la formación de malonaldehído, un producto carcinogénico producido por el daño tisular por peroxidación lipídica.

El selenio es capaz de inhibir cánceres inducidos tanto por virus como químicamente y no sólo se inhibe la iniciación de la enfermedad sino también su desarrollo. Además, el efecto del selenio parece ser reversible (Combs y Gray. 1998). En este sentido, se han propuesto cuatro posibles mecanismos por los que el elemento podría desarrollar su papel de agente protector frente al cáncer (Combs y Gray. 1998; Spallholz. 2001)

- 1) A través del **efecto antioxidante de las selenoproteínas**, que puede proteger a los organismos frente al cáncer (puesto que los peróxidos y las especies activas de oxígeno provocan daño genético y posiblemente

cáncer), regulando el sistema redox y eliminando el ADN dañado por peróxidos (Combs y Junxuan L. 2001)

Sin embargo, el papel quimiopreventivo del selenio requiere un aporte supranutricional del elemento, que no eleva los niveles de las selenoproteínas antioxidantes en los tejidos por encima de los que se dan cuando el nivel de selenio es adecuado, con la excepción de la tiorredoxina reductasa (Ganther. 1999).

- 2) Por el **estímulo del sistema inmunitario** que se produce como respuesta a niveles supranutricionales de selenio. Sin embargo, no existen suficientes evidencias para considerar que el mecanismo por el que el selenio detiene el avance de los tumores esté claramente relacionado con este efecto. Así el selenio podría prevenir el cáncer reaccionando con los agentes cancerígenos para evitar que éstos se unan al ADN originando mutaciones. (Cabañero Ortiz. 2005)
- 3) A través de *efectos sobre el ciclo celular*. En cultivos celulares, ciertos compuestos de selenio afectan de forma significativa a la viabilidad de las células, al ciclo celular, a la síntesis de proteínas y a la integridad del ADN (Ip C. 1998; Jiang, Zhu, Ganther y col. 2001). Por ello, algunos autores consideran que el selenio podría proteger al organismo frente a procesos cancerosos ya iniciados interfiriendo en el ciclo de células tumorales. Aunque los mecanismos moleculares por los que el selenio produce paradas del ciclo celular y apoptosis son desconocidos, se sabe que su actividad está relacionada con la selenoproteína P (que se expresa en la próstata) y con la selenoproteína de 15 kDa, que se encuentra en niveles muy bajos en enfermos afectados por cáncer de próstata. (Calvo, Xiao, Kang y col. 2002).
- 4) Por **inhibición de la proliferación celular**. El hecho de que el selenio actúe como anticancerígeno a dosis superiores a las requeridas para que la actividad de las selenoproteínas sea máxima, da pie a pensar que ciertos metabolitos del elemento puedan inhibir el crecimiento de las células

tumorales. Este es el caso de las yodotironinas de yodinasas, al ser reguladoras del metabolismo de la hormona tiroidea y, por tanto, afectar al crecimiento de células malignas. Sin embargo, sólo se ha demostrado el papel anticarcinogénico del selenio en determinadas dosis, empleándose como complemento en dietas de pacientes afectados por determinados tumores (próstata, pulmón, estómago, colon, hígado...)(Cabañero Ortiz. 2005).

Existen autores que han mostrado con una importante reducción en la regulación de la selenoproteína-P durante la evolución carcinogénica de la neoplasia prostática epitelial de bajo grado (Klein. 2004) Brooks y cols. (Brooks, Metter, Chan y col. 2002) observaron que el descenso del nivel de selenio en suero se asocia a cuatro a cinco veces el riesgo de cáncer de próstata.

Estudios realizados en enfermos con cáncer de cabeza y cuello inmunocomprometidos han evidenciado menores concentraciones de selenio plasmático que en sujetos sanos (Kiremidjian-Schumacher, Roy, Glickman y col. 2000) así como en pacientes con carcinoma de laringe (Rostkowska-Nadolska, Pośpiech y Bochnia. 1999). Se ha encontrado una asociación entre el estrés oxidativo y el descenso de concentración en pacientes con cáncer de mama (Huang, Sheu y Lin. 1999) igualmente en chicos con leucemia aguda (Pazirandeh, Assadi Nejad y Vossogh. 1999). Lo que no está claro es si el descenso de niveles de selenio es responsable de la enfermedad o un efecto secundario. Estudios prospectivos investigan la relación entre el efecto quimiopreventivo del selenio frente a la inhibición del crecimiento celular y la inducción de la apoptosis in vitro (Ghose, Fleming, El-Bayoumy y col. 2001). También se ha contemplado la posibilidad de que estos bajos niveles se deban a la malnutrición de estos pacientes (Alaejos, Díaz Romero y Díaz Romero. 2000).

6.6.2.- SELENIO Y ENFERMEDAD CARDÍACA

Diversos estudios han enfatizado una posible relación entre un insuficiente consumo de selenio y el infarto del miocardio y, aunque no existe una definición final, está demostrado que la ausencia de selenio en el organismo causa trastornos de consideración en las funciones hepática y muscular, con consecuencias nefastas para el corazón.

Se ha puesto de manifiesto la asociación entre un bajo nivel antioxidante y una mayor incidencia de enfermedades cardíacas (Gey. 1998). El estrés oxidativo provocado por los radicales libres producidos durante el metabolismo puede provocar alteraciones cardíacas. Por ejemplo, el poder oxidativo de las LDL induce la formación de placas de ateroma en las arterias; el selenio es uno de los antioxidantes que puede ayudar a poner límites a la acción de las LDL. Sin embargo es insuficiente recomendar un suplemento dietético con selenio para prevenir el riesgo coronario.

A pesar del teórico efecto beneficioso del selenio en relación con sus funciones antioxidantes, los estudios no muestran de manera inequívoca que la suplementación de la dieta con selenio conduzca a una disminución del riesgo de enfermedad cardiovascular. Varios estudios encuentran concentraciones de selenio significativamente inferiores en pacientes con cardiopatías de diversa etiología aunque, de nuevo, es difícil establecer si juegan un papel etiológico o son consecuencia de la enfermedad. (Alissa, Bahijri y Ferns. 2003; Yoshizawa, Ascherio, Morris y col. 2003)

6.6.3.- SELENIO Y ARTRITIS

Individuos con artritis reumatoide, tienen reducidos los niveles séricos de selenio (Köse, Doğan, Kardas y col. 1996). El sistema inmune puede crear radicales libres que dañen los tejidos, pero el selenio como antioxidante alivia los síntomas de la artritis mediante el control de los radicales libres (Aseth, Haugen y Førre. 1998)

6.6.4.- SELENIO Y REPRODUCCIÓN

El selenio es importante en la fertilidad masculina, siendo requerido para la biosíntesis de testosterona y la formación y normal desarrollo de los espermatozoides. Sin embargo, existen datos contradictorios respecto a la mejora de la movilidad espermática en los individuos con problemas de fertilidad tras una dieta suplementada con selenio (Driscoll y Copeland. 2003)

6.6.5.- SELENIO Y LAS INFECCIONES Y VIH

El déficit de selenio se ha relacionado con la aparición, virulencia o progresión de varias infecciones víricas. El selenio, potente inhibidor de la replicación del VIH in vitro (*Sappey, Legrand-Poels, Best-Belpomme y col. 1994*) parece ser un nutriente muy importante en individuos afectados por VIH (*Look, Rockstroh, Rao y col. 1997*). El selenio plasmático es un buen predictor de la progresión de la infección por VIH ya que su concentración disminuye de forma paralela a los linfocitos CD4 (*Rayman. 2000*).

La malabsorción puede interferir la incorporación de muchos nutrientes, incluido el selenio. La deficiencia de éste se asocia a la disminución del número de células inmunes y al aumento del riesgo de muerte en caso de HIV (*Singhal y Austin. 2002*) virus destruye el sistema inmune y los radicales libres contribuyen al daño, de una parte el selenio actúa como antioxidante. Puede ser que el virus necesite del selenio para su replicación, lo cual podría explicar los bajos niveles del metal en estos pacientes (*Patrick. 1999*).

6.6.6.- SELENIO Y TIROIDES

La deficiencia de selenio puede afectar la función tiroidea, de modo que la hormona tiroidea activa es sintetizada en presencia de la enzima tioredoxin reductasa, de la que el selenio es un constituyente esencial. Un adecuado nivel de selenio protege de los efectos neuronales que provoca una deficiencia en la hormona tiroidea (*Kucharzewski, Braziewicz, Majewska y col. 2002*).

6.6.7.- SELENIO Y OTRAS PATOLOGÍAS

Patologías como la pancreatitis crónica o la cirrosis, en enfermedad celiaca, se ven agravadas por la deficiencia en selenio, siendo aconsejable la suplementación dietética (*Scolapio, Raimondo, Woodward y col. 2004*).

Un estudio controlado encuentra disminución de la mortalidad en pacientes con pancreatitis agudas necrotizantes que reciben suplementos de selenio (*Kuklinsky y Schwder. 1999*).

Un estudio nutricional de casos y controles realizado en nuestro país en el que se comparan individuos sanos con asmáticos no encuentra relación entre el asma y la ingesta ni la concentración de selenio. (*Picado, Deulofeu, Lleonart y col. 2001*).

6.7.- EL SELENIO EN EL PACIENTE CRÍTICO

Durante los estados de hipercatabolismo, se asiste a una redistribución del Selenio entre los compartimentos extracelular e intracelular con desvío intracelular del Selenio. Ambos fenómenos y en particular el mecanismo de redistribución o traslocación intracelular explican el descenso de los niveles plasmáticos de Selenio y de la actividad GPx-3, características distintivas en los estados de SRIS-DOM (*Zachara, Salak, Koterska y col. 2004*). Estos eventos conducen a un estado de deficiencia del estado nutricional de Selenio endógeno, el que no es posible replecionar con el aporte de Selenio habitualmente utilizado en el soporte nutricional enteral o parenteral estándar, el que no supera los 50-100 µg/día (*Manzanares Castro. 2007*).

Hay una amplia variabilidad en cuanto a los requerimientos diarios de Selenio América y Europa sugieren que una dosis diaria de 80-100 µg/día La recomendación diaria actual dada por el “*US National Research Council*” Más recientemente, la “*US Food and Nutrition Board*” ha sugerido un aporte diario basal de 55 µg/día (*Rayman. 2000*).

Los hallazgos expuestos en un estudio realizado por W Manzanares permiten afirmar que la SelPP con relación a la GPx, es un mejor indicador del estatus nutricional de Selenio, puesto que la máxima expresión de la actividad SePP requiere una dosis diaria de Selenio mayor a la necesaria para optimizar la actividad GPx. Por lo en la actualidad es posible afirmar que la SelPP es el “*gold standard*” para evaluar el estatus de Selenio.

Durante la enfermedad crítica se asiste a una depleción de la SelPP, siendo éste un hallazgo secundario a la regulación negativa por mediadores inflamatorios tales como las

citoquinas proinflamatorias Factor de Necrosis Tumoral α (FNT- α), Interleuquina 1 β (IL-1 β) e Interferón (Geoghegan, McAuley, Eaton y col. 2006; Angstwurm y Gaertner. 2006).

Estudios recientes permiten afirmar que existe una directa relación entre el estrés oxidativo y la inducción de genes responsables de la respuesta proinflamatoria sistémica, incluyendo los genes del Factor de Necrosis Tumoral α (TNF α), Interleuquina 1 (IL-1), IL-6 e IL-8 y la NO sintasa entre otros, los que son activados por el Factor de Transcripción Nuclear- κ B (NF- κ B). (Manzanares. 2007).

El selenio y las Vitaminas E y C son capaces de modular la activación del NF- κ B, induciendo una inhibición del mismo y limitando de este modo la respuesta inflamatoria. (Crimi, Sica, Williams-Ignarro y col. 2006; Roth, Manhart y Wessner. 2004), el Selenio a niveles fisiológicos es capaz de inhibir la activación de la transcripción del NF- κ B; por su parte la reducción de Selenio en el medio de cultivo induce la síntesis hepática de Proteína C reactiva (PCR) durante la respuesta de fase aguda inducida por el TNF α .

El estrés oxidativo se define por la concomitancia de dos fenómenos:

- Disminución de los AOX endógenos.
- Agresión sistémica mediada por las EAO.

1) En el año 2002 Alonso Vega, Díaz, Serrano y colaboradores, demostraron en 20 pacientes admitidos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) con criterios diagnósticos de SRIS que los mismos presentaban mayor estrés oxidativo con relación a los pacientes sin SRIS (n = 48). Asimismo, este grupo fue capaz de demostrar que en los pacientes que no sobreviven a la enfermedad crítica el stress oxidativo, la puntuación del score APACHE II y los niveles plasmáticos de marcadores de actividad leucocitaria fueron significativamente mayores en relación al grupo de supervivientes.

2) En el año 2003, Motoyama T, Okamoto K, Kukita y colaboradores, demostraron que el estrés oxidativo juega un rol capital en el desarrollo de la DOM secundaria en aquellos pacientes con SRIS persistente. Los pacientes críticos con SRIS exhiben un descenso en los

niveles séricos de Se, así como una disminución en la actividad de las selenoenzimas GPx y SePP.

3) Estos hallazgos referentes a la depleción de Selenio en la respuesta de fase aguda también han sido encontrados en diferentes grupos de pacientes críticos. En 1990 Hawker, Stewart y Snitch (1990) constataron en pacientes críticos un descenso del 40 al 60% en los niveles de selenio plasmático.

4) En 1996, Berger, Cavadini, Chiolero (1996) evaluaron los niveles de selenio en 11 traumatizados críticos las pérdidas renales asociada a un descenso del Selenio plasmático hasta el día 7 post-injuria con persistencia del balance negativo a pesar de la suplementación precoz de Selenio parenteral.

5) En 1998 el grupo francés de Forceville & Vitoux D (1998), en 134 pacientes críticos con un aporte diario de 40 mg/L encontró un descenso del 40% en los niveles de selenio sérico. Este hecho estuvo asociado a una mayor frecuencia de neumonía asociada a ventilación mecánica, desarrollo de fallo multiorganico y mortalidad. La concentración sérica de selenio al ingreso a la UCI era en valores promedios de $0,68 \pm 0,23 \mu\text{mol/L}$, significativamente menor con relación a los controles normales. El grado de esta deficiencia se correlacionó con la severidad del SRIS. Los niveles séricos de selenio fueron correlacionados en forma inversa con la mortalidad estableciéndose que cuando el nivel de selenio sérico era inferior a $0,70 \mu\text{mol/L}$ ($n = 78$) la mortalidad era tres veces mayor en relación a un valor mayor ($> 0,70 \mu\text{mol/L}$, $n = 58$). Asimismo, en el grupo de pacientes con SRIS los niveles de selenio permanecían bajos tras dos semanas de suplementación parenteral.

6) En los pacientes con fallo renal crónico existe una depleción del estatus nutricional de Selenio, (Manzanares, 2006) que se traduce por un descenso de los niveles plasmáticos así como por una disminución de la síntesis de GPx en las células epiteliales de los túbulos proximales. Se evaluaron 16 pacientes críticos con SRIS ($n = 8$) y SIRS-DOM ($n = 8$) con score APACHE II promedio de 17, en los cuales se encontró un descenso significativo en los niveles séricos de Selenio y GPx (Selenemia: 63,25 y 59,88 $\mu\text{g/L}$; GPx 0,47 y 0,23 U/mL, respectivamente en ambos grupos); el Selenio sérico en el grupo sano fue $79,55 \pm 8,69 \mu\text{g/L}$ y la actividad GP x $0,72 \pm 0,18 \text{ U/mL}$, existiendo valores menores significativos en ambos parámetros en la población crítica respecto a los sanos ($p = 0,001$).

6.7.1.- EVIDENCIA ACTUAL SOBRE LA SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO EN PACIENTES CRÍTICOS

Se puede afirmar que el daño oxidativo durante la enfermedad crítica puede ser modulado mediante una estrategia adecuada en el soporte nutricional utilizando micronutrientes antioxidantes. Sin embargo, estos micronutrientes antioxidantes deberían ser administrados de manera precoz con la finalidad de preservar la función celular. Por ejemplo, la suplementación de selenio por vía intravenosa está asociada a mejores resultados con una probable reducción de la mortalidad en la UCI.

Sin embargo, hay interrogantes tales como la dosis óptima de éste elemento y la duración de administración. Hasta el momento se han realizado diversos estudios clínicos utilizando diferentes dosis de selenio dado el amplio margen de seguridad en la administración de Selenio. Existe ausencia de parámetros clínicos de toxicidad por selenio al utilizar dosis inferiores a 1.000 mg/día durante un período de tiempo menor a 20 días.

1) En 1998, Berger y cols (1998), publicaron los resultados de su estudio sobre los efectos de la reposición de una dieta enriquecida en elementos traza con relación a una dieta *standard* de micronutrientes en población de pacientes quemados graves. El “*end point*” del estudio fue la incidencia de infección pulmonar. El número de infecciones se redujo desde 3.1 en el grupo control con dieta *standard* en selenio, frente a 1.9 en el grupo con dieta suplementada con altas dosis de minerales antioxidantes como selenio, cobre y cinc.

2) Angstwurm y cols, en 1999 (1999) llevaron a cabo un estudio con el fin de determinar el efecto de la suplementación de selenio en la morbilidad y la mortalidad en pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS). Se incluyeron 42 pacientes con SIRS y sepsis, y APACHE II mínimo de 15. Los pacientes recibieron una suplementación (n = 21) de selenito de sodio durante 9 días: 535 µg durante 3 días, 285 µg durante 3 días siguientes, y 155 µg durante los últimos 3 días, y a partir de entonces, 35 µg/día por vía intravenosa, mientras que el grupo de control (n = 21) recibió 35 µg/día por vía intravenosa durante todo el período de tratamiento. Se tomaron muestras de sangre los días 0, 3, 7, y 14

en las que se analizaron las concentraciones séricas de selenio y de glutatión peroxidasa (GSH-Px).

La puntuación media del APACHE II al ingreso, la edad, el sexo, la presencia de enfermedades subyacentes, los niveles séricos de selenio, y las actividades de GSH-Px al ingreso fueron idénticas en ambos grupos. En el grupo de pacientes con suplementación más elevada, los niveles séricos de selenio y la actividad enzimática se mantuvo normalizada en los 3 primeros días tras el ingreso, mientras que en los controles, ambas variables permanecieron significativamente menores. La puntuación APACHE II disminuyó significativamente en ambos grupos, pero fue significativamente menor en el grupo con mayor suplementación de selenio. La necesidad de hemodiálisis fue superior en los pacientes con suplementación constante de 35 µg Se/día, concretamente, de 9 frente a 3, y la mortalidad fue del 33,5 % en el grupo más suplementado, mientras que la mortalidad del grupo que recibió 35 µg/día fue del 52 %.

3) En el mismo año, Porter, y cols. (1999) estudiaron en un grupo de 18 pacientes críticos, dos grupos pacientes con infección nosocomial; el grupo 1 o "antioxidante" (n = 9) que recibía Selenio (200 µg/d) asociado a Vitamina C (300 mg/d), Vitamina E (1.200 UI/d) y N-acetilcisteína (32 g/d); y el grupo 2 (n = 9) que recibía placebo.

El número de complicaciones infecciosas en el grupo 1 fue de 5, en el grupo 2 se registraron 18 complicaciones infecciosas. Por su parte, la estadía en la UCI fue de 49 días en el grupo control, mientras que en el grupo suplementado fue de 31 días.

4) Valenta, Brodska, Drabek y col (2011) estudiaron a 60 pacientes críticos (control, n = 35), con un aporte diario: 30-60 µg de Selenio y grupo terapéutico, n = 25 suplementados con Selenito de sodio, 1.000 µg carga y 500 µg/día durante 14 días). Al finalizar el período de observación el grupo terapéutico evidenciaba un aumento significativo de los niveles plasmáticos de Selenio y GPx y de la Presión Arterial Media > 70 mmHg.

5) Un estudio multicéntrico alemán SIC (Angstwurm, Gaertner, Schopohl. 2005) incluyó a 238 pacientes con sepsis severa / shock séptico y APACHE III > 70 . En el grupo terapéutico se administró 1.000 µg de selenio y posterior perfusión de 1.000 µg/d durante 14 días, observándose una reducción significativa de la mortalidad a los 28 días del 14,3% con relación

al grupo control, siendo mayor el descenso de la mortalidad en los pacientes con shock séptico y Coagulación Intravascular Diseminada (CID), así como en los pacientes con más puntuación del score APACHE III. El selenito de sodio a altas dosis fue seguro y poco costoso.

6) Mishra, Baines y cols (2007) evaluaron los efectos de la administración de Selenio sobre los parámetros de estrés oxidativo y la mortalidad en una población de pacientes sépticos con APACHE II > 15 (grupo terapéutico, n = 18); 6,4 y 2 $\mu\text{mol}/\text{día}$ vs dosis estándar de 0,4 $\mu\text{mol}/\text{día}$ (grupo control, n = 22). Los niveles de Selenio y GPx sérica aumentaron significativamente el día 3 y 7 en el grupo terapéutico.

7) Manzanares, Biestro, Galusso y col. (2009) evaluaron 36 pacientes ingresados en UCI, los cuales fueron divididos en 3 grupos, además se constituyó un primer grupo compuesto por 23 personas sanas, y en los otros tres grupos se incluyeron pacientes en función de la ausencia/presencia de SIRS, y un tercer grupo con presencia de SIRS y MOD con un APACHE >15, realizándose un seguimiento de los pacientes a lo largo de la estancia en UCI.

A todos los sujetos se les determinó la actividad de GP_{x-3} y niveles de selenio plasmático, observando que en los pacientes con SIRS y MODS, la GP_{x-3} y selenio plasmático disminuían de un modo significativo, pudiendo ser parámetros predictivos de la aparición de SIRS, ya que se observó una sensibilidad del 90% y una especificidad del 86,2 % en el caso de la GP_{x-3} , y una sensibilidad del 90% y una especificidad del 72,4% para las concentraciones de selenio, pudiendo ser este último un parámetro predictivo de la mortalidad en UCI. En este estudio se concluyó que el SIRS y MODS están asociados con una disminución temprana de los niveles de selenio en plasma y actividad de GP_{x-3} . De modo que unos niveles bajos de selenio y GPx en el momento de ingreso en UCI pueden ser valores predictivos del desarrollo de SIRS, además de una herramienta útil para la selección de pacientes que podrían beneficiarse de la suplementación de selenio.

8) En 2010 este mismo autor (Manzanares, Biestro, Galusso y col. 2010) dió un paso más en este campo, y realizó un estudio piloto con 20 pacientes con SIRS sobre los que realizó una intervención nutricional comparando dos grupos que recibieron suplementación de selenio con el fin de determinar la farmacocinética y farmacodinámica del selenio así como estimar la dosis, para alcanzar el nivel óptimo de selenio.

El grupo HD "High Dose" (n = 10, edad media 54 ± 23), recibió un bolo inicial de 1200 μg , seguidos de una infusión continua de 800 $\mu\text{g}/\text{d}$, el otro grupo VHD "Very High Dose" (n = 10, edad: 41 ± 19) recibió una primera dosis de 2000 μg , seguidos de una infusión continua de 1600 $\mu\text{g}/\text{d}$. Además, la puntuación APACHE II y SOFA para el grupo HD fue de 23 ± 5 y 10 ± 2 respectivamente, y para el grupo VHD fue de 21 ± 7 y 8 ± 3 , respectivamente.

Solo se observó la actividad máxima de GPx en el grupo VHD, produciéndose una disminución de los niveles de GPx después del séptimo día de estancia en UCI independientemente de la dosis de selenio administrada.

Tras la determinación de la farmacocinética y farmacodinámica en ambos grupos, expuestos a diferentes dosis de selenio administradas por vía parenteral en pacientes con SIRS, se observó que el grupo VHD tras 10 días de suplementación, se obtuvo una mayor normalización de los niveles de selenio, una normalización de los niveles de actividad de GPx desde el día 2 hasta el día 7, pero sin incremento de efectos adversos para el paciente o mortalidad.

9) Se realizó otro estudio es el que se evaluaron los efectos de la suplementación con altas dosis de selenio y selenito sódico en pacientes con shock séptico, (Forceville. 2007) en el que los pacientes recibían durante 10 días una suplementación de selenio de 4000 μg el primer día, seguidos de 1000 $\mu\text{g}/\text{d}$ durante los 9 días siguientes, o bien recibían un placebo por infusión continua. Finalmente se incluyeron 60 pacientes, 29 pertenecientes al grupo con placebo y 31 a grupo con suplementos de selenio.

Al finalizar el estudio no se obtuvieron muestras de que las dosis administradas pudieran ser tóxicas para los pacientes, pero tampoco se apreció una relación entre el grupo suplementado con selenio y una mejoría en la evolución de su estancia en UCI, ni con una disminución de la mortalidad.

10) Berger, Spertini, Shenkin y cols. en 1998, realizaron una intervención nutricional en 20 pacientes con más del 30% de su cuerpo con quemaduras, a los cuales les proporcionó una suplementación intravenosa que contenía 40,4 μmol de cobre, 159 μg de selenio, 406 μmol de cinc, en comparación con otro grupo que recibió una solución estándar (grupo control) con 20

μmol de cobre, 32 μg de selenio y 100 μmol de cinc durante 8 días, con un seguimiento 30 días después de la suplementación.

Tras el análisis de los resultados la media de cobre en plasma y las concentraciones de cinc fueron inferiores a lo normal hasta el día 20 y 15 respectivamente, en el caso del selenio, los niveles plasmáticos se mantuvieron constantes en el grupo suplementado, pero disminuyó en el caso del grupo que recibió la solución estándar.

El número de infecciones en los pacientes fue significativamente menor en el grupo suplementado que el grupo control. De modo que la suplementación temprana de elementos traza parece ser beneficiosa en presencia de quemaduras graves, debido a la disminución de infecciones respiratorias, así como una disminución en la estancia hospitalaria.

11) Berger, Recmond, Shenkin y cols., tres años después, en 2001 (*Shenkin y col. 2001*) realizaron una intervención nutricional en un grupo de 32 pacientes críticos politraumatizados divididos en dos grupos, a unos de ellos se les realizó una intervención nutricional intravenosa con 500 $\mu\text{g}/\text{d}$ de selenio frente a otro grupo con placebo. El grupo suplementado a su vez fue subdividido entre los pacientes que únicamente recibieron 500 $\mu\text{g}/\text{d}$ de selenio, y otros pacientes que recibieron 500 $\mu\text{g}/\text{d}$ de selenio + 150 mg/d de α -tocoferol + 13 mg de cinc. Todos los grupos fueron alimentados con nutrición enteral.

Tras el análisis de los resultados se concluyó que la suplementación de selenio aumenta los niveles de selenio circulante. Además, se vio una ligera asociación entre la suplementación y los cambios en las hormonas tiroideas, con una normalización de los niveles de T4 y T3 inversa. Sin embargo, la suplementación de cinc no produjo ningún cambio adicional.

12) Este mismo autor en 2006, (*Berger. 2006*) realizó una nueva intervención nutricional sobre 21 pacientes con quemaduras en el $45 \pm 21\%$ de la superficie corporal con el fin de investigar los efectos de los elementos traza a grandes dosis por vía intravenosa y sus efectos en la circulación, su concentración en los tejidos cutáneos y el resultado clínico después de quemaduras graves. Los pacientes recibieron por vía intravenosa una solución que contenía

cobre, selenio y cinc (grupo suplementado) o solución salina (grupo control) durante 14 – 21 días, recogiendo muestras de orina diariamente, y muestras de piel los días 3, 10 y 20.

Tras el análisis de los resultados se observó que las concentraciones plasmáticas en el grupo suplementado de elementos traza fueron significativamente superiores con respecto al grupo no suplementado, además en las zonas quemadas, el contenido en selenio y cinc aumentaron de un modo significativo el día 20, mejorando el estado antioxidante del tejido.

El número de infecciones en los 30 días de seguimiento fue significativamente menor en el grupo suplementado, con una media de 2 frente a 4 en el grupo control, y una mejor cicatrización de las heridas en el grupo que recibió el suplemento de elementos traza.

13) Porter JM, Ivatury RR, Azimuddin K y cols 1999 (*Porter, Ivatury, Azimuddin y col. 1999*) en 18 pacientes con traumatismos y quirúrgicos ingresados en UCI realizaron una suplementación intravenosa de 50 µg de selenio + 400 IU de Vitamina E + 100 mg de Vitamina C + 8 g de N-acetilcisteína durante 7 días.

En comparación con los controles, el grupo de los antioxidantes mostraron menos complicaciones infecciosas (8 frente a 18) y menos órganos disfuncionales (0 frente a 9) aunque no se produjeron muertes en ninguno de los dos grupos. Tras la finalización del estudio se llegó a la conclusión de que estos datos podían apoyar la hipótesis de que el uso de mezclas de antioxidantes podría disminuir la incidencia del síndrome de fallo multiorgánico y de las complicaciones infecciosas en los pacientes críticos.

14) Kuklinski, Buchner, Schweder y cols en 1991, realizaron una suplementación intravenosa con 500 µg de selenio (selenito sódico) vs suplementación estándar en 17 pacientes críticos con necrosis pancreática. La necrosis pancreática se considera una enfermedad de elevado estrés oxidativo, empleando para la determinación del estrés el marcador bioquímico malónico dialdehído (MDA), observándose unas concentraciones inversamente correlacionadas entre de los niveles de este con los niveles séricos de calcio durante la enfermedad, siendo además indicador de pronóstico.

En este estudio la mortalidad en el grupo control (no suplementado) fue del 89 %, mientras que ningún paciente falleció en el grupo con suplementación. A las 24 horas de la suplementación de selenio en los pacientes, se observó una normalización de los niveles de calcio junto con una disminución de los valores de MDA, concluyendo que, esta suplementación de selenio aumentó los niveles de la peroxidasa fosfolípido hidroperóxido glutatión, induciendo de este modo la protección de la peroxidación de los ácidos grasos de membrana debido a la inhibición de la actividad de la fosfolipasa A2 y la interrupción del ácido araquidónico.

15) Zimmerman, Albrecht, Khne y cols. en 1997, suplementaron con 40 pacientes de los cuales 20, fueron suplementados con 1000 µg de selenito sódico en perfusión continua a pacientes críticos en presencia de SIRS y fallo multiorgánico durante 28 días en comparación con otro grupo que recibió un suplemento estándar. Se emplearon como parámetros clínicos el APACHE II y el MOF – Score de Goris. Obteniendo como resultado tras los 28 días de seguimiento una reducción de la letalidad del 15 al 40 %

16) Valenta J, Brodska H, Drabek T y cols. (2011), llevaron a cabo una investigación con el fin de demostrar que dosis elevadas de suplementación de selenio puede actuar a nivel de la inflamación, nutrición y defensa antioxidantes y disminuir la mortalidad.

Se incluyeron a 150 pacientes con SRIS / sepsis y un SOFA de > 5. Los pacientes en el grupo suplementado con selenio (n = 75) recibió selenio durante 14 días (1.000 mg en el día de 1.500 mg / día los días 2-14), y los pacientes del grupo control (n = 75) recibió una dosis estándar de Se (<75 mg / día). El selenio en plasma, la actividad de la enzima glutatión peroxidasa (GPx), la proteína C reactiva (PCR), la procalcitonina (PCT), los niveles de albúmina, prealbúmina y colesterol, junto con APACHE II y SOFA, se determinaron al inicio y los días 1 - 7 y 14 días y se evaluó la mortalidad a los 28 días.

De modo tal modo que, la suplementación con altas dosis de selenio en los pacientes con SRIS / sepsis aumento los niveles de selenio plasmáticos y niveles de actividad de GPx, pero no la mortalidad. Sin embargo, los marcadores de inflamación se redujeron de forma similar en ambos grupos

17) En el año 2011, se publica en la revista *Critical Care Medicine* se publica un artículo en el que estudia el efecto de una baja concentración de selenio plasmático sobre el estatus redox en los pacientes críticos (Bar-Or y Garrett. 2011). Como sabemos, el selenio es un elemento traza “redox-activo” en la biología humana. Presenta una gran importancia en la salud del hombre y participa en la función tiroidea, en la defensa antioxidante y en la función inmune (Brown y Arthur. 2001)

El Se sustituye al sulfuro en la cisteína para formar la seleno cisteína. De manera interesante, existe un tRNA específico para la selenoproteína, y la selenocisteína se reconoce como el aminoácido 21 (Stadtman, 1987; Stadtman. 1996). Se conocen cerca de 25 selenoproteínas y están codificadas por genes principalmente envueltos en reacciones redox (Kryukov, Castellano, Novoselov y col. 2003). La selenocisteína es normalmente incorporada en el centro activo de estas selenoproteínas.

La selenoproteína P es la principal selenoproteína del plasma que contiene diez selenocisteínas por proteína y aporta el 53% de la concentración total de Se en plasma. La glutatión peroxidasa y la albúmina cuentan con aproximadamente el 39% y el 9% del Se plasmático, respectivamente.

La disfunción endotelial observada en situación de sepsis, trauma y enfermedad crítica parece derivarse principalmente de la acción de las especies reactivas de oxígeno generadas durante los procesos de isquemia/reperfusión. El pH ácido local inducido por la isquemia favorece la unión de la selenoproteína P al endotelio activado, al parecer para proteger al endotelio del daño oxidativo (Brigelius-Flohe, Banning y Schnurr. 2003). Esta unión de la selenoproteína P al endotelio puede explicar la disminución en los niveles de Se en plasma observados en esas condiciones, y parece ser consecuencia del estrés oxidativo, más que una causa. En éste trabajo de *Critical Care Medicine*, Stoppe y col. (Stoppe, Schälte, Rossaint y col. 2011) describen un descenso intraoperatorio en el Se plasmático total en pacientes con bypass cardio pulmonar, como predictor independiente de disfunción multiorgánica y de tiempo de estancia en UCI, indicando que la suplementación con Se podría ser beneficiosa. Aunque, como ellos sugieren, la concentración de selenio total en plasma puede ser un biomarcador de la severidad de la enfermedad, hasta la fecha los estudios clínicos basados en la sobresuplementación con Se en pacientes sanos no demuestran resultados clínicos claramente beneficiosos (Hawkes y Laslett. 2009). Aunque la suplementación nutricional con Se incrementa la

capacidad antioxidante en pacientes con enfermedad arterio-coronaria, SIRS y sepsis, la mayoría de los estudios clínicos controlados no confirman dichos beneficios mediante la suplementación antioxidante a pesar de los buenos resultados asumidos con la terapia antioxidante. Los suplementos antioxidantes pueden no aumentar el estado redox intracelular, y esto puede ser significativamente más importante que afecte al estatus oxidativo extracelular. Quizás cualquier suplemento se entregue con una señal a nrf2 para promocionar la síntesis de enzimas antioxidantes intracelulares, o quizás el beneficio de la suplementación en grupos vulnerables no está claro por la falta de sistema establecido para medir que estratificara el estudio cohorte basado en el estatus antioxidante inmediato y más importante, la capacidad reductora de reserva. Esto apunta la posibilidad de que las bajas concentraciones de Se en plasma observadas en estas condiciones pueden no ser la causa, pero sí un reflejo del daño en la barrera endotelial vascular, que consecuentemente deriva en una fuga vascular y en fallo multiorgánico.

Una medida real del estrés oxidativo podría ser la determinación de compuestos antioxidantes y pro-oxidantes en plasma y calcular el balance neto. Un balance positivo podría indicar estrés oxidativo, mientras que un balance negativo podría indicar estrés reductor (un balance ligeramente negativo a favor de los reductantes se encuentra en situaciones de salud). Alternativamente, la medida directa del potencial de oxidación-reducción (en mv) en plasma o tejidos con un electrodo podría ser un valor integrado del balance entre oxidantes y reductantes y reflejar el verdadero estado de oxidación/reducción (como opuesto a las medidas individuales de actividad enzimática o compuesto). Esto podría ser un punto final ideal para asesorar del estatus de estrés oxidativo.

Las glutatión peroxidasas son principalmente enzimas antioxidantes intracelulares. Requieren de glutatión para ejercer su acción, el cual es abundante en las células (mM) y está en mucho menor medida en plasma (μM). Por tanto, es concebible que la actividad de la glutatión peroxidasa en plasma es menos importante que otros mecanismos antioxidantes. Stoppe et al. (Stoppe, Schälte, Rossaint y col. 2011) no demostró un cambio en la actividad de la GPx en plasma en estas condiciones, tal como se esperaba.

Queda por ver si la ingesta nutricional normal de Se (sobre 40-55 $\mu\text{g}/\text{dia}$) podría aportar algún beneficio clínico a los pacientes críticos y si la captación de la selenoproteína P

por el endotelio y la hipoalbuminemia explican el bajo nivel de Se plasmático encontrado en estos pacientes.

6.7.2.- ANÁLISIS DE LAS RECOMENDACIONES ACTUALES SOBRE SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO DURANTE LA ENFERMEDAD CRÍTICA

1) Berger MM, Spertini F, Shenkin A y colaboradores en el año 2001, (Berger, Spertini, Shenkin y col. 1998) Sugirieron un aporte de Selenio de 100 µg/día en pacientes críticos, pacientes grandes quemados debería ser superior (375 µg/día).

2) En el año 2003, las Guías Canadienses (Heyland, Dhaliwal, Drover y col. 2003) sobre soporte nutricional en pacientes críticos en ventilación mecánica destacaron la ausencia de evidencia suficiente para recomendar el uso intravenoso de Selenio solo o asociado a otros antioxidantes.

3) Posteriormente, en el año 2005, el mismo grupo canadiense de Dhaliwal & Heyland mantienen la misma recomendación de selenio (Heyland y Dhaliwal. 2005).

4) En el año 2004, Heyland, Dhaliwal, Suchner y cols. (Heyland, Dhaliwal, Suchner y col. 2005). Realizaron un meta-análisis que incluyó un total de 11 estudios, n = 886, con estrictos criterios de inclusión. El número de pacientes en los estudios incluidos en éste meta-análisis fue pequeño, a excepción del trabajo de Nathens y cols. (n = 595) (Nathens, Neff, Jurkovich y col. 2002)

El grupo de pacientes incluidos fue heterogéneo comprendiendo entidades clínicas diversas tales como pancreatitis, quemados graves, neuroinjuria, y otros cuadros de SRIS. El análisis crítico de los resultados de éste meta-análisis permite concluir que la administración de AOX por vía parenteral se asocia a una reducción significativa de la mortalidad. La suplementación con Selenio, solo o en combinación con otros AOX puede asociarse a una reducción no significativa de la mortalidad.

Berger en 2006 (Berger. 2006) repasa sus tres últimos estudios clínicos sobre suplementación con selenio, cobre y zinc vs placebo en pacientes críticos. En estos estudios,

las dosis de selenio utilizadas han aumentado desde 300 a 450 µg/d en las tres etapas, incrementando los días de suplementación de 8 a 14 días.

Las Guías de la ASPEN del año 2001, (*Fuhrman, Winkler y Biesemeier. 2001*) en pacientes quemados críticos adultos establecen que no está definido el uso de rutina de nutrientes antioxidantes, siendo ésta una recomendación grado B. Pacientes quemados críticos un aporte de una dosis diaria mayor de selenio, cobre y cinc en relación a la dosis estándar de estos tres micronutrientes.

Años más tarde, en 2009 se menciona como terapia coadyudante en nutrición artificial el empleo de una combinación de vitaminas antioxidantes y minerales, destacando entre estos el selenio en el soporte nutricional en pacientes críticos que reciben una terapia nutricional (grado B)

En las *ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition in Intensive Care* de 2009, (*Singer, Berger, Van den Berghe y col. 2009*) se hace referencia a los criterios a seguir en la administración de vitaminas y elementos traza mediante soporte nutricional parenteral en enfermo crítico, del modo en el que se indica a continuación:

Incluir *un amplio rango de vitaminas y minerales* como parte integral del soporte nutricional, ya que muchos elementos traza y vitaminas son componentes esenciales en la defensa antioxidante.

La mayoría de las preparaciones comerciales actuales que contienen elementos traza fueron desarrolladas en los años 70 y 80 a partir de las recomendaciones establecidas por la *American Medical Association* en 1979.

Estas soluciones deben de ser equilibradas, ya que pueden ser administradas a los pacientes durante largos periodos de tiempo, tal y como se demostró en un estudio en el que se realizaron análisis de contenido mineral de hierro, cinc, cobre, manganeso y selenio en diversos tejidos de 8 enfermos que habían sido alimentados con nutrición parenteral durante una estancia prolongada (*Howard, Ashley, Lyon y col. 2007*).

Los resultados mostraron valores normales de los pacientes que recibieron nutrición parenteral domiciliaria para el hierro y el selenio, elevación de los niveles de zinc, y de cobre, manganeso y cromo. Las implicaciones de estos resultados para los suplementos de oligoelementos a largo plazo en pacientes alimentados con nuyricion enteral son discutibles aunque la necesidad de la reformulación elementos traza de los productos disponibles mercado es enecesaria.

Por otro lado, la población Europea y de algunas zonas de Australia es propensa a presentar niveles plasmáticos bajos de selenio debido al bajo contenido de selenio en el suelo en estas regiones, y la presencia de una enfermedad aguda expondría además al paciente a un mayor aumento de estrés oxidativo, tal y como se demostró en un estudio realizado en roedores deficientes en selenio lesionados por quemadura (Agay, Sandre, Ducros y col. 2005).

Los pacientes críticos se caracterizan por poseer un estrés oxidativo proporcional a la gravedad de la enfermedad, siendo muy difícil corregir la deficiencia en selenio. Sin embargo, en un estudio publicado en 2006 por Abilés J, de la Cruz AP, Castaño J y colaboradores (Abilés, de la Cruz, Castaño y col. 2006), realizaron un seguimiento y valoración de la capacidad antioxidante de los pacientes a lo largo de 7 días de estancia en UCI, observando un aumento significativo de la peróxidación lipídica y de los grupo carbonilo, asociados con una disminución de la capacidad antioxidante y un mayor deterioro en la puntuación de la evaluación de fracaso de órganos, siendo significativamente mayor deterioro en los parámetros de estrés oxidativo en los pacientes que recibieron vitaminas antioxidantes por debajo de 66% de la RDA que en aquellos que recibieron vitaminas antioxidantes por encima del 66% de la RDA. Una ingesta de vitaminas antioxidantes del 66% al 100% del RDA redujo el riesgo de empeoramiento de estrés oxidativo en un 94% independientemente de la evolución del paciente.

Las consecuencias de una dieta deficiente en elementos traza no son fácilmente detectables, ya que el cuadro clínico requiere de un tiempo mínimo, que siempre es prolongado, para desarrollarse. Aunque las alteraciones bioquímicas son detectables a los 3 – 5 días, el síndrome de deficiencia biológica se produce aún así antes, lo que se demuestra con signos clínicos de estas deficiencias (de Berranger, Colinet, Michaud y col. 2006).

Por otro lado, cuando se presenta una variación de peso importante, debe de considerarse una adaptación de la dosis diaria de elementos traza. En concreto, para el caso de los pacientes críticos, estos requerimientos suelen estar aumentados, especialmente en el caso de minerales como el selenio (tabla 26).

Cuando la nutrición parenteral es prolongada y el paciente permanece en estado crítico, la determinación rutinaria de las concentraciones plasmáticas, permite la detección de deficiencias graves, pudiendo corregir cada oligoelemento de manera individual. Las deficiencias de selenio y cinc son las consideradas de mayor riesgo.

Tabla 26.- Variación de los requerimientos en micronutrientes en paciente crítico

Elementos traza	Rango de presentación en preparaciones comerciales (µg)	Requerimientos modificados en paciente crítico
Selenio	20 - 70	↑
Cobre	0,48 - 1,27	↓
Flúor	0,57 - 1,45	—
Hierro	1 - 1,95	↓ —
Yodo	10 - 130	↓
Manganeso	0,2 - 0,55	↓
Cinc	3,27 - 10	↑

Varios ensayos aleatorios han puesto a prueba la suplementación de selenio en base a la hipótesis de que la sepsis puede ser modulada por dosis de selenio entre de 350 y 4000 µg/día (Berger y Shenkin. 2007; Berger y Chioléro. 2007).

Sin embargo, los beneficios fueron evidentes en ensayos clínicos realizados mediante administración de dosis entre 350 - 1000 µg/día mediante bolo al inicio seguido por una infusión continuada. Hay que destacar que la situación tóxica de exceso de selenio en sangre, denominada *selenosis* se puede llegar a observar en poblaciones consideradas “sanas” con ingesta crónica mayor de 750 µg/día. Por lo tanto, podemos afirmar que las dosis entre 750 - 1000 µg/día no deberían de ser administradas a los pacientes críticos durante periodos de tiempo superiores a dos semanas (Berger y Shenkin. 2007).

6.7.3.- SUPLEMENTACIÓN CON MICRONUTRIENTES EN TERAPIA NUTRICIONAL

El término *micronutriente* engloba a las vitaminas y elementos traza. Por su lado, las vitaminas son sustancias orgánicas que no son sintetizadas por el organismo, son necesarias para el metabolismo normal y por lo tanto deben de aportarse a través de la dieta. Se dividen en solubles en agua o solubles en grasa, y en función de si poseen o no función coenzimática. Por otro lado, los elementos traza son los metales presentes en cantidades muy pequeñas en el organismo, son esenciales para las funciones metabólicas normales, y, o son cofactores de enzimas, o forman parte integrante de la estructura de enzimas específicas.

Existen deficiencias frecuentes de ciertos micronutrientes en el paciente crítico, especialmente las vitaminas A, B y C. Estas deficiencias pueden ser debidas a una inadecuada o insuficiente administración de micronutrientes durante la estancia hospitalaria, bien por aumento de las necesidades corporales o por un aumento de las pérdidas.

Las deficiencias de estos micronutrientes cabe esperar que afecten perjudicialmente a varios procesos bioquímicos y funciones enzimáticas, lo que llevaría a la disfunción de órganos, debilidad muscular, mala cicatrización de heridas, y un estado inmunológico alterado.

La *Food and Nutrition Board EE.UU.* fueron los primeros en realizar listas en las que figuraran las *Ingestas Diarias Recomendadas (RDA)* de cada uno de los nutrientes para la población sana hace ya más de medio siglo. Durante la última década, el *Instituto de Medicina* desarrolló una lista de necesidades y recomendaciones nutricionales conocido como el *Dietary Reference Intake (DRI)*. Los requerimientos exactos de micronutrientes en pacientes críticos son aún desconocidos. La Sociedad Americana de Nutrición Parenteral y Enteral (ASPEN), ha establecido unas *Guías para la administración parenteral de oligoelementos* (ASPEN, 2002).

Tabla 27.- Recomendaciones de micronutrientes en paciente crítico

Micronutriente	Cantidad diaria recomendada	Dosis estándar		Suplementación adicional	Nutrición Enteral mejorada
		Nutrición Parenteral	Nutrición Enteral		
Selenio	50 – 100 µg	20 – 60 µg	20 – 70 µg/L	100 – 400 µg/día	77 – 100 µg/L
Cinc	15 mg	2,5 – 5 mg	11 – 19 mg/L	10 – 30 mg/día	15 – 24 mg/L
Hierro	10 – 15 mg	0	12 – 20 mg/L	---	---
Vitamina A	1 mg	1 mg	0,9 – 1 mg/L	NP: 3,5 mg/d NE: 8,6 mg/d	1,5 – 4 mg/L
Vitamina C	75 – 90 mg	200 mg	125 – 250 mg/L	500 – 3000 mg/d	80 – 844 mg/L
Vitamina E (α – tocoferol)	15 mg	10 mg	25 – 50 mg/L	NP: 400 mg/d NE:40–1000 mg/d	40 – 212 mg/L

Recogido de: Sriram y Lonchyna. 2009; Food and Drug Administration. 2000; A.S.P.E.N. 2002; Demling y De Biasse. 1995; Grant JP. 1994; Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. 2002

En las tablas 28 y 29 se resumen las recomendaciones actuales para la administración de vitaminas y oligoelementos para pacientes que requieren de apoyo nutricional.

Tabla 28: Recomendaciones actuales para la administración de vitaminas en pacientes que requieren un soporte nutricional

Ingrediente	Cantidad por unidad de dosis
Vitamina A (Retinol)	1 mg
Vitamina D	5 µg
Vitamina E (α – tocoferol)	10 mg
Vitamina K	150 µg
Vitamina C (Acido ascórbico)	200 mg
Acido Fólico	600 µg
Niacina	40 mg
Vitamina B₂ (Riboflavina)	3,6 mg
Vitamina B₁ (Tiamina)	6,0 mg
Vitamina B₆ (Piridoxina)	6,0 mg
Vitamina B₁₂ (Cianocobalamina)	5 µg
Acido Pantoténico	15 mg
Biotina	60 µg

(Sriram y Lonchyna. 2009)

Tabla 29: Recomendaciones actuales de minerales en pacientes que requieren un soporte nutricional

<i>Ingrediente</i>	<i>Cantidad por unidad de dosis</i>
<i>Cinc</i>	<i>2,5 – 5,0 mg</i>
<i>Selenio</i>	<i>20 – 60 µg</i>
<i>Cobre</i>	<i>0,3 – 0,5 mg</i>
<i>Manganeso</i>	<i>60 – 100 µg</i>

(Sriram y Lonchyna. 2009)

La composición las preparaciones comerciales de elementos traza disponibles en el mercado está aún lejos de ser ideal, especialmente para su empleo a largo plazo, tal y como se observó en un estudio realizado en 2007 sobre 8 pacientes que recibieron soporte nutricional por vía parenteral durante un largo periodo de tiempo (Howard, Ashley, Lyon y col. 2007)

Las publicaciones realizadas sobre los soportes de apoyo nutricional, suelen hacer un especial hincapié en la administración adecuada de energía y de macronutrientes, con mayor énfasis en el aporte proteico, lipídico y de carbohidratos. Se hace cada vez más necesario el conocimiento del papel que juegan los micronutrientes dentro del soporte nutricional no solo en la evolución clínica del paciente, sino también la estimación de las dosis recomendadas y posibles efectos adversos que cada micronutriente presenta.

Actualmente el empleo de las fórmulas parenterales como soporte nutricional es muy frecuente gracias a la gran disponibilidad de formulas comerciales en bolsas tricamerales y de fácil administración, aunque si no se complementan con micronutrientes pueden producirse graves consecuencias para el paciente. (Sriram y Lonchyna. 2009)

Existen numerosas interacciones entre los diferentes oligoelementos que afectan a la absorción de los mismos a través del tracto gastrointestinal, entre las cuales se incluye la forma química del nutriente, los ligandos antagónicos, las interacciones por competencia, etc.

Los niveles séricos de varios elementos traza disminuyen durante la enfermedad crítica. Así, los niveles séricos de Se, Cu, Fe y Zn se ven disminuidos debido a la retención, posiblemente en el hígado y el sistema retículo-endotelial, lo cual también puede deberse a aumento de las pérdidas proteicas urinarias y el aumento del catabolismo.

En cuanto a la toxicidad, todos los estudios parecen estar de acuerdo en que una dosis diaria de hasta 400 µg administrada por vía parenteral es segura, aunque la administración de mayores cantidades no ha mostrado efectos negativos aparentes, éstas únicamente se han realizado durante cortos periodos de tiempo.

Los estudios han demostrado que los niveles séricos de oligoelementos pueden ser indicativos de administraciones recientes de elementos traza pero no para la valoración de niveles tisulares, empleando para ello el análisis de enzimas como al SOD para el cinc, o la GPx para el selenio.

La suplementación con micronutrientes debe comenzar en el primer día del soporte nutricional y continuar diariamente. Por ejemplo, en las quemaduras la administración precoz de micronutrientes ha demostrado ser muy beneficiosa. La ruta más fiable de administración de micronutrientes es por vía intravenosa, ya que pueden alcanzar los niveles deseados con mayor facilidad al evitarse todos los problemas que afectan a la absorción durante la administración gastrointestinal.

Aunque la absorción de nutrientes aportados mediante alimentación enteral hipocalórica parece no estar afectada incluso en pacientes hemodinámicamente comprometidos, por lo general se cree que en la enfermedad crítica la cantidad de nutrientes absorbidos por el tracto gastrointestinal es impredecible debido diversas alteraciones como la presencia de isquemia intestinal, de edemas.

6.7.4.- ASPECTOS FARMACOLÓGICOS DE LA SUPLEMENTACIÓN DE SELENIO EN PACIENTES CRÍTICOS.

Manzanares, Biestro, Galusso y col. (2009), publicó los resultados de un estudio realizado sobre un grupo de pacientes críticos con SIRS, con una dosis de carga de 200 µg de ácido selenioso en 4 horas, continuando con 1600 µg/día en perfusión continua durante 10 días, de tal modo que, aunque la muestra de estudio fue de un número reducido, tan sólo 18 pacientes, se observó que el uso de esta dosis permite optimizar y maximizar la actividad

plasmática de GPx a las 72 h del ingreso del paciente en UCI, alcanzando unos valores medios alrededor de 110 $\mu\text{g/L}$ (niveles de selenio plasmáticos alejados de los valores considerados como tóxicos).

Tras todo lo expuesto anteriormente, podemos decir que, el Selenio es un micronutriente que ilustra el concepto de nutraceutico y la necesidad de cambiar paradigmas en Nutrición clínica. En la actualidad es ampliamente reconocido el rol antioxidante del Selenio como cofactor de numerosas selenoenzimas, en particular la GPx y la SePP.

El Selenio constituye un micronutriente necesario para el sistema inmune con una reconocida función protectora de la infección viral. Durante la enfermedad crítica caracterizada por una condición inflamatoria con estrés oxidativo, los niveles séricos de Selenio y de las selenoenzimas GPx y SePP se reducen precozmente, existiendo una relación inversa entre estos eventos y la mortalidad. En los últimos años, se han sucedido múltiples ensayos clínicos que han estudiado los efectos de la suplementación de Selenio parenteral; dichas investigaciones han utilizado dosis variables de Selenio y sus resultados en términos de *end points* de relevancia tales como mortalidad, infecciones y días de ventilación mecánica y estadía hospitalaria no han sido concluyentes.

7.- ESTRÉS OXIDATIVO

El oxígeno puede ser considerado un nutriente debido a la dependencia que los mamíferos tienen del mismo para satisfacer sus necesidades energéticas a través de la respiración celular. A través de la respiración, el organismo es capaz de obtener energía mediante de la oxidación de combustibles ricos en carbono e hidrógeno (hidratos de carbono, grasa, proteínas, ácidos nucleicos y alcoholes) utilizando el oxígeno. Esta oxidación permite que la energía contenida en los enlaces de esos compuestos, se almacene en forma de moléculas de ATP, obteniendo además, como productos finales de la oxidación, dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O).

La oxidación de los combustibles biológicos por el oxígeno, implica la reducción del mismo mediante cuatro etapas monoelectrónicas (a través de la cadena de transporte de

electrones o cadena respiratoria) produciéndose como residuo una molécula de agua. Gracias a esta reducción escalonada, se realiza una liberación energética gradual, sin embargo, hay ocasiones en las que el oxígeno es reducido de forma incompleta, obteniendo unas moléculas finales con electrones no apareados, las cuales presentan una extrema reactividad y recibiendo el nombre de Radicales Libres (RL).

Se entiende por estrés oxidativo, el desequilibrio entre las reacciones prooxidantes y antioxidantes, debido a la producción de especies reactivas del oxígeno junto con la incapacidad del sistema biológico de detoxificar rápidamente esas especies reactivas, siendo la principal consecuencia de este imbalance, la producción de un daño sobre el organismo.

Los radicales libres son pequeñas moléculas, que difieren de la mayoría de las moléculas biológicas debido a la presencia de un electrón desapareado. Debido a la presencia de este electrón desapareado poseen una naturaleza muy reactiva, pudiendo desencadenar reacciones en cadena en las que un único radical libre puede iniciar y propagar daños en múltiples moléculas.

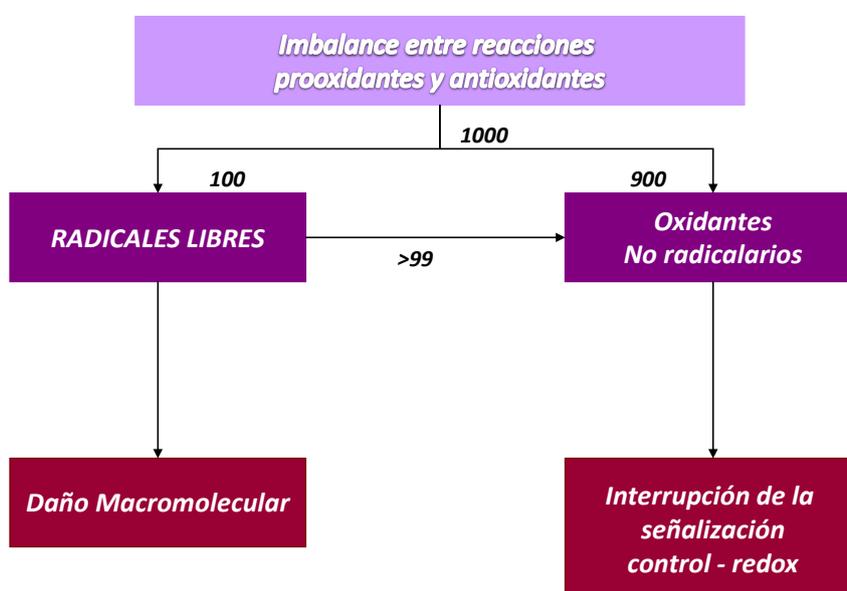
Sin embargo, no hemos de olvidar que todos los sistemas biológicos contienen elementos redox que participan en la señalización celular y regulación fisiológica, además la organización y coordinación de la actividad redox, se realiza a través de estos propios elementos mediante circuitos redox, siendo en cierto modo el estrés oxidativo una alteración de la función de estos circuitos.

La peroxidación lipídica se produce cuando los ácidos grasos poliinsaturados presentes en las membranas celulares son dañados por la presencia de radicales libres liberados durante el proceso de respiración celular, y siendo dañados por la cadena de oxidación de radicales libres al entrar en contacto con el Oxígeno y en presencia de trazas de metales.

Como se ha mencionado anteriormente, el estrés oxidativo se define como un imbalance entre las sustancias prooxidantes y las antioxidantes, dando como resultado daños macromoleculares junto con la interrupción de la señalización redox y control del organismo.

Existen dos mecanismos fundamentales de estrés oxidativo. Uno de ellos, es la reacción consecuente de la producción de un radical libre que genera directamente una degradación de macromoléculas, y un segundo mecanismo, en el que por presencia de sustancias oxidantes no radicalarias (derivadas en numerosas ocasiones de la neutralización de radicales libres), se produce una alteración en la señalización del estado redox-control, siendo entonces los oxidantes no radicalarios los que contribuyen a la patología de la enfermedad por la interrupción de los mecanismos de control oxidativo. (Jones. 2008)

Figura11.- Principales consecuencias del estrés oxidativo



7.1.- FORMACIÓN DE RADICALES LIBRES

Un radical libre se define como cualquier especie química capaz de existir de forma independiente y que presenta uno o mas electrones desapareados en su estructura, lo cual los hace extremadamente reactivos y generalmente nocivos para la célula. El electrón desapareado puede pertenecer al oxígeno (O₂), o a otro átomo como el carbono (C), el azufre (S) o el nitrógeno (N) entre otros.

La reactividad de los radicales libres radica en la posición de su electrón, de modo que cuando un RL se une a otra molécula o le cede o toma un electrón de ella, la convierte en un radical libre.

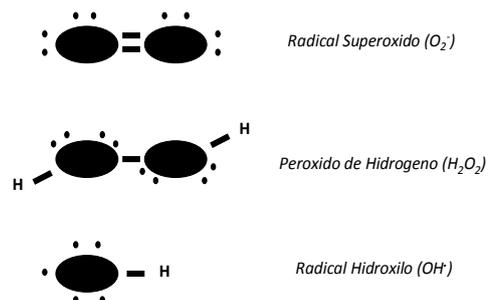
Existen principalmente tres mecanismos de producción de RL:

- Mediante la adición de un electrón a una molécula, este proceso se denomina “transferencia electrónica” que es bastante común en los procesos biológicos. Así ocurre en los casos de la formación del anión superóxido (O_2^-), el radical hidropéroxido ($HOO\cdot$) formado a partir del anión superóxido y un protón, y el radical hidroxilo ($OH\cdot$) formado a partir del peróxido de hidrógeno con ganancia de un electrón y un protón.
- A través de la pérdida de un protón de una molécula normal. Por este mecanismo se pueden formar diversos RL como los radicales de ácidos grasos insaturados o los radicales tioles ($R-S\cdot$) a partir de dos restos de metionina, glutatión...
- A través de la rotura homolítica de un enlace covalente de cualquier molécula, conservando cada uno de los fragmentos resultante un electrón desapareado. Para este mecanismo de producción de RL se necesita una gran cantidad de energía capaz de romper ese enlace covalente.

7.2.- DIFERENCIA ENTRE RADICALES LIBRES Y ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Aproximadamente el 2% del oxígeno es reducido de forma incompleta al aceptar un menor número de electrones, dando origen a compuestos intermedios inestables como son:

- Radicales libres (RL): Son moléculas que contienen uno o más electrones desapareados de la última capa, siendo capaz de reaccionar con otras moléculas y generar reacciones químicas que pueden conducir al daño molecular y celular.



- Especies reactivas del oxígeno (ERO): Son moléculas formadas por la reducción incompleta del oxígeno. Los más estudiados son el anión superóxido (O_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH) y el peroxinitrito (ONOO⁻).

7.3.- DONDE SE GENERAN LOS RADICALES LIBRES

- Sistema de transporte electrónico (cadena respiratoria): Entre el 2 – 5% del oxígeno que pasa a través de la cadena respiratoria escapa al adecuado funcionamiento de la misma y se realiza una reducción parcial, dando lugar principalmente a la generación del anión superóxido, aunque también se pueden producir H_2O_2 y OH⁻.
- Sistema de transporte de electrones no fosforilado: Un ejemplo claro de este sistema es el “sistema de hidroxilación microsomal hepático”, este sistema está formado por una flavoproteína (NADPH – citocromo P450 reductasa) y un citocromo microsómico (P450)
- Sistemas enzimáticos de tipo oxigenasas y oxidasas: En condiciones fisiológicas, la oxidación de la hipoxantina a xantina y esta a ácido úrico, está catalizada por la xantina deshidrogenasa, esta enzima en condiciones de estrés como la hipoxia, se produce su conversión de xantina deshidrogenasa a xantina oxidasa. Esta xantina oxidasa, cataliza la misma reacción, pero empleando como aceptor de electrones el O_2 (en lugar del NAD^+ de la xantina deshidrogenasa), con la consiguiente formación del anión superóxido.
- Fagocitosis: el que la inflamación sea aguda o crónica depende de la regulación humoral y de la respuesta celular. Además las moléculas que se consideran normalmente mediadoras de la inflamación a varios niveles son numerosas, siendo un hecho común a todas ellas la infiltración en el tejido afectado. Se trata fundamentalmente de leucocitos polimorfonucleares, aunque también es encontrar monocitos y macrófagos. Estas células se activan y llevan a cabo la fagocitosis a

traves de un mecanismo de consumo de oxígeno. Este consumo de oxígeno puede llegar a ser hasta 20 – 30 veces superior al que existía antes de la activación.

Como consecuencia del proceso de fagocitosis aumenta la producción de NADPH a través de la ruta de las hexonas fosfato. De forma paralela, hay un aumento en la generación de anión superóxido, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno y ácido hipocloroso, todas especies capaces de dañar la membrana celular, además de cumplir su función protectora al destruir los agentes agresores al organismo al destruirlas por oxidación.

- Metales de transición: los metales de transición (sobre todo hierro y cobre) libres o formando complejos con proteínas son elementos de gran actividad de numerosos centros activos enzimáticos, motivo por el cual pueden tener un papel activo en el daño dependiente de oxígeno.

7.4.- TIPOS DE RADICALES LIBRES Y ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO

Aunque la formación de los radicales así como la de las especies reactivas del oxígeno se genera de una forma muy compleja, a continuación se exponen diferentes tipos de ellos junto con una breve descripción de la acción fisiológica de los mismos:

- Radicales Libres derivados del Nitrógeno: Dentro de este grupo se encuentran principalmente el Dióxido de Nitrógeno (NO₂) y el Oxido Nítrico (NO). Aunque se trata de moléculas bastante estables, ambos son capaces de reaccionar con distintas moléculas dando lugar a RL, el NO es relativamente inestable en condiciones aeróbicas, generando un proceso NADPH-dependiente en el que interviene una NO-sintetasa ejerciendo un efecto vasodilatador (*Mataix y Battino. 2009*)
- Anión superóxido (O₂⁻): Se produce en todas las células, actúa como un agente proinflamatorio, siendo capaz de reclutar neutrofilos, inducir la liberación de factores quimiotractivos y otros mediadores proinflamatorios como el TNF α e interleucina IL-1, generar daño sobre el ADN en iniciar la peroxidación lipídica. Modula señales de

transducción intracelular por la activación del factor nuclear NF- κ B (Cuzzocrea, Riley, Caputi y col. 2001).

- Peróxido de hidrogeno (H_2O_2): No posee electrones desapareados, sin embargo, se considera una especie reactiva del oxígeno por su capacidad de inactivar enzimas, atravesar membranas celulares y reaccionar tanto con átomos de hierro como de cobre para producir $OH\cdot$ (Andresen, Regueira y Leighton. 2006)
- Radical hidroxilo ($OH\cdot$): Es un potente radical libre, varias miles de veces más reactivo que el O_2^- , produciendo daño principalmente sobre el ADN, proteínas y lípidos, induciendo a la peroxidación lipídica y daño sobre membranas siendo capaz de estimular la respuesta inflamatoria (Andresen, Regueira y Leighton. 2006)
- Peroxinitrito ($ONOO^-$): Se forma por la interacción entre O_2^- y óxido nítrico. Prolonga la acción del anión superóxido, actuando como agente proinflamatorio, inactiva la enzima Superóxido Dismutasa (SOD), induce la peroxidación lipídica y produce depleción del glutatión (Van der Vliet, Smith, O'Neill y col. 1994; Cuzzocrea, Zingarelli y Caputi 1998.)
- Además, genera daño sobre el ADN con disminución de los niveles de NAD y ATP. Su degradación no depende de una enzima específica, sino del ambiente químico celular, aunque su capacidad oxidativa puede ser bloqueada por antioxidantes como el glutatión y las vitaminas C y E (Vatassery GT. 1996)

7.5.- ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes (AOx) son un grupo variado de moléculas con diversas funciones, que van desde las grandes moléculas de naturaleza proteica con funciones altamente específicas como son las propiedades catalíticas sobre los lípidos, hasta pequeñas moléculas solubles en agua con propiedades quelantes de metales no específicas (Gutteridge y Halliwell. 1994).

Los AOx se definen como sustancias que aun estando presentes en bajas concentraciones, pueden retrasar considerablemente o incluso impedir la oxidación de

determinados sustratos, de este modo, la importancia de los antioxidantes radica en la capacidad de regulación entre la reducción y oxidación de los sistemas biológicos.

Ofrecen dos ventajas importantes:

.- La capacidad de eliminar tóxicos, es decir, la capacidad de disminuir los niveles de sustancias oxidantes antes de que se produzca un daño crítico en las moléculas biológicas.

.- La capacidad para manipular los cambios, a niveles subtóxicos, de moléculas que pueden actuar funcionar como señal de disparo o mensajeros (*Gutteridge y Mitchell. 1999*)

A la hora de hablar de defensa antioxidante, tanto a nivel plasmático como tisular, podemos hablar de tres niveles de actuación:

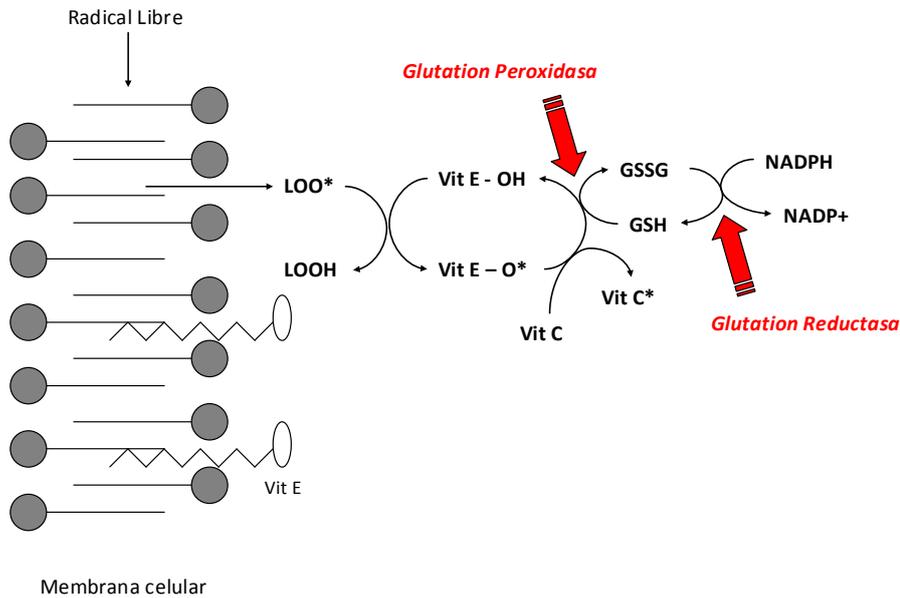
.- Primario: Se considera defensa antioxidante primaria aquella que interviene directamente en el impedimento de la formación de radicales libres, como es el caso de la unión del hierro de la transferrina y la lactoferrina a nivel extracelular, de tal modo que el hierro colocado correctamente en los sitios de unión no se catalizan reacciones de formación de radicales (*Gutteridge, Paterson, Segal y col. 1981*)

.- Secundario: En este nivel se encuentran las defensas implicadas directamente en la eliminación o inactivación de la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS). En algunos casos, pueden ser enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidada (GPx), o moléculas de bajo peso molecular, como la vitamina E, ascorbato y el glutatión (GSH) (*Eileen Bulger y Maier. 2001*).

.- Terciario: En este último nivel se engloban las defensas operan para eliminar y reparar el daño producido a las moléculas como consecuencia de la oxidación, siendo particularmente importantes para la integridad del DNA.

Sin embargo en los últimos años, se hace cada vez más claro que los antioxidantes son inducidos de algún modo por el propio estrés oxidativo, existiendo una autorregulación que puede desempeñar un papel clave en la protección del organismo.

Figura 12: Cadena de reacción de la enzima GPx para la prevención de la peroxidación lipídica



Recogido de Bulger y Helton. 1998

7.5.1.- PODER ANTIOXIDANTE TOTAL/ CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL

Existen varios métodos desarrollados con el fin de determinar la capacidad antioxidante del organismo en los distintos fluidos corporales.

Los resultados de esta determinación deben ser interpretados con precaución ya que las subidas de la bilirrubina o de ácido úrico podrían enmascarar el agotamiento de otros antioxidantes en algunas enfermedades.

7.5.2.- ANTIOXIDANTES ENZIMÁTICOS

Entre los sistemas de defensa antioxidantes, las enzimas como el superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, presentes en orgánulos celulares y citosol de células eucariotas, son capaces de eliminar los radicales libres con el fin de prevenir el estrés oxidativo.

7.5.2.1.- Superóxido dismutasa

La Superóxido Dismutasa (SOD) juega un papel fundamental en el metabolismo de las especies reactivas del oxígeno. Que en gran medida aceleran la dismutación de radicales superóxido. La dos formas principales en los seres humanos son Superóxido Dismutasa de cobre / cinc y manganeso. La Superóxido Dismutasa de cobre / cinc se localiza principalmente en el citosol, pero también esta presente en los lisosomas, el núcleo y el espacio entre las membranas mitocondriales interna y externa, mientras que Superóxido Dismutasa de manganeso se encuentra únicamente en el mitocondria (*Fridovich. 1995*).

Sin embargo, ésta enzima puede ser un arma de doble filo, ya que convierte los radicales superóxido en peróxido de, que pueden pasar libremente a través de las membranas, actuando como oxidante hidrógeno o producir reactivos y especies citotóxicas (peroxinitrito) al reaccionar con el óxido nítrico.

La actividad de los peróxidos de hidrógeno puede ser muy elevada cuando los radicales superóxido actúan como un iniciadores de la cadena. Entre los compuestos más susceptibles a la oxidación en cadena de radicales libres iniciada por los radicales superóxido se encuentran el sulfito, dihidroflavinas, las catecolaminas y tetrahidropterinas. De modo que la Superóxido Dismutasa, previene la iniciación de las reacciones oxidativas en cadena de los radicales superóxido, al disminuir la producción de peróxidos de hidrógeno. Las actividades relativas de la Superóxido Dismutasa cobre / cinc y manganeso dependen del tejido y de la presencia y el número de mitocondrias (*Thérond, Bonnefont-Rousselot, Davit-Spraul y col. 2000*).

La mayoría de los ensayos de utilizar métodos indirectos para medir la actividad de la Superóxido Dismutasa, se realiza a través de la determinación de superóxido que se genera ya sea química o enzimáticamente, haciéndolo reaccionar con una molécula detectable que neutraliza los radicales. Es posible diferenciar la Superóxido Dismutasa de cobre / cinc de la Superóxido Dismutasa de Manganeso mediante la adición de cianuro para en mezcla de reacción para la detección de Superóxido Dismutasa de manganeso debido a que la Superóxido Dismutasa de cobre / cinc es inhibida por el cianuro (*Beauchamp y Fridovich. 1973*). También es posible determinar conjuntamente las actividades de Superóxido Dismutasa de

cobre / cinc y de manganeso a pH fisiológico. Considerando que, superóxido dismutasa en un alto pH alcalino el manganeso inhibe la actividad (Marklund, 1976).

7.5.2.2.- Glutación peroxidasa

La familia de la glutación peroxidasa se compone de cuatro selenoproteínas diferentes. Estas enzimas usan el glutación como sustrato tiol para reducir el peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos orgánicos en agua o alcohol. Las cuatro glutaciónas peroxidadas son el glutación citosólico peroxidasa (GPx1), el fosfolípido hidroperóxido glutación peroxidasa (GPx2), la glutación peroxidasa de plasma (GPx3) y el forma gastrointestinal (GPx4).

Sin embargo, su especificidad para los distintos sustratos es diferente. Mientras que la glutación peroxidasa citosólica reduce sólo peróxido de hidrógeno, hidroperóxidos grasos ácidos y varios hidroperóxidos sintético (Forstrom, Stults y Tappel. 1979) el fosfolípido hidroperóxido glutación peroxidasa y plasmática de la glutación peroxidasa también reducen más complejo hidroperóxidos lipídicos como cholesterylester o fosfolípidos hidroperóxidos (Thomas, Maiorino, Ursini y col. 1990)

La actividad de la Glutación Peroxidasa se puede medir por el consumo de glutación seguido de una polarografía (Flohe, Guènzler. 1984), sin embargo, este ensayo es culto difícilmente aplicable a muestras biológicas, debido a la presencia de numerosas interferencias. Siendo el método más utilizado el que determina el glutación oxidado por la glutación reductasa y nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (Paglia y Valentine. 1967).

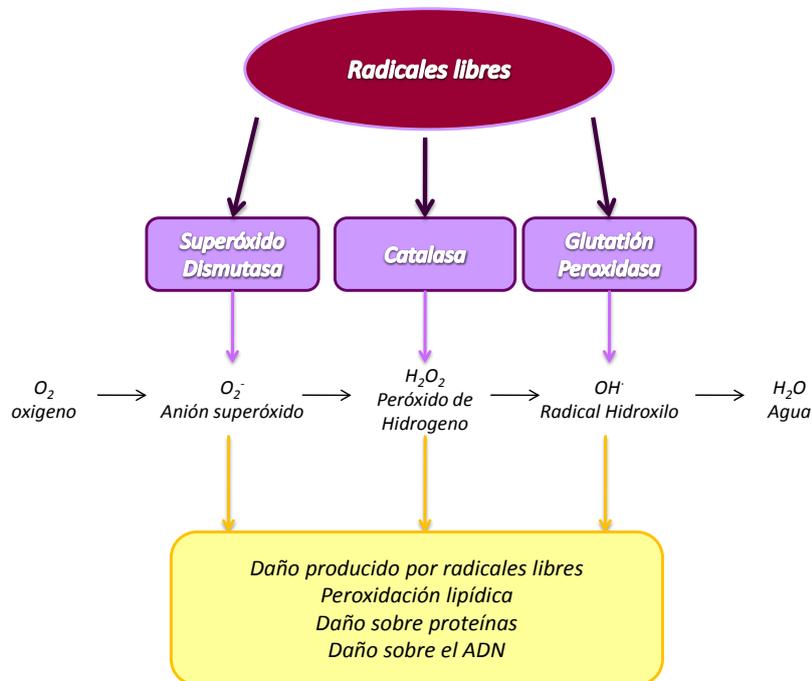
El glutación disulfuro se convierte inmediatamente en su forma reducida por la oxidación de NADPH a NADP⁺ produciéndose una disminución de la absorbancia a 340 nm. Cuando se utiliza sangre total, se recomienda agregar cianuro (reactivo de Drabkin) a la muestra para inhibir la presencia de otras peroxidadas y diluir la sangre con un agente reductor (antes de la adición del reactivo de Drabkin) para convertir la glutación peroxidasa a la forma reducida (Thérond, Bonnefont-Rousselot, Davit-Spraul y col. 2000).

7.5.2.3.- Catalasa

La actividad de la catalasa se determina normalmente por su función catalítica (Chance. 1947). Esta enzima, dismuta hidrógeno peróxido en agua y oxígeno. Las dos formas principales de medición de la actividad es mediante el examen de la disminución de la concentración de peróxido de hidrógeno (Aebi. 1984) o la aparición de oxígeno.

La disminución de peróxido de hidrógeno medida a 240 nm. Para evitar la formación de oxígeno burbujas en la cubeta, es importante el uso de baja concentraciones de peróxido de hidrógeno (10 mM). Este método está disponible para la medición en la sangre total o eritrocitos. También es posible determinar la liberación de oxígeno con un electrodo de oxígeno (Meerhof y Roos. 1980) o por polarografía (Rigo y Rotillo. 1977). Estos métodos son muy sensibles, y no requieren condiciones experimentales estrictas, siendo la ausencia de oxígeno absolutamente necesaria.

Figura 13: Neutralización de radicales libres mediante antioxidantes enzimáticos



7.5.3.- ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS

Los antioxidantes no enzimáticos poseen baja masa molecular, son agentes que eliminan los radicales libres y están presentes en fluidos intra y extracelulares, algunos de ellos son aportados a través de la dieta (vitamina E, beta-caroteno, vitamina C).

7.5.3.1.- Glutación

El glutación es un tripéptido (Lg-glutamyl-L-cisteinilglicina) que posee varias funciones esenciales en la célula. Está presente en concentraciones milimolares intracelulares y es la principal proteína tiol en especies aeróbicas. El glutación es un antioxidante y está implicado en muchos los procesos biológicos. El rol del glutación intracelular como la desintoxicación de xenobióticos y especies reactivas de oxígeno ha sido bien establecida. Además, es un coenzima de varias enzimas como la glutación peroxidasa, que juega un papel esencial de protección contra el estrés oxidativo, siendo el mecanismo de protección como resultado de un aumento en la formación de glutación intracelular disulfuro (forma oxidada) (DeLeve y Kaplowitz. 1991) Por lo tanto, análisis de los cambios en el estado de glutación, incluyendo el agotamiento de glutación, ya sea por formación de aductos o por una mayor generación de glutación disulfuro, proporciona un indicador fiable del potencial redox celular.

Hay numerosos métodos disponibles para medir la reducción de glutación y el disulfuro de glutación. La elección depende de la naturaleza de la muestra, el equipo disponible y si la determinación de GSSG que se requiere. Además, la preparación de la muestra es muy importante para minimizar la actividad de la *γ-glutamyl transpeptidasa*, que rompe el enlace peptídico *γ*-glutamyl de GSH, la reducción de de GSSG por la *glutación reductasa* o la oxidación de glutación. Muchos de los procedimientos han sido desarrollados para inhibir las reacciones enzimáticas y no enzimáticas, por lo general, por acidición de inhibidores de *γ-glutamyl transpeptidasa* y *glutación reductasa*, o de agentes quelantes tales como etilendiamina tetra-acético y el límite de GSH oxidaciones. Para la determinación de plasma, Anderson (Anderson. 1996) propone el uso de 5-sulfosalicílico ácido que contiene etilendiamina tetra-acético para precipitar las proteínas.

7.5.3.2.- Vitamina E

La vitamina E es el antioxidante liposoluble principal en los seres humanos. Actúa rompiendo las cadenas de propagación durante la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados (Burton y Ingold. 1981). Elimina los radicales peroxilo (RO₂[·]) producidos durante la peroxidación lipídica, que conducen a radicales tocoperoxilo. El glutatión reducido, la vitamina C y el ubiquinol regeneran el α -tocoferol (Pascoe, Olafsdottir y Reed. 1987; Contantinescu, Maguire y Packer. 1994). La vitamina E exhibe sus propiedades antioxidantes sobre las lipoproteínas (Esterbauer, Dieber-Rotheneder, Striegl y col. 1991) y las membranas (Kagan, Serbinova, Balakov y col. 1990).

La vitamina E se puede analizar en plasma o suero, también en plaquetas y eritrocitos. La determinación en suero o plasma se realiza generalmente con el fin de evaluar la estado de la vitamina E, aunque sería mejor evaluar directamente la concentración de vitamina E en los tejidos. Los tocoferoles son moléculas lipofílicas que pueden ser extraídos por disolventes orgánicos (como el hexano). También pueden ser separados por cromatografía de capa fina, por el gas cromatografía (GC) (sólo se utiliza para la industria farmacéutica ensayos) o por **HPLC** (*High-performance liquid chromatography/Cromatografía líquida de alta eficacia*) Siendo este método de separación el más ampliamente utilizado. La detección de tocoferoles también puede realizarse por espectrofotometría ultravioleta en longitudes de onda en función del disolvente utilizado (Catignani y Bieri. 1983; Arnaud, Fortis, Blachier y col. 1991) por espectrofluorometría (Lehmann y Martin. 1982) o por la electroquímica (Chou, Jaynes y Barley. 1985) Las técnicas de HPLC también son útiles para determinar la concentración de vitamina E en las lipoproteínas (Teissier, Walters-Laporte, Duhem y col. 1996) y en eritrocitos (Peuchant, Carbonneau, Dubourg y col. 1994).

El plasma contiene entre el 80 – 90 % del α -tocoferol, siendo el resto otros isómeros como γ y β . La determinación de los niveles plasmáticos de vitamina E también puede ser útil para el seguimiento de tratamientos con suplementación oral de vitamina E. Un nuevo método para la determinación de metabolitos α - y γ -tocoferol en la orina ha sido recientemente descrito, usando Trolox como estándar interno (Lodge, Traber, Elsner y col. 2000). Esta medida puede ayudar a para el seguimiento de estudios de suplementación con vitamina E.

7.5.3.3.-Beta-caroteno

El β -caroteno, α -caroteno y β -criptoxantina puede conducir a la formación de vitamina A en los seres humanos (Tee. 1992), por lo que el β - caroteno es a veces llamado *provitamina A*. Para la determinación de β -caroteno, es preferible disponer de sangre preferentemente sin medicamentos ni anticoagulantes, ya que la etilendiamina tetra-acético ácido, oxalato y citratos disminuyen las concentraciones β -caroteno, tal vez por catalizar la isomerización y oxidación reacciones (Nierenberg, 1985). Requiriendo cualquier paso del ensayo una protección de la luz.

El método más comúnmente utilizado para determinar la concentración plasmática de carotenoides es HPLC en fase reversa (al igual que en el caso de la vitamina E), que permite la separación de los carotenoides (Hart y Scott. 1995). Sin embargo, concentración total de carotenoides en el plasma puede ser determinada, después de la extracción, mediante la medición de la absorbancia a 453 nm. Este último ensayo carece de especificidad. En ambos casos, liberación de los carotenoides de las proteínas se logra con etanol, y los carotenoides son extraídos con una disolventes orgánicos (por lo general hexano) antes del ensayo.

La deficiencia de β -caroteno se encuentra en algunos grupos de población, como los fumadores o bebedores, y también se asocia con algunas patologías; enfermedades hepáticas, síndromes de malabsorción, nutrición enteral a largo plazo. Por el contrario, se puede encontrar un incremento de las concentraciones plasmáticas de β -caroteno en algunos trastornos metabólicos (hipotiroidismo, diabetes), durante la suplementación de la dieta con β -caroteno y cuando el consumo dietético se incrementa. (Thérond, Bonnefont-Rousselot, Davit-Spraul y col. 2000.)

7.5.3.4.- Coenzima Q₁₀ o Ubiquinol

La Ubiquinona o Coenzima Q₁₀ es un componente esencial de la cadena de transporte de electrones en la mitocondria (Olson y Rudney. 1993). También se ha encontrado que inhibe la iniciación y propagación de peroxidación de los lípidos (Frei, Kim y Ames. 1990). La forma antioxidante es el ubiquinol (CoQ10H₂), que es el producto de la reducción de ubiquinona, y cuyo estado redox es controlado por un mecanismo enzimático (Mohr, Bowry y Stocker. 1992).

Además de su directo efecto antioxidante, podría estar involucrado en la regeneración de otros antioxidantes liposolubles como el α -tocoferol (Ernster, Forsmark y Nordenbrand. 1992). La determinación de ubiquinol en plasma se realiza mediante HPLC.

El manejo de todas las muestras debe ser realizado a la sombra para evitar la descomposición fotoquímica de CoQ₁₀. De sangre venosa las muestras se recogen en tubos heparinizados, se centrifuga, y el plasma se congela a -80°C 30 minutos después del muestreo.

La determinación por HPLC utiliza la oxidación de las muestras de suero antes de su análisis, por lo que los resultados se expresan como ubiquinona (Laaksonen, Riihimäki, Laitila y col. 1995). Estos autores señalan el hecho de que los niveles séricos de ubiquinona dependen principalmente de la cantidad de lipoproteínas que contienen la ubiquinona en circulación, y que tienen un valor medio aproximado de 0,6 mg/L (Según lo determinado en los trabajadores y estudiantes universitarios de Helsinki).

7.5.3.5.- La vitamina C

La vitamina C (ácido ascórbico) es el más potente antioxidante intra y extracelular. Neutraliza los superóxidos, hidroxilos y los radicales piróxilo, reaccionando con el hipoclorito y singlete de oxígeno (Sies y Stahl. 1995). La determinación de vitamina C en el plasma requiere una gran cautela, debido a la gran oxidabilidad de este compuesto y la inestabilidad del ácido dehidroascórbico (Bates, Rutishauser, Black y col. 1994). Las muestras de plasma deben ser analizadas lo antes posible con el fin de evitar la redistribución de ácido ascórbico del plasma a los eritrocitos y la oxidación del ácido ascórbico (Loewen, Schrijver y Wedel. 1991). Dado que el ácido ascórbico se oxida rápidamente en pH neutro o alcalino, el plasma debe ser inmediatamente analizado tras su separación por centrifugación.

La vitamina C puede ser analizada mediante un método colorimétrico basado en la oxidación del ácido ascórbico por cobre para formar ácido dehidroascórbico y 2,3-dicetogulónico. Estos productos reaccionan en medio sulfúrico con 2,4-dinitrofenilhidrazina obteniendo dinitrofenilhidrazonas de las que se determina su absorbancia a 520 nm. Sin embargo, el HPLC (técnica que se utiliza habitualmente) tiene la ventaja de permitir la detección

de vitamina C y sus subproductos de la degradación. (Thérond, Bonnefont-Rousselot, Davit-Spraul y col. 2000).

Se han descrito otros métodos de detección, como descrito por Speek et al. (Speek, Schrijver y Schreurs. 1984) basado en la reacción de la forma oxidada (ácido dehidroascórbico) con un compuesto fluorescente (ortofenilendiamina) seguida de la separación por HPLC y detección por fluorescencia utilizando el ácido ascórbico como estándar.

7.6.- ESTRÉS OXIDATIVO EN EL PACIENTE CRÍTICO

La inflamación es un mecanismo fisiológico producido en respuesta a las lesiones y por lo general en el sitio de la lesión. Cuando el control local se pierde o es demasiado activo como resultado a una respuesta sistémica exagerada, la situación se ha identificado clínicamente como síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) (Davis y Hagen. 1997). Sin tener en cuenta la patogenia, cualquier agresión induce la liberación de mediadores proinflamatorios, incluyendo intermediarios reactivos del oxígeno (ROI), posiblemente como consecuencia de la activación de leucocitos polimorfonucleares y otras células del retículo-endotelial. Estos ROI reaccionan con todo tipo de sustratos biológicos, especialmente con los ácidos grasos poliinsaturados (Yu, 1994).

El estrés oxidativo es reflejo del desequilibrio del estado redox, constituyendo una vía que puede constituir un daño tisular producido durante una respuesta sistémica a la lesión. Recientemente, Tsal et al. (Tsal, Hsu, Kong y col. 2000) demostró que en los pacientes con SIRS, en comparación con sujetos sanos, se observa una reducción significativa de los niveles plasmáticos de los antioxidantes lipídicos y aumento de la peroxidación, lo que sugiere que los pacientes con SIRS poseen un equilibrio redox alterado. Por otra parte, anteriormente se mostró (Alonso de Vega, Díaz, Serrano y col. 2000) en pacientes ingresados en una unidad de cuidados intensivos (UCI) una asociación significativa entre el desequilibrio redox en plasma con la gravedad de la enfermedad, lo que sugiere que la gravedad de la enfermedad en los pacientes ingresados en la UCI se relaciona con el grado de estrés oxidativo.

Pacientes en estado crítico puede tener el aumento del nivel de ROS (Oldham y Bowen. 1998) o disminución de antioxidantes (Schorah, Downing, Piripitsi y col. 1996). Actualmente se están estudiando muchos de los indicadores biológicos de daño oxidativo, con el fin de que los resultados puedan ayudar a determinar el daño producido por las especies reactivas del oxígeno.

Cualquiera de las sustancias en la Tabla podría emplearse como indicador de uso común o de biomarcadores el estrés oxidativo (Goodyear-Bruch y Pierce. 2002). Además existen otros parámetros de laboratorio que indican que la producción de Radicales libres, como las mediciones de niveles de antioxidante (α -tocoferol, β -caroteno, selenio) y actividad de las enzimas antioxidantes (SOD, catalasa, GPx) las cuales han sido muy investigadas en pacientes en situación de estrés oxidativo (Gutteridge y Mitchell. 1999).

Tabla 30.- Marcadores biológicos de estrés oxidativo

<i>Marcadores biológicos de estrés oxidativo</i>	
<i>Determinado en:</i>	<i>Sustancia</i>
<i>Suero</i>	<i>Reducción de glutatión Glutatión peroxidasa Superóxido dismutasa Peróxidos de lípidos Proteínas carbonilo Malondialdehido Catalasa Tocoferol Carotenos Selenio Acido ascorbico</i>
<i>Orina</i>	<i>Isoprostanos F2 Sustancias thiobarbituricas 8-oxo-7,8-dihidro-2-desoxiguanosna</i>
<i>Aire exhalado</i>	<i>Peróxido de hidrogeno 8-isoprostano Sustancias thiobarbituricas Alquinos metilados, pentano, etanol</i>

8.- SELENOPROTEINAS

La evidencia de los efectos beneficiosos del selenio para los seres vivos son relativamente recientes, por primera vez en 1957 por Schwartz y Foltz (*Schwarz y Mertz. 1957*) constataron que el selenio protegía a ratas deficientes en vitamina E de necrosis hepática, aunque su esencialidad nutricional no se demostró hasta 1973 cuando se comprobó su función bioquímica en animales (*Van Dael y Deelstra. 1993*).

Tabla 31: Principales funciones y localización de las distintas selenoproteínas

Selenoproteína	KDa	Funciones	Localización
Glutation Peroxidasa		Antioxidante	
Glutation Celular (GPx1)	88	Antioxidante y reserva de selenio	Citosol
Glutation Gastrointestinal (GPx2)	(22 x 4)	Antioxidante (protección frente a hidroperóxidos lipídicos)	Tracto Gastrointestinal
Glutation Plasmática (GPx3)	88	Antioxidante	Plasma, Leche materna, Riñón
Fosfolipido Hidroperoxidasa (GPx4)	19	Antioxidante (protección frente a hidroperóxidos lipídicos en la membrana celular)	Membrana celular, núcleo, citosol y/o mitocondrias, espermatozoides
Yodotironina deionidasa		Regulación del tiroides	
Tipo 1 (ID1)	30	Producción de T3	Tiroides, hígado y riñón
Tipo 2 (ID2)	30	Producción de T3	Glandula tiroidea, glandula pituitaria, SNC, esqueleto, musculo cardiaco
Tipo 3 (ID3)	30	Degradación de T3	Cerebro, piel placenta
Tioredoxina reductasa	11	Antioxidante, regulación procesos redox intracelulares y proliferación celular	Células cancerígenas, tejidos, piel, tiroides
Selenofosfato sintetasa	50	Síntesis de selenofosfato, precursor de SeCys	bacterias
Selenoproteína P	57	Antioxidante, transporte, reserva de Se	Plasma sanguíneo de mamíferos, tiroides, hígado, corazón, pulmón
Selenoproteína W	15	Posible función redox y antioxidante involucrado en metabolismo cardiaco	Musculo, bazo, testículos, cerebro
Selenoproteína - 15 kDa	15	Funcion redox	Próstata, tiroides
Selenoproteína - 34 kDa	34	Movilidad de espermatozoides	Espermatozoides (ratas)
Selenoproteína - 18 kDa	18	Reserva	Riñón y otros tejidos

Recogido de: Cabañero. 2005

Se descubrió la importancia de la función biológica del selenio debida a su acción reductora, a través de la selenocisteína presente en la enzima glutatión peroxidasa (GPx). Desde entonces se han identificado otras funciones bioquímicas y fisiológicas del selenio relacionadas con su presencia como selenoproteínas en los tejidos y los fluidos biológicos de los mamíferos. El número de selenoproteínas en estos animales ha sido estimado entre 30 y 50. En la actualidad se han identificado unas 35 selenoproteínas, de ellas, 18 han sido secuenciadas (Birringer, Pilawa y Flohé. 2002) y se conoce la función enzimática de más de 10. En la Tabla 31 se muestra un resumen de las principales selenoproteínas identificadas

A continuación se describen brevemente el papel biológico de las principales selenoproteínas

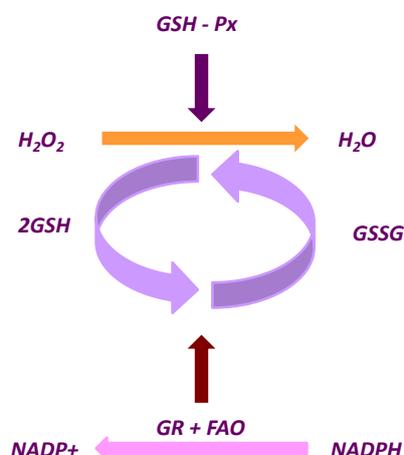
8.1.- GLUTATIONAS PEROXIDASAS

Fueron descubiertas en 1957 por Mills, aunque hasta 1973 no se demostró que el selenio era un componente esencial de las mismas (Flohe, Günzler y Shock. 1973). Al ser las primeras selenoproteínas descritas, su estructura y función son las que están mejor definidas.

La principal función de esta familia de selenoproteínas es la protección de las células frente a la oxidación por parte de especies reactivas del oxígeno como superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo. Para ello las GPxs catalizan la reducción de peróxidos e hidroperóxidos que podrían causar daños a células y tejidos a través de la oxidación del glutatión reducido (GSH) en glutatión oxidado (GSSG) (Figura 13). La principal participación fisiológica de la GSH-Px es aportar una segunda línea de defensa contra los hidroperóxidos, manteniendo niveles adecuadamente bajos de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) dentro de las células, reduciendo de esta forma el estrés oxidativo.

Como consecuencia, el selenio, como parte de las glutatiónas peroxidadas, es considerado un agente antioxidante y con funciones independientes de la vitamina E, el hierro (como cofactor en catalasa), el zinc y el cobre (como cofactor en superóxido dismutasa). Estos antioxidantes evitan la acción de los radicales libres, que pueden dañar el ADN, proteínas, carbohidratos y lípidos en el organismo (Holben y Smith. 1999; Fang, Yang y Wu. 2002).

Figura 14.- Reduccion de radicales libres a través de la oxidación del GSH



NADPH: Sustrato
 FAO: Flavina adenina dinucleotido (cofactor)
 GR: Glutation Reductasa

Se han identificado 4 GPxs diferentes, cada una de las cuales contiene un residuo de selenocisteína por subunidad. Son estructural, cinética, inmunológica, electroforética y genéticamente diferentes y tienen funciones tanto individuales como comunes (Daniels. 1996) por lo que en caso de deficiencia de selenio la regulación de cada una de ellas es diferente (Patching y Gardiner. 1999).

Glutation Peroxidasa 1 (GPx1) también denominada glutation peroxidasa celular, clásica o citosólica es un homotetrámero de unos 88 kDa que está presente en el citosol de todas las células (Burk y Hill. 1993) fundamentalmente se encuentra en el hígado y en los eritrocitos. Es la proteína más abundante en mamíferos considerada como una de las principales proteínas antioxidantes (Tapiero, Townsend y Tew, 2003). La actividad de la glutaciona peroxidasa celular ha sido durante mucho tiempo la única función bioquímica conocida del selenio, por lo que la medida de la actividad de esta enzima se emplea en la evaluación del estatus nutricional de selenio.

Estados deficientes de selenio originan importantes pérdidas en su actividad, mayores que las que se producen en otras selenoproteínas, y su recuperación es más lenta tras la administración de complementos nutricionales. Por ello, se piensa que esta enzima podría

tener una doble función, no solo como antioxidante, si no también como reservorio de selenio (Burk y Gregory. 1982; Yang, Hill y Burk. 1989; Sunde. 1990). También parece estar asociada a las propiedades anticancerígenas del selenio, dado que su expresión se ve alterada en las células malignas.

Glutation Peroxidasa 2 (GPx2) o glutacion peroxidasa gastrointestinal es un tetrámero formado por subunidades idénticas de 22 kDa. De estudios con animales se concluye que su actividad principal se encuentra en el tracto gastrointestinal y juega un papel importante en la protección de los mamíferos frente a la toxicidad de hidroperóxidos lipídicos ingeridos (Chu, Doroshov y Esworthy. 1993)

Glutation Peroxidasa 3 (GPx3) o glutacion peroxidasa plasmática difiere del resto de GPx en que es una glucoproteína de unos 88 kDa y la única de carácter extracelular. Fue purificada y caracterizada en el plasma humano, aunque también se ha encontrado en la leche materna (Bhattacharya, Picciano y Milner. 1988.) y parece que es sintetizada por las células del riñón (Avissar, Ornt, Yagil y col. 1994).

Sus niveles de concentración en el plasma son extremadamente bajos, por lo que sus propiedades antioxidantes son mucho menores que las de otros substratos como la tiorredoxina o la tiorredoxina reductasa. Aun así, es la selenoproteína más abundante en el plasma después de la selenoproteína P.

Glutation Peroxidasa 4 (GPx4) o fosfolípido hidroperoxidasa, cuya función principal consiste en reducir los ácidos grasos hidroperóxidos que son esterificados a fosfolípidos (Ursini, Maiorino y Gregolin. 1985). También se ha demostrado que reduce los hidroperóxidos del colesterol y del ester del colesterol en membranas y lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Thomas, Maiorino, Ursini y col. 1990; Thomas, Geiger, Maiorino y col. 1990). Es una de las selenoproteínas más abundantes en mamíferos. Está constituida por un monómero de unos 19 kDa, y puede encontrarse libre y soluble o enlazada en la membrana celular. Se localiza tanto en el núcleo como en el citosol y mitocondria (Tapiero, Townsend y Tew. 2003).

Su función fundamental es la de participación en la maduración del espermatozoide, interviniendo en la formación de la base estructural de la capsula espermática en espermatozoides maduros, de modo que en condiciones deficientes de selenio, la incorporación de selenio a esta enzima es preferente frente a la incorporación a la GPx1. Se

ha sugerido que puede ejercer una función en el sistema reproductivo masculino con un doble carácter: con una función estructural necesaria para la correcta movilidad del espermatozoides (Gladyshev y Hatfield. 1999; Miura, Himeno, Koide y col. 2000).

8.2- YODOTIRONINAS DEYODINASAS

Se han identificado tres yodotironina deydinasas diferentes (denominadas tipo 1, 2 y 3), codificadas por distintos genes y que muestran diferente especificidad, pero que están muy relacionadas entre sí. Estas selenoproteínas contienen selenocisteína en su centro activo y son esenciales para la regulación del metabolismo de la hormona tiroidea. De ellas la tipo 1 (yodotironina 5'-deyodinasas) es probablemente la más importante (Cabañero Ortiz. 2005).

Actúan produciendo y regulando el nivel de la forma activa de la hormona tiroidea 3,3'-5 triyodotironina (T3) a partir de tiroxina (Larsen y Berry. 1995) También catalizan la desyodonización de la tiroxina (T4) a triyodotironina, ésta última necesaria para el correcto metabolismo de la hormona tiroidea, de ahí las funciones endocrinas del selenio y su papel en el correcto crecimiento y desarrollo (Gladyshev y Hatfield. 1999; Behne, Hammel, Pfeifer y col. 1998).

La yodotironina deydinasa tipo 1 (ID1) fue la primera en ser caracterizada como una selenoenzima. Se trata de un dímero con dos subunidades idénticas cada una de las cuales contiene un residuo de selenocisteína. Fue la primera selenoproteína en la que se observó la secuencia de inserción de la SeCys mediante el triplete UGA.

Se encuentra fundamentalmente en la tiroides y en tejidos periféricos como hígado y riñones (Patching y Gardiner. 1999; Behne, Hammel, Pfeifer y col.1998).

La forma ID2 presenta un peso molecular de unos 30 kDa y se expresa en la glándula pituitaria, sistema nervioso central, placenta y tejido adiposo de humanos y ratas, así como en la glándula tiroidea, esqueleto y músculo cardíaco de humanos, pero no de ratas. Su función fisiológica principal es la producción de T3 local (intracelular). Finalmente la yodotironina deydinasa tipo 3 (ID3) se encuentra en cerebro, piel y placenta, y es la responsable de la degradación de la forma activa de la hormona tiroidea para formar distintas especies inactivas.

8.3.- TIORREDOXINA REDUCTASA

Selenoenzima que actúa como antioxidante y se encuentra en todos los tejidos. Es responsable de la degradación de peróxidos e hidroperóxidos fuera de las membranas celulares. También regula el metabolismo de la vitamina K3, el crecimiento celular y la actividad de la proteína p53 supresora de tumores (*Mustacich y Powis. 2000*). Junto con la tiorredoxina, la tiorredoxina reductasa constituye un sistema eficaz de reducción de disulfuros proteicos (*Holmgren y Björnstedt. 1995*). Además, es responsable del incremento de los niveles de selenio en la célula. La adición de selenio a los humanos mediante suplementos incrementa su actividad antioxidativa 40 veces en células epiteliales (*Gallegos, Berggren, Gasdaska y col.1997*).

Está formada por dos unidades idénticas de 5.5 kDa, donde la SeCys constituye el penúltimo residuo antes del extremo C-terminal, a diferencia de la mayoría de las selenoproteínas que contienen este selenoaminoácido en el extremo N-terminal. La tiorredoxina reductasa es una enzima que controla y reduce la expresión de tiorredoxina, cuyo aumento ha sido observado en diversos tumores humanos. Estudios recientes demuestran que bajos niveles de selenio disminuyen la actividad de la enzima y pueden estar relacionados con la habilidad de la célula para sufrir apoptosis, lo que incrementa el riesgo de padecer cáncer. (*Cabañero Ortiz. 2005*).

8.4.- SELENOFOSFATO SINTETASA

Es una de las enzimas necesarias para la incorporación de la selenocisteína en las selenoproteínas. En humanos se han identificado dos formas de esta enzima: Sp1 y Sp2 (*Guimarães, Peterson, Vicari y col. 1996*) sin embargo, sólo la Sp2 es una selenoproteína. Su función específica es catalizar la producción de selenofosfato, un donante de selenio en las reacciones biológicas.

8.5.- SELENOPROTEÍNA P

Polipéptido glicosilado de unos 57 kDa, mayoritario en el plasma sanguíneo de los mamíferos. Contiene aproximadamente el 50% del selenio presente en el plasma y es la única

selenoproteína caracterizada que contiene múltiples residuos SeCys (Burk y Hill. 1999). En estados carenciales de selenio, su síntesis parece ser preferente frente a la de las glutatonas peroxidadas (Persson-Moschos, Huang, Srikumar y col. 1995; Patching y Gardiner. 1999).

Su función biológica no es muy clara, aunque originalmente se pensó que tenía una función de transporte, distribuyendo el selenio a los diferentes órganos. Aunque no se admite de forma generalizada, el alto número de residuos de selenocisteína por molécula y su facilidad para degradarse han hecho pensar en un posible papel como forma de transporte de dicho aminoácido a través del organismo para utilizarlo en la síntesis de otras proteínas (Suzuki, Ishiwata y Ogra. 1999). También se ha asumido que actúa como antioxidante extracelular contribuyendo a la descomposición del peroxinitrito, acción que comparte con otras selenoproteínas. Esta función antioxidante la llevaría acabo principalmente en el sistema vascular y además podría proteger de la oxidación a las membranas celulares (Suzuki, Ishiwata y Ogra. 1999). Se sintetiza principalmente en hígado, corazón y pulmones, desde donde se libera al aparato circulatorio.

Por otro lado, es capaz de unirse a metales pesados debido a que posee gran número de residuos de histidina y cisteína. En este sentido, varios trabajos han relacionado a la selenoproteína P con la capacidad del selenio para disminuir la toxicidad de los metales pesados concretamente mercurio, plata, cadmio, plomo, platino, estaño y talio. El mecanismo de acción sugerido implica la formación de complejos metal-selenio que se unen posteriormente a la selenoproteína P originando complejos ternarios del tipo [(Se-metal)_n]_m-Selenoproteína P (Suzuki, Sasakura y Yoneda. 1998; Yoneda y Suzuki. 1997).

8.6.- SELENOPROTEÍNA W

Se trata de una selenoproteína de bajo peso molecular (15 kDa) que contiene un solo residuo de selenocisteína en un centro redox activo en el extremo N-terminal y se encuentra principalmente en los músculos, aunque también en el bazo, los testículos y el cerebro. Su función se ha asociado con la enfermedad del músculo blanco, un desorden metabólico caracterizado por la calcificación de los músculos esqueléticos, que remite cuando se lleva a cabo una suplementación con selenio. Asimismo, se ha especulado con la posibilidad de que la

selenoproteína W esté involucrada en el metabolismo cardíaco y muscular, sin descartar un posible efecto antioxidante (Whanger, 2000).

8.7.- SELENOPROTEÍNA DE 15 KDA

Proteína que contiene un único residuo de SeCys en la mitad de la cadena peptídica Cys-Gly-SeCys-Lys. No presenta analogías en la secuencia con ninguna de las anteriores y su función, aunque desconocida, parece estar relacionada con una protección anticancerígena en las células secretoras. Se ha detectado en una gran variedad de tejidos, fundamentalmente en la próstata y el tiroides de humanos, ratones y ratas (Gladishev y Hatfield. 1999; Behne, Hammel, Pfeifer y col. 1998).

8.8.- SELENOPROTEÍNA EN LA CÁPSULA MITOCONDRIAL DE LOS ESPERMATOZOIDES

Selenoproteína de unos 34 kDa identificada en 1978 por Calvin en los espermatozoides de ratas, y que no ha sido encontrada en ningún otro tejido, aunque en la actualidad existe cierta controversia sobre si se trata de una única selenoproteína o es una variedad de la *GPx4* (Roveri, Casasco, Maiorino y col. 1992; Roveri, Maiorino, Nisii y col. 1994).

Algunos estudios indican que la síntesis de esta proteína se inhibe cuando existe deficiencia de selenio, produciéndose esterilidad por disminución en la movilidad de los espermatozoides, lugar donde se encuentran los niveles de concentración más altos de selenio en los tejidos de mamíferos (Holben y Smith. 1999; Behne, Hammel, Pfeifer y col. 1998).

9.- ASPECTOS GENERALES SOBRE LA GENÉTICA EN LA NUTRICIÓN

Como solía mencionar Grande Covián, el nacimiento de la nutrición como ciencia es reciente y puede situarse hacia 1785, coincidiendo con la figura de Lavoisier y la llegada de la llamada “*revolución química*” (Carpenter. 2003). Hasta entonces, prácticamente no existía ninguna investigación relacionada con la nutrición por lo que los investigadores disfrutaron de un campo completamente abierto durante el primer siglo de investigación nutricional, aunque

su capacidad se veía restringida por lo limitado de las herramientas tecnológicas a las que tenían acceso.

Desde entonces, el interés de los investigadores dedicados al estudio de la nutrición ha reflejado los problemas nutricionales a los que han hecho frente los humanos en el transcurso de la historia (*Carpenter. 2003*). En un principio, las enfermedades asociadas a la nutrición se debían básicamente a deficiencias, entre las que se encontraban *el escorbuto* y *el cretinismo*. A comienzos del siglo XX, la atención seguía puesta en las enfermedades relacionadas con las deficiencias, incluyendo *la anemia, el beriberi, el raquitismo, la xeroftalmía y la pelagra*, entre otras.

Estos descubrimientos clave abrieron las puertas de la “*era de las vitaminas*”, también descrita como la “*edad de oro de la nutrición*”, que comenzó alrededor de 1912 y se prolongó hasta los años cuarenta. Por aquel entonces, se habían descubierto prácticamente todos los nutrientes e identificado las causas de las enfermedades ligadas a las deficiencias nutricionales, y se había generado el conocimiento para prevenirlas y curarlas.

Finalizada la Segunda Guerra Mundial, y gracias a la perspicaz visión de investigadores como (*Keys, Ordovás y Carmena. 2008*), comienza a emerger el problema de las enfermedades crónicas no transmisibles, como la *arteriosclerosis* y la *diabetes mellitus tipo 2*, aunque transcurrieron algunas décadas antes de que la comunidad científica y el público en general se convencieran de que estas enfermedades se debían principalmente a la alimentación (*Carpenter. 2003*).

Actualmente nos encontramos en la “*revolución genómica*”. Estamos viviendo, en la vanguardia de la transición de la nutrición clásica a la molecular (*German, Roberts y Watkins. 2003*). Habiendo ya mencionado a Francisco Grande y a Ancel Keys, es interesante destacar que una buena parte de esos avances se está produciendo en el área del metabolismo lipídico y enfermedades relacionadas con su patología, un campo que fue fértilmente cultivado por dichos investigadores.

Interacciones gen-dieta:

La existencia de un componente genético responsable de las diferencias en la respuesta dietética fue propuesta por primera vez hace ya varias décadas (Holtzman. 1998), pero sólo recientemente se ha empezado a examinar las interacciones *gen-nutriente* a escala molecular y, en su mayoría, los estudios destinados a elucidarlas han sido controvertidos y no concluyentes.

El concepto de “*ambiente*” es extremadamente complejo y amplio, ya que va desde el hábito de fumar, al consumo de drogas, la exposición a toxinas, los estatus educativos y socioeconómicos... de tal modo que en realidad, la ingesta alimenticia es un factor ambiental al que todos estamos permanentemente expuestos desde la concepción hasta la muerte, siendo por ello que los hábitos dietéticos son un factor ambiental clave para la modulación de la expresión génica a través de los diferentes estadios vitales.

El concepto de interacción gen-dieta describe la modulación del efecto de un componente dietético sobre un fenotipo específico (por ejemplo, la concentración plasmática de lípidos, la obesidad o la glucemia) por un polimorfismo genético. En términos de interacciones gen-dieta en enfermedades comunes y multifactoriales, el desarrollo más rápido se ha dado en el área del riesgo de enfermedades cardiovasculares, que puede cuantificarse fácilmente midiendo, por ejemplo, las concentraciones de colesterol plasmático.

9.1.- CONCEPTO DE NUTRIGENÓMICA Y NUTRIGENÉTICA

Propulsada por estas nuevas tecnologías, la ciencia de la nutrición ha introducido el término de “*genómica nutricional*”. La genómica nutricional es la aplicación de la biología molecular a la investigación nutricional, (Van Ommen y Stierum R. 2003; Van Ommen. 2004) estudiando las interacciones funcionales de los alimentos y sus componentes con el genoma a nivel molecular, celular y sistémico, con el objetivo de prevenir o tratar enfermedades a través de la dieta. Dentro del concepto global de genómica nutricional, se utilizan dos términos: “*nutrigenómica*” y “*nutrigenética*”.

La nutrigenética: estudia el efecto de la variación genética en la interacción entre dieta y enfermedad. Esto incluye la identificación y caracterización de las variantes génicas asociadas o responsables de las diferentes respuestas a los nutrientes. El objetivo de la nutrigenética es generar recomendaciones relacionadas con los riesgos y beneficios de las dietas o componentes dietéticos específicos para la persona. También se la ha llamado “*nutrición personalizada*” y “*nutrición individualizada*”.

La nutrigenómica: se centra en el efecto de los nutrientes sobre el genoma. Sin embargo, al tratarse de una nueva área de interés científico, no es sorprendente que estos conceptos hayan dado pie a diferentes definiciones como las que se describen a continuación: (Van Ommen. 2004; Muller y Kersten. 2003; Elliott y Ong. 2002).

Tabla 32.- La genómica definida por varios autores

<i>La Genómica Nutricional definida por varios autores</i>
<i>Genómica nutricional: La aplicación de tecnologías genómicas (Elliott y Ong . 2002) funcionales de alto rendimiento en la investigación nutricional. Estas tecnologías pueden ser integradas con las bases de datos de secuencias genómicas y con la variabilidad genética interindividual, permitiendo que el proceso de expresión génica sea estudiado con muchos miles de genes en paralelo.</i>
<i>Genómica nutricional o nutrigenómica: La integración de la biología de sistemas en la investigación nutricional (Van Ommen y Stierum. 2002).</i>
<i>Nutrigenómica: La nutrigenómica es el estudio de las relaciones moleculares entre estímulos nutricionales y la respuesta de los genes (Chavez y Munoz de Chavez. 2003).</i>
<i>Genómica nutricional: Puede ayudar a los científicos a interpretar la compleja interacción gen-nutriente y el vínculo entre las anomalías genéticas y la enfermedad, a analizar e integrar los vastos conjuntos de datos que estas técnicas y estudios producen y, después, a identificar nuevos biomarcadores (Kritchevsky. 2003).</i>
<i>Nutrigenómica: La aplicación de herramientas genómicas de alto rendimiento en la investigación nutricional (Muller y Kersten. 2003). Aplicada sabiamente, favorecerá una mejor comprensión de cómo la nutrición influye en las vías metabólicas y en el control homeostático, de cómo esta regulación es obstaculizada en la fase temprana de una enfermedad relacionada con la dieta, y hasta qué punto los genotipos individuales sensibilizantes contribuyen a tal enfermedad.</i>
<i>Genómica nutricional o “Nutrigenómica”: Se ocupa de la interacción entre los nutrientes y la expresión de los genes utilizando técnicas como la de las microsecuencias de ADN y la PCR (Trayhurn. 2003) en tiempo real. Implica la caracterización de los productos génicos y de la función e interacciones fisiológicas de sus productos; lo último incluye el cómo los nutrientes tienen un impacto sobre la producción y la acción de productos génicos específicos y cómo estas proteínas, a su vez, afectan a la respuesta frente a los nutrientes.</i>

Recogido de: Ordovas, Carmenay Corella. 2002

9.2.- EL ARN Y EL ADN. SIMILITUDES Y DIFERENCIAS

El ácido desoxirribonucleico, frecuentemente abreviado como ADN o DNA, (*deoxyribonucleic acid*), es un tipo de ácido nucleico, una macromolécula que forma parte de todas las células. Contiene la información genética usada en el desarrollo y el funcionamiento de los organismos vivos conocidos y de algunos virus, y es el responsable de su transmisión hereditaria.

Desde el punto de vista químico, el ADN es un polímero compuesto por muchos nucleótidos conectados entre sí, cada nucleótido, a su vez, está formado por una desoxirribosa, una base nitrogenada (adenina→A, timina→T, citosina→C o guanina→G) y un grupo fosfato que actúa como enlace. En los organismos vivos, el ADN se presenta como una doble cadena de nucleótidos, en la que las dos hebras están unidas entre sí por unas conexiones denominadas puentes de hidrógeno.

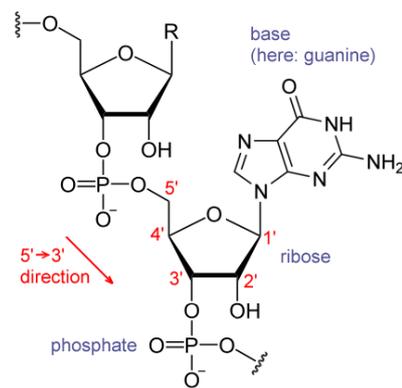
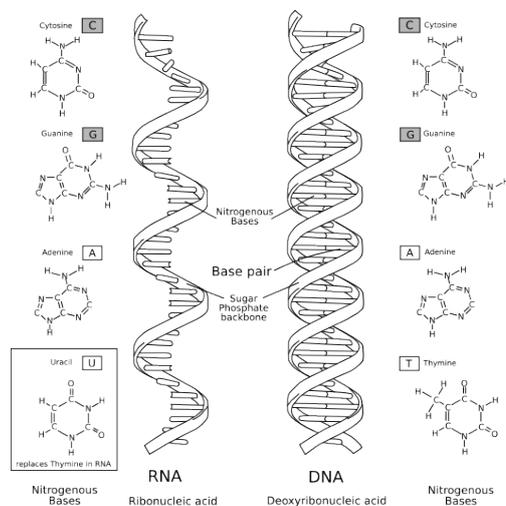


Figura 15: Estructura de nucleótidos

La disposición secuencial de estas cuatro bases a lo largo de la cadena es la que codifica la información genética: por ejemplo, una secuencia de ADN puede ser *ATGCTAGATCGC...*

El ácido ribonucleico ARN o RNA (*RiboNucleic Acid*,) es un ácido nucleico formado por una cadena de ribonucleótidos. Está presente tanto en las células procariotas como en las eucariotas, y es el único material genético de ciertos virus. El ARN celular es lineal y de hebra sencilla. Desempeña diversas funciones, siendo la molécula que dirige las etapas intermedias de la síntesis proteica transfiriendo la información del ADN para la síntesis de proteínas. Varios tipos de ARN regulan la expresión génica, mientras que otros tienen actividad catalítica. Tanto el ADN como el ARN están formados por una cadena de monómeros repetitivos llamados nucleótidos unidos unos a otros mediante enlaces fosfodiéster cargados negativamente.

Figura 16.- Estructura primaria del ADN y ARN



Cada nucleótido está formado por una molécula de ribosa, un grupo fosfato, y uno de cuatro posibles compuestos nitrogenados (adenina→A, uracilo→U, citosina→C o guanina→G)

La biosíntesis de ARN está catalizada normalmente por la enzima *ARN polimerasa* usando una hebra de ADN como molde, durante la *transcripción*. Por tanto, todos los ARN celulares provienen de copias de genes presentes en el ADN. Tras la transcripción, la mayoría de los ARN son modificados por enzimas.

Los carbonos de la ribosa se numeran de 1' a 5' en sentido horario. La base nitrogenada se une al carbono 1'; el grupo fosfato se une al carbono 5' y al carbono 3' de la ribosa del siguiente nucleótido. El fosfato tiene una carga negativa a pH fisiológico lo que confiere al ARN carácter polianiónico. Las bases púricas (adenina y guanina) pueden formar puentes de hidrógeno con las pirimidínicas (uracilo y citosina) según el esquema C=G y A=U.¹² Además, son posibles otras interacciones, como el apilamiento de bases (Barciszewski, Frederic y Clark, 1999).

Existen 3 procesos esenciales en la síntesis proteica:

- 1) Duplicación o Replicación del ADN
- 2) Transcripción del ADN
- 3) Traducción del ADN

9.3- REPLICACIÓN DEL ADN

El proceso de replicación de ADN es el mecanismo que permite al ADN duplicarse (es decir, sintetizar una copia idéntica). De este modo a partir de una molécula de ADN única, se obtienen dos o más "clones" de la primera. Esta duplicación del material genético se produce de acuerdo con un mecanismo *semiconservativo*, es decir, que las dos cadenas complementarias del ADN original, al separarse, sirven de molde para la síntesis de cada una de las nuevas cadenas complementarias, de forma que cada doble hélice nueva contiene una de las cadenas del ADN original.

Gracias a la complementariedad entre las bases que forman la secuencia de cada una de las cadenas, el ADN tiene la importante propiedad de reproducirse idénticamente, lo que permite que la información genética se transmita de una célula madre a las células hijas, siendo esta la base de la herencia del material genético.

Para este proceso, la molécula de ADN se abre como una cremallera por ruptura de los puentes de hidrógeno entre las bases complementarias, pudiendo así la *ADN polimerasa* sintetizar la cadena complementaria añadiendo los nucleótidos complementarios que se encuentran dispersos en el núcleo, siendo de esta forma, cada nueva molécula es idéntica a la molécula de ADN inicial.

La replicación comienza en los denominados "*orígenes de replicación*" donde las proteínas iniciadoras reconocen las secuencias de nucleótidos específicas en esos puntos y facilitan la fijación de otras proteínas que permitirán la separación de las dos hebras de ADN formándose una *horquilla de replicación*, llevándose a cabo la replicación del ADN, la cual avanza de forma secuencial de manera bidireccional, es decir, a partir de cada origen se sintetizan las dos cadenas en ambos sentidos, interviniendo un gran número de enzimas y proteínas intervienen en el mecanismo molecular de la replicación, formando el llamado "*complejo de replicación o replisoma*".

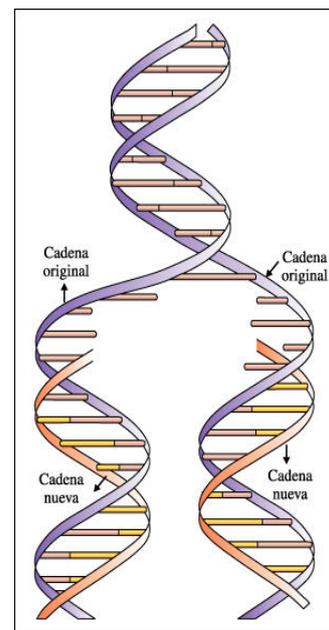


Figura 17.- Horquilla de replicación del ADN

La cantidad de ADN que se puede sintetizar a partir de un único origen de replicación se denomina “*replicón*” o *unidad funcional de replicación*. En las células eucariotas, la replicación del ADN se inicia en múltiples orígenes a la vez, existiendo uno cada 20 kb aproximadamente (Watson, Baker, Bell y col. 2006).

La replicación avanza en forma de horquilla debido a que en la célula ambas cadenas de la doble hélice de ADN se duplican al, por lo que estas deben separarse para que cada una de ellas sirva de molde para la síntesis de una cadena.

Por eso, la replicación avanza con una estructura en forma de horquilla formándose una burbuja u ojo de replicación (Benito. 2008). que avanza en dirección a la región de ADN no duplicado dejando atrás los dos moldes de ADN de cadena simple donde se está produciendo la replicación (Watson, Baker, Bell y col. 2006).

La replicación siempre se produce en sentido $5' \rightarrow 3'$, siendo el extremo $3'$ -OH libre el punto a partir del cual se produce la elongación del ADN, lo cual plantea un problema, ya que las cadenas tienen que duplicarse simultáneamente a pesar de que son antiparalelas, es decir, que cada cadena tiene el extremo $5'$ enfrentado con el extremo $3'$ de la otra cadena. Por ello, una de las cadenas debería ser sintetizada en dirección $3' \rightarrow 5'$

Este problema se solucionó cuando en la década de 1960, los científicos japoneses *Reiji Okazaki* y *Tsuneko Okazaki*, (Watson, Baker, Bell y col. 2006) descubrieron que una de las nuevas cadenas de ADN se sintetiza con trozos cortos que posteriormente se unían, por lo que en su honor, estos fragmentos se denominan “*fragmentos de Okazaki*”. Su longitud suele variar entre 100 y 400 nucleótidos en eucariontes. De tal modo que la cadena que se sintetiza en el mismo sentido que avanza la horquilla de replicación se denomina hebra adelantada o conductora (*leading strand*), sintetizada de forma continua por la ADN polimerasa, mientras que la que se sintetiza en sentido contrario al avance se denomina hebra rezagada o retrasada (*lagging strand*), cuya síntesis se realiza de forma discontinua teniendo que esperar a que la horquilla de replicación avance para disponer de una cierta longitud de ADN molde. (Watson, Baker, Bell y col. 2006).

La *ADN polimerasa* es la enzima que cataliza la síntesis de la nueva cadena de ADN a partir de desoxirribonucleótidos y de la molécula de *ADN molde* que es la que será replicada. Esta enzima copia la cadena de nucleótidos de forma complementaria (A - T, C - G).

En cada horquilla de replicación, la ADN polimerasa y otras enzimas sintetizan dos nuevas cadenas de ADN que son complementarias respecto a las dos cadenas originales. Durante este proceso, la ADN polimerasa reconoce una base nucleotídica no apareada de la cadena original y la combina con un nucleótido libre que tiene la base complementaria correcta. Luego, la ADN polimerasa cataliza la formación de nuevos enlaces covalentes que ligan el fosfato del nucleótido libre entrante con el azúcar del nucleótido previamente agregado en la cadena hija en crecimiento. De esta forma, la ADN polimerasa sintetiza el esqueleto de azúcar-fosfato de la cadena hija.

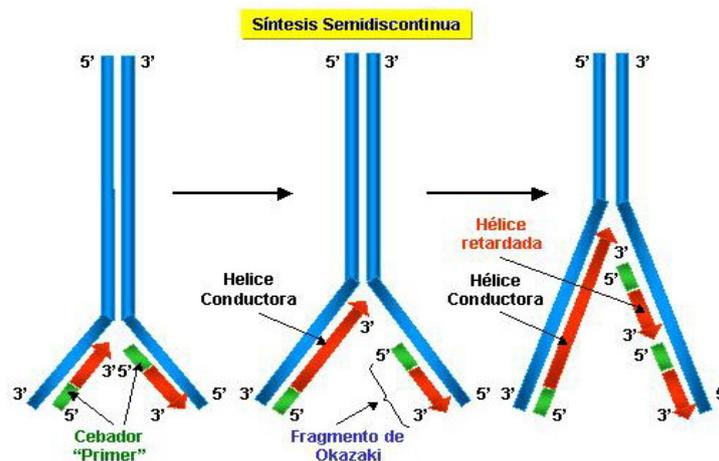


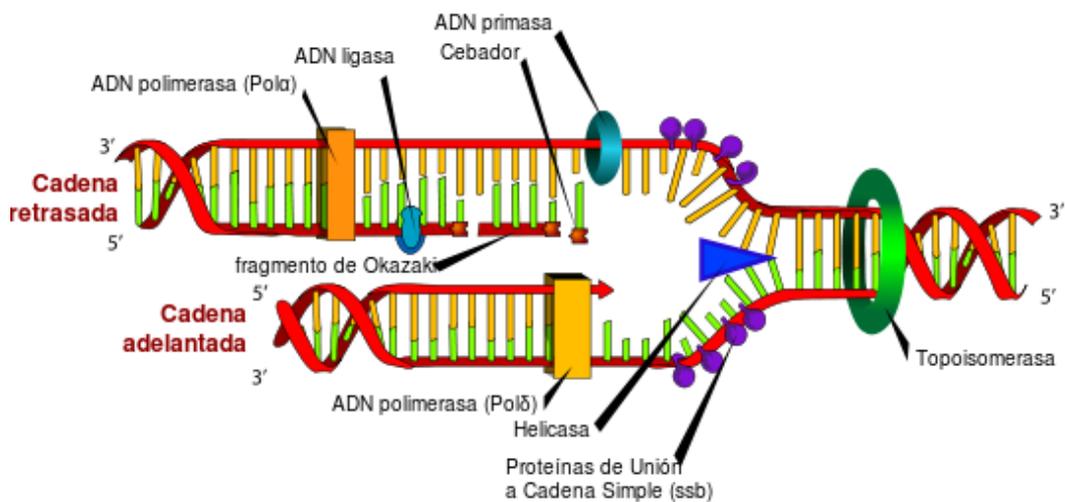
Figura 18.- Duplicación del ADN, cadena continua y rezagada

Las ADN polimerasas también realizan otras funciones durante el proceso de replicación. Además de participar en la elongación, desempeñan una función correctora y reparadora gracias a su actividad exonucleasa 3', que les confiere la capacidad de degradar el ADN partiendo de un extremo de éste, siendo esta propiedad de gran importancia, ya que de no existir estos mecanismos de corrección, los errores producidos durante la copia del ADN darían lugar a mutaciones.

RESUMEN DEL PROCESO Y PUNTOS CLAVE DEL MISMO

- 1) La helicasa rompe los puentes de hidrógeno de la doble hélice permitiendo el avance de la horquilla de replicación.
- 2) La topoisomerasa impide que el ADN se enrede debido al superenrollamiento producido por la separación de la doble hélice.
- 3) Las proteínas SSB se unen la hebra discontinua de ADN, impidiendo que ésta se una consigo misma.
- 4) La ADN polimerasa sintetiza la cadena complementaria de forma continua en la hebra adelantada y de forma discontinua en la hebra rezagada.
- 5) La ARN primasa sintetiza el cebador de ARN necesario para la síntesis de la cadena complementaria a la cadena rezagada.
- 6) La ADN ligasa une los fragmentos de Okazaki.

Figura 19.- Esquema representativo del proceso de duplicación del ADN



En resumen, el proceso se puede dividir en 3 fases:

- 1) Iniciación
- 2) Elongación
- 3) Terminación.

Los cebadores son pequeñas unidades de RNA que se unen a los fragmentos de ADN para que la ADN polimerasa reconozca el punto de unión para la duplicación, estos cebadores posteriormente son eliminados por la *polimerasa I* que coloca las bases a la cadena en crecimiento por la *ligasa*.

1) Iniciación

Mediante consumo de ATP en dirección a la horquilla de replicación, es decir, en dirección 5' → 3' en la hebra rezagada y 3' → 5' en la hebra adelantada, rompiendo los puentes de hidrógeno que mantienen unida la doble hélice (Benito. 2008).

El siguiente conjunto de proteínas reclutadas son las denominadas proteínas SSB (*single-stranded DNA binding proteins*, proteínas ligantes de DNA monocatenario) encargadas de estabilizar el ADN monocatenario generado por las *helicadas*, impidiendo así que el ADN se renaturalice o forme de nuevo la doble hélice, asegurando de este modo que pueda servir de molde. Estas proteínas se unen de forma cooperativa, por lo que su unión al AND conforme avanza la *helicasa* es rápida.

Por otro lado, conforme las *helicadas* van avanzando se van generando súper-enrollamientos en la doble cadena de ADN por delante de la horquilla de tal modo que si éstos no fueran eliminados llegaría un punto en el que el replisoma ya no podría seguir avanzando, con el fin de evitar este suceso, las *topoisomerasas* eliminan éstos cortando una o las dos cadenas de ADN y pasándolas a través de la rotura realizada, sellando a continuación dicha brecha (Watson, Baker, Bell y col. 2006).

2) Elongación

En el siguiente paso, la holoenzima *ADN Polimerasa III* cataliza la síntesis de las nuevas cadenas añadiendo nucleótidos sobre el molde. Esta síntesis se realiza bidireccionalmente desde cada origen de replicación, avanzando cada una de las horquillas de replicación en sentido opuesto. Cuando dos burbujas de replicación se tocan, se fusionan, y cuando todas se han fusionado todo el cromosoma ha quedado replicado.

Puesto que la holoenzima *ADN Polimerasa III* necesita de un extremo 3'-OH libre, es necesario que una *ARN primasa* catalice la formación de un fragmento corto específico de ARN llamado cebador, que determinará el punto por donde la *ADN Polimerasa* comenzará a añadir nucleótidos. Así, durante la síntesis, en cada horquilla de replicación se van formando dos copias nuevas a partir del cebador sintetizado en cada una de las dos hebras de ADN que se separaron en la fase de iniciación, pero debido a la unidireccionalidad de la actividad polimerasa de la *ADN Polimerasa III*, que sólo es capaz de sintetizar en sentido 5' → 3', la replicación sólo puede ser continua en la hebra adelantada; en la hebra rezagada es discontinua, dando lugar a los fragmentos de Okazaki (iniciador, cebador o *primer*). La mitad del dímero de la holoenzima *ADN Polimerasa III* sintetiza la hebra adelantada y la otra mitad la hebra rezagada (Benito. 2008).

En la hebra rezagada, cuando la *ADN Polimerasa III* hace contacto con el extremo de otro fragmento de Okazaki contiguo, el cebador de ARN de éste es eliminado y los dos fragmentos de Okazaki de ADN recién sintetizado son unidos. Una vez que se han unido todos los fragmentos se completará la doble hélice de ADN. La eliminación de cebadores también se da en la hebra conductora, de síntesis continua, pero debido a que en ésta hay un solo cebador es un proceso que sólo tiene lugar una vez, mientras que en la hebra rezagada se dará tantas veces como fragmentos de Okazaki haya.

En la eliminación de los fragmentos de Okazaki intervienen dos de enzimas: por un lado la *ADN Polimerasa I*, que va eliminando el ARN con su actividad exonucleasa 5' → 3' y simultáneamente rellenando con ADN mediante su actividad polimerasa 5' → 3' (proceso denominado *nick-traslación*). Al final queda una rotura o "mella" entre el extremo 3'-OH libre y el fosfato 5' de la cadena sintetizada.

Por último, la *ADN ligasa* sella esa rotura catalizando la reacción de condensación entre el grupo fosfato y el OH de la desoxirribosa del nucleótido contiguo, completando el enlace fosfodiéster; para ello, es necesario hidrolizar una molécula de ATP (Watson, Baker, Bell y col. 2006).

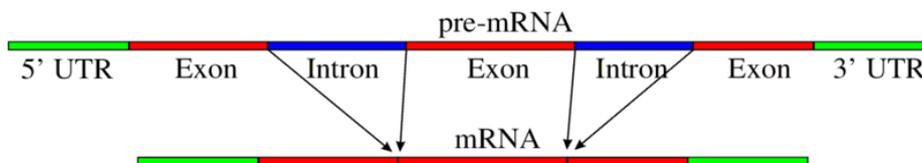
3) Terminación

El final de la replicación se produce cuando la *ADN Polimerasa III* se encuentra con una secuencia de terminación, produciéndose entonces el desacople de todo el replisoma y la finalización de la replicación.

9.4.- TRANSCRIPCIÓN GENÉTICA

La transcripción del ADN es proceso de expresión génica, mediante el cual se transfiere la información contenida en desde el ADN hacia la secuencia de proteína, utilizando diversos ARN como intermediarios. Durante la transcripción genética, las secuencias de ADN son copiadas a ARN mediante una enzima llamada *ARN polimerasa* que sintetiza un ARN mensajero que mantiene la información de la secuencia del ADN. Por lo que este proceso también podría llamarse "*proceso de síntesis del ARN mensajero.*"

El proceso de transcripción se realiza en el núcleo, donde diferentes *ARN polimerasas* transcriben distintos tipos de genes. De tal modo que la *ARN polimerasa II* transcribe los *pre-ARNm*, mientras que la *ARN polimerasa I* y *ARN polimerasa III* transcriben los *RNA-ribosomales* y *ARN-transferentes*, respectivamente. Los ARNs transcritos son modificados posteriormente, por ejemplo, el pre-ARNm sufre un proceso de maduración de eliminación de intrones obteniendo el ARNm final. Durante este proceso de maduración se puede dar lugar a diferentes moléculas de ARN, en función de diversos reguladores. Así pues, una misma secuencia de ADN, puede dar lugar a diferentes moléculas de ARNm y por tanto, producir diferentes proteínas.



Otro factor de regulación propio de las células eucariotas son los conocidos potenciadores ("*enhancers*"), que incrementan (hasta 100 veces) la actividad de transcripción

de un gen, independientemente de la ubicación de los mismos en el gen, ni la dirección de la lectura.

El proceso de la transcripción se divide principalmente en tres etapas (iniciación, elongación y terminación), aunque realmente se pueden diferenciar cinco etapas:

Preiniciación: Al contrario que durante la replicación de ADN, para el inicio de la transcripción no se requiere la presencia de un cebador para sintetizar el ARN. Aunque si se necesitan una serie de factores de transcripción que actuarán como *factores de iniciación*, que se unen a secuencias específicas del ADN reconociendo el punto de unión en donde la transcripción ha de comenzar, sintetizando el ARN cebador. Esta secuencia de ADN en la que se ensamblan los complejos de transcripción es el *Promotor*.

Los promotores se localizan en los extremos 5'-terminales de los genes, antes del comienzo del gen, y a ellos se unen los factores de transcripción mediante fuerzas de Van der Waals y enlaces de hidrógeno. Los promotores tienen secuencias reguladoras muy definidas, siendo las más conocidas:

- la caja TATA situada sobre la región -10, con la secuencia TATA(A/T)A(A/T).
- la caja TGTACA situada en el punto -35.

La formación del complejo de transcripción se realiza sobre el promotor TATA, allí se forma el núcleo del complejo de iniciación. Sobre esta caja TATA se fija una proteína de unión (TBP) junto con el *factor de transcripción* $TF_{II D}$ (*Transcription Factor*). Después, a ellos se unen otros factores de transcripción específicos: $TF_{II A}$, que estabiliza el complejo $TF_{II D}$ -ADN. Los factores $TF_{II B}$ y $TF_{II E}$ se unen al ADN y el $TF_{II F}$ (una Helicasa dependiente de ATP) y al final la *ARN polimerasa*. Todo ello forma un complejo denominado *complejo de preiniciación cerrado*. Cuando la estructura se abre por mediación del factor de transcripción $TF_{II H}$ da comienzo la iniciación.

Iniciación: Primero, una *Helicasa* separa las hebras de ADN en las cajas TATA, debido a que la adenina - timina poseen un doble enlace, mientras que la citosina - Guanina poseen un enlace triple. Posteriormente, se unen los *factores y proteínas de transcripción* (TBP, $TF_{II D}$,

TF2B) permitiendo el acceso de la *ARN polimerasa* al molde de ADN de cadena simple, siendo esta la última en posicionarse.

Aunque la búsqueda del promotor por la *ARN polimerasa* es muy rápida, la formación de la *burbuja de transcripción* o apertura del ADN y la síntesis del cebador es muy lenta. La burbuja de transcripción es una apertura de ADN desnaturalizado de 18 pares de bases, donde empieza a sintetizarse el ARN cebador, siendo la burbuja de transcripción un *complejo abierto*.

La *ARN polimerasa* es una enzima formada por 5 subunidades: 2 subunidades α , 1 subunidad β , 1 subunidad β' y 1 subunidad ω que tiene como función la unión de ribonucleótidos trifosfato. Cuando se forma el complejo abierto, la *ARN polimerasa* comienza a unir ribonucleótidos mediante enlaces fosfodiéster, de modo que una vez que se forma el primer enlace fosfodiéster, finaliza la etapa de iniciación.

Disgregación del promotor: Una vez sintetizado el primer enlace fosfodiéster, se debe deshacer el *complejo del promotor* para que quede limpio para volver a funcionar de nuevo. Durante esta fase hay una tendencia a desprenderse el transcrito inicial de ARN y producir transcritos truncados, dando lugar a una iniciación abortada. Una vez que la cadena transcrita alcanza una longitud de unos 23 nucleótidos, el complejo ya no se desliza y da lugar a la siguiente fase, la elongación.

Elongación: La *ARN polimerasa* cataliza la elongación de cadena del ARN. Para que se formen correctamente los enlaces de hidrógeno que determina el siguiente nucleótido del molde de ADN, el centro activo de la *ARN polimerasa* reconoce a los ribonucleótidos trifosfato entrantes. Cuando el nucleótido entrante forma los enlaces de hidrógeno idóneos, entonces la *ARN polimerasa* cataliza la formación del enlace fosfodiéster que corresponde. A esto se le llama elongación.

Terminación: Al finalizar la síntesis de ARNm, esta molécula se separa completamente del ADN y también de la *ARN polimerasa*, terminando la transcripción. La terminación está señalizada por la información contenida en lugares determinados de la secuencia del ADN que se está transcribiendo, por lo que la *ARN polimerasa* se detiene al transcribir algunas de estas secuencias específicas del ADN. Estas secuencias generalmente son ricas en guanina y citosina,

situadas en el extremo de los genes, seguidas de secuencias ricas en timina, formando secuencias *palindrómicas*, que cuando se transcriben el ARN recién sintetizado adopta una *estructura en horquilla* que desestabiliza el complejo ARN-ADN, obligando de este modo a separarse de la ARN polimerasa, re-naturalizándose la burbuja de transcripción.

9.5.- TRADUCCIÓN DEL ADN

En la traducción, el ARN mensajero se decodifica para producir un polipéptido específico de acuerdo con las reglas especificadas por el código genético. Es el proceso en el que se convierte una secuencia de ARNm en una cadena de aminoácidos para formar una proteína siendo siempre necesario que la traducción venga precedida de un proceso de transcripción.

El ARNm porta información genética codificada en forma de secuencia de ribonucleótidos desde los cromosomas hasta los ribosomas. Los ribonucleótidos son "leídos" en una secuencia de tripletes de nucleótidos llamados codones, codificando cada uno de estos codones un aminoácido específico. El ribosoma y las moléculas de ARNt traducen este código para producir proteínas. Los ARNt tienen un lugar para anclarse al aminoácido, y un lugar llamado anticodón. El anticodón es un triplete de ARN complementario al triplete de ARNm que codifica a su aminoácido. La enzima *aminoacil-ARNt sintetasa* cataliza el enlace entre los ARNt específicos y los aminoácidos que concuerdan con sus anticodones. El producto de esta reacción es una molécula de aminoacil-ARNt. Esta aminoacil-ARNt viaja al interior del ribosoma, donde los codones de ARNm se enfrentan con los anticodones específicos del ARNt mediante el emparejamiento de bases. Luego se utilizan los aminoácidos que portan los ARNt para montar una proteína.

El proceso de traducción tiene cuatro fases: activación, iniciación, elongación y terminación. En la activación, el aminoácido (AA) correcto se une al ARN de transferencia (ARNt) correcto. Aunque este punto técnicamente no es un paso de la traducción, es necesario para que se produzca la traducción. El AA se une por su grupo carboxilo con el OH 3' del ARNt mediante un enlace de tipo éster. Cuando el ARNt está enlazado con un aminoácido, se dice que está "*cargado*".

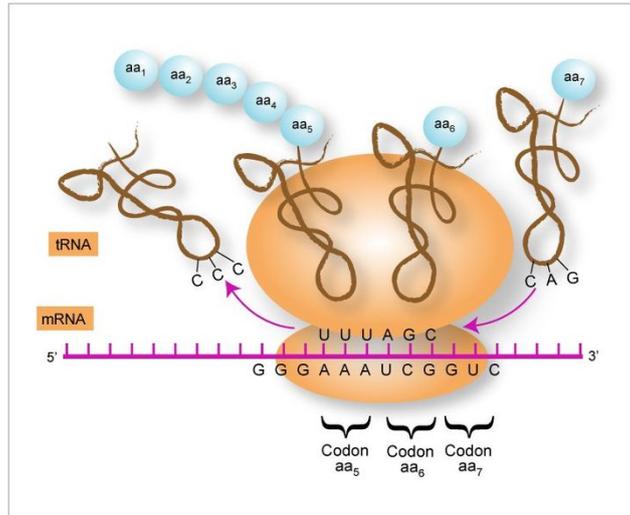


Figura 20.- Esquema del mecanismo de traducción

La iniciación supone que la subunidad pequeña del ribosoma se enlaza con el extremo 5' del ARNm con la ayuda de *Factores de Iniciación (FI)*.

La elongación ocurre cuando el siguiente aminoacil-ARNt (el ARNt cargado) de la secuencia, se enlaza con el ribosoma además de con un GTP y un factor de elongación.

La terminación del polipéptido sucede cuando la zona A del ribosoma se encuentra con un codón de parada, que son el UAA, UAG o UGA. Cuando esto sucede, ningún ARNt puede reconocerlo, pero el factor de liberación puede reconocer estos codones sin sentido y provocar la liberación de la cadena polipeptídica.

Modificaciones post-traducción

Algunas proteínas emergen del ribosoma preparadas para ejercer su función de inmediato, mientras que otras experimentan diversas modificaciones post-traducción, que pueden conducir a la proteína a la adquisición de su forma funcional, a su traslado a un compartimento subcelular determinado, a su secreción al exterior de la célula, etc.

Plegamiento

Muchas proteínas adquieren espontáneamente la correcta conformación tridimensional, pero otras solo adquieren la conformación correcta con la ayuda de una o más proteínas *chaperonas*. Las *chaperonas* se unen reversiblemente a regiones hidrofóbicas de las proteínas desplegadas y a los intermediarios de plegamiento, pueden estabilizar intermediarios, mantener proteínas desplegadas para que pasen con facilidad a través de membranas, ayudar a desplegar segmentos plegados incorrectamente, impedir la formación de intermediarios incorrectos o impedir interacciones inadecuadas con otras proteínas. (Devlin.2004)

Glucosilación

La glucosilación es la adición de uno o más glúcidos a una proteína lo que da lugar a las glucoproteínas, que son esenciales en los mecanismos de reconocimiento celular. La glucosilación puede implicar la adición de unas pocas moléculas glucídicas o de grandes cadenas ramificadas de oligosacáridos. Existe un centenar de *glucosiltransferasas* distintas, enzimas encargadas de realizar este proceso (Devlin.2004).

Proteólisis parcial

La proteólisis parcial es una etapa frecuente en los procesos de maduración de las proteínas. Pueden eliminarse secuencias de aminoácidos en ambos extremos o en el interior de la proteína. La proteólisis en el retículo endoplasmático y en el aparato de Golgi son por ejemplo, esenciales en la maduración de la insulina, la preproinsulina codificada por el ARNm es introducida en el retículo endoplasmático, donde una peptidasa la corta y origina la proinsulina que se pliega formando puentes disulfuro correctamente, esta proinsulina es transportada al aparato de Golgi, donde es empaquetada en gránulos de secreción, y entonces se elimina un fragmento (péptido C) por proteólisis originando la insulina funcional, que es la secretada. La hiperproinsulinemia familiar es una enfermedad genética autosómica dominante causada por un defecto en el proceso de maduración de la proinsulina, que da

lugar a la presencia en el torrente circulatorio de insulina y de proinsulina en cantidades similares.¹

Modificación de aminoácidos

Sólo 20 aminoácidos están codificados genéticamente y son incorporados durante la traducción. Sin embargo, las modificaciones post-traducción conducen a la formación de 100 o más derivados de los aminoácidos. Las modificaciones de los aminoácidos juegan con frecuencia un papel de gran importancia en la correcta funcionalidad de la proteína.

Son numerosos los ejemplos de modificación post-traducción de aminoácidos, como la formación postraducción de puentes disulfuro, básicos en la estabilización de la estructura terciaria de las proteínas está catalizada por una disulfuro-isomerasa. En las histonas tiene lugar la metilación de las lisinas. En el colágeno abunda el aminoácido 4-hidroxiprolina, que es el resultado de la hidroxilación de la prolina. La traducción comienza con el codón "AUG" que es además de señal de inicio significa el aminoácido metionina, que casi siempre es eliminada por proteólisis (Devlin.2004).

9.6.- LOS INTRONES Y LOS EXONES

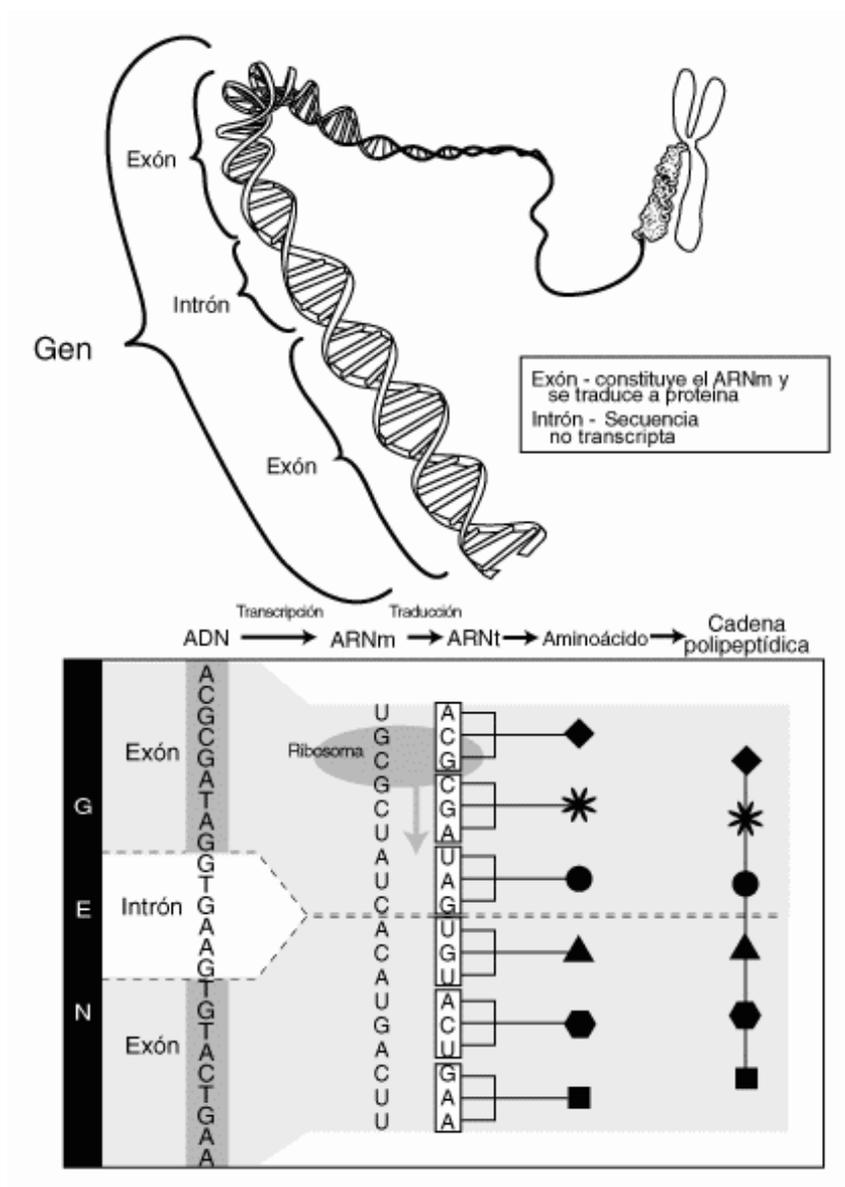
Un intrón es una región del ADN que debe ser eliminada del transcrito primario de ARN, a diferencia de los exones, que son regiones que codifican una determinada proteína.

Los intrones pueden representar un sitio alternativo de *splicing*, pudiendo dar diferentes tipos de proteínas. El control del *splicing* está regulado por una amplia variedad de señales moleculares.

Tradicionalmente se ha afirmado que los intrones son fragmentos de ADN carentes de información. Sin embargo actualmente se sabe que los intrones contienen varias secuencias pequeñas que son importantes para un ajuste eficiente.

Los exones son las regiones de un gen que no son separadas durante el proceso de *splicing* y que se mantienen en el ARN mensajero maduro. En los genes que codifican una proteína, son los exones los que contienen la información para producir la proteína. En estos casos, cada exón codifica una porción específica de la proteína completa, de manera que el conjunto de exones forma la región codificante del gen.

Figura 21.- Codificación del ADN: Intrones, Exones y Codones codificadores de aminoácidos



Si bien se consideró en un primer momento que los exones son los que llevan la "información" dentro de un gen, se ha demostrado que no siempre es así. Así por ejemplo existen pseudogenes que poseen la estructura de un gen activo (incluido sus exones) y sin embargo no se transcriben.

En el diagrama se muestra cómo los exones y los intrones se localizan de manera intercalada en un gen. En cada extremo de un gen existe una región no traducida del mismo (UTR: Un-Translated Region). La transcripción de un gen a ADN, genera un RNA mensajero inmaduro. Este ARN mensajero lleva a cabo el proceso de *splicing*, en el que se escinden los intrones y las regiones no traducidas. Una vez que el ARN mensajero ha madurado, puede ser traducido a una proteína.

9.7.- EL PRIMER O CEBADOR

Un partidor, cebador, iniciador o *primer*, es una cadena de ácido nucléico o de una molécula relacionada que sirve como punto de partida para la replicación del ADN. Es una secuencia corta de ácido nucléico que contiene un grupo 3'hidroxilo libre que forma pares de bases complementarios a una hebra molde y actúa como punto de inicio para la adición de nucleótidos con el fin de copiar la hebra molde.

Se necesita un cebador porque la mayoría de las *ADN polimerasas*, únicamente pueden añadir nucleótidos a partir de una hebra preexistente.

En la mayoría de las replicaciones del ADN, el principal cebador para la síntesis de ADN es una cadena corta de ARN. Este ARN lo produce una *ARN polimerasa*, y posteriormente una *ADN polimerasa* lo elimina y lo sustituye por ADN.

Para los procesos de *Polimerase Chain Reaction* (PCR) se necesitan dos cebadores, uno en el extremo 3' y el otro complementario para la otra hebra. Son de aproximadamente 20 nucleótidos, porque es la cantidad necesaria para que se unan al lugar específico de la cadena de ADN. Los cebadores usados para estas técnicas usualmente son moléculas de ADN cortas y de síntesis química, de aproximadamente veinte bases de longitud.

En la reacción en cadena de la polimerasa se usan cebadores para determinar el fragmento de ADN que será amplificado en el proceso de PCR. Los cebadores empleados son secuencias sintéticas de oligonucleótidos que son utilizadas para reconocer, por apareamiento complementario, secuencias “blanco” en ADN de plantilla (*DNA template*), consistente generalmente en ADN genómico. Comúnmente, en PCR se emplean un par de cebadores para definir los extremos del producto que se desea amplificar, y a partir de ellos la *DNA polimerasa* utilizada inicia la polimeración en dirección 5' - 3'.

9.8.- LA REGIÓN UTR EN LA EXPRESIÓN GÉNICA

En genética se denomina **UTR** (*Un-Translated Region*) a las regiones no traducidas de los genes. Se habla generalmente de un **5'-UTR** y de un **3'-UTR**, que son las dos partes no traducidas de cada gen, debido a que se encuentran colindando el marco abierto de lectura. (*Griffiths y col. 2002*).

Las regiones UTRs poseen gran importancia en la regulación de la expresión génica. Por ejemplo, existen proteínas adaptadoras que reconocen secuencias específicas, no codificantes, del 3'-UTR (*Watson, Baker, Bell y col. 2004*). Además, están implicadas en la correcta expresión espacial y temporal de los genes. En muchos RNAm se ha comprobado que las regiones 3' UTR están involucradas en la regulación de la estabilidad, localización y traducción de los mismos.

La longitud de la región 3' UTR muestra una variación considerable en los RNAm de mamíferos (desde 60-80 hasta 4000 nucleótidos), lo cual sugiere que el genoma humano ha evolucionado para incrementar el uso de mecanismos de control post-transcripcional en la expresión de genes. Se han identificado 2772 secuencias cortas de nucleótidos en 3' UTR, donde se unen los elementos reguladores del RNAm.

Estas regiones también son usadas por procesos de síntesis de proteínas, en especial a destacar la inserción de seleniocisteína durante la síntesis de selenoproteínas. El selenio es incorporado a las selenioproteínas por un mecanismo que requiere una estructura específica de la región 3'UTR del correspondiente RNAm, lo cual se ha comprobado gracias a la

experimentación con dichas regiones en las cuales se han introducido polimorfismos en su secuencia de nucleótidos afectando potencialmente a la expresión de dicho gen.

Para este proceso de inserción de selenio en las selenoproteínas las regiones 3' UTR del RNAm tienen que formar una estructura en lazo específica llamada SECIS (Selenocystein Insertion Sequence Element).

Otro aspecto importante en relación a la interacción nutriente-gen es que, dependiendo de la concentración de selenio que haya en el medio, las regiones 3' UTR de los diferentes RNAm de dichos genes van a ser más o menos activas para que se transcriba un gen u otro. Un ejemplo es el gen GPX1, muy sensible al selenio, por lo que es factible que se traduzca más en la célula a bajas concentraciones de selenio para que no haya déficit de selenoproteínas. Por el contrario, el gen GPX4 es menos sensible, por lo que es favorable que se traduzca a grandes concentraciones de selenio.

El que se traduzca un gen más que otro dependiendo de la concentración de selenio viene determinado por la habilidad de la región 3' UTR de formar estructuras (SECIS) que favorezcan la unión de proteínas SBP2, las cuales emiten la señales necesarias para el procesamiento del RNAm.

Para que cualquier nutriente como el selenio tenga una interacción con un gen específico, debe existir una regulación del RNA en la que se vean involucradas las regiones 5' y 3' UTR.

9.9.- ASPECTOS GENÉTICOS DEL SELENIO COMO NUTRIENTE

9.9.1.- REGULACION DE LA EXPRESION DE SELENOPROTEINAS

El selenio es un oligoelemento esencial que se incorpora a las proteínas como selenocisteína (SeCys), siendo el aminoácido 21. Su inserción está codificada por un codón UGA en el ARNm de la selenoproteína. La decodificación de la UGA como Secis requiere la reprogramación de la traducción, ya que normalmente se lee el codón UGA como un codón de parada. La traducción del ARNm de la selenoproteína requiere *secuencias cis* en el ARNm y

factores trans dedicados a la incorporación de la SeCys. La síntesis de las selenoproteínas es selenio-dependiente, habiendo una jerarquía en su expresión en los mamíferos cuando el selenio es limitante (Driscoll y Copeland. 2003).

La Secis está codificada por un codón UGA en el ARNm de la selenoproteína. La decodificación de la UGA como Secis requiere una reprogramación de la traducción, ya que UGA normalmente es leído como un codón de parada.

La traducción del ARNm de la selenoproteína requiere secuencias *cis* en la transcripción y factores *trans* – *acting* dedicados a la incorporación de la Sec. La síntesis de selenoproteínas es altamente dependiente de selenio, existiendo una jerarquía de expresión de selenoproteínas cuando el selenio es limitante.

La inserción de SeCys requiere una estructura del ARNm de la selenoproteína de tallo-bucle, así como un Secis - factor específico de alargamiento. En la última década, una serie de descubrimientos revelaron que los organismos eucariotas, gracias a la vía biosintética de la selenoproteína, han evolucionado varias características únicas que proporcionan un mayor nivel de complejidad y un mayor potencial para la regulación (Driscoll y Copeland. 2003)

Dado que los requerimientos nutricionales de selenio están muy relacionados con la función de las selenoproteínas, es importante entender cómo se sintetizan esta clase de proteínas. Tanto en procariontas, como en arqueobacterias y en eucariotas, la Secis es codificada por un codón UGA (Hatfield y Gladyshev. 2002). La incorporación de Sec en la proteína requiere un ARNt^{Sec} capaz de codificar el anticodón UCA (Diamond, Dudock y Hatfield. 1981; Leinfelder, Zehelein, Mandrand- Berthelot y col. 1988), ya que, este codón generalmente se identifica como señal de terminación de la síntesis de proteica, de modo que, ¿cómo hace frente un ribosoma al codón que codifica dos funciones diferentes?. Existen tres aspectos únicos de la traducción del ARNm de selenoproteínas que lo diferencian de la síntesis de proteínas normales:

1) La SeCys es un aminoácido sintetizado por un ARNt^{Sec}

2) La decodificación de UGA como secuencia de inserción de SeCys depende de las *secuencias en cis* en el ARNm de la selenoproteína.

3) Debido a las inusuales propiedades estructurales que previenen el reconocimiento estándar de factores de elongación, el Sec-tRNA^{Sec} se introduce en el ribosoma, interviniendo además para ello *factores trans-acción* de las proteínas.

Estudios genéticos y bioquímicos han identificado tres productos de los genes en *Escherichia coli* que son esenciales para la síntesis de la Secis-tRNA^{Sec} (Bock. 2001; Bock. 2000). El gen tRNA^{Sec} SelC codifica un ARNt que es inicialmente aminoacetilado con serina por la vía normal de serina sintetasa (Leinfelder, Zehelein, Mandrand- Berthelot y col. 1988), a continuación, este residuo de serina se emplea como “la columna vertebral” de carbono para la síntesis, de tal modo que el producto del gen del Sela, sintetiza la Secis, a través de la conversión del Ser-tRNA^{Sec} a Sec-tRNA^{Sec} en una reacción en dos pasos que implica la pérdida de agua y la adición de selenio (Forchhammer y Bock. 1991; Forchhammer, Leinfelder, Boesmiller y col. 1991). Por otro lado, el donante selenofosfatado para esta reacción es sintetizado por el gen SelD (Lacourciere. 2001; Leinfelder, Forchhammer, Veprek y col. 1990).

9.9.2.- MECANISMO DE INSERCIÓN DE SeCys EN CÉLULAS EUCARIOTAS

La inserción de SeCys en las células eucariotas requiere de una estructura de tallo-bucle en el ARNm de selenoproteínas, así como un factor de elongación específico.

9.9.2.1.- Secuencias Cis-acting. El elemento SECIS

El elemento SeCys en eucariotas se encuentra en la región 3' UTR sin traducir del ARNm (9). La distancia entre el codón UGA/Sec y el elemento SECIS en el ARNm de selenoproteínas puede ser muy lejano, en algunos casos, más de 4000 nucleótidos (Buettner, Harney y Larsen. 1998). Existen varias ventajas en el hecho de que el elemento Secis se encuentre en 3'UTR en lugar de en la región de codificación. Una de ellas es que la evolución de la secuencia de aminoácidos no está limitada por la necesidad de mantener una estructura de tallo-bucle en el ARNm. Por otro lado, en los eucariotas no es necesario desplegar y replegar la estructura tallo-bucle SECIS durante la traducción. Y finalmente, el elemento Secis puede ser capaz de regular la reacción de traducción con más flexibilidad por parte de la 3'UTR, como es

9.9.2.2.- Proteínas Trans-acting

Proteína de unión Secis (Secis Binding Protein 2 "SBP2"):

La SBP2 es una proteína que contiene un motivo de unión al ARN. El punto de unión de la SBP2 se encuentra centrado en ambos lados del núcleo Secis, con una protección adicional a lo largo del extremo 5' en la parte inferior de la hélice (Fletcher, Copeland y Driscoll. 2000). Determinados experimentos de inmunodepleción establecieron que la SBP2 es esencial para la incorporación SeCys en estudios *in vitro* (Copeland, Fletcher, Carlson y col. 2000), siendo muy probable que la SBP2 sea necesaria para la síntesis de selenoproteínas *in vivo*, aunque esta hipótesis aún no se ha demostrado. La SBP2 está ampliamente expresada, presentando los niveles más altos a nivel testicular, probablemente porque este tejido necesita sintetizar grandes cantidades de selenoproteína GPx como parte estructural de espermatozoides maduros (Copeland, Fletcher, Carlson y col. 2000).

Aunque se ha demostrado que la SBP2 interactúa con los ribosomas *in vitro* y en células, lo cual sugiere que SBP2 puede modificar el potencial de codificación de los ribosomas (Copeland, Stepanik y Driscoll. 2001), no hay evidencia de que la actividad de unión a ribosomas de SBP2 sea necesaria para la incorporación de Secis.

La SBP2 está claramente implicada en la sección de inserción de Secis, pero pronto se hizo evidente que esta proteína no comparte ninguna homología con factores de elongación, y no obligar a la Secis- tRNA^{Sec} *in vitro*.

El eEFSEC, un factor de elongación específico de SeCys:

A partir de un screening de bases de datos, se detectaron secuencias de inserción de SelB en arqueas. Dos laboratorios, de forma independiente, identificaron un factor de elongación específicos de mamíferos, denominado mSelB o eEFsec (Fagegaltier, Hubert, Yamada y col. 2000; Tujebajeva, Copeland, Xu y col. 2000). Al igual que el SelB, el eEFsec se une específicamente al Secis-ARNt^{Sec} *in vitro* e *in vivo*. Diversos experimentos por co-inmunoprecipitación mostraron que el eEFsec se encuentra formando un complejo con SBP2 en las células *transfectadas* (Tujebajeva, Copeland, Xu y col. 2000).

9.9.2.3.- Modelos de la sección de inserción en las células eucariotas

Se ha propuesto que en las células eucariotas, la biosíntesis de selenoproteínas envuelve a complejos como el elemento SECIS, SBP2, eEFSec, y Sec-tRNA^{Sec} (Berry, Tujebajeva, Copeland y col. 2001). Este modelo requiere de una disposición espacial del ARNm en bucle, de manera que el elemento SeCys se encuentra posicionado en la región 3'UTR y dispuesto sobre el codón UGA/Secis. Además, se sugiere que esta disposición se mantiene estable gracias a SBP2 asociados con el elemento SeCys a través de múltiples ciclos de traducción (Low, Grundner-Culemann, Harney y col. 2000), de tal modo que la inserción del SeCys -ARNt^{Sec} a los ribosomas y el eEFsec, podría inducir la inserción de otro ARNt^{Sec} acusado para el siguiente ciclo de traducción (Driscoll y Copeland. 2003).

***Capítulo III:
Sujetos y Metodología***

1.- SUJETOS Y METODOLOGIA

El estudio general se basó en un modelo de **estudio multicéntrico observacional prospectivo analítico**, con seguimiento, en los pacientes críticos, durante su estancia en UCI a lo largo de una semana de estancia, comparando con un grupo control de individuos sanos de características similares.

En el organigrama siguiente (*figura 1*), se muestran los pasos llevados a cabo desde la selección de los sujetos tanto controles como pacientes críticos, hasta la obtención de los resultados.

2.- METODOLOGIA UTILIZADA EN PERSONAS SANAS

2.1.- SUJETOS DEL ESTUDIO

2.2.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN

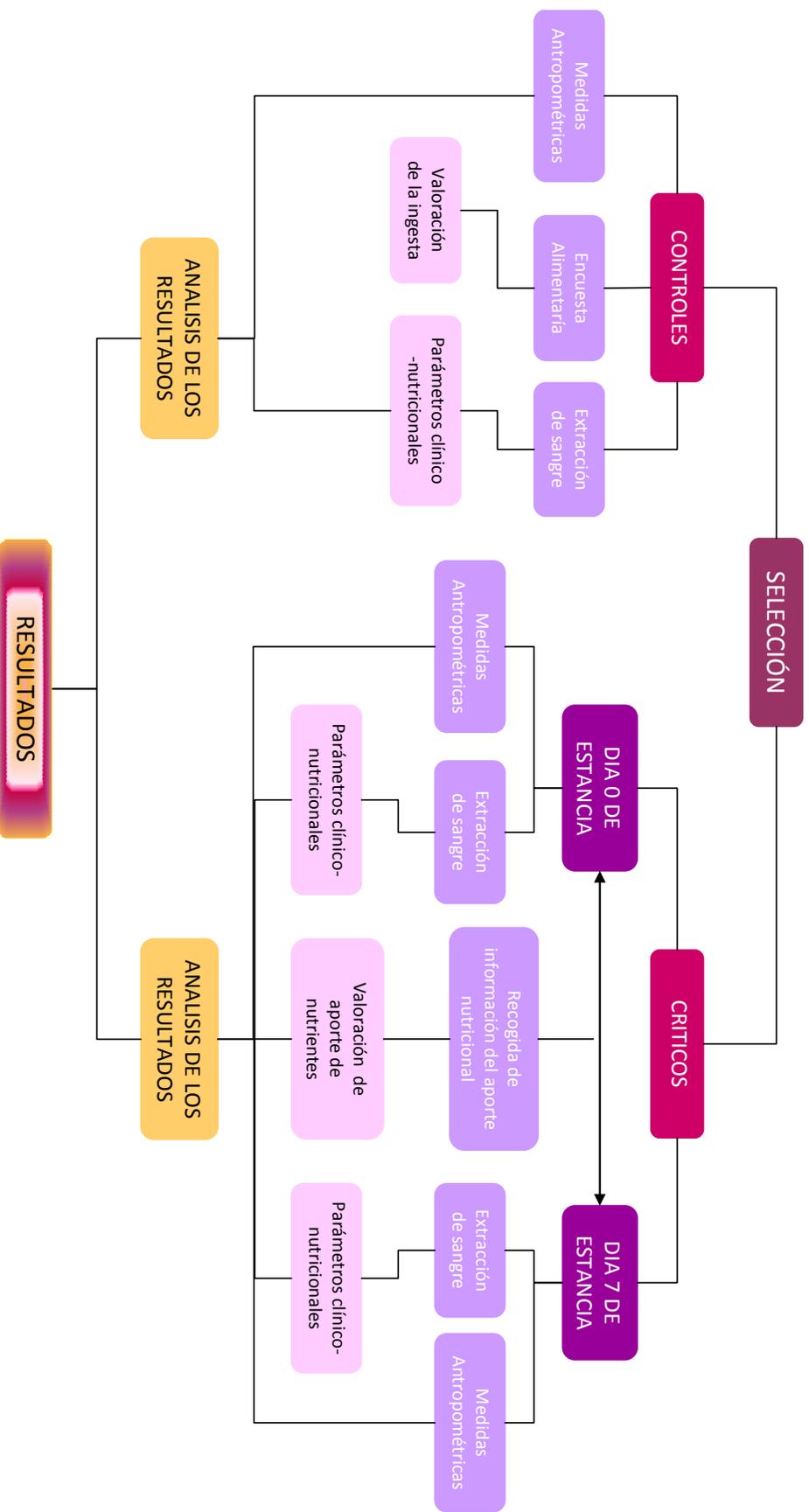
La selección de la muestra del grupo control se realizó en base a dos criterios fundamentales: personas adultas mayores de 18 años, sanas, y que no tomaran ningún tipo de suplemento nutricional.

La población de referencia seleccionada para el grupo control, estuvo constituida por un colectivo de personas sanas adultas, con edades comprendidas entre los 21 y 76 años, de los cuales 43 fueron hombres y 58 mujeres, todos pertenecientes a la provincia de Granada.

El criterio de inclusión se basó en la aceptación de los sujetos a participar en el estudio (*Anexo 5*), además de la ausencia de cualquier tipo de patología que pudiera afectar su situación nutricional, además de no consumir ningún tipo de suplemento nutricional.

Finalmente, el tamaño de la muestra seleccionada fue de 101 personas, a las que se les realizó además de una extracción de sangre, una encuesta alimentaria.

Figura 22.- Diseño del estudio



2.3.- TIPO DE MUESTREO

Se utilizó un muestreo no probabilístico consecutivo, ya que se incluyeron todos los sujetos que cumpliendo los criterios de inclusión, aceptaron participar en el estudio.

2.4.- RECOGIDA DE DATOS

Tal y como se muestra en el diagrama, a todos los sujetos participantes en el estudio se les realizó la recogida de sus datos personales, estilo de vida, etc. Además, en el momento de la cita, se les realizó una encuesta nutricional para valorar la ingesta de alimentos y nutrientes.

La valoración del estado nutricional se realizó con el empleo de tres herramientas:

- 1) Análisis y valoración de la ingesta dietética
- 2) Estudio y valoración antropométrica
- 3) Valoración de los parámetros bioquímicos

2.5.- ANÁLISIS Y VALORACIÓN DE LA INGESTA DIETÉTICA

Tal y como se ha comentado en el apartado correspondiente a los antecedentes bibliográficos, la valoración del estado nutricional a través de la ingesta cuando se trata de grupos de población, una de las herramientas más útiles son la encuesta de frecuencia e consumo junto con un recordatorio de 24, 48 o 72 horas.

En nuestro estudio se realizó una encuesta de frecuencia de consumo junto con un recordatorio de 24 horas, ambas técnicas fueron aplicadas con el fin de conocer con la mayor exactitud posible los hábitos alimentarios de los sujetos, empleando para ello álbumes fotográficos para estimar el tamaño de las raciones e ingrediente de los platos utilizados habitualmente en nuestro país.

En este punto de la entrevista, además de recoger toda la información correspondiente a los hábitos nutricionales, se recogió información relativa al estilo de vida de los individuos y los hábitos de consumo, como son la practica o no de ejercicio físico, si el sujeto es fumador, si consume alcohol, si toma algún tipo de medicamento, etc.

El software empleado para la transformación de los distintos alimentos e ingredientes a nutrientes, fue el programa *Nutriber*® (Mataix y cols, 2009) obteniendo así toda la información correspondiente al consumo calórico, de macronutrientes y de micronutrientes.

2.6.- DETERMINACIONES ANTROPOMÉTRICAS

Además de la valoración nutricional, para la realización de una adecuada valoración del estado nutricional, de determinaron medidas antropométricas básicas a todos los sujetos pertenecientes al grupo control. Dichas determinaciones antropométricas fueron:

- 1) **Talla:** mediante el empleo de un tallimetro y expresado en cm.
- 2) **Peso:** con una balanza de contrapeso y expresado en Kg.
- 3) **Pliegues cutáneos:** se realizo mediante el uso de un lipocalibre capaz de apreciar variaciones de 0,2 mm.

A partir de las determinaciones de la talla y el peso, se determinó el IMC de los sujetos, que combinado con otros datos antropométricos como la medida de los pliegues, nos proporcionara la información necesaria para la evaluación del estado nutricional, recogiendo una información mas precisa en cuanto al contenido de grasa corporal.

2.7.- TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

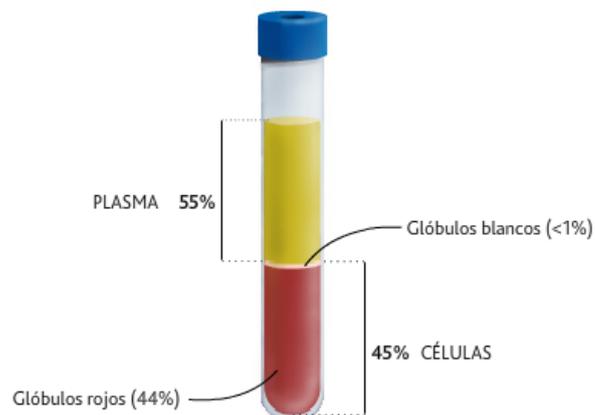
La extracción de sangre se realizó a primera hora de la mañana en ayunas mediante tubos *vacutainer* con anticoagulante para facilitar la separación del plasma de la muestra.

La sangre una vez recogida se llevo a los laboratorios de INYTA donde se realizaron alícuotas de plasma y eritrocitos mediante la siguiente técnica:

Centrifugamos el lote de tubos en centrifugas de refrigeración:

- 1) centrifugamos la sangre durante 15 min a 3000 rpm, extrayendo el **plasma** con pipeta Pásteur estéril, separando alícuotas con un volumen de 250 μ L de plasma en cada tubo Ependorff.
- 2) una vez que tenemos las alícuotas de plasma lavamos con solución salina, volvemos a centrifugar, eliminamos la solución salina sobrenadante y extraemos los **eritrocitos**, de los cuales también realizaremos alícuotas de 250 μ L en tubos Ependorff.
- 3) almacenamos a -80° C las diferentes alícuotas hasta el posterior análisis.

Todo el proceso lo realizamos en condiciones de oscuridad y en frío, con la máxima rapidez para evitar oxidación de las muestras.



2.8.- ANALISIS BIOQUÍMICO

Se realizaron determinaciones bioquímicas de los niveles plasmáticos de:

- *Proteínas totales*
- *Albúmina*
- *Prealbúmina*
- *Transferida*
- *Ferritina*
- *Colesterol total*
- *Colesterol HDL*
- *Colesterol LDL*
- *Glucosa*
- *Homocisteína*

3.- METODOLOGIA UTILIZADA EN PACIENTES CRÍTICOS

3.1.- DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio general se basó en un modelo de estudio multicéntrico observacional prospectivo analítico, con seguimiento en los pacientes críticos, durante la estancia en UCI a lo largo de una semana.

3.2.- SUJETOS DEL ESTUDIO

Los pacientes pertenecían a las Unidades de Cuidados Intensivos de los Hospitales del área de Granada: De Granada Capital con la Participación del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Hospital Universitario San Cecilio y Hospital Traumatológico. Hospital General de Baza y Hospital Santa Ana de Motril.

3.3.- CRITERIOS DE INCLUSION

Para la recogida de muestras de los pacientes ingresados en el Hospital en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) los pacientes debían cumplir los siguientes criterios mínimos de inclusión:

- Ser pacientes mayores de 18 años
- Cumplir un APACHE con puntuación mínima de 15*
- Estar en presencia de SIRS**
- Ser alimentado mediante nutrición artificial, ya sea Nutrición Enteral o Nutrición Parenteral
- Los pacientes se debían encontrar en situaciones clínicas les impidieran alimentarse por vía oral, como es el caso de la presencia de alteraciones neurológicas (accidentes cerebrovasculares, lesiones degenerativas neurológicas, tumores del sistema nervioso central, infecciones...) lesiones musculares o esqueléticas (distrofia muscular, miastenia grave...)
- Estar en situaciones que afectan a la boca o el tracto digestivo alto que impidan parcial o totalmente o contraindiquen el paso de nutrientes por esta 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)
- La permanencia en la Unidad de Cuidados Intensivos debía de ser al menos de 7 días para el estudio de la evolución nutricional a lo largo de la estancia en la unidad.

Únicamente se incluyeron en el estudio aquellos pacientes de los que se obtuvo el consentimiento informado para la *“Evaluación del estado nutricional y Estrés oxidativo”* por parte del paciente o del familiar, teniendo en cuenta que este estudio posee aprobación del *Comité Ético y del Comité de Investigación del Centro de ejecución* del mismo. (Anexos 6 y 7)

Los pacientes no se podían encontrar en situación de aislamiento (por enfermedades altamente contagiosas), ni presentar alergias, cáncer, SIDA... al ser situaciones patológicas que alteran gravemente los parámetros bioquímicos.

* El método APACHE (*Acute Physiology And Chronic Health Evaluation*) surge en 1981 como un sistema que permite cuantificar la gravedad de la enfermedad a través de la valoración de 34 variables fisiológicas, que expresan la intensidad de la enfermedad y, por tanto, el estado clínico del paciente.

** Para poder decir que el paciente presenta SIRS el paciente debe de cumplir al menos dos de los requisitos descritos a continuación:

- Temperatura superior a 38 °C o menor a 36 °C.
- Frecuencia cardiaca mayor a 90 latidos / minuto.
- Frecuencia respiratoria mayor a 20 rpm o PCO₂ menor a 32 mmHg.
- Recuento de leucocitos mayor a 12000 mm o menor a 4000.

3.4.- TIPO DE MUESTREO

Para la obtención de las muestras se utilizó un muestreo no probabilístico consecutivo, ya que se incluyeron todos los pacientes que, cumpliendo los criterios de aceptación 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, repitiendo este proceso a los 7 días del ingreso.

3.5.- RECOGIDA DE DATOS

Tal y como se mostró en el diagrama, a todos los pacientes incluidos en el estudio, tanto en el momento de inclusión en el estudio (previo a la intervención nutricional) como al séptimo día de seguimiento, se les recogió toda la información correspondiente a:

- 1) Momento de inclusión en el estudio se realizaron 2 medidas puntuales
 - a. Se realizó extracción de sangre para la determinación de los parámetros bioquímicos
 - b. Medidas antropométricas

- 2) A los siete días de estancia en UCI, se volvieron a realizar:
 - a. extracción de sangre para la determinación de los parámetros bioquímicos
 - b. Medidas antropométricas

- 3) La evaluación de ingesta de nutrientes se realizó de manera continuada a lo largo de la estancia en UCI, durante el tiempo que el paciente se encontraba dentro del periodo de estudio (7 días).

3.6.- VALORACION DE LA INGESTA DE NUTRIENTES

Uno de los requisitos fundamentales para la inclusión en el estudio de los pacientes, fue el de ser alimentados mediante un soporte de nutrición artificial. Desde el momento de la inclusión de los pacientes en el estudio y durante un periodo de tiempo de 7 días, realizaremos un seguimiento y registro diario de la cantidad y tipo de soporte nutricional administrado al paciente, de tal modo que realizaremos una evaluación del aporte de nutrientes realizado.

La elección del soporte nutricional en los pacientes ingresados se realizó siguiendo el protocolo utilizado en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital Virgen de la Nieves (Granada) Diseñado por la Unidad de Nutrición del mismo hospital.

Desde el momento en el que se realizó la inclusión de un paciente en el estudio, se realizó de cada uno de ellos un seguimiento observacional durante hasta el séptimo día de estancia. Durante todo este tiempo se recogió a diario toda la información referente al aporte nutricional, de modo que no solo se registraba el tipo de nutrición (enteral o parenteral) si no también, el volumen, la velocidad de administración, el uso o no de suplementos nutricionales,

el tipo o tipos y cantidad de los sueros administrados (suero fisiológico, glucosado...) o cualquier otro complemento o medicamento que pudiera influir en la valoración del aporte de nutrientes.

La selección del soporte nutricional, se realiza de acuerdo a un gran número de variables, ya que existen formulas especiales comercialmente diseñadas en función de:

- Los distintos grados de estrés
- La presencia de estados patológicos específicos previos al ingreso (diabetes, hipertensión...)
- La patología general
- Estado del tracto digestivo
- Otros

Tanto los soportes nutricionales como cualquier tipo de complemento (medicamento o nutricional) poseen una composición detallada de todos los nutrientes, de modo que con esta información y conociendo el volumen de formula administrada a cada paciente se calculó la ingesta real diaria de cada uno de los nutrientes así como de la energía.

La nutrición artificial (enteral o parenteral) es un método adecuado de alimentación cuando los enfermos no pueden, no quieren o no deben alimentarse por vía oral, de tal modo que la imposibilidad de utilizar el aparato digestivo será la única indicación de la nutrición parenteral, y la única contraindicación de la nutrición enteral, en el caso de los pacientes críticos, el uso complementario de la nutrición enteral y parenteral pueden ser beneficiosa y por lo tanto recomendable.

De tal modo que una vez realizada la valoración del paciente, y elección de tipo de nutrición (enteral, parenteral o mixta), la selección de una formula u otra se realizó principalmente en función de variables:

- 1) Los requerimientos energéticos
- 2) El grado de hipermetabolismo (nivel de estrés)
- 3) Estado nutricional previo

1) **Calculo de los requerimientos energéticos:** Para su determinación se podían seguir dos vías distintas, una mediante la realización del calculo del gasto energético, o bien empleando como referencia los limites establecidos en las recomendaciones de la ESPEN:

- Durante la fase aguda de la enfermedad critica, no se deben exceder de las 20 - 25 Kcal/Kg/día.
- Durante la fase de recuperación anabólica, el objetivo se estableció entre 25 – 30 Kcal/Kg/día.
- En el caso de pacientes con desnutrición severa el objetivo nutricional sera el de un aporte >30 Kcal/Kg/día.

2) **El grado de hipermetabolismo (nivel de estrés):** El grado de estrés metabólico se determinó en función de cinco parámetros, dentro de los cuales se establecieron distintos niveles de gravedad, tal y como se indica en la tabla.

Tabla 33: Valoración y clasificación del grado de estrés

Grado de Estrés	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Situación Clínica	Ayuno	Cirugía mayor	Politraumatismo	Sepsis
Nitrógeno ureico (gr/día)	< 5	5 – 10	10 – 15	15 - 20
Glucemia (mg/día)	100 ± 20	150 ± 25	200 ± 25	250 ± 50
Resistencia a la insulina	NO	NO	NO/SI	SI
Índice de consumo de O₂ (ml/mn.m²)	90 ± 10	130 ± 10	140 ± 10	160 ± 10

Recogido de: Protocolo para Nutrición Parenteral, Hospital Virgen de la Nieves, 2006

3) **Estado nutricional previo:** Esta valoración se debe se realizar en el momento del ingreso del paciente en la unidad de cuidados intensivos, en la medida de lo posible es preferible que cada persona sea comparada a sus propios valores y no con unos valores estándar de referencia, por este motivo, los métodos empleados mas representativos fueron los siguientes:

- Peso real comparado con el peso ideal
- Porcentaje de pérdida de peso
- Peso actual, habitual e ideal
- Circunferencia de la muñeca
- Determinación de la complexión
- Circunferencia muscular del brazo
- Determinación del pliegue tricipital
- Índice de Masa Corporal (IMC)

En el caso de la **nutrición enteral**, la elección de la fórmula se realiza principalmente en base a dos aspectos:

- 1) Realización de una revisión de las distintas formulas de nutrición enteral, estudiando de cada una de ellas, tanto la composición y proporción tanto de los macronutrientes como de los micronutrientes, seleccionando la fórmula mas adecuada según la patología del paciente (poliméricas, oligoméricas, especiales...).
- 2) Estudiar la existencia de incompatibilidades entre la administración de la alimentación por vía enteral con la vía de administración de medicamentos.

En el caso de la **nutrición parenteral**, la selección de la dieta, se realizó en función del grado de estrés y el peso del paciente, tal y como se refleja en la tabla (en el caso de las formulas elaboradas por el servicio de farmacia del hospital).

Tabla 34.- Selección de la dieta en función del peso del paciente y el grado de estrés

PESO (Kg)	GRADO DE ESTRES			
	1	2	3	4
40 – 50	I	I	III	III
51 – 60	I	IV	IV	V
61 – 70	IV	IV	V	V - VI
71 - 80	IV	V	VI	VI

Recogido de: Protocolo para Nutrición Parenteral, Hospital Virgen de la Nieves, 2006

Asimismo, en el caso de la Nutrición Parenteral, selección de la vía de administración (periférica o central) se realizó en función de la osmolaridad de la fórmula, de tal modo que:

- **Vía central:** subclavia, yugular interna o femoral para pacientes con necesidades nutricionales que requieren concentraciones superiores a 800 mOsm/L.
- **Vía periférica:** brazo (cubital o radial) o antebrazo (basílica o cefálica) para pacientes con necesidades nutricionales que requieren concentraciones superiores a 800 mOsm/L,

En base a los puntos anteriores, las fórmulas y suplementos que se administraron a los pacientes, y de los que se ha realizado la valoración del aporte nutricional se describen en la *Tabla 35*

3.7.- TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

En el caso de los pacientes críticos, la muestra se recogió según el protocolo del hospital, preservando en todo momento al paciente de cualquier tipo e invasión extraordinaria a la indicada por el médico intensivista y previo consentimiento informado. En todos los casos, la muestra de sangre se extrajo por personal cualificado y autorizado.

Al igual que en el grupo control se tomaron muestras de sangre venosa recogida en tubos de vacío (*Venoject*®) de los cuales se procedió a la separación tanto de plasma como de

eritrocitos, dividido en alícuotas que se emplearon para su análisis en el Hospital Virgen de las Nieves en el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada.

Tabla 35.- Formulas y suplementos administrados a los pacientes durante su estancia en UCI

Nutrición Parenteral	Nutrición Enteral
<i>Kabiben periférico</i>	<i>Glucerna Select</i>
<i>Structokabiben</i>	<i>Pulmocare</i>
<i>Formula III*</i>	<i>NEPRO</i>
<i>Formula IV*</i>	<i>Oxepa</i>
<i>Formula V*</i>	<i>Peptisorb</i>
<i>Formula VII*</i>	<i>Diason</i>
<i>Complemento polimineral Addamel</i>	<i>Osmolite</i>
<i>Complemento polivitamínico Cernevit</i>	<i>Novasource Diabet</i>
Volumen	
<i>Suero Glucosado 5%</i>	
<i>Suero Fisiológico</i>	
<i>Suero Glucosalino</i>	

**realizada en la farmacia del hospital*

3.8.- ANALISIS BIOQUIMICO

En cuanto al análisis bioquímico de los pacientes críticos, no solo se determinaron los parámetros relacionados con el estado nutricional, si no que además se determinaron numerosas variables asociadas tanto a la situación antioxidante de los pacientes, así como al estado inflamatorio de los mismos

3.8.1.- DETERMINACIONES BIOQUIMICAS

3.8.1.1.- Poder Antioxidante Total (PAO)

La determinación del Poder Antioxidante Total (PAO) se realizó mediante una medida indirecta colorimétrica, en la que se evaluó la capacidad de los antioxidantes como sustrato en la reacción de reducción del Cu^{2+} a Cu^{+} .

En esta reacción se pusieron en contacto todas las muestras con una solución de Cu^{2+} , de tal modo que ante la presencia de antioxidantes, estos realizaran una reducción de Cu^{2+} a Cu^+ , dicha reducción producirá una reacción colorimétrica que será posteriormente evaluada mediante la medición de la absorbancia a 490 nm, evaluando de este modo la capacidad antioxidante de la muestra, evaluando no solo moléculas antioxidantes hidrófilos como la Vitamina C o glutatión, si no también, moléculas hidrófobas como la Vitamina E, entre otras.

Para el análisis realizamos dos pasos previos para la preparación de la muestra y reactivos de la siguiente manera:

- Por un lado, antes de comenzar el procedimiento, se realizó una dilución previa de la muestra.

- Y paralelamente se procede a la preparación de la mezcla para el análisis tanto de las muestra como del estándar necesario para la posterior elaboración de la curva patrón.

- Una vez preparados tanto las muestras como los reactivos, el procedimiento de análisis comprendió cuatro puntos:



1) Se montó la placa de 96 pocillos con las muestras por duplicado, el blanco y los estándares para la confección de la curva patrón con 200 μL de mezcla en cada pocillo y posterior lectura a 490 nm.

2) Una vez realizada esa primera lectura, se añadieron 50 μL de solución de Cu^{2+} a cada pocillo e incubamos durante 3 minutos.

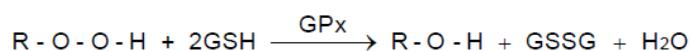
3) transcurridos esos 3 minutos, se procedió a una segunda lectura de la placa a 490 nm

4) Por ultimo, una vez realizada esa segunda lectura, se añadieron es este punto 50 μ L de Solución de Parada (Stop Solution) realizando una nueva lectura a 490 nm lo mas rápidamente posible.

3.8.1.2.- Glutathion Peroxidasa (GPx)

La Glutathion peroxidasa celular es un miembro de una familia de enzimas glutathion peroxidases cuya función principal es la de desintoxicar peróxidos en las células, desempeñando un papel fundamental en la protección de la célula frente al daño de los radicales libres, en particular de la peroxidación lipídica.

Las enzimas glutathion peroxidasa cataliza la reducción de H_2O_2 a los peróxidos orgánicos y agua (ROOH) a los alcoholes estables correspondientes (ROH) utilizando glutathion (GSH) como fuente de equivalentes de reducción:



El método de análisis de la actividad de la enzima se realizo de un modo indirecto a partir del oxidado (GSSG), producido con la reducción de un peróxido orgánico por c-GPx, que es reciclado a estado reducido por la enzima glutathion reductasa (GR), de modo que debido a la oxidación de NADPH a $NADP^+$ se produce una disminución en la absorbancia a 340 nm lo cual nos proporciono un medio de espectrofotometría para supervisar la actividad de la enzima glutathion peroxidasa:



De tal modo que la tasa de disminución de la absorbancia A_{340} será directamente proporcional a la actividad de GPx en la muestra.

La realización del ensayo se realizó teniendo en cuenta el método de Paglia y Valentine (1967), modificado por Lawrence y Burk (1976), según los pasos descritos a continuación:

- 1) Antes de comenzar el procedimiento, se encendió el espectrofotómetro, y se ajusto para medir la absorbencia a 340 nm, estableciendo además una temperatura adecuada para la medida (entre 23 - 25 ° C).
- 2) Antes de comenzar el ensayo, se realizo una dilución previa de la muestra en el tampón, realizando una dilución 1/10, de modo que para una muestra 15 μL se adicionaron 135 μL de buffer
- 3) A continuación, se pipetearon los siguientes reactivos en cubetas:
 - 350 μL de tampón de ensayo
 - 350 μL de reactivo NADPH
 - 70 μL de muestra
- 4) Una vez finalizada cada una de las mezclas, procedemos a montar la placa con cada una de las muestras por duplicado, además del blanco y los estándares necesarios par la curva patrón, para la posterior lectura por espectrofotometría.
- 5) Por ultimo, antes de realizar la medida, se añadieron a cada uno de los pocillos 350 μL de diluir terc-butyl hidroperóxido, mezclando cuidadosamente mediante pipeteo arriba y abajo dos veces, evitando la formación de burbujas, ya que pueden alterar la lectura.
- 6) Comenzamos la lectura y realizando un registro de la misma a A_{340} durante tres minuto.

3.8.1.3.- Selenoproteína P1 (SEP P1)

La determinación de Selenoproteína P se realizó mediante la técnica de inmunoensayo enzimático in vitro para detección de Selenoproteína P1 (SEP-P1) humana en plasma, según el método de Hollenbach y col. (Hollenbach, Morgenthaler, Struck y col. 2008)

Este método de inmunoensayo se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, puede ser medido espectrofotométricamente.

El procedimiento se realizó sobre una placa de 96 pocillos sobre la que se fijan los anticuerpos de interés, de tal modo que al añadir la muestra que contiene el antígeno complementario se produce una unión que se puede detectar mediante la adición de un segundo anticuerpo contra el mismo antígeno, éste marcado con una enzima que al añadirle un sustrato se hidroliza dando una reacción de color, siendo la intensidad del color directamente proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra analizada.

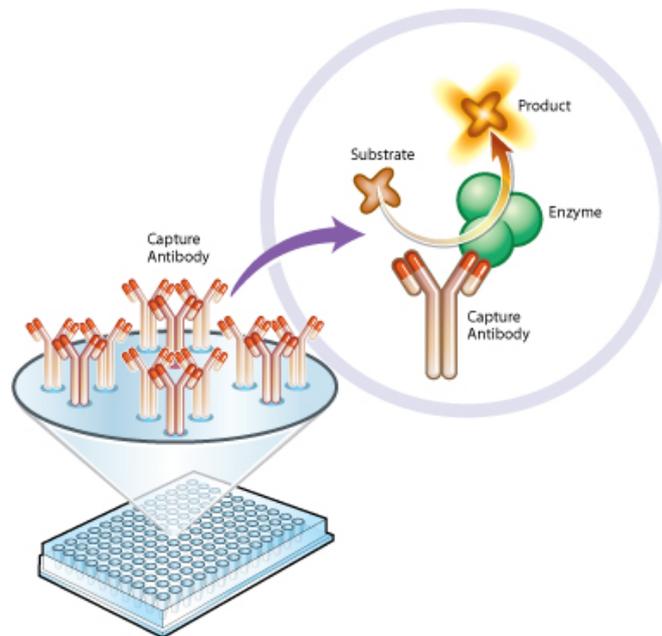


Figura 23.- técnica de inmunoensayo enzimático in vitro

El procedimiento de análisis comprendió principalmente los siguientes pasos:

- Antes de comenzar con el protocolo se realizó una dilución previa de la muestra hasta una concentración 1:500.

Además de preparar las diluciones del reactivo de Standard para la realización de la curva patrón.

- Una vez preparadas las diluciones se procedió del modo siguiente:

1) En una placa de 96 pocillos se añadieron 100 μ L de cada una de las diluciones preparadas anteriormente a cada uno de los pocillos de la placa (muestras, estándar y blanco), cubriendo con un sellador de placa al finalizar este paso, para seguidamente incubar durante 2 horas a 37 °C.

2) Una vez finalizada la incubación, se retiró el líquido sin lavar y se añadieron 100 μ L del primer reactivo de detección a cada uno de los pocillos, volviendo a sellar la placa e incubando esta vez 1 hora a 37°C.

3) Al finalizar la incubación, se aspiró la solución de los pocillos y lavamos 3 veces con Solución de Lavado dejando reposar entre cada uno de los lavados 1 – 2 minutos.

4) A continuación se añadieron 100 μ L del segundo reactivo de detección a cada uno de los pocillos, volviendo a sellar la placa e incubando esta vez 30 minutos a 37°C.

5) Pasados estos 30 minutos, se repitió la aspiración y lavado de la solución, del mismo modo que en el paso anterior, pero esta vez 5 veces, también con Solución de Lavado dejando reposar de nuevo entre 1 – 2 minutos entre cada lavado.

6) Tras el último lavado, se procedió a la adición de 90 μ L de Solución de Sustrato a cada pocillo de la placa, cubriendo de nuevo con sellador e incubando 15 –

25 minutos a 37°C. En este punto fue especialmente importante proteger el material lo máximo posible de la luz, ya que es en este momento donde se realizó la reacción colorimétrica y el reactivo empleado era muy fotosensible.

7) Finalmente tras estos minutos de incubación para la producción de la reacción colorimétrica se añadieron 50 µL de Solución de Parada a cada uno de los pocillos, mezclando homogéneamente (sin producir burbujas) para medir inmediatamente a 450 nm.

3.8.1.4.- Mineralización por vía húmeda

Para la realización de una mineralización por este método, se introdujeron en un vaso de precipitado 0,5 mL de muestra (eritrocitos o plasma) tapándolo con vidrio de reloj invertido. Una vez situados los vasos en el baño de arena, se añadió ácido nítrico hasta el cese de emisión de vapores nitrosos (rojos).

Posteriormente se añadieron entre 1 – 2 mL de ácido perclórico hasta que se produjo una emisión de vapores blancos, momento en el cual se finaliza el proceso de mineralización.

Una vez frías las disoluciones se les añadió 1 mL de ácido clorhídrico 5 N, llevando la solución de cada una de las muestras a un matraz de cristal, a continuación, se enraso con agua bidestilada hasta obtener un volumen final de 25 mL, sin filtrar.

Finalmente se envasaron y codificaron las disoluciones, almacenándolas a temperatura ambiente hasta el momento de determinación del mineral (selenio).

3.8.1.5.- Determinación de Selenio

La de Determinación de Selenio se realizó mediante **Espectrometría de plasma por acoplamiento inductivo con detección por espectrometría de masas (ICP-MS)**

La espectrometría de masas con inducción de plasma se basa en el uso de un plasma de argón como fuente de ionización de los elementos de la muestra, siendo separados y detectados los distintos iones mediante un espectrómetro de masas de alta detectabilidad.

El procedimiento ICP-MS combina la eficiencia en la descomposición de las muestras para formar iones con la potencia de la espectrometría de masas para distinguir iones de masas diferentes, ofreciendo una gran detectabilidad en la determinación de selenio y otros elementos, pudiendo incluso realizar estudios de especiación.

Para la determinación de selenio en sangre existe un método sencillo que se describe a continuación: las muestras de sangre se diluyen 1:10 (v/v) con un diluyente que contiene Tritón X-100 y ácido nítrico. Los patrones se acondicionan para tener una concentración de selenio similar a la de la sangre. La corrección de interferencias no se considera necesaria.

3.8.1.6.- Búsqueda de la Secuencia Genética de las Proteínas seleccionadas

Para la realización de nuestro trabajo de investigación, se seleccionaron dos genes de los que posteriormente se realizara el estudio genético. La búsqueda de los genes de las proteínas seleccionadas se realizó a mediante el enlace web del *National Center of Biotechnology information (NCBI)* en esta página buscamos los genes de las proteínas seleccionados para nuestro estudio, la enzima Glutación Peroxidasa 3 (enzima con acción antioxidante a nivel plasmático) y la Selenoproteína P (Proteína plasmática transportadora de selenio).

En esta página nos aparece toda la información de un modo muy detallado de toda la información genética, mostrando de un modo detallado la región codificante y la no codificante así como el número de exones de los que se compone.

En el caso de la secuencia genética par la Glutación Peroxidasa 3, nos indica que:

- el código de localización es el NM_002084.3
- Su definición completa es la de *Homo sapiens, Glutathione Peroxidase 3 (plasma) (GPX3), mRNA.*

- La secuencia completa del gen comprende 1 – 1779 bases
- La región codificante se encuentra entre la base 218 – 898
- Posee 5 exones:

- 1) 1 – 304
- 2) 305 – 458
- 3) 459 – 576
- 4) 577 – 676
- 5) 677 - 1761

Para la Selenoproteína P1:

- el código de localización es el NM_001085486.1
- Su definición completa es la de *Homo sapiens Selenoprotein P, plasma, 1 (SEPP1), transcript variant 2, mRNA*
- La secuencia completa del gen posee 1 – 2193 bases
- La región codificante se sitúa entre la base 130 – 1275
- Posee 6 exones:

- 1) 1 – 87
- 2) 88 – 116
- 3) 117 – 332
- 4) 333 – 545
- 5) 546 – 663
- 6) 664 - 2115

3.8.1.7.- Selección de los Cebadores o “primers”

Antes de comenzar cualquier procedimiento de selección de cebadores es necesario conocer la secuencia completa del gen que deseamos amplificar, siendo este un procedimiento que se ha explicado de un modo detallado en el apartado anterior.

De este modo, una vez conocida la secuencia genética completa empleamos una herramienta de búsqueda para los cebadores, en este caso utilizamos el enlace web del **Nacional Center of Biotechnology Information (NCBI)**, concretamente el **Primer – BLAST** (un buscador específico de cebadores).

En este punto, introduciremos la secuencia completa de nuestro gen (tanto la región codificante como la no codificante), seguidas de todas las condiciones y requisitos que deseamos que cumplan nuestros cebadores, como son:

- Selección de la especie (en nuestro caso, *Homo sapiens*)
- Temperatura media de la PCR.
- Numero de bases que queremos amplificar (150 – 200 pb, 200 – 250 pb, etc).
- Si queremos incluir más de un exón en nuestra secuencia amplificada.
- Si queremos incluir además in intrón dentro de nuestra amplificación.
- Podemos eliminar secuencias que amplifiquen algún polimorfismo.
- El tamaño que deseamos que tenga cada uno de los cebadores, pudiendo establecer tanto un mínimo, como un máximo, y el tamaño optimo.
- El porcentaje Guanina – Citosina (%GC), siendo el porcentaje idóneo alrededor de un 50% ya que aporta una mayor estabilidad.
- Las condiciones específicas de la PCR, en cuanto a las concentraciones de cationes de Na, Mg, nucleótidos, etc.

Una vez que hemos introducido todos los parámetros determinantes para la búsqueda de nuestros cebadores, al finalizar la misma, obtendremos todos los cebadores que cumplen los requisitos establecidos, generalmente se suelen obtener mas de un cebador que cumplen las características iniciales de la búsqueda, motivo por el cual, se realizo un estudio de la posible formación de estructuras secundarias del cebador, con el fin de garantizar el adecuado acoplamiento del mismo a las secuencias que deseamos amplificar, siendo muy importante que no exista ninguna formación de estructuras secundarias en la secuencia seleccionada para el cebador.

En este caso, para estudiar la formación de estructuras secundarias, en lugar de introducir la secuencia completa del gen, únicamente incluiremos la secuencia de cebador a

cebador, así como los parámetros específicos de la PCR, concretamente, de temperatura y concentración de iones de Na y Mg.

3.8.1.8.- Extracción del ARN

Para la extracción de RNA, las muestras están estabilizados en tubos de *PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)*, de modo que tras la descongelación, (de aproximadamente 30 minutos) procedemos a la extracción del material genético tal y como se describe a continuación:

- 1) Centrifugamos los tubos 10 minutos a 3000 – 5000 xg en una centrifuga con rotor basculante.
- 2) Una vez centrifugados los tubos, eliminamos el sobrenadante por decantación y posteriormente añadimos 4 mL de agua libre de RNasa (RNFW) cerrando los tubos con un nuevo tapón.
- 3) Mezclamos el agua mediante vortex hasta completa disolución, y a continuación centrifugamos de nuevo 10 minutos a 3000 – 5000 xg eliminando el sobrenadante una vez finalizada la centrifugación.
- 4) Una vez eliminado el sobrenadante, se añadieron 350 µL de *Buffer* volviendo a mezclar con vortex hasta completa disolución.
- 5) A continuación pipeteamos la muestra disuelta en un tubo de 1,5 mL, añadiendo en el mismo 300 µL de *Buffer de unión* y 40 µL de *Proteínasa K*, mezclado mediante vortex durante 5 segundos y a continuación incubamos 10 minutos a 55 °C dando un vortex de 3 segundos cada 2 minutos con el fin de alcanzar la lisis adecuada de la muestra.
- 6) Pipetear el lisado en una columna "*lila*" de *PAXgene Shedder* en un tubo de 2 mL, y seguidamente centrifugamos 3 minutos a máxima velocidad, pero sin superar 20 000xg.
- 7) Tras finalizar la centrifugación, transferimos con cuidado el sobrenadante a un nuevo tubo de 1,5 mL sin remover el *pelet* (sedimento)
- 8) Una vez transferido, añadimos 350 µL de etanol (96 – 100%) y mezclamos en vortex y después centrifugamos 1 – 2 segundos entre 500 – 1000 xg para quitar las gotas de las paredes.

- 9) Seguidamente, pipeteamos 700 μL de muestra en una nueva columna, esta vez de color "rosa" de *PAXgene Shedder* en un tubo de 2 mL, después centrifugamos 1 minuto a 8000 xg, una vez acabada la centrifugación, pasamos la columna de extracción a un nuevo tubo de 2 mL y desechamos el anterior.
- 10) En este nuevo tubo, pipeteamos la muestra restante a la columna y centrifugamos de nuevo 1 minuto a 8000 xg, repitiendo el paso anterior, cambiamos la columna a un nuevo tubo de 2 mL y desechamos el tubo con el flujo anterior
- 11) En el nuevo tubo añadimos ahora 350 μL de *Buffer de lavado* a la columna de extracción y volvemos a centrifugar 1 minuto a 8000 xg, y de nuevo, una vez acabada la centrifugación colocamos la columna en un nuevo tubo de 2 mL desechando el tubo anterior.
- 12) Realizamos una mezcla de 10 μL de Agua libre de *RNAasa* y 70 μL de *Buffer de digestión de ADN* en un tubo eppendorff de 1,5 mL mezclando suavemente con un pulso de centrifuga.
- 13) Una vez realizada la mezcla tomamos 80 μL de mezcla, que depositaremos cuidadosamente sobre la membrana (columna rosa) dejando actuar 15 minutos a una temperatura de 20 – 30°C
- 14) Transcurrido este tiempo, añadimos 350 μL de *Buffer de lavado* de nuevo a la columna, y centrifugamos tal y como hecho en pasos anteriores 1 minuto a 8000 xg, colocando otra vez la columna en un nuevo tubo de 2 mL y desechando el tubo con el filtrado.
- 15) Añadimos ahora 500 μL de *Buffer de lavado concentrado* y centrifugamos a 8000 xg esta vez durante 3 minutos.
- 16) Volvemos a desechar el tubo con el filtrado y pasamos la columna a un nuevo tubo de 2 mL, centrifugando ahora 1 minuto a 8000 xg pero si añadir nada.
- 17) Hasta el momento, todo el material genético esta retenido en la columna, de modo que para comenzar la extracción, para ello desechamos de nuevo el tubo con el flujo de la filtración, y pasamos la columna a un tubo eppendorff de 1,5 mL, añadimos ahora 50 μL de *Buffer diluido* sobre la membrana y centrifugamos de nuevo 1 minuto a 8000 xg
- 18) Tomamos el filtrado obtenido y lo redifundimos sobre la membrana, centrifugando de nuevo 1 minuto a 8000 xg

- 19) Una vez finalizado este último punto, el filtrado obtenido corresponderá al RNA extraído contenido en la muestra, y el cual procederemos a cuantificar mediante el **Nano Drop** antes de la congelación a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (método empleado para conservación de las muestras), teniendo siempre la precaución de emplear un material libre de RNAasa (tanto agua, como puntas de pipetas...).

3.8.1.9.- Obtención de ADN Complementario (ADNc)

El ARN es un compuesto muy sensible y fácilmente atacable, ya que en el ambiente, en las manos, y en prácticamente en cualquier superficie existen numerosas enzimas que destruyen estas moléculas, siendo este el principal motivo por el que decidimos obtener el ADN Complementario (ADNc) del ARN, ya que es una molécula mucho más estable.

Dicho procedimiento se realizó del modo siguiente:

- 1) Preparamos diluciones de 2 ng de ARN a 25 μL de volumen final
- 2) Preparamos la mezcla de adición de hexámeros con 4 μL y 1 μL de agua DEPC, una sustancia química que elimina Ribonucleasas (Dietilpirocarbonato).
- 3) Se añadió la mezcla de hexámeros a la dilución del ARN y se incubó durante 10 minutos a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$
- 4) Transcurrido este tiempo, atemperamos en hielo durante 5 minutos
- 5) Durante el tiempo que permanecieron las muestras en hielo preparamos una nueva mezcla que contenía:
 - 10 μL de tampón T – 5x
 - 2,5 μL de nucleótidos (NTPs)
 - 1 μL de enzima M – MLV, una enzima retrotranscriptasa del virus molones de la leucemia murina
 - 6,6 μL de agua DEPC
- 6) Una vez terminada esta última mezcla, en tubos eppendorff introducimos los volúmenes de 25 μL de la dilución del RNA, junto con los 5 μL de la mezcla de

hexámeros y los 20 μL de la mezcla de nucleótidos y enzima, obteniendo un volumen final de 50 μL , que llevaremos a un termociclador con un único ciclo de:

- 10 minutos a 22 $^{\circ}\text{C}$
- 50 minutos a 42 $^{\circ}\text{C}$
- 10 minutos a 55 $^{\circ}\text{C}$
- 15 minutos a 70 $^{\circ}\text{C}$



- 7) Al finalizar el proceso se añadieron 50 μL de agua de DEPC a cada uno de los tubos con el ADNc, por ultimo se almacenaron las muestras en frío a -20°C

3.8.1.10.- Amplificación del ADNc: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La técnica de PCR, conocida de este modo por sus siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction* una técnica de laboratorio comúnmente usada en biología molecular para generar una gran cantidad de copias de ADN, en el proceso llamado "amplificación".

De tal modo que, una vez obtenido el ADNc a partir de ARN del modo explicado en el apartado anterior, procedemos a la amplificación de este ADNc con el fin de poder realizar una posteriormente una evaluación de la expresión mediante electroforesis.

La amplificación de ADNc se realizó del modo siguiente:

- 1) Preparamos una mezcla de los reactivos, de modo que para cada una de las muestras a amplificar el volumen final preparado fue de 16 μL , dicha mezcla contenía:

- 2 μL de NTPs
- 9 μL de agua
- 4 μL de tampón T – 5x
- 0,5 μL de PPI – F (*Isoforma β de la subunidad catalítica de la proteína fosfatasa 1 en dirección 3' - 5'*)
- 0,5 μL de PPI – R (*Isoforma β de la subunidad catalítica de la proteína fosfatasa 1 en dirección 5' - 3'*)
- 0,15 μL de Phire

2) Una vez terminada la mezcla, añadimos 4 μL de muestra de ADNc a cada uno de los tubos mezclándolas cuidadosamente.

3) Llevamos los tubos a amplificación por PCR con el siguiente programa:

- 30 segundos a 98 $^{\circ}\text{C}$
 - 10 segundos a 98 $^{\circ}\text{C}$
 - 10 segundos a 60 $^{\circ}\text{C}$
 - 10 segundos a 72 $^{\circ}\text{C}$
- } n = 25 ciclos de repetición
- 5 minutos a 72 $^{\circ}\text{C}$
 - 5 minutos a 22 $^{\circ}\text{C}$



4) Una vez finalizada la PCR conservamos las muestras en refrigeración a 4 $^{\circ}\text{C}$

* La metodología explicada hasta el momento fue la utilizada para la amplificación del gen constitutivo PPI, sin embargo para la GPx 3 y SEP-P1 se usaron los cebadores específicos de estas proteínas y aunque las condiciones de la PCR fueron las mismas, el número de ciclos de repetición se aumentó hasta 35 ($n = 3$)

3.8.1.11.- Electroforesis

Una vez finalizada la amplificación de los genes mediante PCR convencional, realizamos la electroforesis de la muestra con el fin de determinar de un modo cualitativo la expresión o no de los genes amplificados, siendo las muestras con amplificación positiva a las que se les aplicara la técnica de PCR – RT.

La **electroforesis** es una técnica que consiste en la separación de moléculas según la movilidad de estas en un campo eléctrico, en nuestro caso, se utilizó como soporte un **gel de agarosa**, de modo que, en cada uno de los pocillos introduciremos 2 μ L de *tampón de carga*, este tampón estaba compuesto principalmente por 1 o 2 colorantes y glicerol (este ultimo para aumentar la densidad de la mezcla) y a continuación 5 μ L de muestra. Una vez realizada la mezcla en cada uno de los pocillos del gel, se cerró el baño y se programo a 120 v durante 50 minutos.

Al finalizar el tiempo de espera de la electroforesis se saco el gel del baño y se tiño con **Bromuro de Etidio** durante un tiempo aproximado de 15 minutos, para la correcta tinción del mismo, para posteriormente realizar la lectura cualitativa mediante fluorescencia.

3.8.1.12.- Reacción en cadena de la polimerasa a Tiempo Real (RT-PCR)

La **PCR cuantitativa** (qPCR o Q-PCR) del inglés **Quantitative Polymerase Chain Reaction** o **PCR en tiempo real**, del inglés **Real Time PCR**, es una variante de la PCR, utilizada para amplificar y cuantificar simultáneamente el producto de la amplificación del ADN.

De modo que con el fin de poder realizar una posteriormente una evaluación cuantitativa de la expresión génica mediante PCR-RT, y teniendo en cuenta que en nuestro estudio se tomó como molécula de partida el ADNc amplificado, el procedimiento seguido para el análisis se describe a continuación:

Es muy importante tener en cuenta que el volumen final en cada pocillo de la placa que montaremos para la lectura final de PCR – RT es de 20 μ L, de modo que para realizar la distintas mezclas de los reactivos tendremos que tener muy claro desde el principio el

numero de replica que vamos ha hacer de cada una de nuestras muestras, en nuestro caso, para los genes constitutivos seleccionados (PPIB y HPRT) se realizaron determinaciones de las expresión por duplicado, mientras que de los genes problema (GPx3 y SEPP1) la lectura se realizo por triplicado.

De modo que teniendo en cuenta el numero de replicas de cada muestra y el error de pipeteo, se empleo un factor de conversión con el fin de estimar el volumen inicial necesario de cada uno de los reactivos.

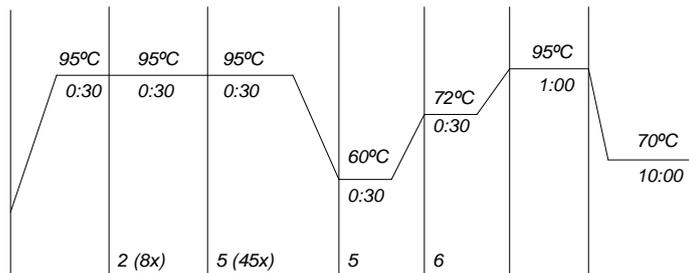
$$FC = \frac{\text{Puntos} \times \frac{\mu\text{L Mix}}{\text{punto}}}{\text{experimento} \times \mu\text{L Mix}} + 1 \text{ (por cada 10)}$$

- 1) Preparamos una mezcla que alcanzara un volumen final de 16 μL que incluirá:
 - 10 μL de kit (con el fluoróforo)
 - 0,4 μL Primer – F
 - 0,4 μL Primer - R
 - 5,2 μL agua para PCR
- 2) Una vez preparada la mezcla damos vortex durante 3 segundos con el fin de obtener una mezcla homogénea de todos los reactivos, una vez que tenemos mezclados los reactivos damos un pulso.
- 3) Antes de montar la placa prepararemos una dilución previa, de modo que si la determinación de la expresión la realizamos por duplicado mezclaremos 36 μL de mezcla junto con 9 μL de ADNc , mientras que si la placa la montamos con cada muestra por triplicado, realizáremos una mezcla de 52 μL mezcla junto con 13 μL de ADNc.
- 4) Una vez finalizada la mezcla previa al montaje de la placa, pasamos a montar la placa con 20 μL de mezcla en cada pocillo.
- 5) Cuando ya tenemos los pocillos de la placa con la mezcla, a cada uno de ellos les

- 6) añadimos 2 gotas de aceite mineral, con el fin de evitar perdidas por evaporación...
- 7) Seguidamente cubrimos la placa con un sellador transparente
- 8) Por ultimo centrifugamos la placa durante 2 minutos a 2000rpm, teniendo ya la placa preparada para la cuantificación por PCR – RT.

Para la cuantificación de la expresión en el termociclador tanto de los genes constitutivos como de los genes de referencia se empleo el software MyiQ, concretamente el protocolo “Roche protocol 45” cuyo programa se describe en el esquema inferior

Figura 24.- Representación esquemática del ciclo empleado en PCR - RT



3.8.1.13.- OTRAS DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS

Además de las determinaciones explicadas anteriormente, se determinó la albúmina, prealbúmina, proteínas totales, la bilirrubina, el ácido úrico y la homocisteína total, todas ellas mediante técnicas de inmunoensayo colorimétrico, siguiendo los procedimientos enumerados en la tabla inferior.

Tabla 36: Otras determinaciones bioquímicas realizadas

Parámetro Bioquímico	Método de análisis	Valor de Referencia
Bilirrubina	Metodo diazonico (en autoanalizador roche/hitachi mmodular p)	0 – 1 mg/100 ml
Ácido úrico	Test enzimático colorimétrico (en autoanalizador roche/hitachi mmodular p)	♂= 3 – 7 mg/dl ♀= 0,8 - 1,2 mg/dl
Proteínas totales	Test enzimático colorimétrico (en autoanalizador roche/hitachi mmodular p)	0 – 7,5 g/dl
Albúmina	Test inmunoturbidimétrico (en autoanalizador roche/hitachi mmodular p)	3,5 – 5 g/dl
Homocisteína	Inmunoensayo de polarización de fluorescencia (fpia), (imx ©homocysteine de abbott laboratorios s.a)	5 – 12 µmol/l
Pcr	Inmunonefelometria con analizador de imagen (sistemas inmunoquimicoas beckman coulter)	0,1 – 1 mg/dl

4.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Para la expresión de los datos se ha utilizado el procedimiento de *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* para 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.

5.- 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, como pueden ser 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, la 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.

Capítulo IV:
Resultados del Estudio

1.- RESULTADOS DEL ESTUDIO

1.1.- CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

El estudio se realizó a partir de un grupo control formado por 101 individuos sanos, con una edad media de 54 ± 14 , de los cuales el 43 % fueron hombres y el 57 % mujeres. Los pacientes críticos constituyeron una muestra final de 65 pacientes, con una edad media de 59 ± 11 años, de los cuales el 58 % de los pacientes fueron hombre y el 41 % mujeres. De estos 65 pacientes, por diversas causas, solo consiguieron realizar la estancia de 7 días 38 pacientes (el 58,5% de los pacientes).

Tabla 37.- Características de la muestra en individuos controles y críticos del estudio

PARAMETRO	CONTROLES	CRITICOS		VALOR DE REFERENCIA
		Punto 0	Punto 7	
Muestra	n =101	n = 65	n = 38	---
Edad	54 ± 14	59 ± 11	58 ± 10	---
Sexo (%)	♂= 42,6 (n=) ♀= 57,4 (♂= 58,5 ♀= 41,5	♂= 55,3 ♀= 44,7	---
Albúmina (g/dL)	$4,55 \pm 22,6^*$	$2,72 \pm 0,62$	$2,66 \pm 0,65$	3,5 – 5
Prealbúmina (mg/dL)	$26,8 \pm 9,59$	$12,7 \pm 6,72$	$16,95 \pm 10,7$	19,5 – 35,8
Ferritina (ng/dL)	$146,9 \pm 63,5^*$	$678,7 \pm 946,6$	$529,3 \pm 450,2$	20 – 250
Transferrina (mg/dL)	$249,8 \pm 22,1^*$	$139,3 \pm 57,1$	$148,1 \pm 51,3$	170 - 370
IMC	$24,8 \pm 3,4$ (18,3-36,3)	$27,2 \pm 8$ (15,6-52,4)	NR	18 – 24
Colesterol Total (mg/dL)	$206,2 \pm 42^*$	$108,8 \pm 38,1$	$136,5 \pm 45,9$	110 - 200
Colesterol HDL(mg/dL)	$47,2 \pm 12,1^*$	$23,5 \pm 16,2$	$20,68 \pm 10,4$	40 – 60
Colesterol LDL(mg/dL)	$125,6 \pm 33,7^*$	$43,5 \pm 29,3$	$69,1 \pm 44,6$	70 – 150
Triacilglicéridos (TAG) (mg/dL)	$141,6 \pm 59,9$	$197,0 \pm 145,1$	$196,5 \pm 100,6$	50 - 200
APACHE	---	$17,4 \pm 5,4$	$9,1 \pm 3,6^{**}$	---
SOFA	---	$9,3 \pm 3,9$	$5,8 \pm 3^{**}$	---

*Críticos vs Control $p < 0,05$

**Críticos-0 con Críticos-7, $p < 0.05$

NR= No realizado por causas intrínsecas al paciente

Con respecto a los parámetros clínicos nutricionales, nuestros resultados ponen de manifiesto que los enfermos críticos al inicio de su estancia en UCI y a lo largo de la misma, presentan valores de albúmina la mitad que los mostrados por los individuos controles ($p = 0,004$), mientras que de ferritina son cuatro veces superiores en los pacientes críticos respecto a los controles ($p = 0,034$) y la transferrina plasmática en paciente crítico al inicio del estudio, presenta diferencias significativas ($p = 0,018$) respecto al grupo control, mostrando valores inferiores durante su estancia en UCI.

En cuanto al perfil lipídico se observaron diferencias significativas entre los valores plasmáticos de Colesterol total, HDL y LDL entre el grupo y el grupo de pacientes críticos tanto al inicio como a los 7 días de estancia en UCI, mostrándose inferiores a los valores encontrados en los sujetos sanos, aunque mostrándose dentro de los valores de referencia para el Colesterol total, aunque presentan niveles a la mitad de los valores de referencia para HDL.

Las enfermedades causa de ingreso en la UCI de los pacientes incluidos en el estudio fueron principalmente de origen abdominal, cardiovascular y respiratorio (Tabla 38).

Tabla 38.- Enfermedad de ingreso en los pacientes críticos del estudio

DIAGNÓSTICO / MOTIVO DE INGRESO	INCIDENCIA (%)
Abdominal	35,4
Cardiovascular	33,8
Respiratorio	26,2
Otros	4,3

1.2.- INGESTA/APORTE DE ENERGÍA Y MACRONUTRIENTES

En la estimación de los requerimientos de energía y macronutrientes para el grupo control se emplearon las DRIs (2002) y las Recomendaciones (Mataix y col., 2009), concretamente las recomendaciones Europeas, para adultos sanos y con un IMC saludable, estableciendo una ingesta energética para hombres sanos en 2350 Kcal/día y para las mujeres 1982 Kcal/día.

Para los pacientes críticos, la estimación de la ingesta energética se realizó en base a las recomendaciones referidas por la OMS de 25 – 30 Kcal/Kg peso/día, estableciendo como referencia un peso medio de 60 Kg y 65 Kg para hombres y mujeres respectivamente, considerando en base a esto, una ingesta calórica diaria de 1820 Kcal/día en el casos de los pacientes varones y de 1680 Kcal/día para las mujeres.

El reparto de macronutrientes para los sujetos pertenecientes al grupo control se realizó siguiendo las recomendaciones oficiales para población española, de 10 – 12 % de la ingesta energética a partir de proteínas (hombres, 56 g/día y mujeres, 47 g/día), del 55 – 65 % a partir de carbohidratos (hombres entre 309 – 365 g/día y mujeres entre 261 – 309 g/día) y el 20 – 30 % aportados a través de lípidos (hombres entre 50 - 75 g/día y mujeres entre 42 – 63 g/día). En base a estas recomendaciones se observó una ingesta calórica deficiente, cubriendo tan solo el 85% de las CDR, además de observar un aporte deficiente en carbohidratos, pero no así para lípidos y proteínas.

Para los pacientes críticos el reparto de los macronutrientes es tal y como se comentó en el apartado de antecedentes correspondiente a las recomendaciones nutricionales en el paciente crítico, que se resume a continuación:

La energía: Se ha estimado un aumento sobre el gasto energético basal del 20% al 60% (Plank, Connolly y Hill, 1998).

En 1997 el Colegio Americano de Neumólogos indico que las calorías aportadas a los pacientes ingresados en UCI deberían de ser suficientes para promover una situación anabólica, realizando una recomendación de 25 Kcal/kg/día para pacientes con IMC normal.

La American Dietetic Association estiman unos requerimientos energéticos de 25 – 35 Kcal/kg/día para pacientes con IMC normal (Hise, Halterman, Gajewski y col. 2007). de tal modo que se debe de considerar el peso previo a la agresión o el peso ajustado en caso de obesidad.

INGESTA/ APORTE	CONTROLES			CRITICOS				
	M ± DS	CDR	% CDR	M ± DS	CDR	% CDR	% CDR	
Energía (Kcal/día)	♂= 1913 ± 564,0 ♀= 1684 ± 448,6 Total = 1781 ± 608,8	♂= 2350 ♀= 1982	♂= 85,0 ♀= 85,0 Total = 82,2	♂= 1470 ± 775,5 ♀= 1096 ± 500,0 Total = 1283 ± 668,9	♂= 1820 ♀= 1680	♂= 80,7 ♀= 65,2 Total = 73,3		
Proteínas (g/día)	♂=77,3 ± 30,7 ♀= 65,2 ± 21,3 Total = 69,4 ± 25,9	♂= 56 ♀= 47	♂= 138,0 ♀= 138,6 Total = 134,5	♂= 42,0 ± 39,3 ♀= 39,1 ± 14,6 Total = 40,6 ± 29,0	♂= 91 ♀= 84	♂= 46,2 ♀= 46,6 Total = 46,6		
Aminoácidos (g/día)	---	---	---	♂= 25,0 ± 16,3 ♀= 35,5 ± 4,56 Total = 26,6 ± 15,4	♂=91 ♀= 84	♂= 27,5 ♀= 42,3 Total = 30,4	♂= 100,6 ♀= 189,2 Total = 112,9	
Nitrogeno (g/día)	---	---	---	♂= 24,5 ± 63,2 ♀= 46,1 ± 70,9 Total = 31,4 ± 64,1	♂= 91 ♀= 84	♂= 26,9 ♀= 54,9 Total = 35,9		
Lípidos (g/día)	♂= 97,0 ± 28,8 ♀= 79,1 ± 29,9 Total = 84,3 ± 38,6	♂= 50 - 75 ♀= 42 - 63	♂= 155,1 ♀= 150,7 Total = 146,6	♂=61,6 ± 30,3 ♀= 43,3 ± 17,0 Total = 52,4 ± 15,7	♂= 50 ♀= 47	♂= 123 ♀= 92,0 Total = 92,5		
Carbohidratos (g/día)	♂= 221,4 ± 63,1 ♀= 190,9 ± 52,9 Total = 200,6 ± 65,6	♂= 309 - 365 ♀= 261 - 309	♂= 65,6 ♀= 67,0 Total = 64,5	♂= 65,6 ± 41,0 ♀= 77,3 ± 50,7 Total = 87,9 ± 72,8	♂= 250 ♀= 231	♂= 26,2 ♀= 33,4 Total = 30,8	♂= 77,0 ♀= 68,1	
Glucosa (g/día)	---	---	---	♂= 126,8 ± 117 ♀= 80,1 ± 70,2 Total = 104,4 ± 98,2	♂= 250 ♀= 231	♂= 50,7 ♀= 34,7 Total = 36,4	Total = 67,2	

Tabla 39.- Ingesta/aporte de energía y macronutrientes (M = media y DS= desviación estándar) y adecuación (%) a las recomendaciones (CDR)

La AGA (AGA. 2001) recomienda que el aporte energético se haga en relación al Índice de Masa Corporal según la Tabla

Tabla 40.- Recomendaciones para el aporte energético en función del IMC

Recomendaciones para el aporte energético en función del IMC (según la AGA)	
Índice de Masa Corporal (Kg/m²)	Necesidades Energeticas (Kcal/Kg/día)
< 15	35 - 40
15 – 19	30-35
20 - 29	20-25
≥ 30	15 – 20 (sin exceder >2000 Kcal /día en PC)

Recogido de Ortiz, Gómez-Tello y Serón. 2005

Las proteínas: Las proteínas del organismo se degradan y resintetizan continuamente, siendo necesario un suministro para reponer las pérdidas que se producen. Debido a que el organismo es incapaz de sintetizar nueve aminoácidos, estos deben ser aportados a través de la alimentación.

Los requerimientos de proteínas para una persona sana esta entre 0,8 – 1 g/kg/día, en pacientes en situación de estrés metabólico pueden oscilar entre 0,8 – 2 g/kg/día, y en pacientes con sepsis se estima que las proteínas a administrar se encuentran entre 1,5 - 2g/kg/día (Martindale, Shikora, Nishikawa y col. 2002; Shaw, Wildbore y Wolfe. 1987) o incluso 2,2 g/kg/día (Campbell. 1997), en los pacientes con pérdidas de nitrógeno excesivas, como en los pacientes con quemaduras graves o con heridas grandes abiertas, y además la cantidad y calidad de las proteínas pueden ser alteradas en los pacientes con insuficiencia renal aguda o hepática (Gottschlich, 2009)

El 15-20% de las calorías totales diarias deben ser dadas en forma de proteínas. Debe iniciarse con aportes de 1,2-1,5 g/kg/d, ajustándose de acuerdo con controles periódicos de balance nitrogenado y cambios en la urea plasmática.

Los Carbohidratos: La administración de hidratos de carbono debería de suministrar del 50 al 60 % de la energía total, para evitar la oxidación excesiva de glucosa y contribuir la lipogenesis, aunque en términos absolutos, no debe realizarse un aporte superior a 7 g/kg/día

de hidratos de carbono, ya que un aporte excesivo de hidratos de carbono eleva las concentraciones de glucosa en sangre (Gottschilch, 2009).

La glucosa debe ser el principal substrato calórico en el paciente crítico en general, aún cuando en algunas situaciones de agresión la fuente energética sea mixta (hidratos de carbono y grasa). Los hidratos de carbono constituyen entre el 50 y el 70% de las calorías no proteicas en el metabolismo.

Los lípidos: Los lípidos exógenos pueden utilizarse con eficacia como fuente de energía durante la sepsis. Hay dos características de los lípidos que los hacen una fuente de energía valiosa para los pacientes con sepsis (Gottschilch, 2009).

- 1) Son muy energéticos, aportando 9 Kcal/g, lo que permite administrar más calorías en poco volumen, siendo esto una gran ventaja en los pacientes con restricción de volumen
- 2) Poseen un coeficiente respiratorio inferior al de los hidratos de carbono, por lo que la oxidación de los lípidos puede reducir las concentraciones sanguíneas de dióxido de carbono.

Debemos tener en cuenta que la sepsis provoca una disminución de la capacidad celular de transportar los ácidos grasos de cadena larga a través de la membrana mitocondrial, como consecuencia de la alteración inducida por la sepsis en el transportador de la acil carnitina (Hasselmann y Reimund, 2004), mientras que los ácidos grasos de cadena media no requieren carnitina para el transporte a la mitocondria.

Dado que en el hombre no existe la desaturasa hepática, que produce las series de ácidos grasos n-3 y n-6, tanto el ácido linoleico como el linolénico son ácidos grasos esenciales. El aporte de lípidos es, por tanto, imprescindible para evitar el déficit de ácidos grasos esenciales (debe aportarse al menos un 2% de las calorías en forma de ácido linoleico y un 0,5% como ácido linolénico) y para mantener la estructura de las membranas celulares y la función de éstas en la modulación de las señales intracelulares (Ortiz, Gómez-Tello y Serón. 2005).

Los lípidos pueden alcanzar hasta el 40% del aporte calórico no proteico. Siendo la cantidad mínima de administración la de 1 g/kg/d, con el fin de evitar déficit de ácidos grasos esenciales, pero sin exceder la cantidad de 1,5 g/kg/d. El aporte de lípidos debe suspenderse si los niveles plasmáticos de triglicéridos son superiores a 400 mg/dL.

Una vez establecido el consumo diario recomendado de cada macronutriente para los pacientes críticos. Para el aporte proteico, en nuestro estudio, el rango recomendado según los descrito anteriormente, se situó entre un 0,8 – 2 g/Kg/día, es decir, entre un 15 – 20 % de la energía se realizó a partir de proteínas, empleando como valor de referencia para pacientes críticos, nivel más alto de este rango, debido al elevado estrés metabólico al que están sometidos (hombres 91 g/día y mujeres 84 g/día).

En el caso de los carbohidratos, el rango recomendado está establecido entre el 50 – 60 %, empleando el valor medio entre estos como valor de referencia para el aporte a partir de este macronutriente (hombres 250 g y mujeres 231 g).

Por último, el aporte de lípidos recomendado se establece entre un 20 – 30% seleccionando el nivel medio como valor de referencia (25%), en base a lo cual, la cantidad diaria recomendada para este nutriente es de 50 g/día para los hombres y 47 g/día para las mujeres.

Se observó que el aporte lipídico se cubrió en un 123% en base a las CDR para este nutriente, con el consiguiente aporte deficiente del otro macronutriente con propiedades energéticas, los carbohidratos, de los que se realizó un aporte deficiente, cubriendo solo el 77% de las CDR. Sin embargo, el aporte proteico sí se adecuó a las recomendaciones estimadas, cubriendo el 100,6% de las CDR.

Se observaron diferencias significativas en la ingesta de carbohidratos y de lípidos, siendo inferiores en los pacientes críticos ($p < 0,05$) con respecto al grupo control, no ocurriendo así, en el caso del aporte de energía y proteínas.

1.3.- INGESTA/APORTE DE SELENIO

1.3.1.- GRUPO CONTROL

La ingesta media de selenio en la población adulta estudiada, fue de $71,9 \pm 37,1$ $\mu\text{g}/\text{día}$, presentando el 31,5 % de los individuos ingesta deficiente en selenio. Al realizar un estudio detallado por sexo, observamos que el 28,3 % de los hombres y el 33,9 % de las mujeres presentan una ingesta de selenio inferior a las recomendaciones establecidas para adultos sanos.

Al realizar un análisis más detallado de la muestra en riesgo de deficiencia y estableciendo distintos grados, observamos que un 2,1% de la muestra posee un muy alto riesgo de deficiencia, un 8,4 % un riesgo alto, y un 21,1 % un riesgo moderado, dichos niveles de riesgo lo hemos establecido en función de la cantidad de selenio ingerido, tomando como referencia la ingesta recomendada (IR) del mineral.

Tabla 41.- Riesgo de ingesta deficiente en selenio del grupo control (GC)

Riesgo de deficiencia	Porcentaje
< 1/3 (Muy alto)	2,1 %
<2/3 (Alto)	8,4 %
> 2/3 – IR (Moderado)	21,1 %

Como ya sabemos, a la hora de realizar una valoración del estado nutricional de una población, no podemos basarnos únicamente para establecer un riesgo de deficiencia en la estimación de la ingesta del mineral, ya que esta determinación únicamente puede ser orientativa, debido a que se establece a través de una medida indirecta como es la encuesta de frecuencia de consumo de alimentos.

Por este motivo, procedemos a realizar una valoración nutricional a partir de parámetros bioquímicos, que en este caso serán los valores de selenio en plasma y en eritrocitos.

1.3.2.- POBLACIÓN CRÍTICA

Nuestros resultados (*Tabla 42*) muestran aporte de selenio insuficiente en el 72,4 % de los pacientes críticos durante los 7 días de estancia en UCI valorados, siendo el aporte de selenio deficiente en el 73,3 % de las mujeres y el 71,4 % de los hombres (*Tabla 42*). Al separar por sexo, los resultados muestran que el 70,9 % de la población masculina y el 73,3 % de las pacientes recibieron un aporte insuficiente en selenio durante su estancia en UCI (*Tabla 42*)

Al estudiar la ingesta de selenio por parte del grupo control en su totalidad (sin diferenciar por sexo), la cantidad diaria de ingesta recomendada para este mineral (55 µg/día) se cubrió en un 130,9 %, sin embargo, al realizar un estudio más detallado, estableciendo distintos rangos de riesgo de deficiencia, se observó que un 2,1 % de la población perteneciente a este grupo control, presentó un riesgo alto de sufrir deficiencia, un 8,4 % un riesgo alto, y un 21,1 % un riesgo bajo.

Sin embargo, en el caso del grupo de pacientes críticos, tan solo se cubrió el 68,7 % de las CDR de este mineral (20 – 60 µg/día), encontrando que 31 % de los pacientes, tenía un alto riesgo de sufrir deficiencia, el 13,8 % un riesgo alto y el 27,6 % bajo riesgo.

En cuanto al aporte de selenio, se observan diferencias significativamente menores en el paciente crítico que en controles ($p < 0.05$), al igual que ocurre con el aporte de carbohidratos y lípidos ($p < 0.05$).

1.3.3.- RESULTADOS EN LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

Los **niveles plasmáticos** de selenio se establecieron a partir de las referencias bibliográficas como nivel mínimo referencia de selenio en plasma, 60 µg/L, en base al cual, el 26,2% de los sujetos perteneciente al grupo control, son deficientes en selenio, aunque con una deficiencia baja. Sin embargo, en el caso de los pacientes críticos, ya en el momento de ingreso en UCI el 62,9% de los pacientes presentaron niveles de selenio plasmático deficiente, incrementándose este porcentaje a lo largo de la estancia en UCI hasta el 79,3% a los 7 días.

Como ya sabemos, el **eritrocito** actúa como órgano de reserva de selenio, estableciendo como nivel mínimo de referencia para selenio eritrocitario 90 µg/L, en base a este valor, se observó que el 26,7% de los sujetos del grupo control presentaron un estado deficiente en selenio. En el caso de los pacientes críticos en el momento de ingreso en UCI el 97, 5% de los pacientes presentaron niveles de selenio eritrocitario deficiente en selenio, concretamente, un 2,5 % de los pacientes presento un estado de deficiencia muy alto, incrementándose este porcentaje de sujetos deficientes en un 32,5% tras 7 días de estancia en UCI, pese a que el porcentaje total de sujetos deficientes a nivel eritrocitario, disminuyo en un 5%.

En cuanto a los valores de selenio obtenidos en plasma y células durante la estancia en UCI del paciente crítico, los resultados muestran una concentración menor aunque no estadísticamente significativa de selenio al final del periodo de estancia tanto en plasma como en eritrocito (de 56 a 42 µg/L en plasma, de 80 a 69 µg/L en eritrocito).

En comparación con individuos sanos, los resultados bioquímicos obtenidos a partir de nuestro estudio muestran diferencias significativamente menores en los niveles de selenio plasmático y eritrocitario del paciente crítico ($p < 0,05$), que en los individuos sanos. Igualmente, se observan diferencias significativamente superiores en los valores de homocisteína plasmática en el paciente crítico respecto al grupo control ($p = 0,000$).

Igualmente, los valores de **homocisteína** aumentan con la estancia sin llegar a obtenerse diferencias estadísticamente significativas.

En los resultados obtenidos al comparar las medias en el día cero y el siete de estancia en UCI, obtenemos diferencias significativas ($p < 0,05$) en los valores de actividad en la enzima GPx eritrocitaria, siendo superiores al final del periodo estudiado. Los valores de poder antioxidante total se encuentran empeorados durante la estancia, observándose valores menores casi estadísticamente significativos al final del estudio ($p = 0,528$).

Los resultados de nuestro estudio en cuanto a los niveles plasmáticos de vitaminas liposolubles, muestran diferencias significativas tanto en los niveles de retinol, como de Vitamina E y β - Carotenos, siendo inferiores en el paciente crítico respecto a los controles. Los

valores de Coenzima Q analizados, muestran igualmente niveles significativamente inferiores en los pacientes críticos respecto a los individuos sanos.

En cuanto a los parámetros clínicos analizados, nuestros resultados muestran diferencias significativas esperadas superiores en enzimas transaminasas así como la lipasa y amilasa en los pacientes críticos. En cuanto a parámetros de perfil lipídico, diferencias significativamente inferiores en HDL Colesterol y superiores en TAG.

Respecto a los valores plasmáticos, hemos observado que un 62,9 % de la población crítica muestra valores por debajo de los de referencia ($60 \mu\text{g Se/L}$) al inicio de la estancia en UCI (día 0), mostrando dentro de dicho porcentaje, el 31 % riesgo muy alto, el 13,8 % alto riesgo y el 27,6 % riesgo bajo de deficiencia en selenio. La evolución de dicho estatus deficiente empeoró durante la estancia en la unidad, mostrando el 97,5 % de los pacientes niveles deficientes, es decir, aumenta en un 34 % el número de enfermos deficientes en selenio. En el contenido intracelular de selenio, se han obtenido valores por debajo de los de referencia ($90 \mu\text{g Se/L}$), en el 79,4 % de los pacientes al inicio de la estancia, mostrando empeoramiento de dicha deficiencia al observar un incremento del 13,1 % de los individuos deficientes al final del estudio (92,5 %).

Tabla 42.- Ingesta/aporte, valores bioquímicos y riesgo de deficiencia de selenio

		CONTROLES			CRITICOS					
		PUNTO 0		PUNTO 7						
MEDIA ± DS	Ingesta de Selenio (µg/día)	♂ = 74,4 ± 36,7 ♀ = 70,2 ± 10,7 T = 71,9 ± 37,1 *	♂ = 93,4 ± 16,4 ♀ = 67,3 ± 10,7 T = 76,9 ± 18,1 *	♂ = 120,8 ± 21,5 ♀ = 101,7 ± 21,7 T = 108,7 ± 23,4 *	Aporte de Selenio (µg/día)	♂ = 37,69 ± 23,8 ♀ = 37,89 ± 23,3 T = 37,79 ± 23,1	♂ = 54,90 ± 13,4 ♀ = 57,59 ± 12,5 T = 56,03 ± 13,0	♂ = 78,97 ± 13,8 ♀ = 80,50 ± 16,5 T = 79,63 ± 14,9	♂ = 39,3 ± 12,3 ♀ = 44,3 ± 10,2 T = 42,28 ± 11,5 **	♂ = 69,47 ± 16,1 ♀ = 66,95 ± 14,3 T = 68,80 ± 15,2
	RDA (µg/día)	55	---	---	20 – 60	---	---	---	---	
Ingesta deficiente (% RDA)	Bajo	♂ = 15,4 ♀ = 25,0 T = 21,1			♂ = 28,6 ♀ = 26,7 T = 27,6					
	Alto	♂ = 28,3 ♀ = 33,9 T = 31,5	---	---	♂ = 70,9 ♀ = 73,3 T = 72,4	---	---	---	---	
	Muy Alto	♂ = 2,6 ♀ = 1,8 T = 2,1			♂ = 28,0 ♀ = 33,3 T = 31,0					
% RDA	♂ = 134,5 ♀ = 127,3 T = 130,9	---	---	♂ = 68,5 ♀ = 68,9 T = 68,7	---	---	---	---		
VALORES DE REFERENCIA (µg/L)		---	60 - 100	90 – 190	---	60 - 100	90 – 190	60 - 100	90 – 190	
	INDIVIDUOS DEFICIENTES (%)	---	♂ = 6,5 ♀ = 37,7 T = 26,2	♂ = 6,5 ♀ = 37,7 T = 26,2	---	♂ = 69,5 ♀ = 53,8 T = 62,9	♂ = 95,3 ♀ = 100 T = 97,5	♂ = 80,5 ♀ = 77,8 T = 79,3	♂ = 90,4 ♀ = 94,7 T = 92,5	
Riesgo de deficiencia bioquímica (% REF)	Bajo		♂ = 6,5 ♀ = 37,7 T = 26,2	♂ = 6,5 ♀ = 37,7 T = 26,2		♂ = 55,6 ♀ = 42,3 T = 50,0	♂ = 38,1 ♀ = 57,9 T = 47,5	♂ = 72,2 ♀ = 70,4 T = 71,4	♂ = 57,1 ♀ = 57,9 T = 57,5	
	Alto	---	♂ = 6,5 ♀ = 37,7 T = 26,2	♂ = 6,5 ♀ = 37,7 T = 26,2	---	♂ = 69,5 ♀ = 53,8 T = 62,9	♂ = 95,3 ♀ = 100 T = 97,5	♂ = 80,5 ♀ = 77,8 T = 79,3	♂ = 90,4 ♀ = 94,7 T = 92,5	
	Muy Alto		♂ = 0 ♀ = 0 T = 0	♂ = 0 ♀ = 0 T = 0		♂ = 0 ♀ = 0 T = 0	♂ = 4,8 ♀ = 0,0 T = 2,5	♂ = 0,0 ♀ = 0,0 T = 0,0	♂ = 0,0 ♀ = 0,0 T = 35,0	

*p < 0,05 grupo control vs paciente critico, T=Total, **p < 0,05 criticos inicio vs final

1.4.- RESULTADOS DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE

Los resultados obtenidos en los niveles de biomarcadores del estatus antioxidante estudiados (enzima antioxidante –GPx- y actividad antioxidante total –PAO-), se muestran en la *tabla 43*.

Tabla 43.- Resultados de GPx, PAO, SEPP1 y homocisteína en individuos controles y críticos.

PARÁMETRO	CRÍTICOS		CONTROL
	Punto 0	Punto 7	
GPx (U/mL)	♂= 5,81 ± 3,04 ♀= 6,95 ± 2,05* T= 6,26 ± 2,73*	♂= 6,50 ± 4,11** ♀= 10,5 ± 8,43 T= 8,37 ± 6,35	♂= 13,1 ± 18,9*** ♀= 24,7 ± 48,8*** T= 20,2 ± 40,2***
PAO (mmol/L)	♂= 2064 ± 852,4* ♀= 2377 ± 1118 T= 2201 ± 980,9*	♂= 1468 ± 663,5** ♀= 2061 ± 1317 T= 1001 ± 185,9	♂= 1651 ± 792,3 ♀= 1673 ± 881,8*** T= 168,4 ± 742,5***
SEPP1 (µg/L)	♂= 2,87 ± 0,45* ♀= 3,18 ± 0,67* T= 3,04 ± 0,59*	♂= 1,91 ± 0,57 ♀= 2,25 ± 0,56 T= 2,10 ± 0,62	3,43***
Homocisteína (µmol/L)	♂= 14,0 ± 9,30 ♀= 13,0 ± 10,8 T= 13,5 ± 9,90	♂= 13,4 ± 11,0 ♀= 15,1 ± 13,3 T= 14,2 ± 12,0	♂= 10,8 ± 2,84*** ♀= 9,12 ± 1,95*** T= 9,80 ± 2,47***

*Crítico punto 0 vs Crítico punto 7 ($p < 0,05$);

** Hombres vs Mujeres ($p < 0,05$);

*** Control vs Crítico punto 0 ($p < 0,05$)

Si analizamos los resultados en los parámetros biomarcadores de estatus antioxidante, se observan diferencias significativamente inferiores ($p < 0,05$) en los valores de actividad GPx en eritrocito, así como en los niveles plasmáticos de PAO en los enfermos críticos durante el tiempo de estancia en la UCI, en comparación a los controles ($p < 0,05$). Al observar la evolución durante la estancia en UCI, los resultados muestran una disminución de la actividad significativa ($p < 0,05$) respecto a la encontrada al inicio.

Este hecho también se ve reflejado en la determinación del poder antioxidante total (PAO), donde se observan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) tanto en la evolución de los pacientes a lo largo de los siete días de estancia en UCI, así como al comparar el estado antioxidante de la población control con respecto a los pacientes críticos al ingreso en UCI.

1.5.- RESULTADOS DE SELENOPROTEÍNA P

Los resultados obtenidos de SEEP1 en los pacientes al ingreso en UCI, así como la evolución de sus niveles durante la estancia, y el porcentaje de individuos en deficiencia de éste biomarcador, se muestran en la *tabla 44*

Respecto a los niveles de SEPP1 encontrados en los pacientes críticos del estudio, se observan valores medios de $3,04 \pm 0,60 \mu\text{g/L}$ de SEPP1 al inicio del estudio, y $2,10 \pm 0,58 \mu\text{g/L}$ al final del estudio. Teniendo en cuenta el trabajo (Combs, Watts, Jackson y col. 2011), se establecieron los valores de referencia para población sana en $3,43 \mu\text{g/L}$.

Dichos resultados llevan a que un total del 77,3 % de los pacientes presenten una deficiencia de esta proteína dependiente de selenio en el momento del ingreso en UCI, siendo el 4,5 % (un individuo) altamente deficiente, evolucionando de manera que, al finalizar el estudio, el número de pacientes deficientes en SEEP1 aumenta hasta alcanzar al 100 % de los individuos, de los que el 59,1 % es muy deficiente en ésta proteína (Tabla).

Tabla 43.- Riesgo de deficiencia de SEEP1 en pacientes críticos.

SEPP1 plasmática		Paciente Crítico punto 0 (% individuos)		Paciente Crítico punto 7 (% individuos)	
No Deficientes		22,8		0	
Deficientes (Valor de referencia = $3,43 \mu\text{g/L}$)	Bajo Riesgo de deficiencia	77,2	4,5	100	59,1
	Alto Riesgo de deficiencia		72,2		40,9

1.6.- RESULTADOS DE EXPRESIÓN GÉNICA

Para la realización de nuestro trabajo de investigación se seleccionaron los genes correspondientes a dos selenoproteínas *Glutation Peroxidasa 3 (GPx3)* (enzima con actividad antioxidante a nivel plasmático) y *Selenoproteína P1* (Selenoproteína transportadora de

selenio en plasma). La búsqueda de los genes de estas proteínas se realizó mediante el enlace web *National Center of Biotechnology information (NCBI)*, en el que se buscaron las secuencias génicas completas. (figura 25 y figura 26)

Para la secuencia genética par la Glutati3n Peroxidasa 3, nos indica que:

- el c3digo de localizaci3n es el NM_002084.3
- Su definici3n completa es la de *Homo sapiens, Glutathione Peroxidase 3 (plasma) (GPX3), mRNA*.
- La secuencia completa del gen comprende 1 – 1779 bases
- La regi3n codificante se encuentra entre la base 218 – 898
- Posee 5 exones:

- 1) 1 – 304
- 2) 305 – 458
- 3) 459 – 576
- 4) 577 – 676
- 5) 677 - 1761

Para la Selenoprote3na P1:

- el c3digo de localizaci3n es el NM_001085486.1
- Su definici3n completa es la de *Homo sapiens Selenoprotein P, plasma, 1 (SEPP1), transcript variant 2, mRNA*
- La secuencia completa del gen posee 1 – 2193 bases
- La regi3n codificante se sitúa entre la base 130 – 1275
- Posee 6 exones:

- 1) 1 – 87
- 2) 88 – 116
- 3) 117 – 332
- 4) 333 – 545
- 5) 546 – 663
- 6) 664 - 2115

1.6.1.- SELECCIÓN DE LOS CEBADORES

Una vez conocida la secuencia genética completa de cada una de nuestras proteínas diana, se procedió a la búsqueda de los cebadores a través del enlace web correspondiente al **Nacional Center of Biotechnology Information (NCBI)**, concretamente el **Primer – BLAST** (un buscador específico de cebadores).

En este punto, se introdujo la secuencia del gen seleccionado (concretamente la secuencia de DNA complementario al ARNm de libre de intrones, junto con aquellas condiciones y requisitos que deseamos que cumplan nuestros cebadores, tales como:

- Selección de la especie (en nuestro caso, *Homo sapiens*)
- Temperatura media de la PCR.
- Numero de bases que queremos amplificar (150 – 200 pb, 200 – 250 pb, etc).
- Si queremos incluir más de un exón en nuestra secuencia amplificada.
- Si queremos incluir además in intrón dentro de nuestra amplificación.
- Podemos eliminar secuencias que amplifiquen algún polimorfismo.
- El tamaño que deseamos que tenga cada uno de los cebadores, pudiendo establecer tanto un mínimo, como un máximo, y el tamaño optimo.
- El porcentaje Guanina – Citosina (% GC), siendo el porcentaje idóneo alrededor de un 50% ya que aporta una mayor estabilidad.
- Las condiciones específicas de la PCR, en cuanto a las concentraciones de cationes de Na, Mg, nucleótidos, etc.

Del tal modo que, al finalizar la búsqueda de cebadores, obtendremos todos aquellos cebadores que cumplen los requisitos establecidos, generalmente se suelen obtener más de un cebador que cumplen las características iniciales de la búsqueda, motivo por el cual, a continuación, se analizó la posible formación de estructuras secundarias del cebador en el medio, para garantizar el adecuado acoplamiento del mismo a las secuencias que deseamos amplificar, garantizando que no exista ninguna formación de estructuras secundarias en la secuencia seleccionada para el cebador. (figura 27, y figura 28)

En este caso, para estudiar la formación de estructuras secundarias, en lugar de introducir la secuencia completa del gen, únicamente incluiremos la secuencia de cebador a

cebador, así como los parámetros específicos de la PCR, concretamente, de temperatura y concentración de iones de Na y Mg.

En base a lo expuesto, los cebadores finamente diseñados y seleccionados para la amplificación de nuestro ARNm fueron:

Cebadores para GPx3

GPX3/1-2F: AAGAGAAGTCGAAGATGGACTG

GPX3-3R: CCAGAATGACCAGACCGAAT

 ATTCGGTCTGGTCATTCTGG (3F)

Cebadores para SEPP1

SEPP1/3F: GTTCAGTGAAGTGGTTGCT

SEPP1/4-5R: CAAGACGGCCACATCTATCA

 TGATAGATGTGGCCGTCTTG (4-5F)

Figura 25.- ARNm GPx3

ARNm GPx3

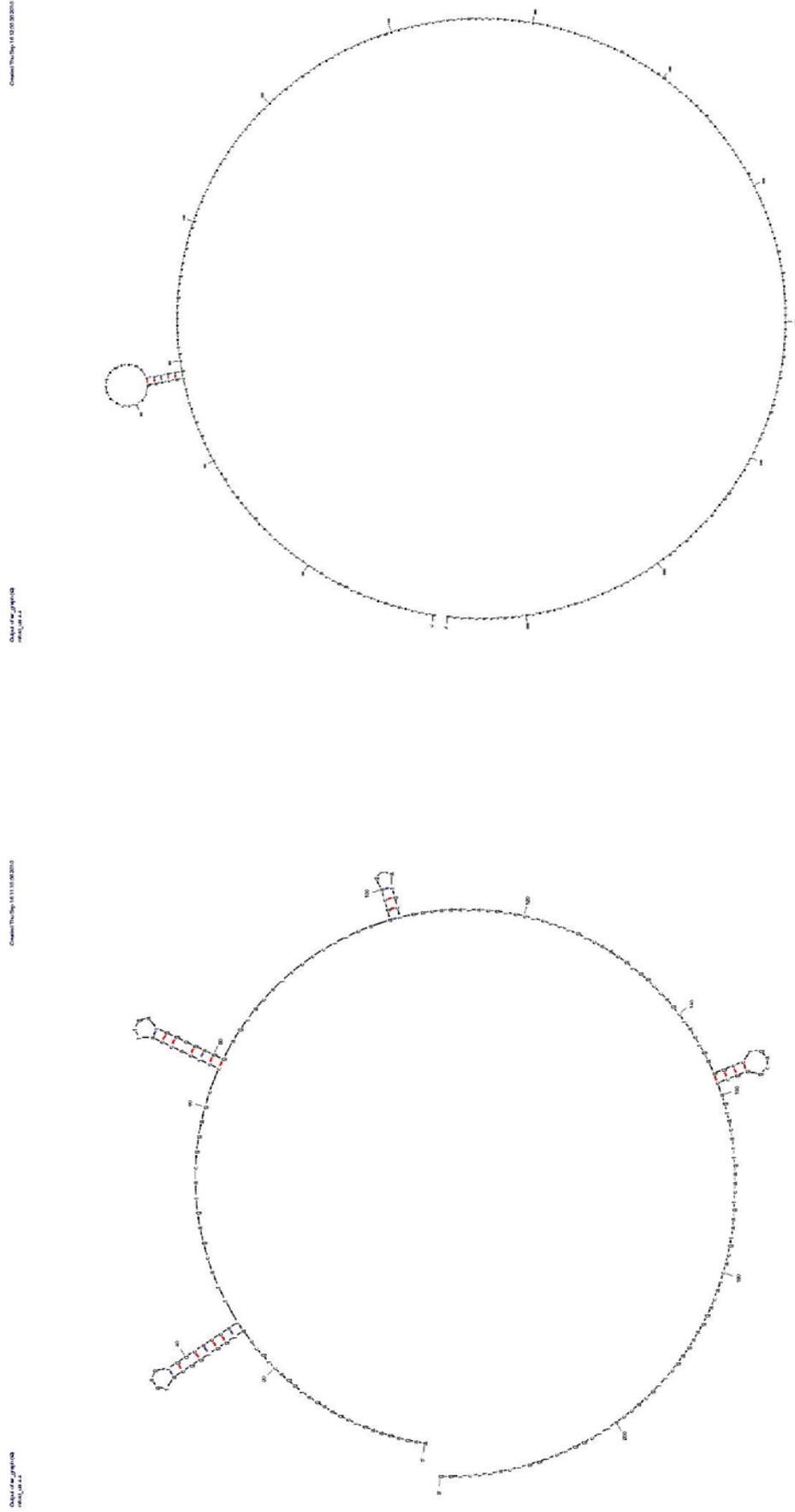
gtcggccgggacggggaggtgggagctgagggcaagtcgcccccccctgaaatcccagccgctagcgattggctgcaagggtctcggt
 tggccgagattggtcacaccgagggctgaaaggtggctgggagcggcagacctcagacggacgggtggccagggatcaggcagcggtc
 aggcgacctgagtggtccccaccccctatggccggctgctgagggctcctgctgcttccctgctctggccggctctgctcgagagccg
 gggacagagaagtcgaagatggactgcatggtggcataagtgccaccattacgagtacgggccctcaccattgatggggaggagtacatcc
 cttcaagcagtatgctggcaaatacgtcctctttgtcaacgtggccagctactgagcctgacgggccagtacattgaactgaatgactacaggaa
 gagcttgaccatcggctcggctcggctccttccctgcaaccaattggaaaacaggaaccaggagagaactcagagatccttctaccctcaa
 gtatgtccgaccaggtggaggctttgtccctaattccagctctttgagaaggggagtgcaatggagagaaagagcagaaattctacacttctaaa
 gaactcctgtcctcccacctcggagctcctgggtacatctgaccgctctctgggaaccatgaaggttcagacatccgctggaactttgagaagt
 cctggtggggccagatggtataccatcatgctgctggcaccaccggaccaggtcagcaacgtcaagatggacatcctgtcctacatgaggcggc
 aggcagccctggggcaagaggaagtaactgaaggccgtctcatccatgtccaccatgtaggggagggactttgtcaggaagaaatccgtgtc
 tccaaccacatctacccatcacagacccttctctactcaagccccagcctggcacaatggatgcatacagttctgtgactgccaggcat
 gtgggtgtgggtcatgtgggtgttacacacatgctacaggtatgctgattgtgtgtgtgcatgggtgtacagccaggtgtctacctatgtcttct
 gggatgtgtacctctgtgctgctgagctgtgtagtctggacagtgacaacccttctcctcagttctcactccaatgataatagttcacttacct
 aaaccaaaggaanaaacagcttagtccaattgttctgcttaactgatacctcaacctggggccagcatctcccactgcctcaaatattagtaa
 ctatgactgacgtcccagaagttctgggtctaccacactcccaacccccactcctactctgaaggccctcccagggtacatccccacccc
 acagttctccctgagagagatcaacctcctgagatcaaccaaggcagatgtgacagcaaggccacggaccccatggcaggggtggcgtcttc
 atgagggagggggccaaagcccttggggcggacctcccctgagcctgtctgaggggcccagcccttagtgcattaggtaaggcccctgggag
 ggtatgccaccctgtcctcggaggacgtgcctcaccctcactggtccactggccttgagactcaccctgtgcccagtaaaagccttctgagc
 agctgaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

Figura 26.- ARNm Selenoproteina P (SEPP1)

ARNm Selenoproteina P (SEPP1)

ataaatatcagagtgtgctgctgtggccttggagctgccagagtaaagcaagagaaggaagcaggcccgttgaagtggttgaagtcttat
caagatatcatataggaacaacccagcaatgtggagaagcctggggcttgcctggctctctgtctcctccatcgggaggaacagagagccag
gaccaaagctccttatgtaagcaacccccagcctggagcataagagatcaagatccaatgctaaactccaatggttcagtgactgtggctccttctc
aagccagctgatacctgtgcatactgcaggcatctaaattagaagacctgcgagtaaaactgaagaaagaaggatattctaatttcttatattgttgt
aatcatcaaggaatcttctcgtattaaatacacacatcttaagaataaggttcagagcattcctgtttatcaacaagaagaaaaccaaacagat
gtctggactctttaaaggaagcaagatgacttctcatataatgatagatgtggcctctgtatcatctgtgttgccttttcttcttaacttcccatat
gtagaagaagccattaagattgcttactgtgaaaagaaatgtgaaactgctctcaccgactctcaagatgaagactttgtaaacgtgtatcttggc
tactgtggataaaacagttgaaactccatcgctcattaccatcatgagcatcatcacaatcatggacatcagcacctggcagcagtgagcttccaga
gaatcagcaaccaggagcaccaaatgctcctactcatcctgctcctccaggcctcatcaccaccataagcacaagggcagcatagccagggtca
cccagagaaccgagatagccagcaagtgaagattacaagattacaaaagaagctctgtcgaaagagatgtataaatcaactactgtaaattgc
ccacagattcagagttggctcctaggagctgatgctgccattgtcgacatctgataattgaaaaaacagggtctgcaatcacctgacagtgtaaagaaa
acctcccactttatgtagctgacagggactcgggcagaggagaacataactgaatctgtcagtgacgtttgctccagctgacctgacaaaataagtc
agcagcttataccacagaagccagtgccagttgacgctgaaagaatcaggcaaaaaagtgagaatgacctcaaacctaaatatttaaataagga
cactcctcccaatttagctagacacaatttcatttccagcattttataaactaccaaatttagtaacccaaaatagaaattagatttgcacaaatgga
gaaatctactgaattggctccagatttaaattttagtcatagaaatattgactcaaaccatattttatgatggagcaactgaaaggtgattgcagctttt
ggtaaatgtcttttttttccagttctatttgccttaatgagaatagaacgtaaaactatgacctaggggttctgttgataattagcagtttagaatg
gaggaagaacaacaagacatgcttccatttttcttactatctcaaaacaatattacttttcaatcttactttaaactaataaaataagtg
atttgtattttagatccagaataacttaacacgtgaatatttgcctaaaagcatatataactattttaaatacatttctttgtatctaaagactcatc
ctgattttactatcacacatgaataaagccttgtatcttcttctaatgtgtatcactcttcaaaacttgagtggtctttaaagatataagggga
aagataatattgtctctatattgcttagtaagatttccatagcattgatggttaaataggtaaaccaaacctataaacctgacctcttattggtta
actattaagcaagaatcagtagcagaattggatacagtagctgatttgcctcaataaattcaataaaaacctaaagctgaaaaaaaaaaaaaaaa
aa

Figuras 27 y 28.- Disposición espacial de Estructura Secundaria para los cebadores GPx3 (a) y SEPP1 (b)



dG = -7.51 10Sep16:11-15-55

dG = 0.02 10Sep16:12-55-33

1.6.2.- FASE DE EXTRACCIÓN DE ARN

Para la extracción de RNA, las muestras se estabilizaron en tubos de **PAXgene Blood RNA Tubes (BRT)**, de modo que tras la descongelación (de aproximadamente 30 minutos) procedemos a su extracción tal y como se describió en el apartado de metodología, obteniendo una concentración de ARN (*Tabla44*) que fue cuantificada mediante NanoDrop.

Para la calibración del equipo se empleó como blanco agua de DEPC.



Tabla 44.- Cuantificación del ARN extraído

Muestra	ng/ μ L	A260	A280	260/280		260/230		Constant	
3320	84,91	2,123	0,977	2,17	0,31	40,00	230	6,776	0,034
3327	111,88	2,797	1,325	2,11	0,56	40,00	230	4,979	0,036
2920	158,01	3,950	1,853	2,13	0,60	40,00	230	6,568	0,043
2927	401,64	10,041	4,790	2,10	0,98	40,00	230	10,232	0,092
1920	63,11	1,578	0,725	2,18	0,26	40,00	230	5,959	0,049
1927	92,74	2,319	1,107	2,09	0,62	40,00	230	3,749	0,046
2420	156,22	3,906	1,842	2,12	0,43	40,00	230	9,042	0,029
2427	240,60	6,015	2,878	2,09	0,98	40,00	230	6,156	0,072

1.6.3.- OBTENCIÓN DEL ADN COMPLEMENTARIO

El ARN extraído es un compuesto muy sensible y fácilmente atacable, ya que en el ambiente, en las manos, y en prácticamente en cualquier superficie existen numerosas enzimas que destruyen estas moléculas, siendo este el principal motivo por el que decidimos obtener el ADN Complementario (ADNc) del ARN, al ser una molécula mucho más estable. Dicho procedimiento se realizó del modo siguiente:

- 1) Preparamos diluciones con una concentración final de 2 ng de ARN en 25 μL de volumen final
- 2) Preparamos la mezcla de adición de hexámeros con 4 μL y 1 μL de agua DEPC, una sustancia química que elimina Ribonucleasas (Dietilpirocarbonato).
- 3) Se añadió la mezcla de hexámeros a la dilución del ARN y se incubo durante 10 minutos a 65 $^{\circ}\text{C}$
- 4) Transcurrido este tiempo, atemperamos en hielo durante 5 minutos
- 5) Durante el tiempo que permanecieron las muestras en hielo preparamos una nueva mezcla que contenía:

- 10 μL de tampón T – 5x
- 2,5 μL de nucleótidos (NTPs)
- 1 μL de enzima M – MLV, una enzima retrotranscriptasa del virus molones de la leucemia murina
- 6,5 μL de agua DEPC

- 6) Una vez terminada esta última mezcla, en tubos eppendorff introducimos los volúmenes de 25 μL de la dilución del RNA, junto con los 5 μL de la mezcla de hexámeros y los 20 μL de la mezcla de nucleótidos y enzima, obteniendo un volumen final de 50 μL , que llevaremos a un termociclador con un único ciclo de:

- 10 minutos a 22 $^{\circ}\text{C}$
- 50 minutos a 42 $^{\circ}\text{C}$
- 10 minutos a 55 $^{\circ}\text{C}$
- 15 minutos a 70 $^{\circ}\text{C}$



- 7) Al finalizar el proceso se añadieron 50 μL de agua de DEPC a cada uno de los tubos con el ADNc, por último se almacenaron las muestras en frío a – 20 $^{\circ}\text{C}$

1.6.4.- AMPLIFICACIÓN DEL ADN COMPLEMENTARIO: REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)

La técnica de PCR, se emplea con la finalidad de amplificar el ADNc obtenido previamente. De tal modo que, una vez obtenido el ADNc a partir de ARN del modo explicado en el apartado anterior, procedemos a la amplificación del mismo con el fin de poder realizar una posteriormente una evaluación de la expresión mediante electroforesis.

La amplificación de ADNc se realizó del modo siguiente:

1) Preparamos una mezcla de los reactivos, de modo que para cada una de las muestras a amplificar el volumen final preparado fue de 16 μL , dicha mezcla contenía:

- 2 μL de NTPs
- 9 μL de agua
- 4 μL de tampón T – 5x
- 0,5 μL de PPI – F (*Isoforma β de la subunidad catalítica de la proteína fosfatasa 1 en dirección 3' - 5'*)
- 0,5 μL de PPI – R (*Isoforma β de la subunidad catalítica de la proteína fosfatasa 1 en dirección 5' - 3'*)
- 0,15 μL de Phire (*Enzima Transcriptasa Inversa*)

Para la obtención de ADNc amplificado, en función del cebador empleado, se amplificara un ADN diferente, de modo que para los genes de referencia se emplearon los cebadores correspondientes a:

- *Isoforma β de la subunidad catalítica de la proteína fosfatasa 1 en dirección 3' - 5' y en dirección 5' - 3'*
- *Hipoxantina fosforibosil transferasa 1*
- *Glutation Peroxidasa 3*
- *Selenoproteína P*

- 2) Una vez terminada la mezcla, añadimos 4 μ L de muestra de ADNc a cada uno de los tubos mezclándolas cuidadosamente.

- 3) Llevamos los tubos a amplificación por PCR con dos programas diferentes en función del ADNc a amplificar. En el caso de los genes de referencia se aplico el ciclo siguiente:

- 30 segundos a 98 °C
 - 10 segundos a 98 °C
 - 10 segundos a 60 °C
 - 10 segundos a 72 °C
- } n = 25 ciclos de repetición
- 5 minutos a 72 °C
 - 5 minutos a 22 °C



Y para la amplificación de los genes GPx 3 y SEPP1:

- segundos a 98 °C
 - 10 segundos a 98 °C
 - 10 segundos a 60 °C
 - 10 segundos a 72 °C
- } n = 35 ciclos de repetición
- 5 minutos a 72 °C
 - 5 minutos a 22 °C



- 4) Una vez finalizada la PCR conservamos las muestras en refrigeración a 4 °C

1.6.5.- PROCESO DE ELECTROFORESIS

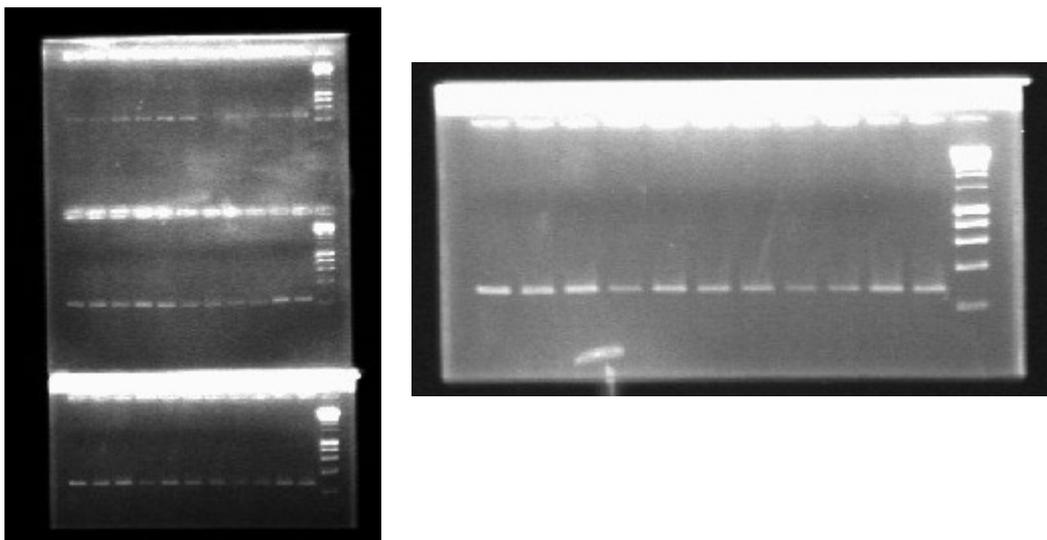
Una vez finalizada la amplificación de los genes mediante PCR convencional, realizamos la electroforesis de la muestra con el fin de determinar de un modo cualitativo la expresión o no de los genes amplificados, siendo las muestras con amplificación positiva a las que se les aplico la técnica de PCR – RT.

Para la electroforesis, se utilizó como soporte un *gel de agarosa*, introduciendo en cada uno de los 2 μL de *tampón de carga*, compuesto principalmente por 1 o 2 colorantes y glicerol (este último para aumentar la densidad de la mezcla) junto con 5 μL de muestra. Además de un marcador de Pm (Peso Molecular). Una vez realizada la mezcla en cada uno de los pocillos del gel, se cerró el baño y se programó a 120 v durante 50 minutos.

Al finalizar el tiempo de espera de la electroforesis se sacó el gel del baño y se tiñó con *Bromuro de Etidio* durante un tiempo aproximado de 15 minutos, para la correcta tinción del mismo, para posteriormente realizar la lectura cualitativa mediante fluorescencia, tal y como se aprecia en las imágenes inferiores.

Figura 29.- Resultados de electroforesis tras realizar la amplificación de los genes: Gen constitutivo PPI, Gpx3 y Selenoproteína P1.

Figura 30.- Resultados de electroforesis tras realizar la amplificación de los genes SelenoproteínaP1.



1.6.6.- REACCIÓN EN CADENA DE LA CADENA DE POLIMERASA A TIEMPO REAL (RT-PCR)

La PCR cuantitativa (qPCR o Q-PCR) del inglés *Quantitative Polymerase Chain Reaction* o PCR en tiempo real, del inglés *Real Time PCR*, es una variante de la PCR, utilizada para amplificar y cuantificar simultáneamente el producto de la amplificación del ADN.

De modo que con el fin de poder realizar una posteriormente una evaluación cuantitativa de la expresión génica mediante PCR-RT, y teniendo en cuenta que en nuestro estudio se tomó como molécula de partida el ADNc amplificado, el procedimiento seguido para el análisis se describe a continuación:

Es muy importante tener en cuenta que el volumen final en cada pocillo de la placa que montaremos para la lectura final de PCR – RT es de 20 µL, de modo que para realizar la distintas mezclas de los reactivos tendremos que tener muy claro desde el principio el número de replicas que vamos a hacer de cada una de nuestras muestras, en nuestro caso, para los genes constitutivos seleccionados (PPIB y HPRT) se realizaron determinaciones de la expresión por duplicado, mientras que de los genes problema (GPx3 y SEPP1) la lectura se realizó por triplicado.

De modo que teniendo en cuenta el número de replicas de cada muestra y el error de pipeteo, se empleó un factor de conversión con el fin de estimar el volumen inicial necesario de cada uno de los reactivos.

$$FC = \frac{\text{Puntos experimento} \times \frac{\mu\text{L Mix}}{\text{punto}}}{\mu\text{L Mix}} + 1 \text{ (por cada 10)}$$

1) Se preparó una mezcla que alcanzó un volumen final de 16 µL que incluye:

- 10 µL de kit (con el fluoróforo)
- 0,4 µL Primer – F
- 0,4 µL Primer - R
- 5,2 µL agua para PCR

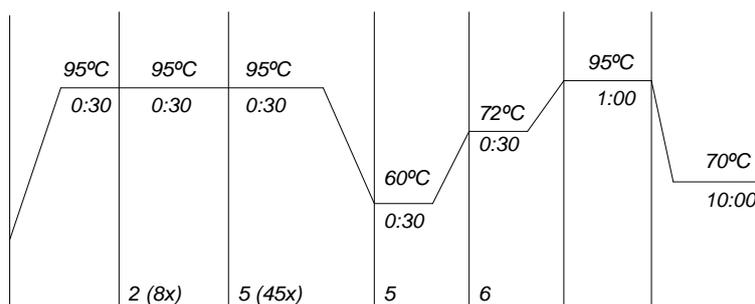
Los cebadores empleados fueron en este caso:

- PPIB: Peptidil propil isomerasa B
- HPRT: *Hipoxantina fosforibosil transferasa 1*
- GPx3: *Glutation Peroxidasa 3*
- SEPP1: *Selenoproteína P*

- 2) Una vez preparada la mezcla damos vortex durante 3 segundos con el fin de obtener una mezcla homogénea de todos los reactivos, una vez que tenemos mezclados los reactivos damos un pulso.
- 3) Antes de montar la placa prepararemos una dilución previa, de modo que si la determinación de la expresión la realizamos por duplicado mezclaremos 36 μL de mezcla junto con 9 μL de ADNc , mientras que si la placa la montamos con cada muestra por triplicado, realizaremos una mezcla de 52 μL mezcla junto con 13 μL de ADNc.
- 4) Una vez finalizada la mezcla previa al montaje de la placa, pasamos a montar la placa con 20 μL de mezcla en cada pocillo.
- 5) Cuando ya tenemos los pocillos de la placa con la mezcla, a cada uno de ellos les añadimos 2 gotas de aceite mineral, con el fin de evitar pérdidas por evaporación...
- 6) Seguidamente cubrimos la placa con un sellador transparente
- 7) Por último centrifugamos la placa durante 2 minutos a 2000rpm, teniendo ya la placa preparada para la cuantificación por PCR – RT.

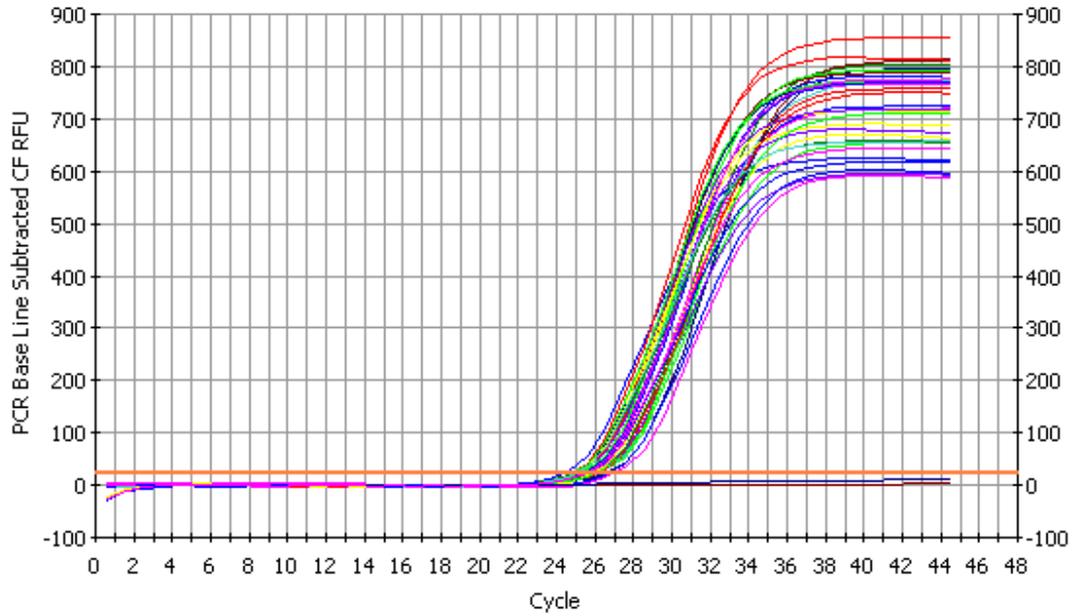
Para la cuantificación de la expresión en el termociclador tanto de los genes constitutivos como de los genes de referencia se empleo el software MyiQ, concretamente el protocolo “Roche protocol 45” cuyo programa se describe en el esquema inferior, de que tal y como se muestra en el esquema se realizaron 45 ciclos de repartición.

Figura 31.- Representación esquemática del ciclo empleado en PCR - RT

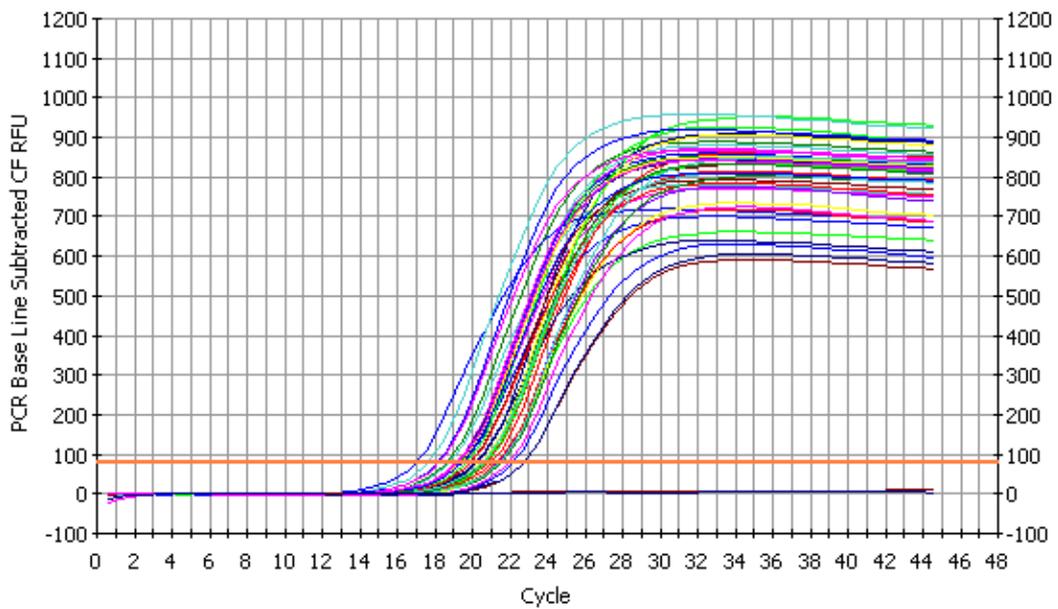


Una vez finalizado el proceso de PCR-RT, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

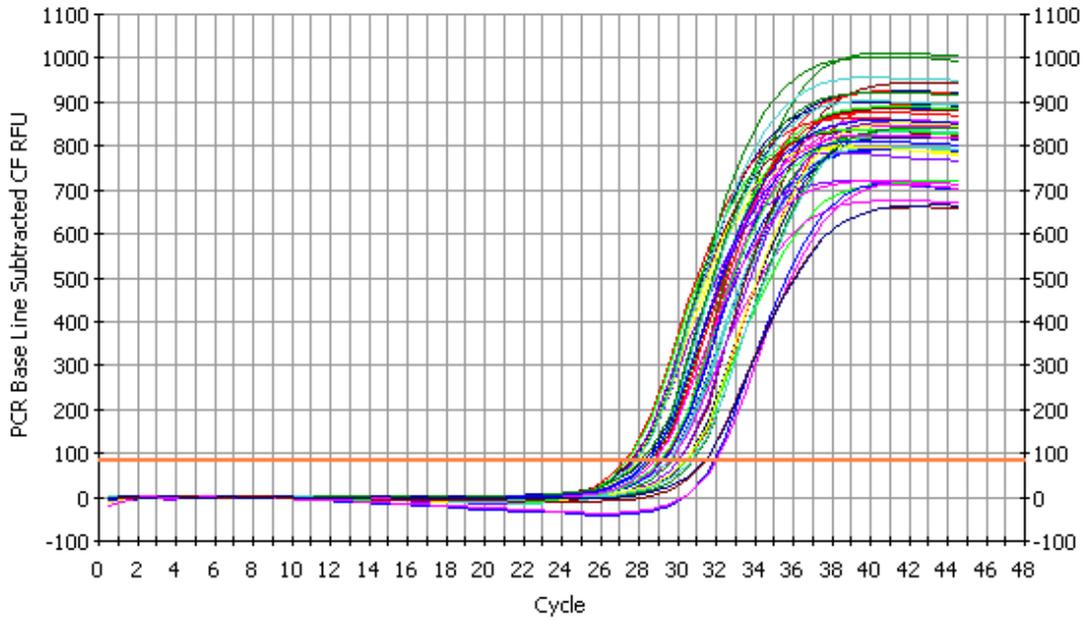
Gráfica 3.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para HPRT



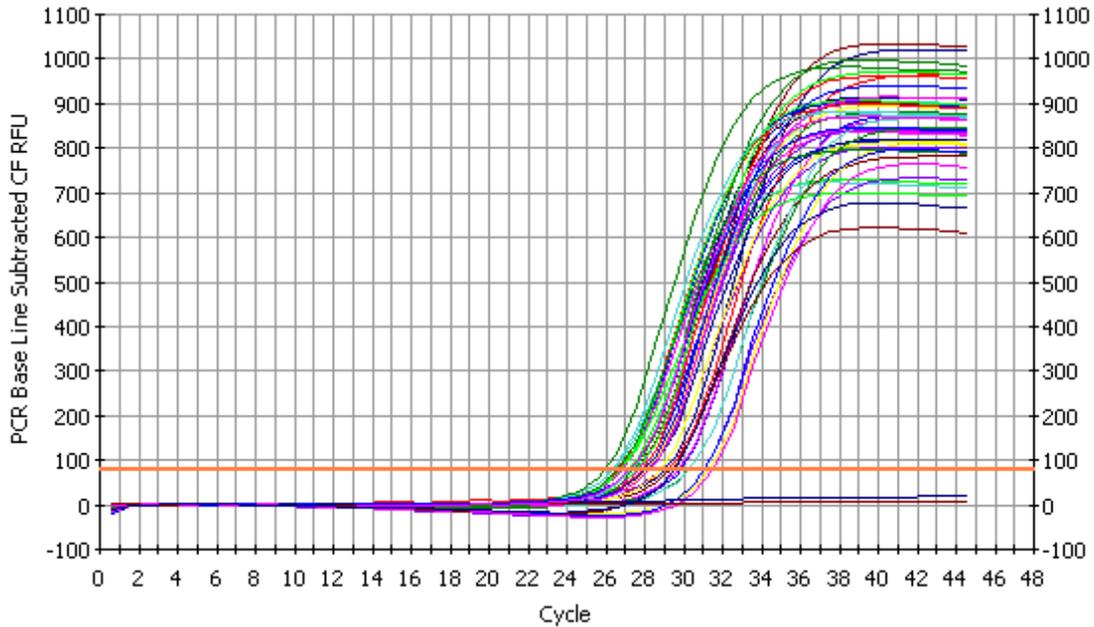
Gráfica 4.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para PPIB



Gráfica 5.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para GPx3



Gráfica 6.- Resultados de fluorescencia por número de ciclos en PCR-RT para SEPP1



Gráfica 7.- Resultados de fluorescencia por numero de ciclos en PCR-RT para HPRT, PPIB, GPx3 y SEPP1

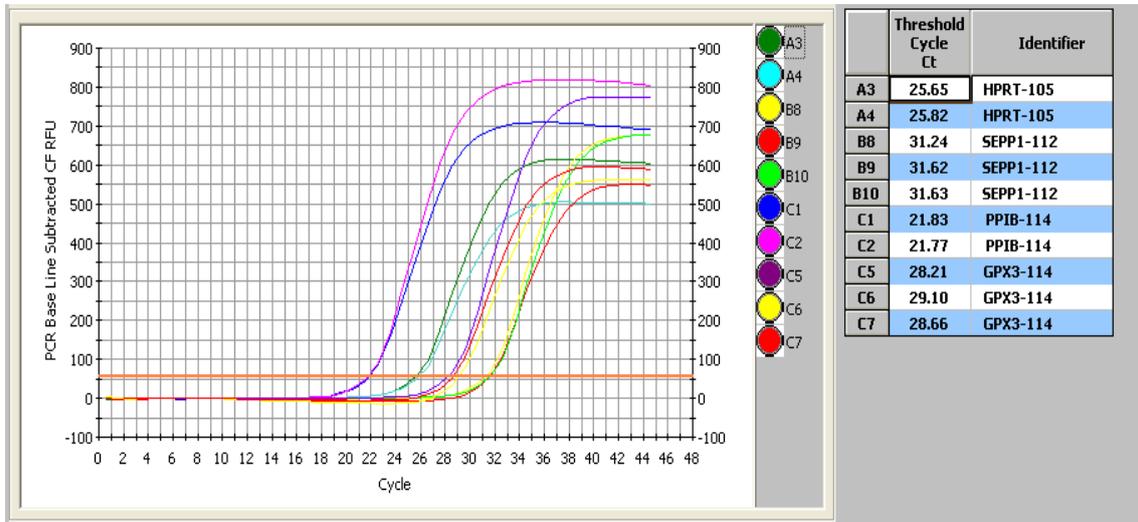


Tabla 45.- Resultados por número de ciclos (CT) en PCR-RT para HPRT, PPIB, GPx3 y SEPP1

Paciente	HPRT	PPIB	GPx3	SEPP1
140	25,805	19,43	29,625	29,785
147	26,67	20,18	27,73	29,295
230	24,955	20,56	28,31	26,57
237	25,685	19,34	28,655	27,405
310	22,9	19,25	29,685	28,12
317	24,3	20,995	29,14	27,8
330	23,59	17,57	27,845	27,36
337	25,48	18,13	28,535	28,18
2420	24,78	19,36	30,29	28,805
2427	24,785	20,71	29,085	30,37
2920	25,4	19,14	29,215	26,895
2927	23,5	19,275	30,185	28,315
3320	26,11	21,175	30,595	28,355
3327	25,98	18,7	29,4	26,335
3820	25,98	21,335	27,59	30,815
3827	25,095	19,795	28,71	27,82
3920	24,93	19,96	28,55	27,54
3927	24,995	20,57	27,75	28,19
4120	26,04	21,005	27,285	26,75
4127	29,175	21,485	30,79	30,31
4320	26,925	22,01	31,405	30,905
4327	27,94	22,73	31,38	29,21

1.7.- RESULTADOS DEL SUBGRUPO DE EXPRESION GÉNICA

1.7.1.- CARACTERISTICAS GENERALES DE LA MUESTRA:

Este grupo se compuso por 11 pacientes críticos pertenecientes al hospital Virgen de la Nieves de Granada, todos los pacientes recibieron soporte nutricional artificial (enteral o parenteral)...

Tal y como se describe en la *(Tabla 47)*

1.7.2.- DESCRIPCIÓN DE LOS PACIENTES

Paciente 140: El paciente ingresa en UCI recibe un soporte nutricional por vía enteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 46,29 $\mu\text{g}/\text{día}$, por lo que en un aporte deficiente en selenio.

A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1 y de actividad GPx

Al comparar la expresión por CT de GPx3 y SEPP en el punto 0 y a los 7 días de estancia, se observa un aumento de la expresión de ambas selenoproteínas.

Paciente 230: El paciente ingresa en UCI a causa de una insuficiencia respiratoria recibe un soporte nutricional por vía parenteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 37,79 $\mu\text{g}/\text{día}$, por lo que recibe un aporte deficiente en selenio.

A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1 y de actividad GPx

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa una disminución la expresión de ambas selenoproteínas.

Tabla 47.- Subgrupo Paciente Crítico con análisis de la Expresión Génica de GPx3 y SEPP1

Paciente	Edad	sexo	Motivo Ingreso	Tipo de Nutrición	Aporte Selenio	Selenio plasma 0	Selenio plasma 7	Selenio eritrocito 0	Selenio eritrocito 7	GPx 0	GPx 7	SEPP1 0	SEPP1 7	Variación Expresión GPx	Variación Expresión SEPP1
140	62	H	3	NE	46,29	53,3	36,7	75,75	63,64	2,97	3,84	3,21	2,35	↑	↑
230	43	H	1	NP	37,79	68,30	50,20	98,6	56,7	5,5	4,34	3,04	2,10	↓	↓
330	59	H	2	NP	37,79	53,3	36,7	75,75	63,64	3,70	6,83	2,82	1,79	↑	↑
310	43	H	3	NE	57	30,29	27,60	46,69	87,56	5,81	2,57	3,04	2,10	↑	↑
2420	72	M	2	NE	37,79	53,8	29,43	66,8	50,40	10,13	13,02	2,70	1,60	↑	↓
2920	39	M	2	NP	9,03	69,5	55,8	90,2	75,4	6,26	5,31	3,54	2,78	↑	↓
3320	57	H	2	NE	58,93	39,5	27,4	78,5	67,4	7,56	8,20	3,04	2,10	↑	↑
3820	58	H	3	NP	9,02	57,5	49,92	87,56	99,9	5,06	8,04	2,82	2,32	↑	↑
3920	39	M	3	NP	13,53	63,5	45,6	83,5	75,6	5,31	8,04	3,20	2,12	↑	↓
4120	72	M	3	NE	59,70	67,42	49,50	103,45	89,5	4,90	8,04	3,36	2,41	↑	↓
4320	56	M	3	NE	45,43	74,34	59,40	110,3	99,9	6,11	8,04	3,04	2,10	↑	↑

Paciente 330: El paciente ingresa en UCI debido a un accidente cardiovascular, recibe un soporte nutricional por vía parenteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 37,79 µg/día, por lo que recibe un aporte deficiente en selenio.

A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1, no ocurriendo del mismo modo para la actividad GPx, la cual aumenta al comparar los días 0 y 7.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de ambas selenoproteínas.

Paciente 310: El paciente ingresa en UCI por una insuficiencia hepática, recibe un soporte nutricional por vía enteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 57 µg/día, por lo que el aporte de selenio no es deficiente en este paciente (de acuerdo con las CDR para población sana)

A lo largo de su estancia se produce una disminución de los niveles plasmáticos de selenio, con un aumento de los niveles eritrocitarios del mismo, aunque con una disminución tanto de los niveles plasmáticos de SEPP así como de la actividad GPx.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de ambas selenoproteínas.

Paciente 2420: El paciente ingresa en UCI como consecuencia de una intervención cardíaca recibe un soporte nutricional por vía enteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 37,79 µg/día, por lo que recibe un aporte deficiente en selenio.

A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1, no ocurriendo del mismo modo para la actividad GPx, la cual aumenta al comparar los días 0 y 7.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de GPx3 y una disminución para SEPP1.

Paciente 2920: El paciente ingresa en UCI a causa de un accidente cardiovascular recibe un soporte nutricional por vía parenteral con un aporte medio muy deficiente de 9,03 µg/día, por lo que recibe un aporte deficiente en selenio.

A lo largo de su estancia se produce una disminución de los niveles plasmáticos de selenio, con un aumento de los niveles eritrocitarios del mismo, aunque con una disminución tanto de los niveles plasmáticos de SEPP así como de la actividad GPx.

La variación de la expresión entre el punto 0 y 7, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de GPx3 y una disminución de SEPP1.

Paciente 3320: El paciente ingresa en UCI a causa de un accidente cardiovascular recibe un soporte nutricional por vía enteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 58,93 µg/día, por lo que el aporte de selenio no es deficiente en este paciente.

A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1, no ocurriendo del mismo modo para la actividad GPx, la cual aumenta al comparar los días 0 y 7.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de ambas selenoproteínas.

Paciente 3820: El paciente ingresa en UCI recibe un soporte nutricional por vía parenteral con un aporte medio muy deficiente de 9,03 µg/día, por lo que recibe un aporte deficiente en selenio.

A lo largo de su estancia se produce una disminución de los niveles plasmáticos de selenio, con un aumento de los niveles eritrocitarios del mismo, con un aumento de la actividad de GPx y una disminución de los niveles plasmáticos de SEPP.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de ambas selenoproteínas.

Paciente 3920: El paciente ingresa en UCI debido a una infección postoperatorio, recibe un soporte nutricional por vía parenteral con un aporte medio de 13,53 $\mu\text{g}/\text{día}$, por lo que recibe un aporte deficiente en selenio.

A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1, no ocurriendo del mismo modo para la actividad GPx, la cual aumenta la comparar los días 0 y 7.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de GPx3 y una disminución para SEPP1.

Paciente 4120: El paciente ingresa en UCI por un Shock cardiogénico, recibe un soporte nutricional por vía enteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 59,7 $\mu\text{g}/\text{día}$, por lo que el aporte cubre las CR de este mineral.

A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1, no ocurriendo del mismo modo para la actividad GPx, la cual aumenta la comparar los días 0 y 7.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de GPx3 y una disminución para SEPP1.

Paciente 4320: El paciente ingresa en UCI por control postoperatorio de alto riesgo recibe un soporte nutricional por vía enteral con un aporte medio a lo largo de la estancia en UCI de 45,43 $\mu\text{g}/\text{día}$, por lo que recibe un aporte deficiente en selenio.

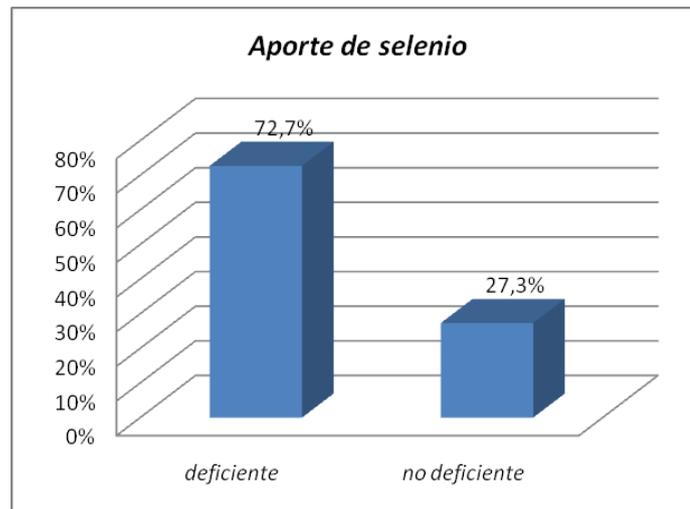
A lo largo de su estancia se produce una disminución tanto de los niveles plasmáticos de selenio, como de los niveles eritrocitarios, así como de los niveles plasmáticos de SEPP1, no ocurriendo del mismo modo para la actividad GPx, la cual aumenta la comparar los días 0 y 7.

La variación de la expresión en el punto 0 y a los 7 días de estancia, para los genes GPx3 y SEPP, se observa un aumento de la expresión de ambas selenoproteínas.

1.7.3.- APORTE DE SELENIO EN ESTE SUBGRUPO:

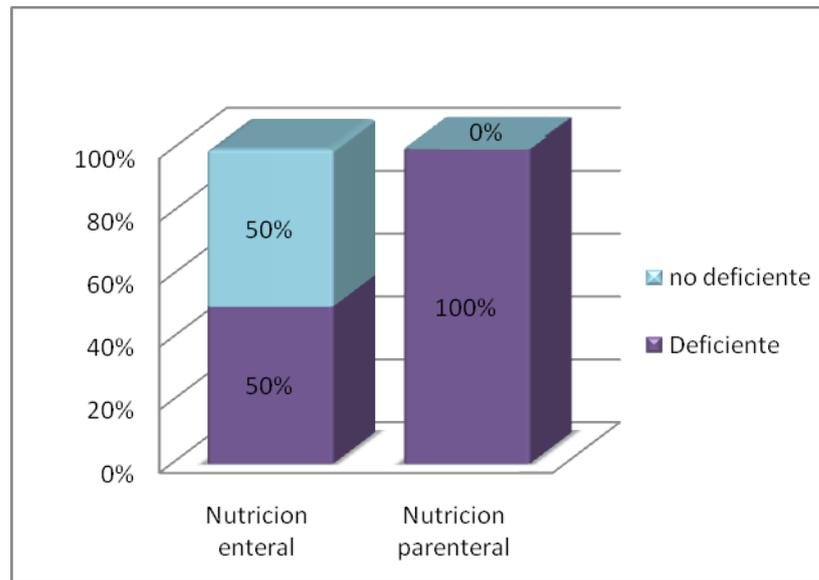
Durante el periodo de estancia en UCI el aporte de selenio a partir de los distintos soportes de nutrición artificial, fue deficiente para el 72,2% de los pacientes estudiados en este subgrupo (*grafica 8*). Tan solo el 27,3% de los pacientes alcanzando los 55 µg/día de selenio, encontrando el aporte máximo en el paciente **4120** con un valor medio de aporte de 59,7 µg/día.

Grafica 8.- Pacientes con aporte deficiente en selenio. Subgrupo epresion genica



Al realizar un estudio más detallado del tipo de soporte nutricional empleado, es decir, nutrición enteral o parenteral, observamos que tienen un aporte deficiente en selenio el 100% de los pacientes alimentados por vía parenteral, mientras que, los pacientes alimentados con nutrición enteral, se encuentran en estado de aporte deficiente en selenio el 50% (*Grafica 9*).

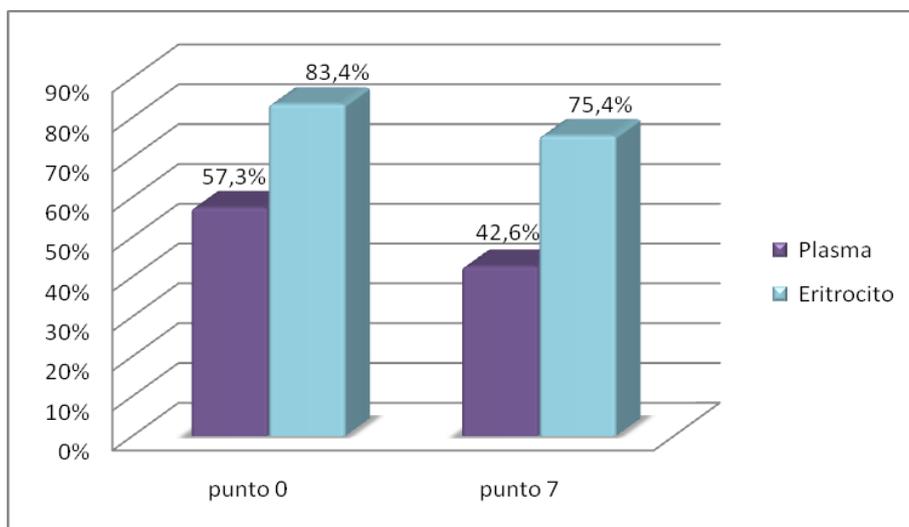
Grafica 9.- Aporte de selenio deficiente según el soporte nutricional



1.7.4.- EVALUACION BIOQUIMICA DEL ESTADO NUTRICIONAL:

Este subgrupo, al igual que en la población crítica total, presenta una disminución en los niveles de selenio plasmáticos y eritrocitarios a lo largo de la estancia en UCI. En cuanto a los niveles de selenio en plasma se observa una disminución de sus niveles en el 14,7% de los pacientes y del 8% de los pacientes a nivel eritrocitario.

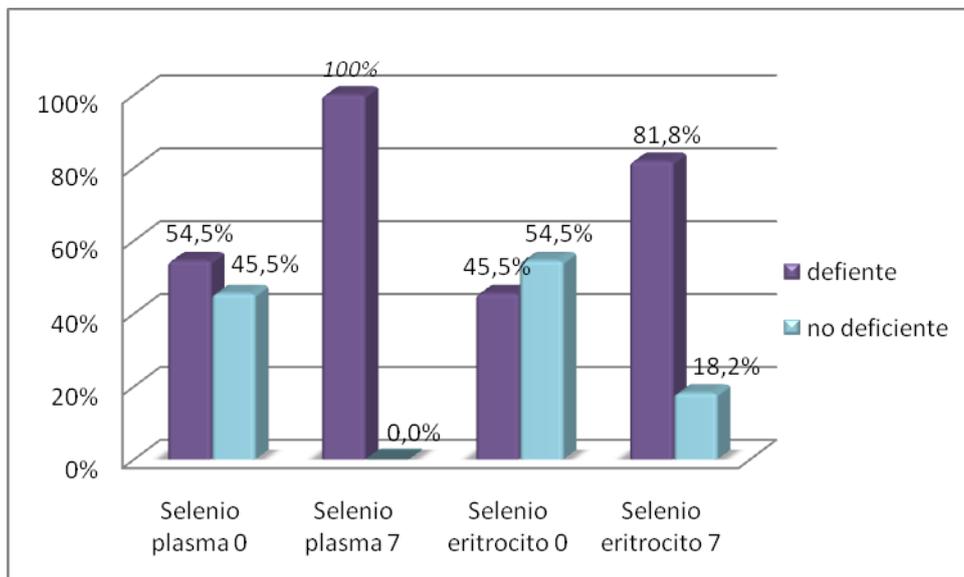
Grafica 10.- Niveles plasmáticos y eritrocitarios de selenio a lo largo de la estancia en UCI



Al realizar el estudio del estado nutricional en función de la presencia o no de un estado deficiente en selenio a partir de los niveles plasmáticos y eritrocitarios, observamos que en el momento de ingreso en UCI, el 54,5% de los pacientes presentó niveles de selenio en plasma deficientes (<60 µg/L), aumentando este porcentaje hasta el 100% tras 7 días de estancia en UCI.

En eritrocito ocurre un proceso similar, aumentando el porcentaje de individuos deficientes en selenio (< 90 µg/L), desde un 45,5% en el momento de ingreso, hasta el 81,8% tras una semana de estancia.

Grafica 11.- Porcentaje de pacientes deficientes en selenio.



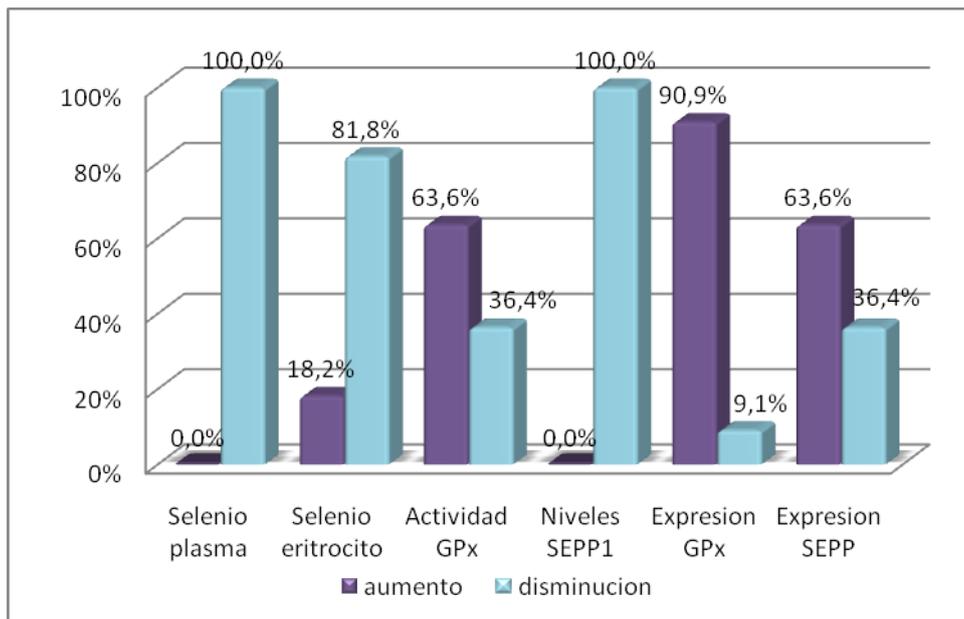
1.7.5.- EVOLUCION DE LOS PACIENTES TRAS 7 DIAS DE ESTANCIA EN UCI:

De los pacientes críticos a los que se les realizó un estudio de la variación de la expresión génica de las selenoproteínas GPx3 y SEPP se observó a lo largo su estancia en UCI que:

- Tras 7 días de estancia, en el 100% de los pacientes se produjo una disminución de los valores plasmáticos de selenio y mientras que en los valores eritrocitarios, la disminución de los valores medios se observó en el 81,8% de los pacientes

- Mientras que los niveles medios de SEPP1 disminuyeron en el 100% de los pacientes tras 7 días de estancia en UCI, la actividad de GPx aumento en el 63,6% de los pacienetes
- En cuanto a la variacion de la expresion de los genes GPx3 y SEPP1, se observo que el 90,9 % de los pacientes la expresion GPx3 aumento tras 7 días de estancia en UCI, asi como la expresion de SEPP1 para este mismo periodo de tiempo, aumentando la expresion de esta selenoproteia en el 63,6% de los pacientes del subgrupo.

Grafica 12.- Variacion de los niveles de selenio y expresion se selenoproteinas tras 7 dias de estancia en UCI



Capítulo V:
Discusión de los Resultados

1.- DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

1.1.- METODOLOGÍA EMPLEADA EN EL ESTUDIO

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 en la población adulta sana estudiada: 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 de referencia para los 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, y col. 2004). 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 del. 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 de selenio 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 evaluación bioquímica realizada en nuestro estudio refleja el estado real actual de los sujetos en el día de la toma de la muestra biológica, lo que es resultado tanto de la ingesta anterior mantenida a corto y medio plazo, como del estado de salud general del individuo, además de otros factores influyentes relacionados con el estilo de vida (consumo de medicamentos, alcohol, tabaco, actividad física) que afectan al equilibrio tisular de los nutrientes.

Por otro lado, debemos informar que con el estudio de expresión de genes de proteínas dependientes de selenio pretendemos determinar si su síntesis varía, y en caso afirmativo, si lo hace como consecuencia de la nutrición aportada o por la situación de enfermedad aguda que padece el paciente crítico estudiado.

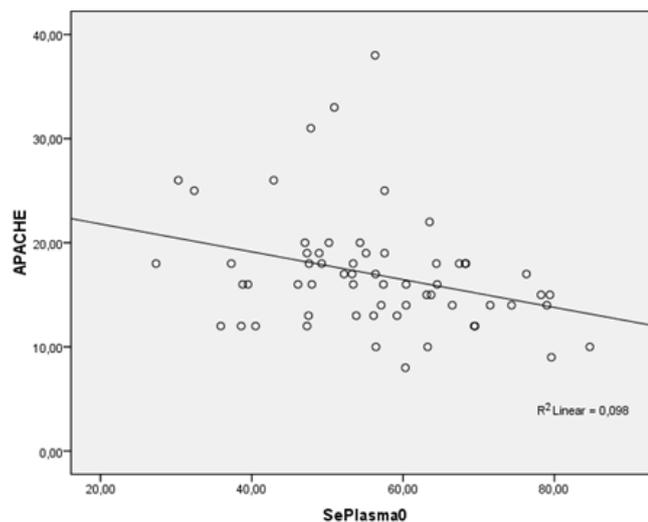
1.2.- CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA DE ESTUDIO

Con respecto a las características generales de la población estudiada, podemos decir que el grupo sano control guardaba resultados que entraban en los límites que marcan la normalidad.

Los pacientes críticos, podemos destacar, no mostraban diferencias significativas con ninguno de los parámetros sociodemográficos analizados, respecto la población control. Estos pacientes tienen una puntuación en la escala de gravedad APACHE II media inicial de 16,7 que evoluciona de forma favorable a un 9,1. Por otro lado, la escala de fallo orgánico 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, existiendo diferencias significativas entre los valores medios de APACHE y SOFA del punto inicial respecto al punto final, inferior en ambos casos ($p < 0.005$).

Por otro lado, es de destacar que nuestros resultados muestran valores significativos negativos ($r = -0,313$, $p = 0,014$) al realizar el análisis bivariante, entre el APACHE y los valores plasmáticos de selenio en el paciente crítico al inicio de la estancia en UCI (*Gráfica 13*). Éstos resultados concuerdan con anteriores estudios realizados por nuestro equipo en los que se observa una asociación directa entre los valores en la escala de gravedad APACHE y el grado de estrés oxidativo en paciente ingresados en la UCI (*Abilés, Moreno-Torres, Moratalla y col., 2006; Abilés, Pérez de la Cruz, Moreno-Torres y col., 2009*).

Gráfica 13.- Correlación entre los valores en la escala de gravedad APACHE y los niveles plasmáticos de selenio en paciente crítico al inicio del estudio.

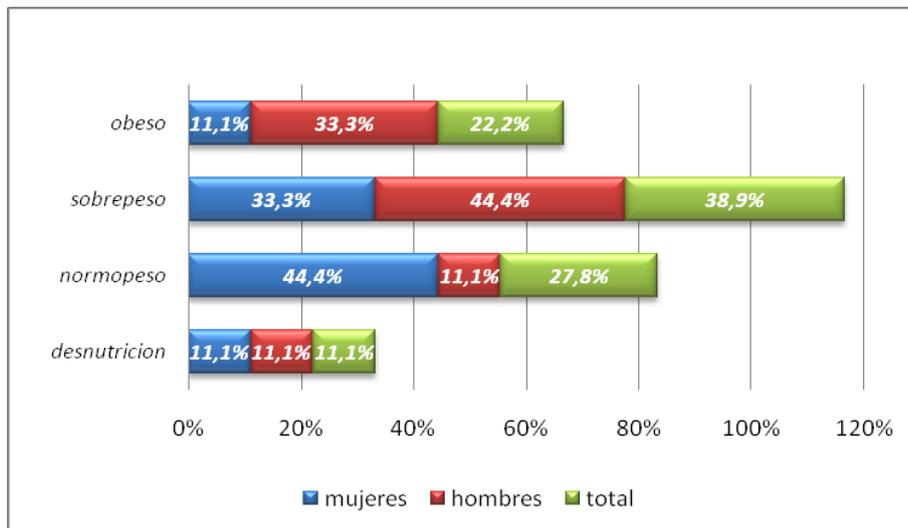


1.3.- CONSIDERACIONES SOBRE LA ANTROPOMETRÍA EN NUESTRA POBLACIÓN

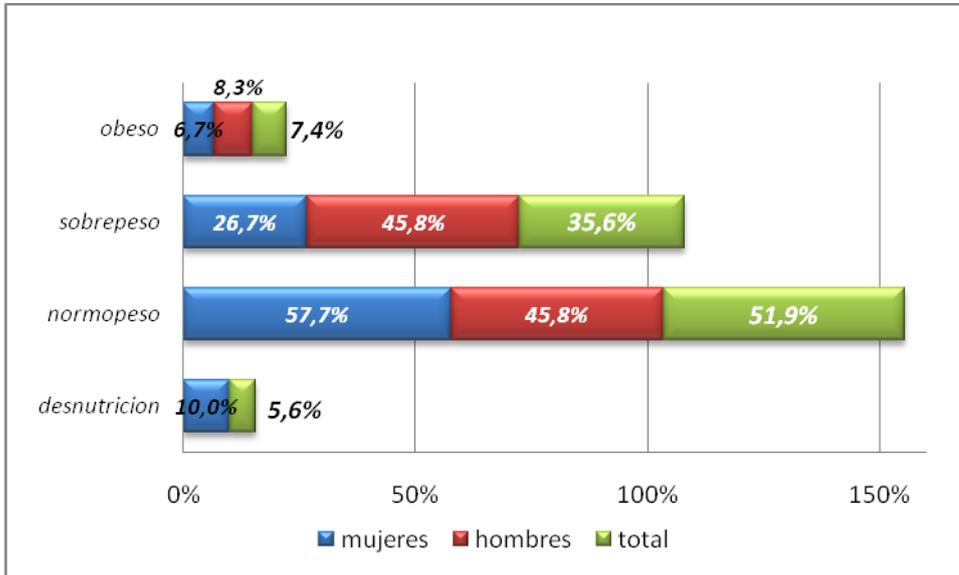
Los resultados obtenidos en el grupo sano muestran valores dentro de la normalidad en las medias de IMC. Se puede observar que la mayoría de las personas críticas estudiadas se encuentra en el rango de normalidad, aunque mostrando un porcentaje medio alto con sobrepeso.

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, al tener en cuenta el grado de malnutrición determinada mediante el valor de IMC observamos que el paciente crítico presenta desnutrición en un 5,5% menos de individuos que los controles, además en la población crítica existe un 14,8% menos de individuos obesos, teniendo en cuenta que ha sido una medida basal al inicio del estudio.

Gráfica 14.- Situación nutricional según el IMC en grupo control (% individuos)



Gráfica 15.- Situación nutricional según el IMC en paciente crítico (% individuos)

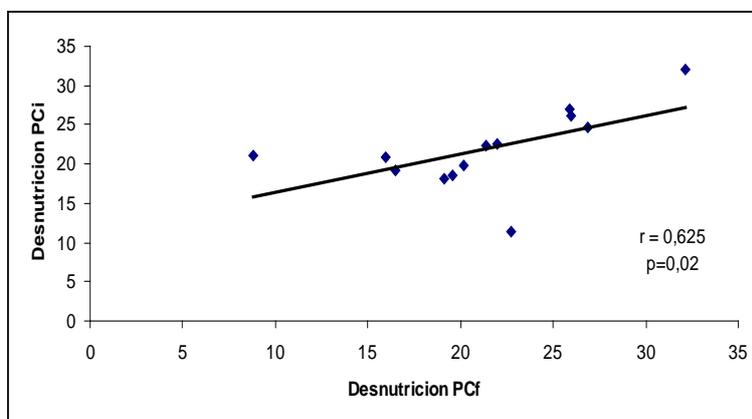


El IMC no aparece correlacionado de manera significativa con los valores de selenio por el hecho de que el paciente crítico retiene agua y se hincha, camuflando, por tanto, la posible desnutrición al sustituirse la masa muscular por líquido extra e intracelular, que derivará en edema.

El cálculo de la desnutrición en paciente crítico mediante la medida antropométrica no es muy fiable, ya que la inflamación que normalmente padece produce cambios en los índices de masa magra y grasa, pudiendo llevar a un error sistemático en la medida. En el paciente crítico, además, se produce retención de líquido, por lo que las medidas antropométricas son técnicas muy discutidas al aplicarlas en este tipo de pacientes.

Por otro lado, se encontró una correlación significativa entre la desnutrición al inicio y final de estancia en la UCI (Gráfica 16). Este hecho es presentado en muchos trabajos donde se habla de la desnutrición intrahospitalaria.

Gráfica 16.- Correlación entre la desnutrición al inicio (GPC 0) y final (GPC 7) de la estancia en UCI.



1.4.- SOBRE LA INGESTA DE ENERGÍA Y MACRONUTRIENTES

Kanner y colaboradores (1987), observaron que los pacientes críticos presentan una marcada inmunosupresión que cursa con debilidad muscular y con una alta incidencia de infección debido al estado hipermetabólico y proteolítico en el que se encuentran. En nuestro grupo control se puede observar una deficiencia en la ingesta de energía, pero no de proteína. En los pacientes críticos, la ingesta de energía, aportada mediante nutrición artificial, es deficiente en un 26,7 % de los individuos. Está descrito (Grupo de Trabajo de Nutrición y Metabolismo de la Sociedad Europea de Cuidados Críticos), que la desnutrición proteico-calórica constituye el mayor problema de los pacientes en UCI. Se puede observar que ingesta de proteína en nuestro grupo de pacientes críticos es deficiente en un 75,4 % (Tabla 48).

Al realizar una comparación de la ingesta de macronutrientes se puede ver que en caso de la población control sólo un 14,6 % tienen ingesta de energía < 2/3 de las CDR, pero en caso de los pacientes, aproximadamente un 55,2 % tiene un aporte de energía < 2/3 de las CDR (Tabla 48).

Se puede observar (Tabla 48) que la ingesta de proteína, carbohidratos y lípidos es muy deficiente en el grupo de los pacientes críticos, observándose diferencias significativas respecto a los controles ($p < 0.01$).

Tabla 48.- Adecuación de ingesta/aporte de energía y macronutrientes en el grupo control y en grupo de pacientes críticos.

	Grupo control		Pacientes críticos		Recomendación ESPEN	Recomendación general
	<CDR (%)	< 2/3 CDR (%)	<CDR (%)	< 2/3 CDR (%)		
Energía					20 -25 (30) Kcal/kg/día	1800-3000 Kcal/día
	60,6	14,6	85,6	55,2		
Proteínas	11,1	1,8	75,4	32,7	1,2 – 1,5 g/kg/día	47-56 g/día
Carbohidratos	85,7	0	96,3	19,2	5 g/kg/día	55-65 % energía
Fibra	83,3	43	100	85,7	20- 25 g /día	25 g/día
Lípidos	7,2	1,6	44,5	15,5	1-2 g/kg/día	20-30 % energía

CDR = Cantidad Diaria Recomendada

El aporte de macronutrientes es esencial para el estudio nutricional, tanto en personas sanas como en paciente críticos. Más aun en pacientes con SIRS y SEPSIS, donde además del estado hipermetabólico, la propia enfermedad puede aumentar los requerimientos. La mayoría de los estudios en pacientes críticos describen una deficiencia de macronutrientes 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.

Nuestros resultados en la ingesta de macronutrientes en la población crítica concuerdan con los obtenidos en otros estudios realizados previos por nuestro equipo (Abilés, Moreno-Torres, Moratalla y col., 2005) en población crítica mediante un estudio piloto.

Por otro lado, es de destacar que al realizar el estudio de correlaciones bivariantes de Pearson, el aporte de selenio se encontró correlacionado de manera positiva con la ingesta de carbohidratos ($r = 0,878$, $p = 0,000$) y de fibra ($r = 0,543$, $p = 0,002$), debido a su administración conjunta en las diferentes fórmulas enterales.

5.5.- INGESTA/APORTE DE SELENIO

En nuestros resultados se encontró una correlación significativa entre los valores de selenio en eritrocito y la talla ($p = 0,021$, $r = -0,675$), y entre la desnutrición en paciente crítico al inicio de la estancia en UCI y los niveles de selenio al inicio ($p = 0,01$, $r = -0,764$) al hacer ajuste por energía de la ingesta de selenio la correlación con la talla desaparece, por lo tanto demuestra que las personas más altas al ingerir más energía ingerían más selenio. No se encontró correlación significativa entre los valores de selenio e IMC, CB, PT ni el peso.

Hay una amplia variabilidad en cuanto a los requerimientos diarios de Selenio América y Europa sugieren que una dosis diaria de 80-100 $\mu\text{g}/\text{día}$. La recomendación diaria actual dada por el "US National Research Council". Más recientemente, la "US Food and Nutrition Board" ha sugerido un aporte diario basal de 55 $\mu\text{g}/\text{día}$ (Rayman, 2000). Asimismo, los estudios de biodisponibilidad sobre el selenio muestran un balance positivo cuando la ingesta de selenio es de 55 $\mu\text{g} / \text{día}$, estableciendo que una dieta que aporte esta cantidad es suficiente para mantener la homeostasis del selenio en los seres humanos (Cuervo, Corbalán, Baladía y col., 2009).

En la *gráfica 17* se muestra un porcentaje del 31,5% de la población sana con ingesta inadecuada de selenio, de donde un 28,3% son hombres y un 33,9% son mujeres. 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.

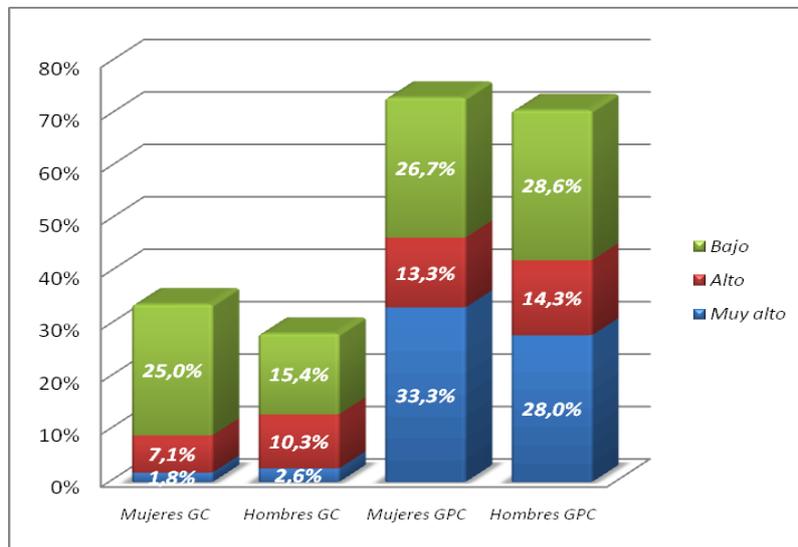
Es de destacar que la población control estudiada presenta un porcentaje de personas con ingestas deficientes en selenio relativamente alto, a pesar de que tienen un nivel medio - alto de vida y con conocimientos medios de nutrición.

En un estudio publicado en 2011 (Combs, Watts, Jackson y col. 2011) en el que evalúan el estatus nutricional de selenio en una población de 261 sujetos sanos, se obtuvo una ingesta de $109,1 \pm 43,6$ μg selenio/día, siendo la ingesta de selenio según sexo de 122 ± 51 μg /día en el caso de los hombres y 101 ± 35 μg /día para las mujeres, observando que el mayor aporte dietético de selenio se realizó principalmente a partir de pan, huevos y pasta.

Por otro lado, en otros estudio realizado sobre población sana (Arnaud y col. 2006) se observo una asociación positiva entre niveles plasmáticos de selenio y el consumo de carne y pescado, ambos productos de origen animal que pueden aumentar niveles de colesterol en sangre.

Además se observó una correlación positiva entre el nivel plasmático de selenio y el ácido úrico, siendo de nuevo una posible explicación a este hecho, el consumo de carne, ya que también se ha visto una disminución del selenio plasmático al incrementarse el consumo de frutas y vegetales (por su elevado contenido en fibra) (Arnaud y col. 2006; Letsiou y col. 2009).

Grafica 17.- Riesgo de Ingesta deficiente en selenio, por sexo



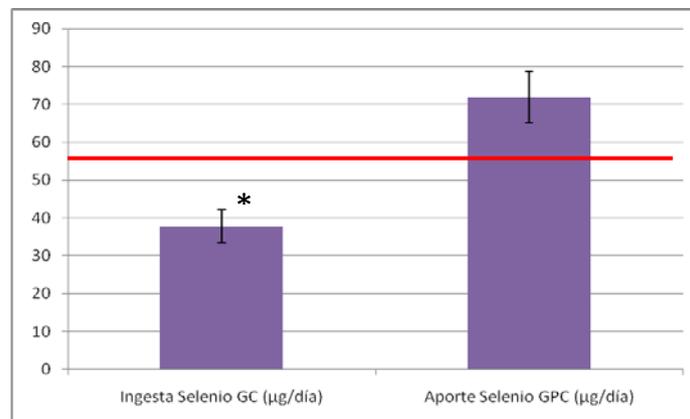
GC = Grupo Control, GPC= Grupo Paciente Crítico

En cuanto al aporte de selenio en los pacientes críticos estudiados, en nuestros resultados se observan diferencias significativamente menores en el paciente crítico que en controles ($p < 0.05$), al igual que ocurre con el aporte de carbohidratos y lípidos ($p < 0.05$).

Nuestros resultados muestran un aporte de selenio insuficiente en el 72,4 % de los pacientes críticos durante los 7 días de estancia en UCI valorados, siendo el aporte de selenio deficiente en el 73,3 % de las mujeres y el 71,4 % de los hombres.

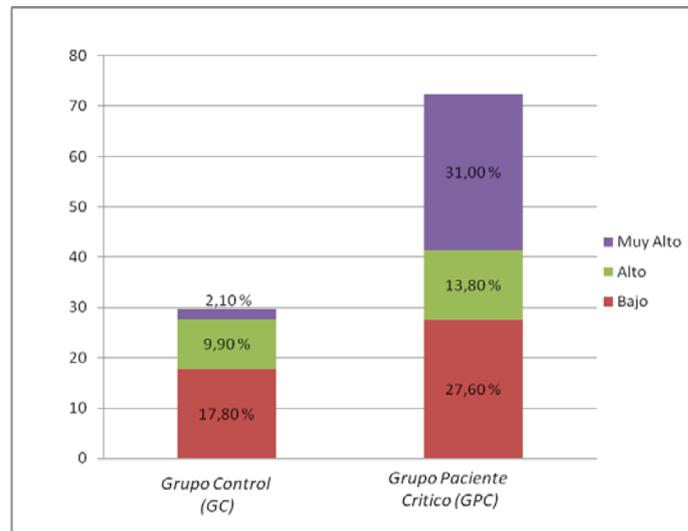
Al realizar el estudio comparativo de evaluación de ingesta y aporte de selenio en los dos grupos de población control y crítica, respectivamente, como se comentó en el apartado de resultados anterior, observamos valores que concuerdan con los estudios más recientes realizados en población sana andaluza (Sánchez, López-Jurado, Aranda y col, 2010; Combs, Watts, Jackson y col. 2011) y crítica (Forceville, Vitoux, Gauziy y col. 1998; Abilés, Pérez de la Cruz, Castaño y col. 2006). Dichos resultados muestran diferencias lógicas estadísticamente significativas ($p < 0.001$) entre ambos grupos, tal y como lo demuestra la *gráfica 18* con una ingesta media en el grupo control de $71,9 \pm 37,1 \mu\text{g}/\text{día}$ y un aporte medio de $37,8 \pm 23,1 \mu\text{g}/\text{día}$ en los pacientes críticos.

Gráfica 18.- Valores medios de ingesta/aporte de selenio



* $p < 0.001$ control vs críticos

Gráfica 19.- Riesgo de ingesta/aporte insuficiente de selenio (% individuos)



Así, según los datos reflejados en la gráfica 11, el porcentaje de individuos que demuestran una ingesta/ aporte de selenio insuficiente, según las necesidades por edad y sexo, es del 72,4 % en el paciente crítico, estando el 31 % en alto riesgo de deficiencia del mineral.

Por otro lado, es de destacar que el análisis de correlación bivalente de Pearson refleja asociaciones significativas negativas entre los niveles de ingesta de selenio y los valores en la escala de gravedad APACHE ($p= 0.026$, $r = -0.687$) y en la de fallo orgánico SOFA ($p= 0.043$, $r = -0.457$).

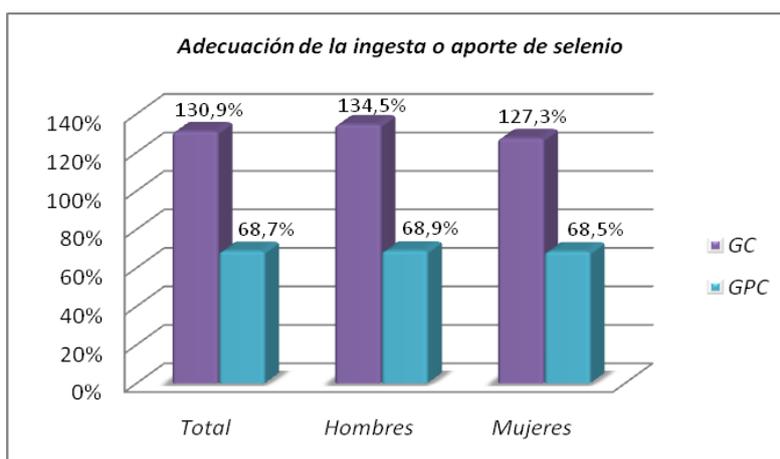
La metodología empleada en la recogida de datos de ingesta (frecuencia de consumo) nos aporta datos de consumo a largo plazo. Los trabajos que existen referentes al análisis de ingesta en poblaciones, generalmente se realizan con recogida de datos por recordatorio de consumo de alimentos durante las 24 – 48 horas anteriores, lo que aporta información de ingesta de nutrientes a muy corto plazo, haciéndolo menos real en cuanto a reservas de selenio en eritrocitos, por ejemplo.

Tal y como se comentó en el apartado de resultados, existen grandes diferencias en la ingesta de selenio realizada por el grupo control y el paciente crítico, en la grafica inferior se observa como en el grupo control realiza una ingesta de selenio superior a los 55µg/día,

cubriendo en un 130,9% la CDR de este mineral, al realizar la diferenciación por sexo, la ingesta diaria de selenio en los hombres fue del 130,9% y en las mujeres del 127,3%. En los pacientes críticos el aporte de selenio no alcanzó los niveles recomendados, cubriendo tan sólo el 68,7% de la CDR, porcentaje muy similar tanto en hombres como en mujeres al realizar la diferenciación por sexo.

A pesar de que nuestros resultados no muestran correlaciones significativas entre el aporte de selenio y los valores plasmáticos o eritrocitarios de selenio, el 100 % de los pacientes críticos que reciben un aporte nutricional insuficiente en selenio (que suponen el 71,4 % del total de pacientes), presentan valores deficientes en Se plasmático.

Grafica 20.- Adecuación de ingesta/aporte de selenio en los grupos control y de pacientes críticos, población total y por sexo.



1.6.- PARÁMETROS CLÍNICO-NUTRICIONALES

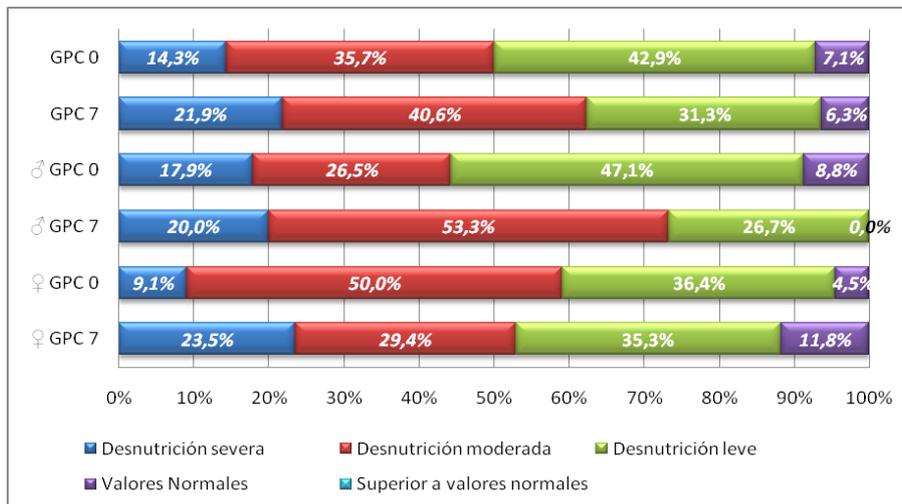
1.6.1.- ALBÚMINA

Como se comentó en el apartado de antecedentes, la albúmina es el parámetro bioquímico más utilizado como marcador nutricional y sus niveles pueden verse afectados en situaciones patológicas como la presencia de alteraciones renales, cutáneas o gastrointestinales, así como ante la deshidratación o hiperhidratación. Cuando un sujeto se encuentra en una situación patológica aguda este parámetro puede ser empleado en lugar de

cómo marcador del estado nutricional, como un reflejo de la severidad de la enfermedad. Los valores de referencia se encuentran entre los 3,5 – 5 g/dL.

Según los resultados de nuestro estudio, como se observa en la *gráfica 21*, podemos observar diferentes grados de desnutrición según los valores de albúmina en los pacientes críticos, destacando la alta prevalencia de desnutrición severa en ésta población.

Gráfica 21.- Situación nutricional de los individuos según valores de albúmina plasmática (% individuos)



GC =Grupo Control, GPC = Grupo Paciente Crítico inicio, GPC7 =Grupo Paciente Crítico al 7º día

1.6.2.- FERRITINA

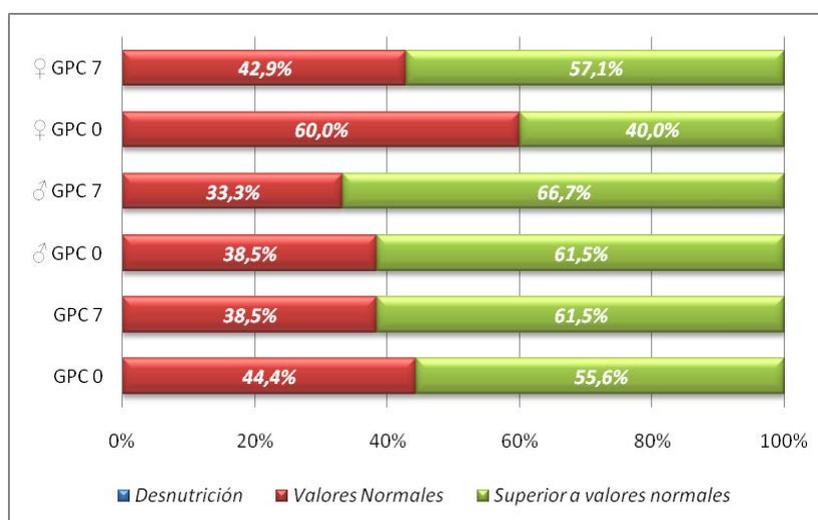
La ferritina es una proteína especializada en el depósito del hierro, y tal y como se comentó en antecedentes, se encuentra presente además de en el hígado, el bazo, la médula ósea y el músculo esquelético, en muchos otros tejidos de las células corporales, incluyendo los leucocitos, el plasma e incluso tejidos neoplásicos.

Es de recordar que la ferritina plasmática es considerada en la actualidad como la principal prueba para detectar estados de deficiencia o de sobrecargas de hierro corporal, ya

que cada microgramo de ferritina plasmática por litro equivale a 8 a 10 mg de hierro de depósito, siendo su valor proporcional a los depósitos de hierro, indicando por tanto, la cantidad de hierro disponible en el organismo.

En nuestros resultados de paciente crítico, se observan diferencias significativas respecto a la población control sana, y nos aporta datos sobre la situación de desnutrición de éstos individuos (gráfica 22).

Gráfica 22.- Situación nutricional de los individuos según valores de ferritina plasmática (% individuos)



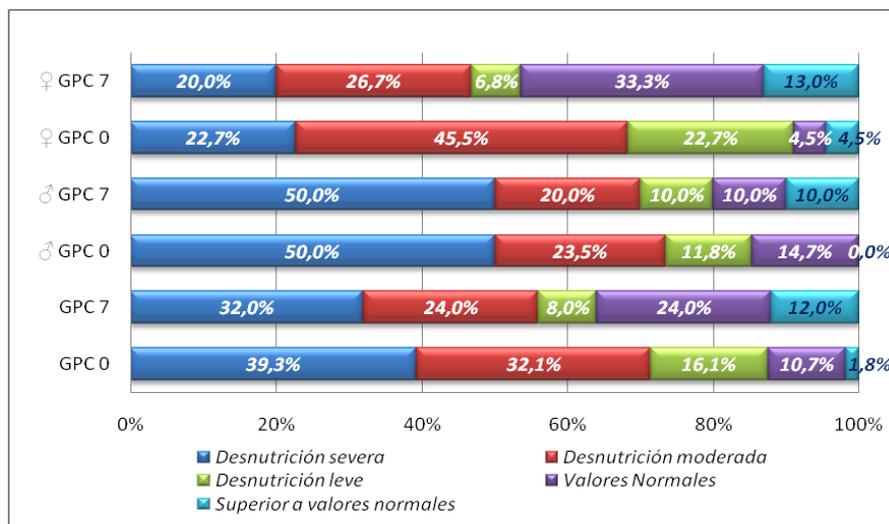
GC =Grupo Control, GPC = Grupo Paciente Crítico inicio, GPC7 =Grupo Paciente Crítico al 7º día

1.6.3.- PREALBÚMINA

Sabemos que la prealbúmina posee una vida media de 2,5 días, por lo que sería un parámetro bastante sensible en la valoración de una intervención nutricional. Al igual que ocurre con la albúmina, existen situaciones fisiológicas pueden alterar las concentraciones plasmáticas de esta proteína, como son la presencia de una enfermedad aguda grave, una enfermedad hepática, presencia de un síndrome nefrótico, presencia de deshidratación, insuficiencia renal crónica. Los niveles de referencia se sitúan entre los 19,5 – 35,8 mg/dL

En nuestros resultados se observan valores iniciales del 39,3 % de individuos con desnutrición severa, 32,1 % con desnutrición leve, tan solo el 10,87% de los pacientes presentaron valores plasmáticos de prealbúmina dentro de los valores normales, y un 12% presentó valores superiores a los niveles normales de referencia, demostrando que mejoran.

Gráfica 23.- Situación nutricional de los individuos según valores de prealbúmina plasmática (% individuos).



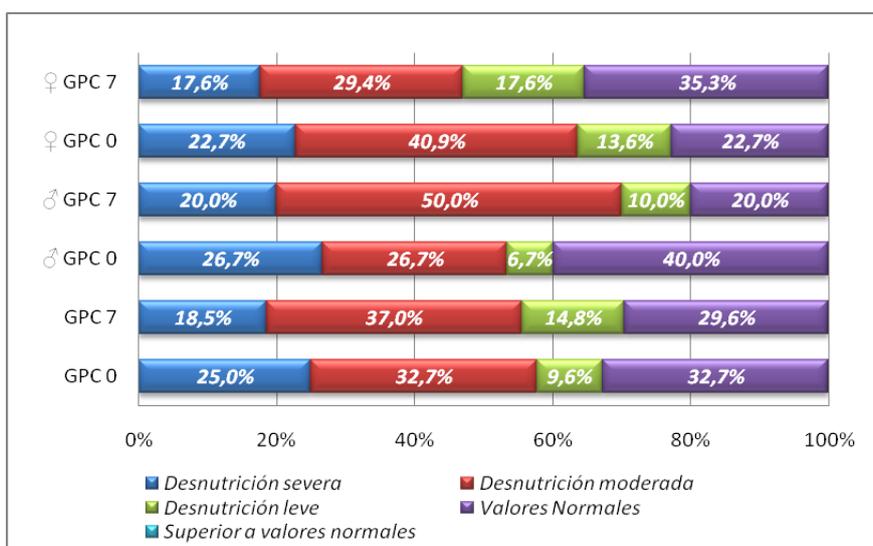
GPC = Grupo Paciente Crítico inicio, GPC7 =Grupo Paciente Crítico al 7º día

1.6.4.- TRANSFERRINA

Como ya se comentó en el apartado de antecedentes, la transferrina es una betaglobulina transportadora de hierro. Tiene una vida media de 8 – 10 días. Su principal inconveniente, es que sus cambios están muy ligados al metabolismo del hierro, estando sus niveles aumentados en la anemia ferropénica y disminuidos en la enfermedad hepática, sepsis, síndrome de malabsorción y alteraciones inespecíficas inflamatoria. Los valores de referencia se encuentran entre los 170 - 370 mg/dL.

En función a los niveles normales de referencia de este marcador, se observó que en el momento de inclusión en el estudio, el 32,7% de los pacientes presentaba niveles plasmáticos dentro de lo normal, y de los pacientes con valores inferiores a 170 mg/dL, el 25% presentaron un estado desnutrición severa, el 32,7% desnutrición moderada y el 9,6% desnutrición leve. Nuestros resultados muestran una mejoría durante la estancia en la UCI.

Gráfica 24.- Situación nutricional de los individuos según valores de transferrina plasmática (% individuos)



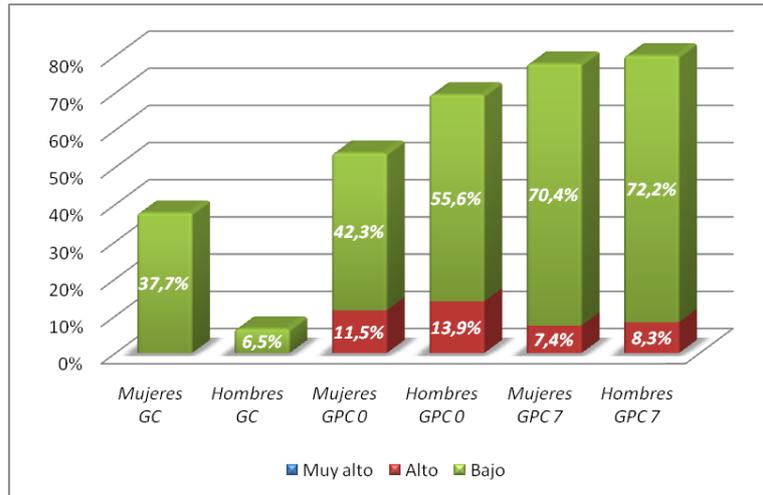
GPC = Grupo Paciente Crítico inicio, GPC7 =Grupo Paciente Crítico al 7º día

1.7.- SELENIO EN PLASMA Y ERITROCITO

En nuestros resultados hemos apreciado una correlación positiva entre los niveles de selenio plasmáticos y eritrocitarios ($p = 0.009$; $r = 0.292$) (Gráfica 25) en población control. Ante este resultado podemos suponer que al igual que en el caso anterior cuando apreciamos como los niveles de selenio en plasma eran un buen indicador de la ingesta de selenio a corto plazo, en este caso vemos como los niveles de selenio en eritrocitos pueden tener una asociación clara con los niveles plasmáticos. Esto puede ser debido a la incorporación de selenio durante la síntesis celular, actuando en cierto modo como reservorio (Thomson. 2004) de éste mineral, y demostrando que la población estudiada presenta un *pool* de selenio plasmático constante aportado por el almacenado en eritrocito, que se libera según las

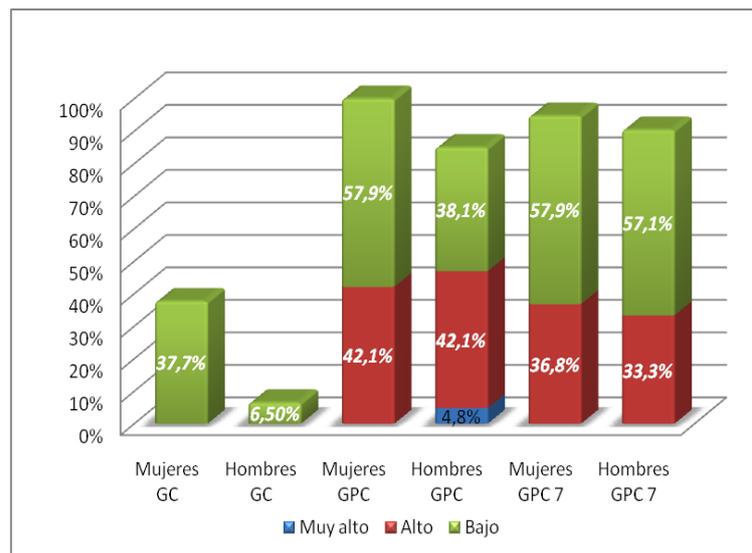
necesidades, lo cual es indicativo del estado de salud de nuestros individuos, independientemente de que exista o no deficiencia de éste mineral en parte de la muestra estudiada.

Grafica 25.- Grado de deficiencia en selenio plasmático (% individuos)



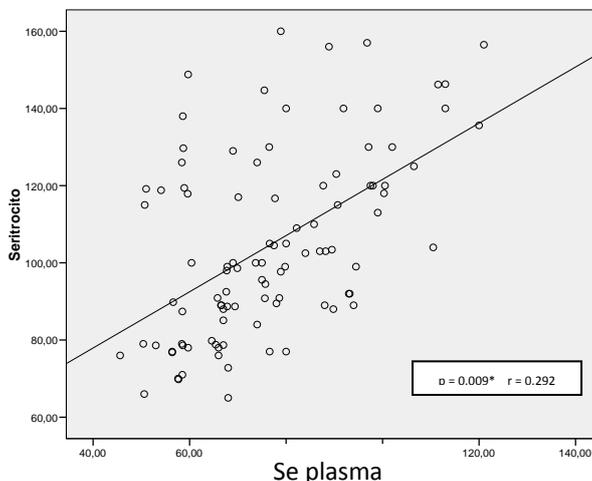
GC =Grupo Control, GPC = Grupo Paciente Crítico inicio, GPC7 =Grupo Paciente Crítico al 7º día

Grafica 26.- Grado de deficiencia en selenio en eritrocito (% individuos)



GC =Grupo Control, GPC = Grupo Paciente Crítico inicio, GPC7 =Grupo Paciente Crítico al 7º día

Gráfica 27.- Correlación entre los valores eritrocitarios de selenio y los niveles plasmáticos de selenio en individuos críticos al final del estudio



Nuestros resultados muestran una correlación significativa ($p = 0.009$, $r = 0.292$) entre los valores de selenio en plasma y los niveles de selenio en eritrocito en la población crítica, tanto al inicio como al final (*gráfica 27*) de la estancia en la unidad de cuidados intensivos.

Al observar los resultados de correlación en los individuos controles, también encontramos asociación significativa entre los valores de selenio en eritrocito y plasma ($p = 0,018$, $r = 0,562$).

Todo ello nos demuestra la importancia de conocer exactamente la distribución y localización compartimental del selenio en el organismo, y su papel como antioxidante, antiinflamatorio e inmunológico, entre otros, en las diferentes situaciones fisiológicas y fisiopatológicas.

Tras realizar el análisis estadístico de correlación, se observó una correlación positiva entre los niveles de selenio en plasma y eritrocitos, y los niveles de triacilglicéridos (TAG), colesterol total y colesterol LDL, así como una correlación negativa con los niveles de colesterol- HDL. (*Tabla 49*).

Tabla 49.- Correlaciones entre el selenio en plasma y eritrocito con el perfil lipídico en personas sanas

	Ac. Úrico (mg/100ml)	TAG (mg/100ml)	HDL (mg/100ml)	LDL (mg/100ml)	Colesterol total (mg/100ml)
Selenio en eritrocito	---	$p = 0,233 (*)$ $r = 0,022$	$p = -0,267 (**)$ $r = 0,008$	$p = 0,298 (**)$ $r = 0,003$	$p = 0,252(*)$ $r = 0,013$
Selenio en plasma	$p = 0,286(**)$ $r = 0,005$	$p = 0,194$ $r = 0,058$	$p = -0,280 (**)$ $r = 0,006$	$p = 0,269 (**)$ $r = 0,008$	$p = 0,231(*)$ $r = 0,024$

* Correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** Correlación es significativa al nivel 0,001 (bilateral).

El selenio en sí mismo es un mineral muy implicado en la defensa antioxidante, ya que actúa como cofactor de numerosas enzimas antioxidantes. A lo largo del estudio hemos apreciado una clara relación entre los niveles de selenio en plasma y la ingesta calórica. Sabemos que una mayor ingesta energética, generalmente está asociada a un mayor consumo de alimentos proteicos y ricos en grasa, pudiendo ser este el principal motivo por el cual se ven aumentados los niveles plasmáticos de triacilglicéridos (TAG), colesterol total y colesterol LDL, así como la disminución de colesterol HDL. Pudiéndose producir de este modo un aumento de los niveles plasmáticos de selenio a pesar del negativo índice de salud (Letsiou y col, 2009).

Como se comentó en el apartado de antecedentes, durante los estados de hipercatabolismo, se asiste a una redistribución de selenio entre los compartimentos extracelular e intracelular con desvío intracelular del Selenio. Ambos fenómenos y en particular el mecanismo de redistribución o traslocación intracelular explican el descenso de los niveles plasmáticos de Selenio y de la actividad GPx-3, características distintivas en los estados de SRIS-DOM (Zachara BA, Salak A, Koterska D y cols, 2004). Estos eventos conducen a un estado de deficiencia del estado nutricional de Selenio endógeno, el que no es posible replecionar con el aporte de Selenio habitualmente utilizado en el soporte nutricional enteral o parenteral estándar, el que no supera los 50-100 µg/día (Manzanares, 2007).

Por otro lado, se ha observado una correlación positiva entre niveles de selenio en plasma y GOT, GPT, CPK y Fe, además hay también correlación positiva entre selenio eritrocitario y GPT, GGT, P y LDH. (Tabla 50).

Tabla 50.- Correlaciones entre el selenio en plasma y eritrocito con el perfil lipídico en paciente crítico

	GOT (U/l)	GTP (U/l)	GGT (U/l)	CPK (U/l)	LDH (U/l)
Selenio en eritrocito	---	$p = 0,227^*$ $r = 0,027$	$p = 0,317^{**}$ $r = 0,002$	---	$p = 0,337^*$ $r = 0,001$
Selenio en plasma	$p = 0,235^*$ $r = 0,021$	$p = 0,227$ $r = 0,07$	---	$p = 0,761^*$ $r = 0,011$	---

* Correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** Correlación es significativa al nivel 0,001 (bilateral).

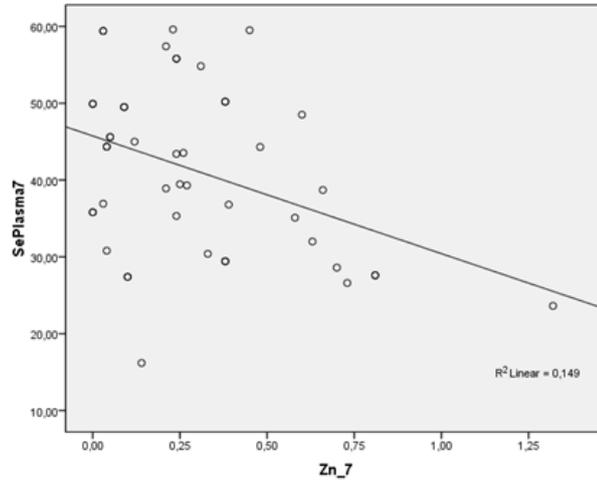
Tabla 51.- Correlaciones entre el selenio en plasma y eritrocito con otros oligoelementos en paciente crítico

	Zn	K	Mg	P (mg/100ml)	Fe (µg/100ml)
Selenio en eritrocito	---	$p = 0,285^*$ $r = 0,030$	$p = 0,407^*$ $r = 0,026$	$p = -0,315^{**}$ $r = 0,002$	---
Selenio en plasma	$p = -0,359^*$ $r = 0,034$	$p = 0,349^{**}$ $r = 0,008$	---	---	$p = 0,299^*$ $r = 0,003$

Por otro lado, hemos de destacar la correlación significativa encontrada entre los niveles de selenio plasmáticos o eritrocitarios y otros minerales plasmáticos o eritrocitarios (Tabla 51), como hierro ($p = 0,299$; $r = 0,003$), fósforo ($p = -0,315$; $r = 0,002$), cinc ($r = -0,359$, $p = 0,034$), potasio ($p = 0,285$; $r = 0,030$ y $p = 0,349$; $r = 0,008$) y magnesio ($p = 0,407$, $r = 0,026$), con seguridad se deben a mecanismos competitivos en el transporte celular, tal y como lo refleja la bibliografía (Monteil-Rivera y cols, 1999; Van Nhien y cols, 2008), y en el caso de las enzimas puede ser debida a la liberación de las mismas de los eritrocitos.

En un estudio en el que se suplemento a ratas con fallo hepático con selenio orgánico (Ianas y col, 1995) se observó una disminución significativa en la producción de peróxidos lipídicos y un incremento significativo de la actividad enzimática de las transaminasas, de modo que se puede justificar la relación de la actividad de las enzimas analizadas en nuestro estudio con la capacidad antioxidante aportada en este caso por el selenio.

Gráfica 28.- Correlación entre los valores plasmáticos de selenio y los de cinc en el paciente crítico al final de la estancia en UCI.



1.8.- SELENIO Y SELENOPROTEÍNA P

Nuestros resultados ponen de manifiesto correlaciones altamente significativas entre los valores de SEPP1 plasmática obtenidos al inicio de la estancia en UCI del paciente crítico respecto al selenio plasmático en este periodo ($p = 0,000$; $r=0,961$). Igualmente, estos niveles están muy asociados con la concentración de selenio intracelular inicial ($p = 0,000$; $r = 0,695$).

En cuanto a los biomarcadores de estrés oxidativo, se han observado correlaciones significativas positivas de la SEPP1 con el poder antioxidante total (PAO) al inicio del estudio ($p = 0,031$; $r = 0,473$).

En general los valores de SEPP1 obtenidos al inicio y final de la estancia estudiada, muestran una alta correlación con tendencia hacia la disminución de su concentración plasmática ($p = 0,000$; $r = 0,806$).

En cuanto a los niveles plasmáticos de SEPP1 encontrados al séptimo día de estancia en UCI, los pacientes estudiados muestran niveles altamente asociados con la concentración de selenio en plasma ($p = 0,000$; $r = 0,716$), y en eritrocito ($p = 0,013$; $r = 0,519$) al inicio del

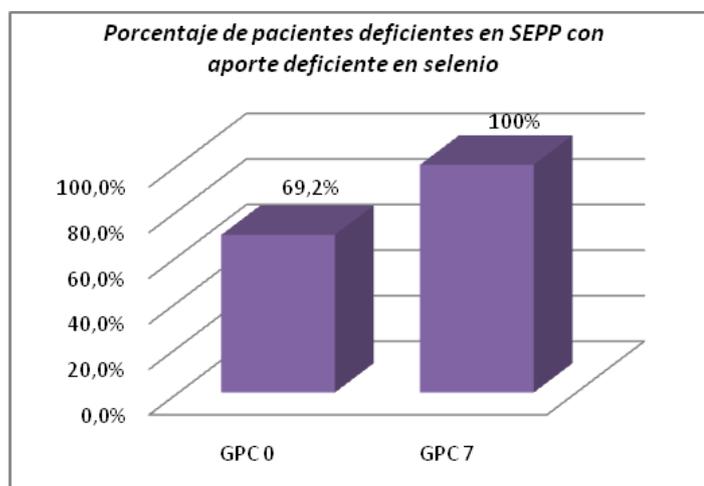
estudio y con los niveles de selenio al séptimo día de estancia, tanto en plasma ($p = 0,000$; $r = 0,829$) como en eritrocito ($p = 0,046$; $r = 0,440$).

Por otro lado, se observa correlación entre los niveles plasmáticos de SEPP1 con los niveles de PAO, que, al igual que ocurría al inicio del estudio, continúan al final del mismo ($p = 0,470$; $r = 0,320$).

El análisis de regresión logística realizado muestra que en paciente crítico, la selenoproteína P es el biomarcador predictor más patente de la situación de deficiencia de selenio. Según los resultados obtenidos, por cada unidad de SEPP1 que disminuye durante la estancia, aumenta 16 veces el riesgo de padecer deficiencia de selenio ($p = 0,019$, $Ex (b) = 16,6$). Es una medida que cuantifica el riesgo que representa poseer el factor correspondiente respecto a no poseerlo, suponiendo que el resto de variables del modelo permanecen constantes.

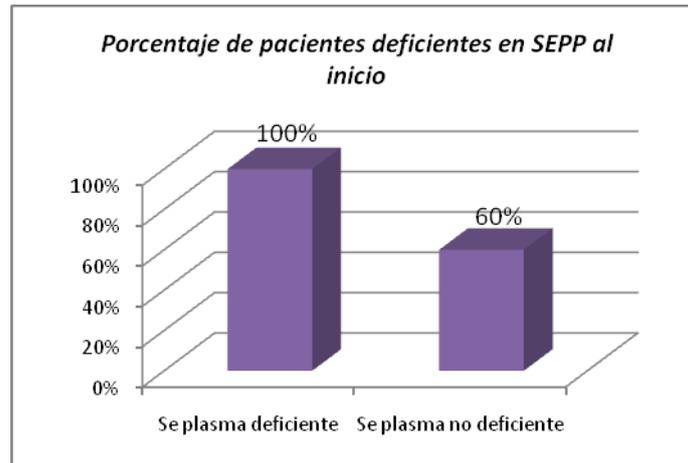
Al realizar el análisis estadístico mediante tablas de contingencia, observamos que el 69,2 % de los pacientes que reciben una nutrición insuficiente en selenio al inicio, y el 100 % de los pacientes que reciben un aporte inadecuado del mineral al final de la estancia en UCI, presenta unos valores de selenoproteína P deficientes.

Gráfica 29.- Población de pacientes críticos con aporte deficiente en selenio, que presentan deficiencia de SEPP1



Por otro lado, el 100 % de los pacientes críticos deficientes en selenio en plasma, presentan valores deficientes en selenoproteína al inicio de la estancia en UCI.

Gráfica 30.- Población de pacientes críticos deficientes o no en selenio plasmático, con deficiencia de SEEP1 al inicio



En un trabajo realizado por Hurst, Armah, Dainty y colaboradores (2010) en el que analizaron los niveles de selenoproteína P en una población adulta sana de Reino Unido, confirmaron que ésta proteína era un adecuado biomarcador del estatus de selenio para poblaciones con ingestas relativamente bajas de selenio, ya que se apreció un aumento significativo en los sujetos que recibieron un suplemento dietético de 50 µg/día (estimando que la ingesta diaria en este grupo se encontraría dentro de los 55 µg/día recomendados como CDR), y estos niveles de se estabilizaron en los sujetos que recibieron una suplementación de 100 y 200 µg/día.

Igualmente, Combs, Watts, Jackson y colaboradores (2011), confirmaron la utilidad de éste parámetro como marcador del estatus de selenio en poblaciones sanas.

1.9.- SELENIO Y HOMOCISTEÍNA

El 19,2 % de los individuos sanos que ingieren selenio de manera insuficiente, presenta hiperhomocisteinemia (Hcy). El 87,5 % de los pacientes críticos con aporte insuficiente en selenio presenta HH al final del estudio.

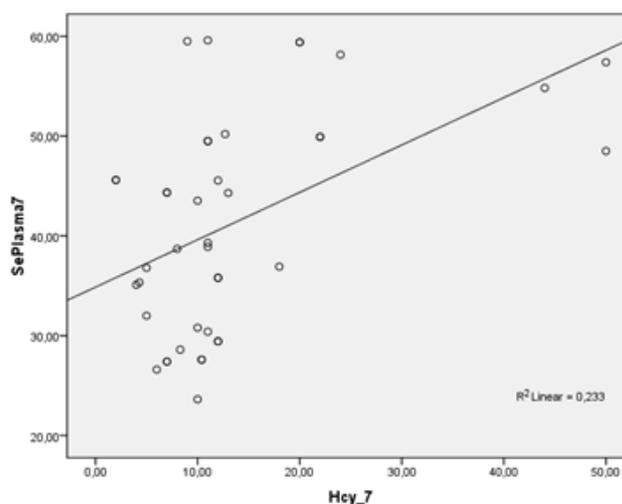
Tabla 52.- Correlación bivalente de Pearson entre los valores sanguíneos de selenio y los de homocisteína

	<i>SePlasma7</i>	<i>SeEritro7</i>	<i>Hcy_7</i>
<i>SePlasma7</i>	---	$r = 0,494^{**}$ $p = 0,001$	$r = 0,504^{**}$ $p = 0,003$
<i>SeEritro7</i>	$r = 0,494^{**}$ $p = 0,001$	---	---
<i>Hcy_7</i>	$r = 0,504^{**}$ $p = 0,003$	---	---

**significación $p < 0.01$

Es de destacar que en la población crítica existe una correlación positiva significativa entre los valores de Hcy plasmáticos y los niveles plasmáticos de selenio, tanto al inicio ($r = 0,456$, $p = 0,01$), como al final ($r = 0,504$, $p = 0,003$) del estudio. Esto puede resultar incongruente teniendo en cuenta que la Hcy es un parámetro indicador de riesgo cardiovascular y la función principal de selenio es como antiinflamatorio y antioxidante.

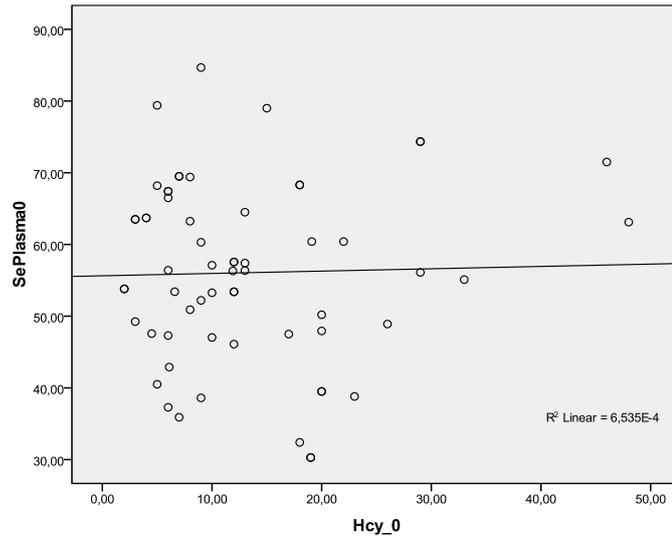
Gráfica 31.- Correlación bivalente entre los valores plasmáticos de Hcy y selenio al final del estudio, en los pacientes críticos



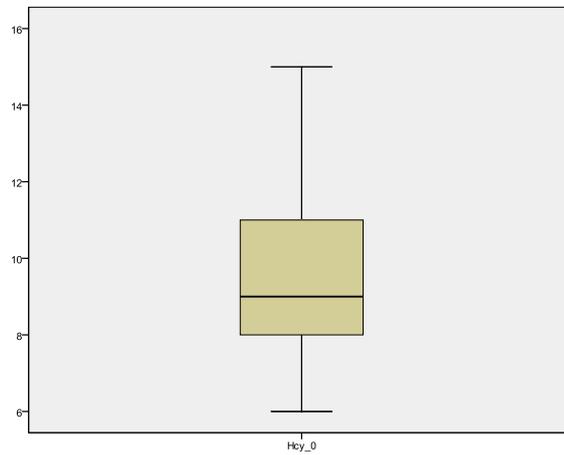
En la población control estudiada, es de mencionar que existe igualmente una correlación significativa ($r = 0,269$, $p = 0,018$) ligeramente positiva entre los valores de selenio plasmático y los de Hcy (gráfica 31), aunque al observar los valores de homocisteína

individuales, vemos que no existe ningún valor por encima de los establecidos como hiperhomocisteinémicos ($Hcy < 12$), por tanto la correlación positiva entre el selenio en plasma y la Hcy carece de transcendencia en los individuos controles (Gráfica 32).

Gráfica 32.- Correlación entre los niveles de selenio plasmático y los de homocisteína en la población sana

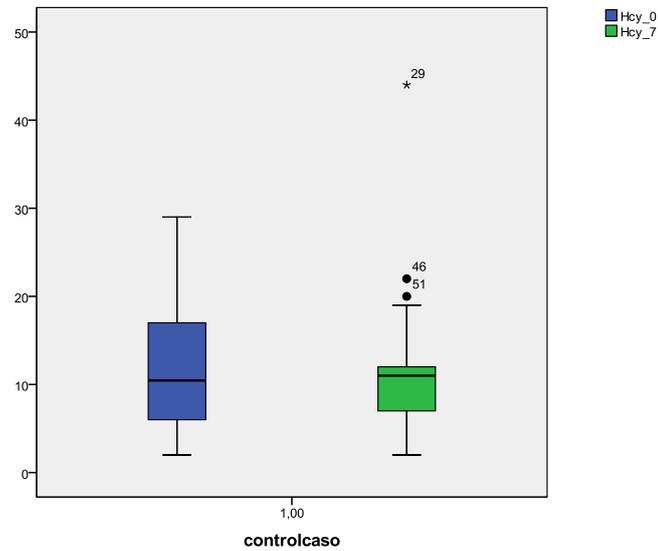


Gráfica 33.- Diagrama de cajas de los valores de homocisteína en la población sana



Los resultados de homocisteína muestran una mayor normalidad en el caso de las muestras control de individuos sanos (gráfica 33), mientras que al observar los diagramas de cajas en individuos críticos, dichos datos muestran una mayor variabilidad (gráfica 34).

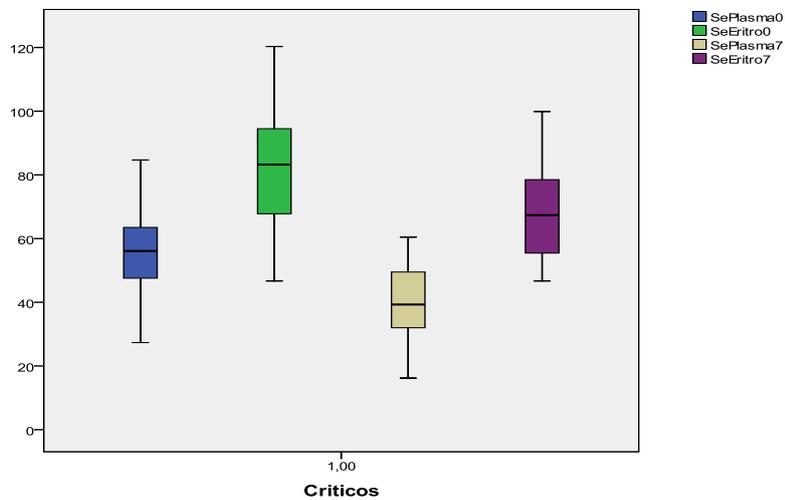
Gráfica 34.- Diagrama de cajas de los valores de homocisteína en la población crítica



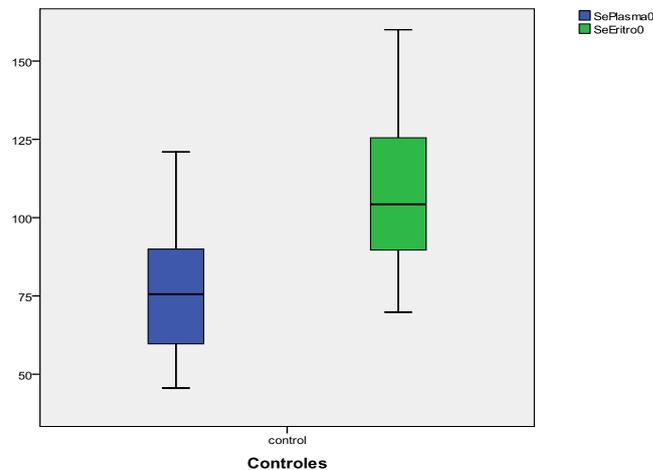
Además, a la semana de estancia en UCI aparece una asociación positiva que deriva del estado inflamatorio sistémico del paciente, en que se intercambian compuestos e iones a ambos lados de las membranas de manera aleatoria, por lo que ocurre una correlación falsa entre ambos parámetros.

Sin embargo, al unir la población sana y la crítica, y realizar el análisis de correlación bivariante, los resultados muestran correlación negativa entre los niveles de selenio ($r = -0,059$; $p = 0,051$).

Gráficas 35.- Diagrama de cajas del contenido en selenio en los compartimentos sanguíneos analizados en la población crítica



Gráficas 36.- Diagrama de cajas del contenido en selenio en los compartimentos sanguíneos analizados en la población sana

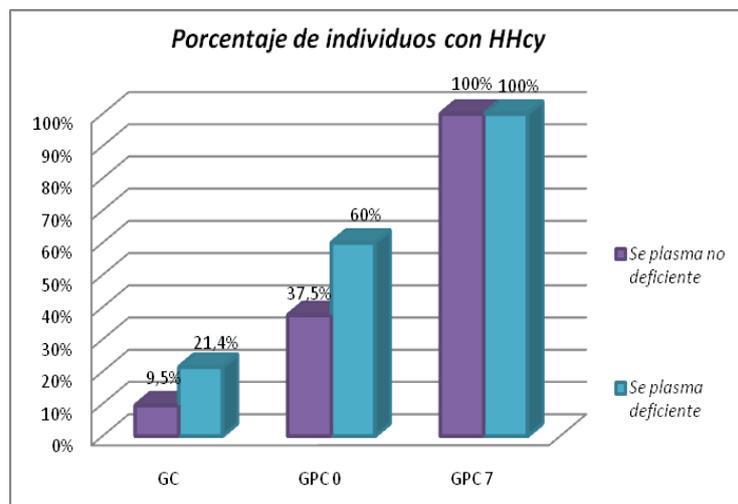


En los diagramas de cajas se puede observar cómo los valores de selenio en los diferentes compartimentos tanto en individuos sanos como críticos, guardan una normalidad que tiende a ser mayor en los individuos controles a nivel plasmático,

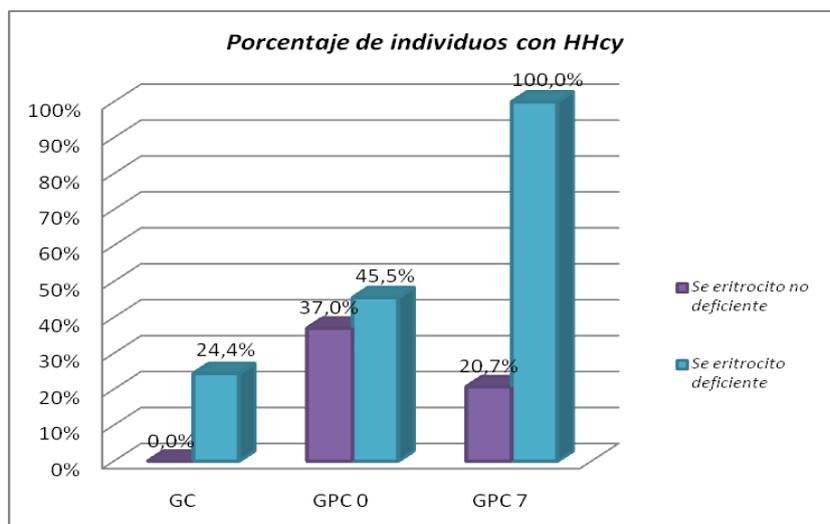
De la población control sana, el 21,4 % de los individuos deficientes en selenio en plasma, son Hcy (gráfica 37)

Por otro lado, nuestros resultados muestran que el 60,0 % de los pacientes críticos deficientes en selenio plasmático presentan Hcy al inicio de la estancia en UCI, mientras que el 100% de los pacientes deficientes en Se plasmático son HH al final del estudio.

Gráfica 37.- Población deficiente y no deficiente en selenio plasmático, con hiperhomocisteinemia (HHcy)



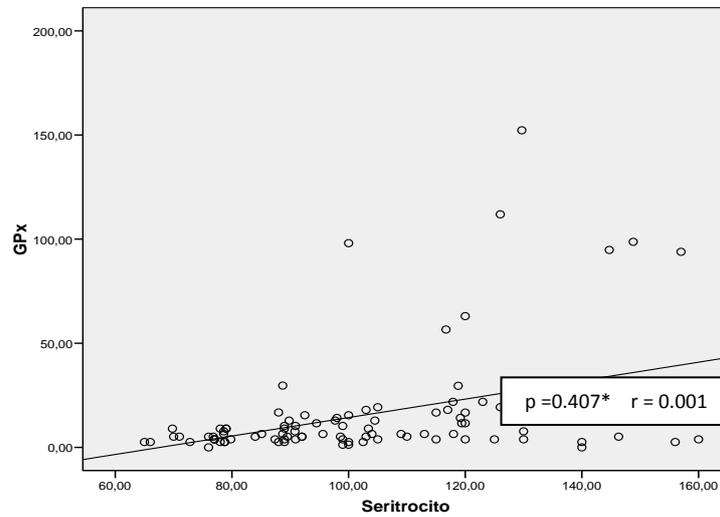
Gráfica 38.- Población deficiente y no deficiente en selenio eritrocitario, con hiperhomocisteinemia



1.10.- SELENIO Y ESTATUS ANTIOXIDANTE

Al realizar la correlación entre los niveles de selenio y la actividad de GPx en la población sana, se observó una correlación positiva entre los niveles eritrocitarios de selenio y la actividad de GPx ($p = 0.407$, $r = 0.001$) (Gráfica 39). En muchas ocasiones el grado de respuesta de la enzima depende del nivel inicial de actividad. La GPx en plaquetas parece el indicador más sensible ante un aumento de ingesta de selenio, incrementándose su actividad a las 1 – 2 semanas después de comenzar una suplementación, esto puede ser debido a los pocos días de vida de 8 – 14 días de las plaquetas, comparadas con los 120 días de los eritrocitos, actuando de este modo como reservorio de selenio en sangre, pudiendo ser el motivo por el cual aparece esta asociación con la actividad de la enzima GPx.

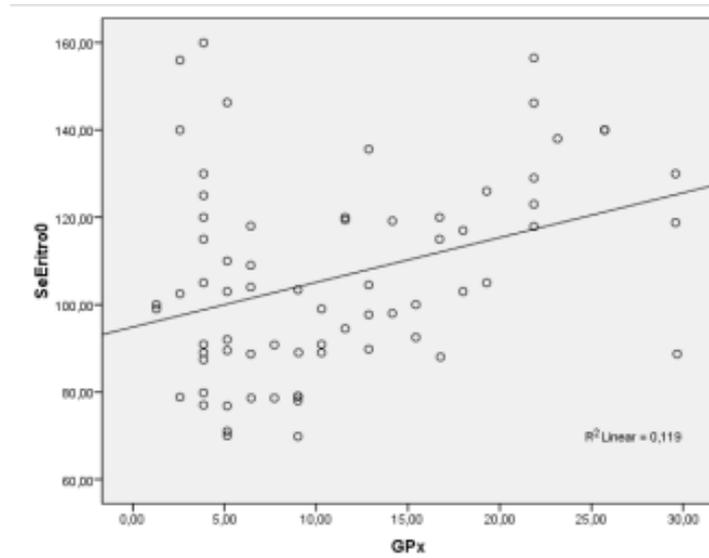
Gráfica 39.- Correlación entre los valores eritrocitarios de actividad de GPx y los niveles selenio en eritrocito en individuos sanos



No hemos de olvidar que la enzima GPx forma parte de un sistema de reacciones antioxidantes, y que por lo tanto, una actividad baja de GPx se puede ver compensada por otros componentes de este sistema como la vitamina C y E, pero que el efecto protector de la GPx tiene una particular importancia cuando el organismo está expuesto a condiciones adicionales de estrés, (Thomson, 2004) y que por otro lado, las dietas bajas en vitamina E, tienen aumentadas las necesidades de selenio.

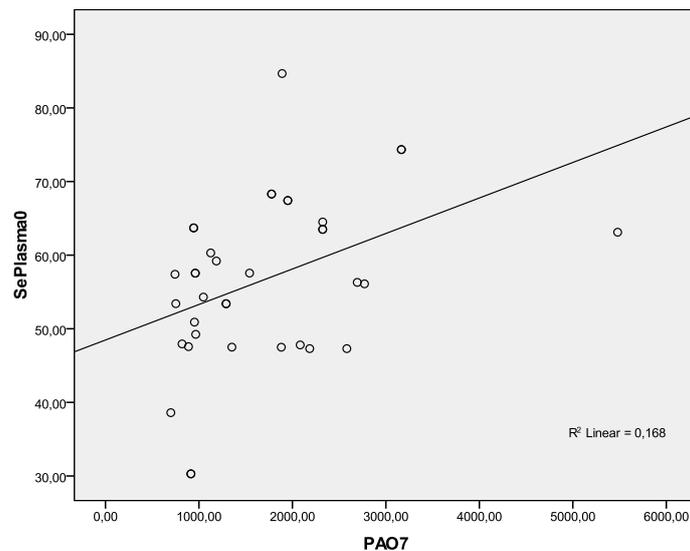
Como se observa en el diagrama de puntos siguiente, existe una asociación positiva entre la concentración de selenio en eritrocito y los valores de actividad de GPx en los pacientes críticos al inicio de la estancia en la UCI ($r = 0,345$, $p = 0,003$).

Gráfica 40.- Correlación entre los niveles de selenio en eritrocito y los de actividad enzimática de GPx en pacientes críticos al inicio del estudio



Igualmente, existe una alta correlación entre los valores de Hcy plasmáticos al inicio y final de la estancia y los valores de PAO al inicio y final de la estancia en UCI de los enfermos estudiados (Gráfica 41), lo que confirma el rol antioxidante del selenio a nivel plasmático.

Gráfica 41.- Correlación entre los niveles plasmáticos de selenio y los valores de Poder Antioxidante en paciente crítico.



1.11.- SELENIO E INFLAMACIÓN

La interleucina-2 llamada también factor de crecimiento de las células T, es una de las citokinas inmunorreguladoras más importantes. Sus fuentes principales son los linfocitos CD4 Th1, los CD8 y las células natural *killer*. Es una molécula con un peso de 15.400 D, codificada por un gen ubicado en el cromosoma 4. Puesto que tiene una semidesintegración muy rápida, sus funciones son principalmente locales, auto y paracrinas. El receptor de membrana de la interleucina-2 no se expresa en las células T en reposo, pero alcanza sus valores pico al activarlas por dos o tres días, mientras que a los seis o diez disminuye considerablemente. Está formado por tres cadenas: alfa, beta y gamma que se relacionan en forma no covalente (Holthe y col., 2004).

Según nuestros resultados, existen correlaciones positivas entre la IL2 plasmática y la SEEP1 al inicio y a los 7 días de estancia en UCI del paciente crítico. Igualmente éste biomarcador de inflamación.

Tabla 53: Correlaciones entre el los distintos biomarcadores de estatus de selenio con IL2

	Se Plasmático punto 7	SEPP punto 0	GPx punto 7	SEPP punto 7
IL- 2	r=0,631*	r=0,699*	r=0,650*	r=0,703*

*p<0,1

1.12.- ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA

El estudio de regresión logística se realizó a partir de la elaboración de un modelo estadístico formado por todas aquellas variables independientes que pudieran influir en la respuesta del paciente crítico durante su estancia en UCI de 7 días. Éstos parámetros en definitiva fueron, como variable dependiente, la deficiencia o no de selenio a partir de niveles inferiores o superiores a los plasmáticos y eritrocitarios de referencia, y como variables independientes el aporte de selenio, los biomarcadores de estatus oxidativo PAO, GPx y SEEP1, los clínico-nutricionales directamente correlacionados, como albúmina, prealbúmina, ferritina y transferrina, y minerales igualmente correlacionados como el magnesio, el cinc y el hierro.

Finalmente, el modelo multivariante que nos queda después de emplear como método el de *sacar variables*, muestra un modelo multivariante muy simple, a la vez que efectivo, que incluye como variable dependiente la deficiencia eritrocitaria de selenio, y como independientes los niveles de selenoproteína P y prealbúmina, siendo principalmente la selenoproteína P, la que más no va aportar efectividad (x 16,6 O.R.), demostrando ser un potente biomarcador del estatus de selenio en el paciente crítico al final de su estancia en la Unidad de Cuidados intensivos..

1.13.- SELENIO Y EXPRESIÓN GÉNICA

Al realizar el análisis bivariante, se ha observado que la igual que sucedió en la muestra de individuos críticos general, existe una correlación significativa positiva entre los niveles de selenio plasmático y eritrocitario al inicio y al final de la estancia en UCI ($r = 0,852$; $p = 0,001$). Igualmente observamos correlaciones significativas positivas entre los niveles de actividad de la GPx eritrocitaria durante la estancia en UCI ($r = 0,703$; $p = 0,016$).

Por otro lado, se observa una asociación significativa positiva entre los niveles de selenoproteína P y los de selenio plasmático al final del periodo de estudio ($r = 0,605$; $p = 0,049$). Igualmente podemos destacar la existencia de una correlación significativa entre los niveles de selenoproteína P al inicio y al final de la estancia ($r = 0,848$; $p = 0,001$)

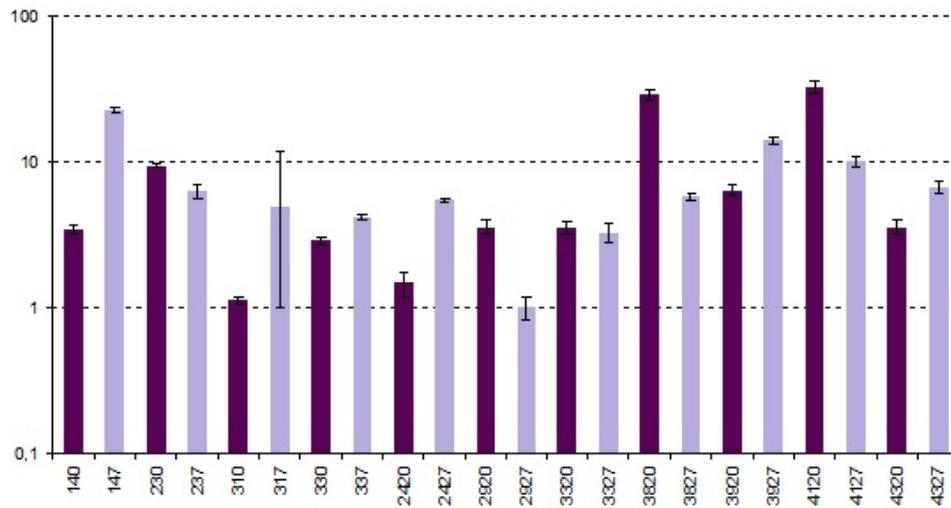
No hay diferencias significativas entre la expresión de ninguna de las selenoproteínas al inicio (día 0), frente a la expresión de ambas al final del estudio (7 días), en el subgrupo tratado con análisis de expresión génica.

Destaca que hay correlación aunque, no significativa, positiva de GPX con su expresión y negativa de Selenoproteína P con su expresión.

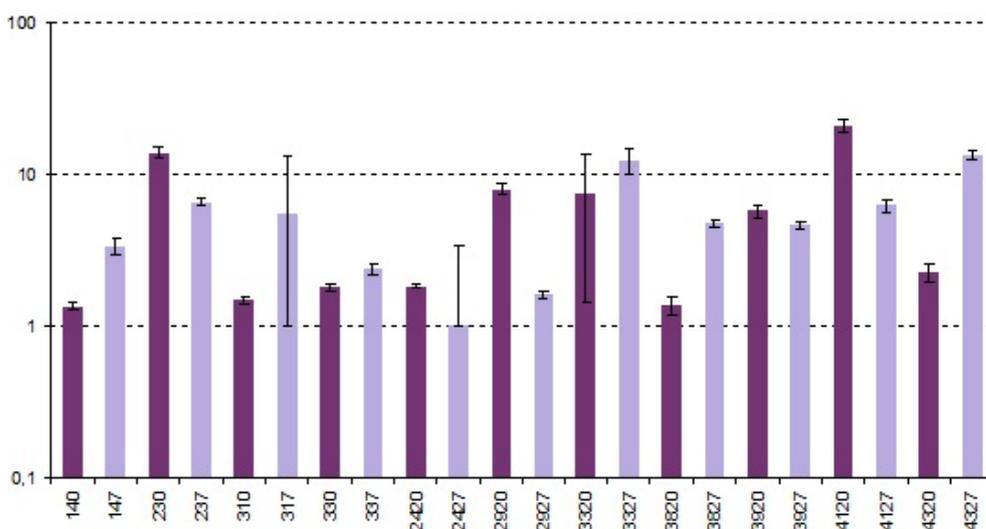
En general, en caso de los pacientes críticos, los resultados muestran una variación en la expresión de las selenoproteínas glutatión peroxidasa y selenoproteína P, a lo largo de la

estancia en UCI, estando correlacionada la expresión de la Selenoproteína P con los niveles plasmáticos de selenio ($r = -0,716$; $p = 0,013$)

Grafica 42.- Variación de la expresión de GPx3 en el momentos de ingreso en UCI y trasGPx3 días de estancia en UCI



Grafica 43.- Variación de la expresión de SEPP1 en el momento de ingreso en UCI y trasGPx3 días de estancia en UCI



RESUMEN

En resumen, nuestros resultados parecen indicar que el paciente crítico con Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica presenta un riesgo de deficiencia en selenio, desde el inicio de su estancia en UCI. Esta situación es susceptible de empeorar si no se corrige, pudiendo alterar diferentes sistemas clave como el inflamatorio, el antioxidante y el inmunológico.

Se hace necesario un ajuste de las recomendaciones existentes para el enfermo crítico, estableciendo las cantidades precisas de minerales y especialmente de selenio, 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 selenio, como posibles variables predictoras de alteraciones causadas por una deficiencia subclínica de las mismas.

Por otro lado, nuestros resultados muestran, por los cambios de expresión y la alta dependencia en las proteínas selenio-dependientes estudiadas, que posiblemente puedan ser utilizadas como biomarcadores clave del estatus de selenio en la enfermedad crítica, siendo la selenoproteína P un marcador de cambio en la enfermedad crítica.

Estos hechos nos han servido de punto de partida para la puesta en marcha dentro de ésta línea de investigación, la intervención con una suplementación específica que servirá para confirmar la utilidad práctica de éstos biomarcadores en el ámbito clínico-nutricional hospitalario con el fin de mejorar el estado nutricional, la calidad de vida y, en definitiva, la evolución del enfermo crítico durante su permanencia en la Unidad de Cuidados Intensivos.

***Capítulo VI:
Conclusiones***

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 el 35% de la población crítica.
2. El 68,3 % de los pacientes críticos estudiados muestran desnutrición a partir de los niveles de transferrina y el 87,5 % a partir de datos de prealbúmina, mejorando al 80 % y 64 %, respectivamente, al final de la estancia.

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. Nuestros resultados muestran aporte de selenio insuficiente en el 72,4 % de los pacientes críticos durante los 7 días de estancia en UCI valorados, siendo en el 73,3 % de las mujeres y en el 71,4 % de los hombres.

Respecto a los valores bioquímicos

5. Tal y como refiere la bibliografía, en nuestros resultados hemos encontrado que los valores plasmáticos medios de selenio para los pacientes son inferiores a los del grupo control, produciéndose una disminución significativa de los mismos a lo largo de la estancia del enfermo.
6. En cuanto al contenido de selenio en eritrocito, nuestros resultados muestran valores estadísticamente inferiores en la población crítica respecto a la población control.

7. Es de destacar que nuestros resultados muestran valores significativos negativos al realizar el análisis bivariante, entre el APACHE y los valores plasmáticos de selenio en el paciente crítico al inicio de la estancia en UCI
8. Se observa una asociación significativa entre los niveles eritrocitarios de selenio y los de magnesio y cinc, al final del periodo de estancia estudiado del paciente crítico.
9. El estudio de regresión logística muestra que los niveles de prealbúmina y, fundamentalmente la selenoproteína P, son potentes biomarcadores de estado de deficiencia eritrocitaria de selenio en el paciente crítico al final de la estancia en la UCI.
10. Según nuestros resultados, existen una correlación significativa entre los niveles de Interleukina-2 y de SEEP1 al inicio y a los 7 días de estancia en UCI, lo que demuestra la participación directa del selenio en los procesos inflamatorios presentes en el paciente crítico.

Respecto a la expresión génica

11. Los resultados muestran una variación en la expresión de las selenoproteínas glutatión peroxidasa y selenoproteína P, a lo largo de la estancia en UCI, observándose una correlación en la expresión de estas proteínas con los niveles plasmáticos de selenio.

Conclusión final

Nuestros resultados parecen indicar que el paciente crítico con Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica presenta un riesgo de deficiencia en selenio, desde el inicio de su estancia en UCI. Esta situación es susceptible de empeorar si no se corrige, pudiendo alterar diferentes sistemas clave como el inflamatorio, el antioxidante y el inmunológico.

Se hace necesario un ajuste de las recomendaciones existentes para el enfermo crítico, estableciendo las cantidades precisas de minerales y especialmente de selenio, 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 selenio, como posibles variables predictoras de alteraciones causadas por una deficiencia subclínica de las mismas.

Por otro lado, nuestros resultados muestran, por los cambios de expresión y la alta dependencia en las proteínas selenio-dependientes estudiadas, que posiblemente puedan ser utilizadas como biomarcadores clave del estatus de selenio en la enfermedad crítica, siendo la selenoproteína P un marcador de cambio en la enfermedad crítica.

Estos hechos nos han servido de punto de partida para la puesta en marcha, dentro de ésta línea de investigación, la intervención con una suplementación específica que servirá para confirmar la utilidad práctica de éstos biomarcadores en el ámbito clínico-nutricional hospitalario con el fin de mejorar el estado nutricional, la calidad de vida y, en definitiva, la evolución del enfermo crítico durante su permanencia en la Unidad de Cuidados Intensivos.

Capítulo VII:
Referencias Bibliográficas

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.S.P.E.N. Board of Directors and the Clinical Guidelines Task Force: Guidelines for the use of parenteral and enteral nutrition in adult and pediatric patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2002;26(suppl):22SA-24SA. 2002;26(2):144.

Aaseth J, Haugen M, Førre O. Rheumaoid arthritis and metal compounds perspectives on the role of oxygen radical detoxificación. *Anlyst*, 1998; 123: 3-6.

Abilés J, de la Cruz AP, Castaño J, Rodríguez-Elvira M, Aguayo E, Moreno-Torres R, Llopis J, Aranda P, Argüelles S, Ayala A, de la Quintana AM, Planells EM. Oxidative stress is increased in critically ill patients according to antioxidant vitamins intake, independent of severity: a cohort study. *Crit Care.* 2006; 10(5):R146.

Abiles J, Moreno-Torres R, Moratalla G, Castaño J, Pérez Abúd R, Mudarra A, Machado MJ, Planells E, Pérez de la Cruz A. [Effects of supply with glutamine on antioxidant system and lipid peroxidation in patients with parenteral nutrition]. *Nutr Hosp*, 2008. Jul-Aug;23(4):332-9.

Academic Press, Orlando, Florida. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol*, 1984; 105:121-126 .

AGA technical review on parenteral nutrition: *Gastroenterology* 2001, 121:970-1001

Agay D, Sandre C, Ducros V, Faure H, Cruz C, Alonso A, Roussel AM, Chancerelle Y, 2005. Optimization of selenium status by a single intraperitoneal injection of Se in Se-deficient rat: possible application to burned patient treatment. *Free Radic Biol Med*, 2005. Sep 15;39(6):762-8.

Akbaraly NT, Arnaud J, Hininger-Favier I, Gourlet V, Roussel AM & Berr C. Selenium and mortality in the elderly: results from the EVA study. *Clin Chem.* 2005, 51, 2117–2123.

Alaejos MS, Díaz Romero FJ, Díaz Romero C. Selenium and cancer: some nutritional aspects. *Nutrition.* 2000, May;16(5):376-83.

Alegría A, Barberá R, Clemente G, Farré R, García MJ, Lagarda MJ. Selenium and glutathione peroxidase reference values in whole blood and plasma of a reference population living in Valencia, Spain. *J Trace Elem Med Biol*, 1996. Dec;10(4):223-8.

Alfthan G, Neve J. Selenium intakes and plasma selenium levels in various populations. In *Natural Antioxidants and Food Quality in Atherosclerosis and Cancer Prevention*, 1996. pp. 161–167 (J Kumpulainen and J Salonen, editors) Cambridge: Royal Society of Chemistry.

Alissa EM, Bahijri SM, Ferns GA. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Med Sci Monit*, 2003; 9 (1): RA9-18.

Allan CB, Lacourciere GM, Stadtman TC. Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Annu Rev Nutr*. 1999; 19: 1-16.

Allegrini M, Lanzola E & Gallorini M. Dietary selenium intake in a coronary heart disease study in Northern Italy. *Nutr Res Suppl*. 1, 1985; 398-402.

Alonso de Vega JM, Díaz J, Serrano E, Carbonell LF. Oxidative stress in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*, 2002. Aug;30(8):1782-6.

Alonso de Vega JM, Díaz J, Serrano E, Carbonell LF. Plasma redox status relates to severity in critically ill patients. *Crit Care Me*. 2000d; 28:1812-1814.

Ana Isabel Cabañero Ortiz. *Acumulacion-interaccion de especies de Mercurio y Selnio en tejidos animales: Desarrollo de nuevas metodologías de análisis*. Madrid. Universidad Complutense de Madrid. 2005.

Anderson ME. Glutathione. In: PUNCHARD NA, KELLY FJ (editors). *Free radicals: a practical approach*. First edition. New York: Oxford University Press, 1996. pp. 213-226.

Angstwurm MW, Gaertner R, Schopohl J. Outcome in elderly patients with severe infection is influenced by sex hormones but not gender. *Crit Care Med*, 2005. Dec;33(12):2786-93.

Angstwurm MW, Gaertner R. Practicalities of selenium supplementation in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006 May;9(3):233-8.

Angstwurm MW, Schottdorf J, Schopohl J, Gaertner R. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit Care Med*. 1999. Sep;27(9):1807-13.

Arnaud J, Bertrais S, Roussel A, Arnault N, Ruffieux D, Favier A, et al. Serum selenium determinants in French adults: the SU.VI.M.AX study. *Br J Nutr*. 2006;95(2): 313-20.

Arnaud J, Bertrais S, Roussel AM, Arnault N, Ruffieux D, Favier A, Berthelin S, Estaquio C, Galan P, Czernichow S, Herberg S. Serum selenium determinants in French adults: the SU.VI.M.AX study. *Br J Nutr*. 2006 Feb;95(2):313-20.

Arnaud J, Fortis I, Blachier S, Kia D, Favier A. Simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and α -carotene in serum by isocratic high performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, 1991; 572:103-116.

Ashton K, Hooper L, Harvey L, Hurst R, Casgrain A, Fairweather-Tait SJ. *Am J Clin Nutr* 2009;89(suppl):2025S–39S.

Association of Official Analytical Chemists, *Official methods of analysis*, Vol. 1, 1990, pp. 237.

Avissar N, Ornt DB, Yagil Y, Horowitz S, Watkins RH, Kerl EA, Takahashi K, Palmer IS, Cohen HJ. Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am J Physiol*, 1994. Feb; 266 (2 Pt 1):C367-75.

Bar-Or and Garrett RE. Is low plasma selenium concentration a true reflection of selenium deficiency and redox status in critically ill patients?. *Crit Care Med* 2011 39(8):2000-1.

Barrington J.W., Lindsay P., James D., Smith S., Bowen-Simpkins P., 1996 Selenium deficiency and miscarriage: a possible link? *Br J Obstet Gynaecol*. 1996 Feb;103(2):130-2.

Bates CJ, Rutishauser IH, Black AE, Paul AA, Mandal AR, Patnaik BK. Longterm vitamin status and dietary intake of healthy elderly subjects: 2. Vitamin C. *Br J Nutr*, 1994; 42:43-56.

Beauchamp C, Fridovich I. Isozyme of superoxide dismutase of wheat germ. *Biochim Biophys Acta* 1973; 317:50-64.

Becker W. *Food Habits and Nutrient Intake in Sweden 1989*. Uppsala, Sweden: Swedish National Food Administration.

Behne D, Hammel C, Pfeifer H, Röthlein D, Gessner H, Kyriakopoulos A. Speciation of selenium in the mammalian organism. *Analyst*, 1998. May;123(5):871-3).

Behne D, Weiss-Nowak C, Kalcklösch M, Westphal C, Gessner H, Kyriakopoulos A. *Biol Trace Elem Res*. Application of nuclear analytical methods in the investigation and identification of new selenoproteins. 1994 Fall;43-45:287-97.

Behne D., Hilmert H., Scheid S., Gessner H., Elger W.,. Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. *Biochem. Biophys. Acta*, 1988. 966, 12.

Bellisola G, Perona G, Galassini S, Moschini G, Guidi G. Plasma selenium and glutathione peroxidase activities in individuals living in the Veneto region of Italy. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1993;7(4): 242-4.

Benito Jiménez C, Profesor Titular de Genética, Departamento de Genética, U.C.M.. «La Replicación». Consultado el marzo de 2008.

Berger MM, Cavadini C, Chiolero R, Dirren H. Copper, selenium, and zinc status and balances after major trauma. *J Trauma*, 1996. Jan;40(1):103-9.

Berger MM, Chioló RL. Antioxidant supplementation in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med.* 2007. Sep;35(9 Suppl):S584-90.

Berger MM, Reymond MJ, Shenkin A, Rey F, Wardle C, Cayeux C, Schindler C, Chioló RL. Influence of selenium supplements on the post-traumatic alterations of the thyroid axis: a placebo-controlled trial. *Intensive Care Med*, 2001. Jan;27(1):91-100.

Berger MM, Shenkin A. Trace element requirements in critically ill burned patients. *J Trace Elem Med Biol.* 2007;21 Suppl 1:44-8. Epub 2007 Oct 31. Erratum in: *J Trace Elem Med Bio*, 2007. 2008;22(2):166.

Berger MM, Spertini F, Shenkin A, Wardle C, Wiesner L, Schindler C, Chiolero RL. Trace element supplementation modulates pulmonary infection rates after major burns: a double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 1998. Aug;68(2):365-71.

Berger MM. Antioxidant micronutrients in major trauma and burns: evidence and practice. *Nutr Clin Pract.* 2006 Oct;21(5):438-49.

Berger MM. Antioxidant micronutrients in major trauma and burns: evidence and practice. *Nutr Clin Pract*, 2006. Oct;21(5):438-49.

Berry MJ, Kieffer JD, Harney JW, Larsen PR.. Selenocysteine confers the biochemical properties characteristic of the type I iodothyronine deiodinase. *J Biol Chem.* 1991; 266: 14155-14158.

Berry MJ, Tujebajeva RM, Copeland PR, Xu XM, Carlson BA, et al. 2001. Selenocysteine incorporation directed from the 3'UTR: characterization of eukaryotic EFsec and mechanistic implications. *Biofactors* 14:17-24

Bhattacharya ID, Picciano MF, Milner JA. Characteristics of human milk glutathione peroxidase. *Biol Trace Elem Res*, 1988. Dec;18:59-70.

- Birringer M, Pilawa S, Flohé L. Trends in selenium biochemistry. *Nat Prod Rep*, 2002. Dec;19(6):693-718.
- Bjelakovic G, Nikolova D, Simonetti RG, Gluud C. Antioxidant supplements for preventing gastrointestinal cancers. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004 Oct 18;(4):CD004183.
- Bock A. Biosynthesis of selenoproteins - an overview. *Biofactors*. 2000 11:77-78
- Bock A. Selenium metabolism in bacteria. See Ref. 2001. 48, pp. 2-22 16
- Brigelius-Flohé R. Selenium Compounds and Selenoproteins in Cancer- Review. *Chemi Biodiv*. 2008; 5(3):389-395.
- Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med*, 1999; 27:951-965.
- Brigelius-Flohé R., Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radical & Medicine*, 1999. 27 (9/10), 951.
- Brigelius-Flohe´ R, Banning A, Schnurr K. Selenium- dependent enzymes in endothelial cell function. *Antioxid Redox Signal*, 2003; 5:205-215.
- Bro S, Berendtsen H, Nørgaard J, Høst A, Jørgensen P. Serum selenium concentration in maternal and umbilical cord blood. Relation to course and outcome of pregnancy. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*. 1988; 2(3):165-9.
- Brooks JD, Metter EJ, Chan DW, Sokoll LJ, Landis P, Nelson WG, Muller D, Andres R, Carter HB. Plasma selenium level before diagnosis and the risk of prostate cancer development. *J Urol*. 2001 Dec;166(6):2034-8.
- Broome CS, McArdle F, Kyle JA, Andrews F, Lowe NM, Hart CA, Arthur JR, Jackson MJ. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *Am J Clin Nutr*. 2004 Jul;80(1):154-62.
- Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: A review. *Public Health Nutr*. 2001;4(2B):593-599.
- Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: A review. *Public Health Nutr*, 2001; 4:593-599.
- Buettner C, Harney JW, Larsen PR. 1998. The 30-untranslated region of human type 2 iodothyronine deiodinase mRNA contains a functional selenocysteine insertion sequence element. *J. Biol. Chem*. 273:33374-78

Bügel S, Larsen EH, Sloth JJ, Flytlie K, Overvad K, Steenberg LC, Moesgaard S. Absorption, excretion and retention of selenium from a high selenium yeast in men with a high intake of selenium. *Food Nutr Res.* 2008;52.

Bukkens S, de Vos N, Kok F, Schouten E, de Bruijn AÇ, Hofman A. Selenium status and cardiovascular risk factors in healthy Dutch subjects. *J Am Coll Nutr.* 1990;9(2):128–35.

Bulger EM y Helton estaba en nutrientes antioxidantes en las enfermedades gastrointestinales. *Gastroenterol Clin North Am.* 1998; 27:403-419.

Burk RF, Gregory PE. Some characteristics of 75Se-P, a selenoprotein found in rat liver and plasma, and comparison of it with selenogluthione peroxidase. *Arch Biochem Biophys.* 1982. 1982 Jan;213(1):73-80.

Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *Journal of Nutrition;* 2003. 133 (Supl1): 1517-1520.

Burk RF, Hill KE. Orphan selenoproteins. *Bioessay.* 1999s. Mar;21(3):231-7).

Burk RF, Hill KE. Regulation of selenoproteins. *Annu Rev Nutr.* , 1993;13:65-81.

Burri J, Haldimann M, Dudler V. Selenium status of the Swiss population: assessment and change over a decade. *J Trace Elem Med Biol.* 2008;22(2):112–9.

Burton GW, Ingold KU. Autooxidation of biological molecules. 1. The antioxidant activity of vitamin E and related chain-breaking phenolic antioxidants in vitro. *J Am Chem Soc.* 1981; 103:6472-6477.

Cabré E, Periago J, Mingorance M, Fernández- Bañares F, Abad A, Esteve M, et al. Factors related to the plasma fatty acid profile in healthy subjects, with special reference to antioxidant micronutrient status: a multivariate analysis. *Am J Clin Nutr.* 1992;55(4): 831–7.

Calvo A, Xiao N, Kang J, Best CJ, Leiva I, Emmert-Buck MR, Jorcyk C, Green JE,. Alterations in gene expression profiles during prostate cancer progression: functional correlations to tumorigenicity and down-regulation of selenoprotein-P in mouse and human tumors. *Cancer Res.* 2002. Sep 15;62(18):5325-35.

Cámara C., Cobo M.G., Palacios M.A., Muñoz R., Donard O.F.X., *Quality Assurance for Environmental Analysis*, 1995, pp. 235-262. Quevaullier, Maier, Griepink (Eds). Elsevier Science.

Cámara C., Cobo M.G., Palacios M.A., Muñoz R., Donard O.F.X., *Quality Assurance for Environmental Analysis*, Elsevier Science. 1995, pp. 235-262. Quevaullier, Maier, Griepink (Eds).

Campbell IT, Can body composition in multiple organ failure be favorably influenced by feeding? *Nutrition*. 1997. 13(Suppl):79S-83S.

Carmona – Fonseca. Selenio en suero y plasma :epidemiología y valores de referencia. *Rev Panam Salud Publica*; 2010, 28(5):388 - 98

Carmona-Fonseca. Selenio en suero y plasma: epidemiología y valores de referencia. *Rev Panam Salud Publica*. 2010 Nov;28(5):388-98.

Carpenter KJ. A short history of nutritional science: part 1 (1785-1885). *J Nutr* 2003; 133: 638- 645.

Caryl Goodyear-Bruch and Janet D. Pierce. Oxidative Stress in Critically ill Patients. *Am J Crit Care*, 2002;11:543-551.

Catignani G, Bieri J. Simultaneous hydrocarbon determination of retinol and α -tocopherol in serum or plasma by liquid chromatography. *Clin Chem*, 1983; 29:708-712.

Cerra FB, Benitez MR, Blackburn GL y cols.: Applied nutrition in ICU patients. A consensus statement of the American College of Chest Physicians. *Chest* 1997, 111:769-78

Chance B. An intermediate compound in the catalase-hydrogen peroxide reaction. *Acta Chim Scand*, 1947; 1:236-267.

Charalabopoulos K, Kotsalos A, Batistatou A, Charalabopoulos A, Peschos D, Vezyraki P, et al. Serum and tissue selenium levels in gastric cancer patients and correlation with CEA. *Anticancer Res*. 2009;29(8):3465–7.

Chavez A, Munoz de Chavez M. 2003. Nutrigenomics in public health nutrition: short-term perspectives. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(Suppl. 1): 97- 100.

Chou PP, Jaynes KP, Barley LJ. Determination of vitamin E in microsample of serum by liquid chromatography with electrochemical detection. *Clin Chem*, 1985; 31:880-882.

Chu FF, Doroshow JH, Esworthy RS. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem*, 1993. Feb 5;268(4):2571-6.

Clark L.C., Combs G.F., Turnbull B.W. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *J. Am. Med. Assoc.* 1996. 276, 1957.

Combs F.G., Junxuan L., *Selenium, its Molecular Biology and Role in Human Health*, 2001, pp 205-217. Hatfield D.L. (Ed). Kluwer Academic Publishers, Boston.

Combs G.F., Gray W.P., *Pharmacol. Ther.*, 1998, 79, 179.

Combs GF, Watts JC, Jackson MI, Johnson LK, Zeng H, Scheett AJ, Uthus EO, Schomburg L, Hoeg A, Hoefig CS, Davis CD, Milner JA. Determinants of selenium status in healthy adults. *Nutr J.* 2011 Jul 18;10:75.

Contantinescu A, Maguire JJ, Packer L. Interactions between ubiquinones and vitamins in membranes and cells. *Mol Aspects Med*, 1994; 15:57-65.

Copeland PR, Fletcher JE, Carlson BA, Hatfield DL, Driscoll DM. 2000. A novel RNA binding protein, SBP2, is required for the translation of mammalian selenoprotein mRNAs. *EMBO J.* 19:306–14

Copeland PR, Stepanik VA, Driscoll DM. 2001. Insight into mammalian selenocysteine insertion: domain structure and ribosome binding properties of Sec insertion sequence binding protein 2. *Mol. Cell. Biol.* 21:1491–98

Crimi E, Sica V, Williams-Ignarro S, Zhang H, Slutsky AS, Ignarro LJ, Napoli C. The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Radic Biol Med*, 2006. Feb 1;40(3):398-406. Epub 2005 Nov 18.

Cuervo M, Corbalán M, Baladía E, Cabrerizo L, Formiguera X, Iglesias C, Lorenzo H, Polanco I, Quiles J, Romero de Avila MD, Russolillo G, Villarino A, Alfredo Martínez J. Comparison of dietary reference intakes (DRI) between different countries of the European Union, The United States and the World Health Organization. *Nutr Hosp.* 2009 Jul-Aug;24(4):384-414.

Cuzzocrea S, Riley DP, Caputi AP, Salvemini D. Antioxidant therapy: a new pharmacological approach in shock, inflammation, and ischemia/reperfusion injury. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 135-59.

Cuzzocrea S, Zingarelli B, Caputi AP. Role of peroxynitrite and poly (ADP-ribosyl) synthetase activation in cardiovascular derangement induced by zymosan in the rat. *Life Sci*, 1998;63(11):923-33.

Daniels LA. Selenium metabolism and bioavailability. *Biol Trace Elem Res*, 1996. Sep;54(3):185-99.

Danish Governmental Food Agency. *Food Habits of Danes 1995, Main Results*. Soeborg, Denmark: Levnedsmiddelstyrelsen.

Davis MG, Hagen PO. Systemic inflammatory response syndrome. *Br J Surg*, 1997. 84:920–935.

de Berranger E, Colinet S, Michaud L, Cremer R, Fourrier C, Brévière GM, Turck D, Gottrand F. Severe selenium deficiency secondary to chylous loss. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* Mar-Apr, 2006;30(2):173-4.

DeLeve LD, Kaplowitz N. Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharm Ther*, 1991; 52:287-305.

Delilbas, i E, Turan B, Yücel E, Sas, maz R, Is, imer A, Sayal A. Selenium and Behçet's disease. *Biol Trace Elem Res.* 1991;28(1):21–5.

Demling RH, De Biasse MA. Micronutrients in critical illness. *Crit Care Clin.* 1995;11:651-673.

Devlin, T. M.. *Bioquímica*, 4ª edición. Reverté, Barcelona. 2004. ISBN 84-291-7208-4.

Diamond A, Dudock B, Hatfield D. Structure and properties of a bovine liver UGA suppressor serine tRNA with a tryptophan anticodon. *Cell.* 1981. 25:497–506

Díaz Romero C, López Blanco F, Henríquez Sánchez P, Rodríguez E, Serra Majem L. Serum selenium concentration in a representative sample of the Canarian population. *Sci Total Environ.* 2001 Mar 26;269(1-3):65-73.

Díaz Romero C, López Blanco F, Henríquez Sánchez P, Rodríguez E, Serra Majem L, 2001. Serum selenium concentration in a representative sample of the Canarian population. *Sci Total Environ.* Mar 26;269(1-3):65-73.

Díaz-Alarcón JP, Navarro-Alarcon M, Lopez-Garcia de la Serrana H & Lopez-Martinez MC. Determination of selenium in meat products by hydride generation atomic absorption spectrophotometry – selenium levels in meat, organ meats and sausages in Spain. *J Agric Food Chem* 1996; 44, 1494–1497.

Diccionario de Medicina Océano-Mosby, Mosby, España, Ed. Oceano. 1996. ISBN: 84-7555-074-6.

Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Vol. 12. Washington, DC: National Academies Press; 2002:442-501.

Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium and Carotenoids. The National Academy of Science, 2000.

Dong Y. Methylselenocysteine modulates proliferation and apoptosis biomarkers in premalignant lesions of the rat mammary gland. *Anticancer. Res.* 2001;21(2A):863–867.

Driscoll DM, Copeland PR. Mechanism and regulation of selenoprotein synthesis. *Annu Rev. Nutr.* 2003 ; 23: 17-40.

Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF Jr, Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR & Clark LC. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002; 11, 630–639.

Edward Giovannucci. Selenium and risk of prostate cancer. *Lancet* 1998; 5: 755-756.

Eileen M. Bulger MD, V. Maier, MD. Antioxidants in critical illness., *Arch Surg.* 2001; 136:1201-1207)

Elliott R, Ong TJ. Nutritional genomics. *Br Med J* 2002; 324: 1438-42.

Ernster L, Forsmark P, Nordenbrand K. The mode of action of lipid-soluble antioxidants in biological membranes: relationship between the effects of ubiquinol and vitamin E as inhibitors of lipid peroxidation in submitochondrial particles. *Biofactors* 1992; 3:241-248.

Esterbauer H, Dieber-Rotheneder M, Striegl G, Waeg G. Role of vitamin E in preventing the oxidation of low density lipoprotein. *Am J Clin Nutr*, 1991; 53:314S-321S.

Fagegaltier D, Hubert N, Yamada K, Mizutani T, Carbon P, Krol A. 2000. Characterization of mSelB, a novel mammalian elongation factor for selenoprotein translation. *EMBO J.* 19:4796–805

Fagegaltier D, Lescure A, Walczak R, Carbon P, Krol A. 2000. Structural analysis of new local features in SECIS RNA hairpins. *Nucleic Acids Res.* 28:2679–89 34.

Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 2002. Oct;18(10):872-9.

Fardy JJ, McOrist GD & Farrar YJ. The determination of selenium in the Australian diet using neutron activation analysis. *J Radioanal Nucl Chem.* 1989,133, 391–396.

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 Summer;129(1-3):36-45. Epub 2008 Dec 9.

Fenwick G.R., Heaney R.K., *Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants* Food Chem, 1983. 11, 249.

Fishbein L., *Metals and their compounds in the environment: Selenium*, 1991, pp 1153-1191. Fishbein L. (Ed). Washington, EEUU.

Fletcher JE, Copeland PR, Driscoll DM. 2000. Polysome distribution of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase mRNA: evidence for a block in elongation at the UGA/selenocysteine codon. *RNA* 6:1573–84.

Flohé L, Andreesen JR, Brigelius-Flohé R, Maiorino M, Ursini F, 200. Selenium, the element of the moon, in life on earth. *IUBMB Life*. 2000 May; 49(5):411-20.

Flohé L, Andreesen JR, Brigelius-Flohé R, Maiorino M, Ursini F. Selenium, the element of the moon, in life on earth. *IUBMB Life*. 2000 May; 49(5):411-20.

Flohe L, Günzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Meth Enzymol*, 1984; 105:114-126.

Flohe L, Günzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett*, 1973. May 15;32(1):132-4.

Flores-Mateo G, Navas-Acien A, Pastor-Barriuso R & Guallar E. Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2006; 84, 762–773.

Food and Drug Administration (FDA) Parenteral multivitamin products; drugs for human use; drug efficacy study implementation; amendment. *Federal Register*. 2000;65:21200-21201.

Food and Nutrition Board & Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes: Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Washington, DC: National Academy Press. 2000.

Forceville X, Vitoux D, Gauzit R, Combes A, Lahilaire P, Chappuis P. Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis, and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med*, 1998. Sep;26(9):1536-44.

Forceville X. Effects of high doses of selenium, as sodium selenite, in septic shock patients a placebo-controlled, randomized, double-blind, multi-center phase II study--selenium and sepsis. *J Trace Elem Med Biol*. 2007; 21 Suppl 1:62-5. Epub 2007 Oct 31.

Forchhammer K, Bock A. 1991. Selenocysteine synthase from *Escherichia coli*. Analysis of the reaction sequence. *J. Biol. Chem*. 266:6324–28.

Forchhammer K, Leinfelder W, Boesmiller K, Veprek B, Bock A. 1991. Selenocysteine synthase from *Escherichia coli*. Nucleotide sequence of the gene (*selA*) and purification of the protein. *J. Biol. Chem*. 266:6318–23.

Fordyce FM. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In *Essentials of medical Geology* pp 2005.

Forstrom JW, Stults FH, Tappel AL. At liver cytosolic glutathione peroxidase: reactivity with linoleic acid hydroperoxide and cumene hydroperoxide. *Arch Biochem Biophys*, 1979; 193:51-55.

Foster LH, Sumar S. Selenium in health and disease: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1997; 37: 211-228.

Frankenfield DC, Smith JS, Cooney RN: Accelerated nitrogen loss after traumatic injury is not attenuated by achievement of energy balance. *JPEN* 1997, 21:324-9.

Frankenfield DC, Wiles CB, Siegel J: Relationships between resting and total energy expenditure in injured and septic patients. *Crit Care Med* 1994, 22: 1796-1804

Frei B, Kim MC, Ames BN. Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990; 87:4879-4883.

Fridovich I. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem*, 1995; 64:97-112.

Fuhrman MP, Winkler M, Biesemeier C; American Society for Parenteral and Enteral Nutrition, 2001. The American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.) Standards of Practice for nutrition support dietitians. *J Am Diet Assoc*. Jul; 101(7):825-32.

Furst P, Stehle P. What are the essential elements needed for the determination of amino acid requirements in humans?. *J Nutr*. 2004 Jun;134(6 Suppl):1558S-1565S

Gallegos A, Berggren M, Gasdaska JR, Powis G. Mechanisms of the regulation of thioredoxin reductase activity in cancer cells by the chemopreventive agent selenium. *Cancer Res*, 1997. Nov 1;57(21):4965-70

Ganther HE. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. 1999 Sep;20(9):1657-66.

García de Lorenzo A, Alvarez J, Bermejo T, Gomis P, Piñeiro G. Micronutrients in parenteral nutrition. *Nutr Hosp*. 2009 Mar-Apr;24(2):152-5.

Geoghegan M, McAuley D, Eaton S, Powell-Tuck J. Selenium in critical illness. *Curr Opin Crit Care*, 2006. Apr;12(2):136-41.

German JB, Roberts MA, Watkins SM. Genomics and metabolomics as markers for the interaction of diet and health: lessons from lipids. *J Nutr* 2003; 133 (suppl 1): 2078S-2083S.

Gey KF. Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A cardiovascular disease and cancer. *Biofactors* 1998; 7: 113-114.

Ghose A, Fleming J, El-Bayoumy K, Harrison PR. Enhanced sensitivity of human oral carcinomas to induction of apoptosis by selenium compounds: involvement of mitogen-activated protein kinase and Fas pathways. *Cancer Res.* 2001. Oct 15;61(20):7479-87

Gibson RS. Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *Am J Clin Nutr.* 1994. May;59 (5 Suppl):1223S-1232S.

Gissel-Nielsen G. Effects of selenium supplementation of field crops. In *Environmental Chemistry of Selenium*, 1998; pp. 99–112 [WT Frankenberger Jr and RA Engberg, editors]. New York: Marcel Dekker.

Gladyshev VN, Hatfield DL. Selenocysteine-containing proteins in mammals. *J Biomed Sci*, 1999. May-Jun;6(3):151-60.

Goehring TB, Palmer IS, Olson OE, Libal GW, Wahlstrom RC,. Toxic effects of selenium on growing swine fed corn-soybean meal diets. *J Anim Sci.* 1984. Sep;59(3):733-7.

Golubkina NA, Alfthan G, 2002. Selenium status of pregnant women and newborns in the former Soviet Union. *Biol Trace Elem Res.* Oct;89(1):13-23.

Gottschlich MM, Core Curriculum en apoyo nutricional. Una aproximación basada en casos clínicos-paciente adulto. Unidad 3. ISBN: 978-84-96724-80-8

Grant P. Nutritional Support in Critically Annals of surgery, 1994 220 (5): 610 – 616.

Griffiths RD, Jones C, Palmer TE. Six-month outcome of critically ill patients given glutamine-supplemented parenteral nutrition. *Nutrition*, 1997;13(4):295-302.

Griffiths, J .F. A. et al.. *Genética*. McGraw-Hill Interamericana.2002. ISBN 84-486-0368-0.

Grimble RF Immunonutrition. *Curr Opin Gastroenterol*, 2005: 21(2):216-22

Guimarães MJ, Peterson D, Vicari A, Cocks BG, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Ferrick DA, Kastelein RA, Bazan JF, Zlotnik. Identification of a novel seld homolog from eukaryotes, bacteria, and archaea: is there an autoregulatory mechanism in selenocysteine metabolism? *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. Dec 24;93(26):15086-91

Gutteridge J, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull*, 1999.;55:49-75.

Gutteridge JMC, Hallwell B. *Anti-oxidants in nutrition, health and disease*. Oxford: Oxford University Press. 1994.

Gutteridge JMC, Paterson SK, Segal AW, Halliwell B. Inhibition of lipid peroxidation by the iron-binding protein lactoferrin. *Biochem*, 1981; 199: 259-61.

Haldimann M, Venner TY, Zimmerli B. Determination of selenium in the serum of healthy Swiss adults and correlation to dietary intake. *J Trace Elements Med Biol*. 1996;10(1):31-45.

Harrison I, Littlejohn D, Fell GS. Improved molecular fluorescence method for the determination of selenium in biological samples. *Analyst*. 1996 Nov;121(11):1641-6.

Hart DJ, Scott KJ. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods, and the measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry*, 1995; 54:101-111.

Hasselmann M, Reimund JM. Lipids in the nutritional support of the critically ill patients. *Curr Opin Crit Care*, 2004. Dec;10(6):449-55.

Hatfield DL, Gladyshev VN. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol. Cell. Biol*. 2002. 22: 3565-76.

Hawker FH, Stewart PM, Snitch PJ. Effects of acute illness on selenium homeostasis. *Crit Care Med*, 1990. Apr;18(4):442-6.

Hawkes WC, Laslett LJ. Selenium supplementation does not improve vascular responsiveness in healthy North American men. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009; 296:H256-H262.

Heller AR, Stehr SN, Litz RJ. Omega-3 alpha linolenic acid does not reflect the entire omega-3 fatty acid family. *Anesth Analg*, 2006. Apr;102(4):1289; author reply 1289-90

Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P and the Canadian Critical Care Clinical Practice Guidelines Committee. Canadian Clinical Practice Guidelines for Nutrition Support in Mechanically Ventilated, Critically Ill Adult Patients. *JPEN* 2003; 27:355-73

Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW, Gramlich L, Dodek P, Canadian Critical Care Clinical Practice Guidelines Committee. Canadian clinical practice guidelines for nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2003. Sep-Oct;27(5):355-73.

Heyland DK, Dhaliwal R, Drover JW. Nutrition support in mechanically ventilated, critically ill adult patients: are we ready for evidence-based clinical practice guidelines? *Nutr Clin Pract*. 2004 Jun;19(3):193-200.

Heyland DK, Dhaliwal R, Suchner U, Berger MM. Antioxidant nutrients: a systematic review of trace elements and vitamins in the critically ill patient. *Intensive Care Med.* 2005 Mar;31(3):327-37. Epub 2004 Dec 17.

Heyland DK, Dhaliwal R. Early enteral nutrition vs. early parenteral nutrition: an irrelevant question for the critically ill? *Crit Care Med*, 2005. Jan;33(1):260-1.

Heyland DK, Novac F. Immunonutrition in the critically ill patient: More harm than good?. *J Parenteral Enteral Med*, 2001. 25 (suppl.): S51 – S56

Hise ME, Halterman K, Gajewski BJ, Parkhurst M, Moncure M, Brown JC. Feeding practices of severely ill intensive care unit patients: an evaluation of energy sources and clinical outcomes. *J Am Diet Assoc*, 2007. Mar;107(3):458-65.

Högber J., Alexander J., *Handbook on the Toxicology of Metals*, 1986, Vol II, pp. 482-520, Fridberg L., Nordberg G.F., Vouk V.B. (Eds). Elsevier Science Publishers, Amsterdam.

Holben D.H., Smith A.M., *J. of the American Dietetic Association*, 1999, 99(7), 836.

Holben DH, Smith AM. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J Am Diet Assoc*, 1999. Jul;99(7):836-43.

Hollenbach B, Morgenthaler NG, Struck J, et al: New assay for the measurement of selenoprotein P as a sepsis biomarker from serum. *J Trace Elem Med Biol* 2008, 22:24-32.

Holmgren A, Björnstedt M. Thioredoxin and thioredoxin reductase. *Methods Enzymol*, 1995;252:199-208.

Holthe M, Staff A, Berge L, Lyberg T. Different levels of platelet activation in preeclamptic, normotensive pregnant, and nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2004;190:1128-34.

Holtzman NA. Genetic variation in nutritional requirements and susceptibility to disease: policy implications. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 1510-1516.

Howard L, Ashley C, Lyon D, Shenkin Autopsy tissue trace elements in 8 long-term parenteral nutrition patients who received the current U.S. Food and Drug Administration formulation. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2007. Sep-Oct;31(5):388-96.

Huang YL, Sheu JY, Lin TH. Association between oxidative stress and changes of trace elements in patients with breast cancer. *Clin Biochem.* 1999. Mar;32(2):131-6.

Hurst R, Armah CN, Dainty JR, Hart DJ, Teucher B, Goldson AJ, Broadley MR, Motley AK, Fairweather-Tait SJ. 2010 Establishing optimal selenium status: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2010. Apr;91(4):923-31.

Ip C. Lessons from basic research in selenium and cancer prevention. *J Nutr.* 1998. Nov;128(11):1845-54.

Ip C, Dong Y. Methylselenocysteine modulates proliferation and apoptosis biomarkers in premalignant lesions of the rat mammary gland. *Anticancer Res.* 2001;21(2A):863-867.

Ip C, Lisk DJ, Ganther HE. Activities of structurally-related lipophilic selenium compounds as cancer chemopreventive agents. *Anticancer Res.* Nov-Dec; 1998. 18(6A):4019-25.

Jiang W, Zhu Z, Ganther HE, Ip C, Thompson HJ. Molecular mechanisms associated with S-allylselenocysteine regulation of cell proliferation and apoptosis. *Cancer Lett.* 2001 Jan 26;162(2):167-73.

John M C Gutteridge and Jane Mitchell. Redox imbalance in the critically ill., *British Medical Bulletin*, 1999;55 (No. 1): 49-75.

Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008. Oct;295(4):C849-68. Epub 2008 Aug 6.

Jose M^a Ordovas, Rafael Carmena y Dolores Corella. *Nutrigenómica. Con el apoyo de la beca HL54776 del NIH/NHLBI, de los contratos 53-K06-5-10 y 58-1950-9-001 del U.S. Department of Agriculture Research Service, y de las becas CTIDIB/2002/197 de la Oficina de Ciencia y Tecnología de la Generalitat Valenciana, España, y G03/140 del Instituto de Salud Carlos III, España.*

Jose Mataix Verdú, Mauricio Battino. *Estrés Oxidativo. Agresión y Defensa Antioxidante.* Jose Mataix Verdú. 2^a Edición. Vol. 2. *Nutrición y alimentación humana.* Madrid. Ergon. 2009. p. 1375 – 79.

Kagan VE, Serbinova EA, Balakov RA, Stoytchev TS, Erin AN, Prilipko LL, Evstigneeva RP. Mechanisms of stabilization of biomembranes by alpha-tocopherol. The role of the chain in the inhibition of lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol*, 1990; 40:2403-2413.

Kellen E, Zeegers M, Buntinx F. Selenium is inversely associated with bladder cancer risk: a report from the Belgian case-control study on bladder cancer. *Int J Urol.* 2006; 13(9):1180-4.

Keys M. Ordovás y Rafael Carmena. *NUTRIGENÉTICA. Realizado con una ayuda del Instituto de Salud Carlos III, Madrid. Red de Centros de Metabolismo y Nutrición, 2008 C03/08.*

Kim Y, Galindev O, Sei J, Bae S, Im H, Wen L et al. Serum Selenium level in Healthy Koreans. *Biol Trace Elem Res* 2009 Nov;131(2):103-9. Epub 2009 Mar 20.

Kiremidjian-Schumacher L, Roy M, Glickman R, Schneider K, Rothstein S, Cooper J, Hochster H, Kim M, Newman R,. Selenium and immunocompetence in patients with head and neck cancer. *Biol Trace Elem Res*. 2000. Feb;73(2):97-111.

Klein CJ, Nielsen FH, Moser-Veillon PB. Trace element loss in urine and effluent following traumatic injury. *JPEN* 2008; 32: 129-139.

Klein EA. Selenium and vitamin E cancer prevention trial. *Ann N Y Acad Sci*.2004. Dec;1031:234-41
Kok F, de Bruijn A, Hofman A, Vermeeren R, Valkenburg H. Is serum selenium a risk factor for cancer in men only? *Am J Epidemiol*. 1987;125(1):12–6. Erratum en: *Am J Epidemiol* 1987 Sep;126(3):559.

Köse K, Doğan P, Kardas Y, Saraymen R. Plasma selenium levels in rheumatoid arthritis. *Biol Trace Elem Res*, 1996; 53: 51-6.

Kritchevsky D. Diet and cancer: what's next? *J Nutr* 2003; 133: 3827S-29S.

Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigó R, Gladyshev VN. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, 2003. May 30;300(5624):1439-43.

Kucharzewski M, Braziewicz J, Majewska U, Gózdź S. Concentration of selenium in the whole blood and the thyroid tissue of patients with various thyroid diseases. *Biol Trace Elem Res*, 2002 jul; 88(1): 25-30.

Kuklinski B, Buchner M, Schweder R, Nagel R. Acute pancreatitis--a free radical disease. Decrease in fatality with sodium selenite (Na₂SeO₃) therapy. *Z Gesamte Inn Med*, 1991. Apr;46(5):145-9.

Kuklinsky B. Schwder R. Acute pancreatitis, a free radical disease, reducing the lethality with the sodium selenite and other antioxidants. *J Nutr Environ Med*, 1999; 6: 393-394.

Lacourciere GM. 2001. Selenophosphate— selenium donor for protein and tRNA. See Ref. 48, pp. 33–44

Lamand M, Tressol JC & Bellanger J. The mineral and trace element composition in French food items and intake levels in France. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1994; 8, 195–202.

Larsen PR, Berry MJ. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Annu Rev Nutr*, 1995.;15:323-52.

Lawrence RA, Burk RF: Glutathione peroxidase activity in seleniumdeficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976, 71:952-958.

Lecomte E, Herbeth B, Pirollet P, Chancerelle Y, Arnaud J, Musse N, et al. Effect of alcohol consumption on blood antioxidant nutrients and oxidative stress indicators. *Am J Clin Nutr.* 1994;60(2):255–61.

Lefton J, Lopez PP. *Macronutrients requirements: carbohydrate, protein and lipid.* En : Gresci G (ed) *Nutritional support for the Critically ill Patient.* Boca Raton, FL: Taylor and Francis, 2005; 99 - 108

Lehmann J, Martin H. Improved direct determinations of alpha and gamma tocopherols in plasma and platelets by liquid chromatography with fluorescence detection. *Clin Chem,* 1982; 28:178-1787.

Leinfelder W, Forchhammer K, Veprek B, Zehelein E, Bock A. 1990. In vitro synthesis of selenocysteinyl-tRNA(UCA) from seryl-tRNA(UCA): involvement and characterization of the selD gene product. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:543–47

Leinfelder W, Zehelein E, Mandrand- Berthelot MA, Bock A. Gene for a novel tRNA species that accepts L-serine and cotranslationally inserts selenocysteine. *Nature.* 1988 331:723–25

Letsiou S, Nomikos T, Panagiotakos D, Pergantis SA, Fragopoulou E, Antonopoulou S, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary habits of Greek adults and serum total selenium concentration: the ATTICA study. *Eur J Nutr.* 2010 Dec;49(8):465-72.

Levander O.A., *Selenium, its Molecular Biology and Role in Human Health,* 2001, pp 307-309. Hatfield D.L. (Ed). Kluwer Academic Publishers, Boston.

Levander O.A., *Trace Elements in Human and animal Nutrition: Selenium,* 1985, pp. 209-279, Merz W. (Ed),

Levander OA. A global view of human selenium nutrition. *Ann. Rev. Nutr,* 1987;7:227-250.

Levy MM, Fink MP, Marshall JC, Abraham E, Angus D, Cook D, Cohen J, Opal SM, Vincent JL, Ramsay G; *International Sepsis Definitions Conference.* *Crit Care Med.* 2003 Apr;31(4):1250-6.

Li F, Rossipal E, Micetic-Turk D. Determination of selenium in serum by FI-HG-AAS and calculation of dietary intake. *Biol Trace Elem Res.* 2000;73(3):201–10.

Litov RE, Combs GF Jr. Selenium in pediatric nutrition. *Pediatrics.* 1991 Mar;87(3):339-51.

Lockitch G. Selenium: clinical significance and analytical concepts. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1989;27:483-541. Bock A, Forchhammer K, Heider J, Leinfelder W, Sawers G, Veprek B, et al. Selenocysteine: the 21st amino acid. *Mol. Microbiol,* 1991; 5(3):515-520.

Lockitch G. Selenium: clinical significance and analytical concepts. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1989;27:483-541.

Lodge JK, Traber MG, Elsner A, Brigelius-Flohe R. A rapid method for the extraction and determination of vitamin E metabolites in human urine. *J Lipid Res*, 2000; 41:148-154.

Loewik MR, Schrijver J, Wedel M. Vitamin C analysis in whole blood, plasma and cells using reduced glutathione as preservative (stabilizer): losses and redistribution. *Int J Vit Nutr Res* 1991; 61:43-45.

Look MP, Rockstroh JK, Rao GS, Kreuzer KA, Spengler U, Sauerbruch T. Serum selenium versus lymphocyte subsets and markers of disease progression and inflammatory response in human immunodeficiency virus-infection. *Biol Trace Elem Res*; 1997. 56: 31-41.

Lopes P, Santos M, Vicente L, Rodrigues M, Pavão M, Nève J, et al. Trace element status (Se, Cu, Zn) in healthy Portuguese subjects of Lisbon population: a reference study. *Biol Trace Elem Res*. 2004;101(1):1-17.

Low SC, Grundner-Culemann E, Harney JW, Berry MJ. 2000. SECIS-SBP2 interactions dictate selenocysteine incorporation efficiency and selenoprotein hierarchy. *EMBO J*. 19:6882-90

Luiking YC, Poeze M, Dejong CH, Ramsay G, Deutz NE. Sepsis: an arginine deficiency state?. *Crit Care Med*. 2004 Oct;32(10):2135-45

Manzanares Castro W. Selenium in critically ill patients with systemic inflammatory response. *Nutr Hosp*. 2007 May-Jun;22(3):295-306.

Manzanares Castro. Selenium in critically ill patients with systemic inflammatory response. 2007 May;22(3):295-306.

Manzanares W, Biestro A, Galusso F, Torre MH, Mañay N, Facchin G, Hardy G. High-dose selenium for critically ill patients with systemic inflammation: pharmacokinetics and pharmacodynamics of selenious acid: a pilot study. *Nutrition*. Jun, 2010; 26(6):634-40. Epub 2010 Jan 15.

Manzanares W, Biestro A, Galusso F, Torre MH, Mañay N, Pittini G, Facchin G, Hardy G. Serum selenium and glutathione peroxidase-3 activity: biomarkers of systemic inflammation in the critically ill? *Intensive Care Med*, 2009. May;35(5):882-9.

Margaret P Rayman. The importance of selenium to human health. *Lancet*, 2000; 356: 233-241.

Margaret P. Rayman, Heidi Goenaga Infante and Mike Sargent. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *British Journal of Nutrition*, 2008. 100, 238-253.

Marklund S. Spectrophotometric study of spontaneous disproportionation of superoxide anion radical and sensitive direct assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*, 1976; 251:7504-7507.

Martin GW, Berry MJ. 2001. SECIS elements. See Ref. 48, pp. 45-54

Martindale, Shikora, Nishikawa y col. *The metabolic response to stress and alterations in nutrient metabolism*. Dubuque, IA: Hendall Hunt. 2002; 11 – 21

Max Andresen H, Tomás Regueira H, Federico Leighton. *Estrés oxidativo en el paciente crítico*. *Rev Méd Chile*, 2006; 134: 649-656.

Mayer K, Gokorsch S, Fegbeutel C, Hattar K, Rosseau S, Walmrath D, Seeger W, Grimminger F, 2003. *Parenteral nutrition with fish oil modulates cytokine response in patients with sepsis*. *Am J Respir Crit Care Med*. May 15;167(10):1321-8. Epub 2003 Feb 25

Mayer K, Grimm H, Grimminger F, Seeger W. *Parenteral nutrition with n-3 lipids in sepsis*. *Br J Nutr*, 2002. Jan;87 Suppl 1:S69-75.

McMaster D, Bell N, Anderson P, Love A. *Automated measurement of two indicators of human selenium status, and applicability to population studies*. *Clin Chem*. 1990; 36(2):211–6.

Meadows NJ, Grainger SL, Ruse W, Keeling PW, Thompson RP. *Oral iron and the bioavailability of zinc*. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1983 Oct 8;287(6398):1013-4.

Meerhof L, Roos D. *An easy, specific and sensitive assay for the determination of the catalase activity of human blood cells*. *J Reticuloendothel Soc*, 1980; 28:419-425.

Meissner D. *Reference values for blood and serum Se in the Dresden area [en alemán; resumen en Pubmed]*. *Med Klin (Munich)*. 1997;92 Suppl 3(Suppl 3):41–2.

Michael Hambidge. *Biomarkers of Trace Mineral Intake and Status The American Society for nutritional Sciences*. *J Nutr*. 2005. 133: 948-955. 148 • *Química Clínica* 2005; 24 (3) *Química Clínica* 2005; 24 (3) 141-148

Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, October 1997, *Food Surveillance Information Sheet*, no. 126. *Dietary Intake of Selenium*. London: Joint Food Safety and Standards Group.

Mishra V, Baines M, Perry SE, McLaughlin PJ, Carson J, Wenstone R, Shenkin A. *Effect of selenium supplementation on biochemical markers and outcome in critically ill patients*. *Clin Nutr*. 2007 Feb;26(1):41-50. Epub 2006 Dec 14.

Miura K, Himeno S, Koide N, Imura N. *Effects of methylmercury and inorganic mercury on the growth of nerve fibers in cultured chick dorsal root ganglia*. *Tohoku J Exp Med*, 2000. Nov;192(3):195-210.

Mohr D, Bowry VW, Stocker R. *Dietary supplementation with coenzyme Q10 within circulating lipoproteins and increased resistance to human low-density lipoprotein to the initiation of lipid peroxidation*. *Biochim Biophys Acta*, 1992; 1126:247-254.

Montel Ruiz de Alda A, López Colon JL, de Prádena y Lobón JM. Metodología recomendada para la determinación de selenio en especímenes biológicos. Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Comité Científico. Comisión de Elementos Traza, 2000.

Motoyama T, Okamoto K, Kukita I, Hamaguchi M, Kinoshita Y, Ogawa H. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*, 2003. Apr;31(4):1048-52.

Müller C., Wrangler K., Brigelius-Flohé R, 2003. 3'UTRs of glutathione peroxidases differentially affect selenium-dependent mRNA stability and selenocysteine incorporation efficiency. *Biol. Chem*, 2003. 384, 11.

Muller M, Kersten S. Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet*. 2003; 4: 315-322. 25. Elliott R, Ong TJ. Nutritional genomics. *BMJ* 2002; 324: 1438-1442. 26.

Muller TF, Muller A, Bachem MG, Lange H: Immediate metabolic effects of different nutritional regimens in critically ill medical patients. *Intensive Care Med* 1995, 21:561-6.

Murphy J, Cashman K. Selenium status of Irish adults: evidence of insufficiency. *Ir J Med Sci*. 2002;17(2):81-4.

Murphy J, Hannon EM, Kiely M, Flynn A & Cashman KD. Selenium intakes in 18-64-y-old Irish adults. *Eur J*

Murphy J, Hannon EM, Kiely M, Flynn A, Cashman KD. Selenium intakes in 18-64-y-old Irish adults. *Clin Nutr* 2002;56, 402-408.

Mustacich D, Powis G, 2000. Thioredoxin reductase. *Biochem J*, 2000. Feb 15;346 Pt 1:1-8.

Nathens AB, Neff MJ, Jurkovich GJ, Klotz P, Farver K, Ruzinski JT, Radella F, Garcia I, Maier RV. Randomized, prospective trial of antioxidant supplementation in critically ill surgical patients. *Ann Surg*, 2002. Dec;236(6):814-22.

National Advisory Group on Standards and Practice Guidelines for Parenteral Nutrition: Safe Practices for Parenteral Nutrition Formulations. *JPEN* 1998, 22:49-66.

Newsholme P, Procopio J, Lima MM, Pithon-Curi TC, Curi R. Glutamine and glutamate--their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochem Funct.* , 2003;21(1):1-9

Nierenberg DW. Serum and plasma α -carotene levels measured with an improved method of high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr*, 1985; 339:273-284.

Novak F, Heyland DK, Avenell A, Drover JW, Su X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. *Crit Care Med*, 2002. 30(9):2022-9.

Odabasi E, Turan M, Aydin A, Akay C, Kutlu M. Magnesium, zinc, copper, manganese, and selenium levels in postmenopausal women with osteoporosis. Can magnesium play a key role in osteoporosis? *Ann Acad Med Singapore*. 2008;37(7):564-7.

Oldham y Bowen. Oxidative stress in critical care: is antioxidant supplementation beneficial? *J Am Diet Assoc*. 1998;98:1001-1008.

Olivieri O, Girelli D, Azzini M, Stanzial A, Russo C, Ferroni M, et al. Low selenium status in the elderly influences thyroid hormones. *Clin Sci (Lond)*. 1995;89(6):637-42.

Olson RE, Rudney H. Biosynthesis of ubiquinone. *Vitam Horm*, 1993; 40:1±-43.

Ortiz Leyba C, Gómez-Tello V, Serón Arbeloa C. ,Requeriments of macronutrients and micronutrients. *Nutr Hosp*. 2005 Jun;20 Suppl 2:13-7.

Ortuño J., Ros G., Periago M.J., Martínez C., López G., *Food Sci. Techn. Intern.*, 1996, 2, 135.

Overvad K, Wang D, Olsen J, Allen D, Thorling E, Bulbrook R, et al. Selenium in human mammary carcinogenesis: a case-cohort study. *Eur J Cancer*. 1991;27(7):900-2.

Paglia DE, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967, 70:158-169.

Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health *Antioxid Redox Signal*. 2007 Jul;9(7):775-806.

Pascoe GA, Olafsdottir K, Reed DJ. Vitamin E protection against chemical induced cell injury, maintenance of cellular protein thiols as a cytoprotective mechanism. *Arch Biochem Biophys*, 1987; 56:150-158.

Patching SG, Gardiner PH. Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. *J Trace Elem Med Biol*. 1999. Dec;13(4):193-214.

Patching SG, Gardiner PH. Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation. *J Trace Elem Med Biol*, 1999. Dec;13(4):193-214.

Patching SG, Gardiner PH. Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review. *J Trace Elem Med Biol*, 1999. Dec;13(4):193-21

Patrick L. Nutrients and HIV, part one. Beta carotene and selenium. *Altern Med Rev*; 1999, 4: 403-13.

Pazirandeh A, Assadi Nejad M, Vossogh P,. *Determination of selenium in blood serum of children with acute leukemia and effect of chemotherapy on serum selenium level. J Trace Elem Med Biol. 1999. Dec;13(4):242-6.*

Peretz A, Neve J, Desmedt J, Duchateau J, Dramaix M & Famaey JP (1991) *Lymphocyte response is enhanced by supplementation of elderly subjects with selenium-enriched yeast. Am J Clin Nutr 53, 1323–1328.*

Persson-Moschos M, Huang W, Srikumar TS, Akesson B, Lindeberg S. *Selenoprotein P in serum as a biochemical marker of selenium status. Analyst, 1995. Mar;120(3):833-6.*

Peuchant E, Carbonneau MA, Dubourg L, Thomas MJ, Perromat A, Vallot C. *Lipoperoxidation in plasma and red blood cells of patients undergoing hemodialysis, vitamins A, E and iron status. Free Radic Biol Med, 1994; 16:339-346.*

Picado C, Deulofeu R, Lleonart R, Agustí M, Mullol J, Quintó L, Torra M. *Dietary micronutrients/antioxidants and their relationship with bronchial asthma severity. Allergy, 2001 Jan;56(1):43-9.*

Plank LD, Connolly AB, Hill GL. *Sequential changes in the metabolic response in severely septic patients during the first 23 days after the onset of peritonitis. Ann Surg, 1998. 228(2):146-58*

Porter JM, Ivatury RR, Azimuddin K, Swami R. *Antioxidant therapy in the prevention of organ dysfunction syndrome and infectious complications after trauma: early results of a prospective randomized study. Am Surg, 1999. May;65(5):478-83.*

Queiroz de A AC, Almeida Mg, Teixeira de Lima V, Azevedo D, Costa Lima K, dos Santos TL, de Fatima Campos L. *Alteraciones en el metabolismo del Zinc Relacionadas a la edad. 2008.*

Rasmussen LB, Hollenbach B, Laurberg P, Carlé A, Hög A, Jørgensen T, Vejbjerg P, Ovesen L, Schomburg L. *Serum selenium and selenoprotein P status in adult Danes – 8-years followup. J Trace Elem Med Biol. 2009; 23(4):265-71.*

Rayman M, Goenaga H, Sargent M. *Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. Br J Nutr. 2008 Aug;100(2):238-53.*

Rayman M. *The argument for increasing selenium intake. Proc Nutr Soc. 2002 May;61(2):203-15.*

Rayman MP. *The importance of selenium to human health. Lancet, 2000; 356:233-241.*

Rayman MP. *The use of high-selenium yeast to raise selenium status: How does it measure up?. Br J Nutr 2004;94(4):557-573.*

- Reilly C. *Selenium in Food and Health*. London: Blackie Academic and Professional. 1996.
- Reis MF, Holzbecher J, Martinho E, Chatt A. Determination of selenium in duplicate diets of residents of Pinhel, Portugal, by neutron activation. *Biol Trace Elem Res*. 1990 Jul-Dec;26-27:629-35.
- Reis MF, Holzbecher J, Martinho E, Chatt A. Determination of selenium in duplicate diets of residents of Pinhel, Portugal, by neutron activation. *Biol Trace Elem Res*. 1990 Jul-Dec;26-27:629-35.
- Rigo A, Rotillo G. Simultaneous determination of superoxide dismutase and catalase in biological materials by polarography. *Anal Biochem*. 1977; 81:157-166.
- Ringstad J, Knutsen S, Nilssen O, Thomassen Y. A comparative study of serum selenium and vitamin E levels in a population of male risk drinkers and abstainers. A populationbased matched-pair study. *Biol Trace Elem Res*. 1993;36(1):65–71.
- Robberecht HJ & Deelstra HA. Factors influencing blood selenium concentrations: a literature review. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*. 1994, 8, 129–143.
- Rostkowska-Nadolska B, Połpiech L, Bochnia M. Content of trace elements in serum of patients with carcinoma of the larynx. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 1999 ;47(5):321-5.
- Roth E, Manhart N, Wessner B. Assessing the antioxidative status in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2004. Mar;7(2):161-8.
- Roveri A, Casasco A, Maiorino M, Dalan P, Calligaro A, Ursini F. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase of rat testis. Gonadotropin dependence and immunocytochemical identification. *J Biol Chem*, 1992. Mar 25;267(9):6142-6.
- Roveri A, Maiorino M, Nisii C, Ursini F. Purification and characterization of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase from rat testis mitochondrial membranes. *Biochim Biophys Acta*, 1994. Oct 19;1208(2):211-21.
- Roy CC, Bouthillier L, Seidman E, Levy E. New lipids in enteral feeding. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2004. Mar;7(2):117-22
- Rozman C. Health Sciences University: an innovatory option?. *Med Clin (Barc)*. 2000 Sep 30;115(10):381-3.
- Sachs AB, Varani G. 2000. Eukaryotic translation initiation: There are (at least) two sides to every story. *Nat. Struct. Biol*. 7:356–61

- Sánchez C, López-Jurado M, Aranda P, Llopis J, 2010. Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: influence of age, obesity and lifestyle factors. *Sci Total Environ*. Feb 1;408(5):1014-20. Epub 2009 Dec 16.
- Sappey C, Legrand-Poels S, Best-Belpomme M, Favier A, Rentier B, Piette J. Stimulation of glutathione peroxidase activity decreases HIV type 1 activation after oxidative stress. *AIDS Res Hum Retrovir*; 1994. 10: 1451–1461.
- Sasakura C, Yoneda S. Binding sites for the (Hg-Se) complex on selenoprotein P. *Biochim Biophys Acta*, 1998. Dec 8;1429(1):102-12.
- Schorah CJ, Downing C, Piripitsi A, Gallivan L, Al-Hazaa AH, Sanderson MJ, Bodenham A. Total vitamin C, ascorbic acid, and dehydroascorbic acid concentrations in plasma of critically ill patients. *Am J Clin Nutr*. 1996;63:760-765.
- Schrauzer GN. Anticarcinogenic effects of selenium. *Cell Mol Life Sci*. 2000 Dec;57(13-14): 1864-73.
- Schwarz K, Mertz W. A glucose tolerance factor and its differentiation from factor 3. *Arch Biochem Biophys*, 1957. Dec;72(2):515-8.
- Scolapio JS, Raimondo M, Woodward TA, Wallace MB. Selenium concentrations in pancreatic juice of patients with chronic pancreatitis. *J Parenter Enteral Nutr*, 2004Sep-oct; 28(5): 339-41.
- Scott R & MacPherson A (1998) Selenium supplementation in sub-fertile human males. *Br J Urol* 82, 76–80.
- Serrano del Castillo A, Jurado Chacon D, Sanchez Campos M, Lopez Freiras M. Antioxidantes Vitamina A, C y E en la prevención del cáncer. *Nutrición clínica* 1991; II, 33 – 34.
- Shaw JH, Wildbore M, Wolfe RR. Whole body protein kinetics in severely septic patients. The response to glucose infusion and total parenteral nutrition. *Ann Surg*, 1987. Mar;205(3):288-94
- Shortt C, Duthie G, Robertson J, Morrice P, Nicol F, Arthur J. Selenium status of a group of Scottish adults. *Eur J Clin Nutr*. 1997; 51(6):400–4.
- Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, α -carotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr*, 1995; 62:1315S-1321S.
- Sima A & Pfannhauser W. Selenium levels in foods produced in Austria. In *Mengen-Spurenelem, Arbeitstag 1998, 18th*, pp. 197–204
- Simonoff M, Sergeant C, Garnier N, Moretto P, Llabador Y, Simonoff G, Conri C. Antioxidant status (selenium, vitamins A and E) and aging. *EXS*. 1992;62:368-97.

Singer P, Berger MM, Van den Berghe G, Biolo G, Calder P, Forbes A, Griffiths R, Kreyman G, Lerverve X, Pichard C, ESPEN. *ESPEN Guidelines on Parenteral Nutrition: intensive care. Clin Nutr.* 2009 Aug;28(4):387-400. Epub 2009 Jun 7.

Singhal N and Austin J. *Clinical review of macronutrients in HIV infection. J Int Assoc Physicians AIDS Care;* 2002. 1: 63-75.

Sosa, Lombardo L. - Ojeda, Jorge A. - Laprovitta, José H. - Bengoa, Nancy N. *Uso del score SOFA para detectar el Síndrome de Disfunción Orgánica Múltiple en pacientes críticos Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Medicina. Cátedra II de Fisiología Humana.* 2006.

Spallholz J.E., *The Bulletin of Selenium-Tellurim Development Association,* 2001

Speek AJ, Schrijver J, Schreurs WH. *Fluorimetric determination of total vitamin C in whole blood by high-performance liquid chromatography with pre-column derivatization. J Chromatogr,* 1984; 305:53-60.

Sriram K, Lonchyna VA. *Micronutrient supplementation in adult nutrition therapy: practical considerations. JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 2009. Sep-Oct;33(5):548-62. Epub 2009 May 19.

Stadtman TC, *Bacterial Selenocysteine. Annu Rev Biochem* 1996; 65: 83-100.

Stadtman TC. *Selenocysteine. Annu Rev Biochem,* 1996; 65:83–100

Stadtman TC. *Specific occurrence of selenium in enzymes and amino acid tRNAs. FASEB J,* 1987; 1:375–379.

Stoppe C, Schälte G, Rossaint R, Coburn M, Graf B, Spillner J, Marx G, Rex S. *The intraoperative decrease of selenium is associated with the postoperative development of surgical patients. Crit Care Med,* 2011; 39: 1879 –1885

Streat SJ, Beddoe AH, Hill GL: *Aggressive nutritional support does not prevent protein loss despite fat gain in septic intensive care patients. J Trauma* 1987, 27:262-8.

Suadicani P, Hein H, Gyntelberg F. *Serum selenium concentration and risk of ischaemic heart disease in a prospective cohort study of 3000 males. Atherosclerosis.* 1992;96(1):33–42.

Sunde RA. *Molecular biology of selenoproteins. Ann. Rev. Nutr,* 1990;10: 451-474.

Suzuki KT, Ishiwata K, Ogra Y. *Incorporation of selenium into selenoprotein P and extracellular glutathione peroxidase: HPLC-ICPMS data with enriched selenite. Analyst.* 1999. Dec;124(12):1749-53.

Sweeney B, Puri P, Reen DJ. Modulation of immune cell function by polyunsaturated fatty acids. *Pediatr Surg Int.* , 2005 May;21(5):335-40.

Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed Pharmacother.* May-Jun; 2003. 57(3-4):134-44.

Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomed Pharmacother.* 2003. Nov;57(9):386-98.

Tee ES. Carotenoids and retinoids in human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1992; 31:103-163.

Teissier E, Walters-Laporte E, Duhem C, Luc G, Fruchart JC, Duriez P. Rapid quantification of α -tocopherol in plasma and low and high-density lipoproteins. *Clin Chem*, 1996; 42:430-435.

Thérond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2000. Sep;3(5):373-84.

Thérond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* Sep, 2000;3(5):373-84.

Thomas JP, Geiger PG, Maiorino M, Ursini F, Girotti AW. Enzymatic reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides in artificial bilayers and lipoproteins. *Biochim Biophys Acta*, 1990. Aug 6;1045(3):252-60.

Thomas JP, Maiorino M, Ursini F, Girotti AW. Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membranedamaging lipid peroxidation. *J Biol Chem*, 1990; 265:454-461.

Thompson HJ, Zhu Z, Ganther HE. In vitro and in vivo studies of methylseleninic acid: evidence that a monomethylated selenium metabolite is critical for cancer chemoprevention. *Cancer Res.* 2000;60: 2882-2886.

Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur J Clin Nutr.* 2004 Mar;58(3):391-402.

Thorling E, Overvad K, Geboers J. Selenium status in Europe—human data. A multicenter study. *Ann Clin Res.* 1986;18(1):3–7.

Tietz. *Textbook of Clinical Chemistry.* Carl A Burtis, Edward R Ashwood. 1999.

Tiran B, Tiran A, Petek W, Rossipal E, Wawschinek O. Trace element studies of thyroid tissue in a resected specimen. *Acta Med Austriaca*. 1990;17 Suppl 1:88-9. Trace

Torra M, Rodamilans M, Montero F, Corbella J, 1997. Serum selenium concentration of a healthy northwest Spanish population. *Biol Trace Elem Res*. Jul-Aug;58(1-2):127-33.

Trayhurn P. Nutritional genomics: 'nutrigenomics'. *Br J Nutr* 2003; 89: 1-2.

Tsal K, Hsu TG, Kong CW, Lin K, Lu F. Is the endogenous peroxy-radical scavenging capacity of plasma protective in systemic inflammatory disorders in human?. *Free Radic Biol Med*, 2000; 28:926–933.

Tujebajeva RM, Copeland PR, Xu X-M, Carlson BA, Harney JW, et al. 2000. Decoding apparatus for eukaryotic selenocysteine insertion. *EMBO Rep*. 1:1–6

Uehara M, Plank LD, Hill GL: Components of energy expenditure in patients with severe sepsis and major trauma: a basis for clinical care. *Crit Care Med* 1999, 27:1295-302.

Ursini F, Maiorino M, Gregolin C. The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta*, 1985. Mar 29;839(1):62-70.

Valenta J, Brodska H, Drabek T, Hendl J, Kazda A. High-dose selenium substitution in sepsis: a prospective randomized clinical trial. *Intensive Care Med*, 2011. May;37(5):808-15. Epub 2011 Feb 24.

Valente Barbas, CS. Is low plasma selenium concentration a true reflection of selenium deficiency and redox status in critically. *Crit Care Med* 2011 Vol. 39, No. 8.

Van Cauwenbergh R, Robberecht H, Deelstra H, Picramenos D, Kostakopoulos A. Selenium concentration in serum of healthy greek adults. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*. 1994;8(2):99–109.

Van Dael P, Deelstra H. Selenium. *Int J Vitam Nutr Res*. 1993;63(4):312-6.

Van Den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P, Bouillon R. Intensive insulin therapy in the critically ill patients. *N Engl J Med*, 2001. Nov; 8;345(19):1359-67.)

Van der Vliet A, Smith D, O'Neill CA, Kaur H, Darley-Usmar V, Cross CE, Halliwell B. Interactions of peroxynitrite with human plasma and its constituents: oxidative damage and antioxidant depletion. *Biochem J*. 1994; 303: 295-301.

Van Ommen B. Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arenas. *Nutrition* 2004; 20: 4-8

Vanda Papp L, Lu J, Holmgren A, Khanna K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signal*. 2007 Jul;9(7):775-806.

Vatassery GT. Oxidation of vitamin E, vitamin C, and thiols in rat brain synaptosomes by peroxynitrite. *Biochem Pharmacol*. 1996 ; 52: 579-86.

Versieck J, Hoste J, Barbier F, Michels H, De Rudder J. Simultaneous determination of iron, zinc, selenium, rubidium, and cesium in serum and packed blood cells by neutron activation analysis. *Clin Chem*. 1977;23(7): 1301–5.

Viegas-Crespo A, Pavão M, Paulo O, Santos V, Santos M, Neve J. Trace element status (Se, Cu, Zn) and serum lipid profile in Portuguese subjects of San Miguel Island from Azores archipelago. *J Trace Elements Med Biol*. 2000;14(1):1–5.

Virtamo J, Valkeila E, Alfthan G, Punsar S, Huttunen J, Karvonen M. Serum selenium and the risk of coronary heart disease and stroke. *Am J Epidemiol*. 1985;122(2):276–82.

Walczak R, Carbon P, Krol A. 1998. An essential non–Watson-Crick base pair motif in 30UTR to mediate selenoprotein translation. *RNA* 4:74–84 115.

Walczak R, Westhof E, Carbon P, Krol A. 1996. A novel RNA structural motif in the selenocysteine insertion element of eukaryotic selenoprotein mRNAs. *RNA* 2:367–79

Wang W, Heinonen O, Mäkelä A, Mäkelä P, Nantö V, Branth S. Serum selenium, zinc and copper in Swedish and Finnish orienteers. A comparative study. *Analyst*. 1995;120(3): 837–40.

Waschulewski IH, Sunde RA. Effect of dietary methionine on tissue selenium and glutathione peroxidase activity in rats given selenomethionine. *Br J Nutr*. 1998;60:57-68.

Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, Levine M, Losick R. La duplicación del DNA. *Biología Molecular del Gen* (5ª Ed.). Madrid: Médica Panamericana. 2006. 84-7903-505-6.

Webster NR, Galley HF. J R, Nutrition in the critically ill patient. *Coll Surg Edinb*. 2000 Dec;45(6):373-9.

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.

Weissman C, Kemper M. Metabolic measurements in the critically ill. *Crit Care Clin* 1995, 11:169-197;

Whanger P.D. Selenoprotein W, *Cell. Mol. Life Sci*, 2000. 57, 1846.

Winnefeld K, Streck S, Treff E, Jütte H, Kroll E, Marx H. [Reference ranges of antioxidant parameters in whole blood (erythrocytes) in a Thüringen region] [en alemán]. *Med Klin (Munich)*. 1999;4(Suppl 3)(Suppl 3):101–2.

Wischmeyer PE, Lynch J, Liedel J, Wolfson R, Riehm J, Gottlieb L, Kahana M. Glutamine administration reduces Gram-negative bacteremia in severely burned patients: a prospective, randomized, double-blind trial versus isonitrogenous control. *Crit Care Med.* 2001.;29(11):2075-80.

Wolfe RR. Substrate utilization/insulin resistance in sepsis/trauma. *Baillieres Clin Endocrinol Metab,* 1997;11(4):645-57

Yang GQ, Wang SZ, Zhou RH, Sun SZ *Am J Clin Nutr.* Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am J Clin Nutr.* 1983 May;37(5):872-81.

Yang JG, Hill KE, Burk RF. Dietary selenium intake controls rat plasma selenoprotein P concentration. *J Nutr,* 1989. Jul;119(7):1010-2.

Yoneda S, Suzuki KT. Detoxification of mercury by selenium by binding of equimolar Hg-Se complex to a specific plasma protein. *Toxicol Appl Pharmacol,* 1997. Apr;143(2):274-80.

Yoshizawa K, Ascherio A, Morris JS, Stampfer MJ, Giovannucci E, Baskett CK, Willett WC, Rimm EB. Prospective study of selenium levels in toenails and risk of coronary heart disease in men. *Am J Epidemiol.* 2003, Nov 1;158 (9): 852-860.

Yoshizawa K, Willet WC, Morris SJ, Stampfer MJ, Spigelman D, Rimm EB. Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1219-1224.

Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiol Rev,* 1994; 74: 139–162.

Zachara BA, Salak A, Koterska D, Manitius J, Wasowicz W. Selenium and glutathione peroxidases in blood of patients with different stages of chronic renal failure. *J Trace Elem Med Biol,* 2004, 17(4):291-9.

Anexos

PRODUCCION CIENTIFICA A PARTIR DE LA PRESENTE TESIS

1. **Título:** EVOLUCIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL PACIENTE CRÍTICO DURANTE SU ESTANCIA EN LA UCI

Revista: *Nutrición hospitalaria*

Año: 2011

Volumen: 26

Número: SUPL 1

Página inicial: 52

Página final: 52

Autores: Millán-Adame, Elena; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; García Ávila-, Maria Ángeles; Sáez-Pérez,

Laura; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Rodriguez-Elvira, Manuel; Planells-Del Pozo, Elena María

2. **Título:** VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE SELENIO Y SU ASOCIACIÓN CON LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA GLUTATION PEROXIDASA EN UNA POBLACIÓN SANA DE LA PROVINCIA DE GRANADA

Revista: *Nutrición clínica, dietética hospitalaria*

Año: 2011

Volumen: 31

Número: 1

Página inicial: 84

13/02/2012 ELENA MILLÁN ADAME 3 / 16

Página final: 84

Autores: Millán-Adame, Elena; Sáez-Pérez, Laura; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Lopez-Gonzalez,

Beatriz; Molina-Lopez, Jorge; Garcia-Avila, Mariangeles; Rodriguez-Elvira, Manuel; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Planells-Del Pozo, Elena María

3. **Título:** SE STATUS IN HEALTHY ADULT POPULATION OF GRANADA, SPAIN

Revista: *ANNALS OF NUTRITION & METABOLISM*

Año: 2011

Volumen: 58

Número: 1

Página inicial: 295

Página final: 296

Autores: Millán-Adame, Elena

4. **Título:** ZINC DEFICIENCY IN CRITICALLY ILL PATIENT

Revista: *Metal ions in biology and medicine*

Año: 2011

Volumen: 11

Número:

Página inicial: 51

Página final: 51

Autores: Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Sáez-Pérez, Laura; Millán-Adame, Elena; Molina-Lopez, Jorge; Lopez-Gonzalez, Beatriz; Rodriguez-Elvira, Manuel; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Planells-Del Pozo, Elena María

5. **Título:** ASOCIATION BETWEEN MAGNESIUM IRON AND ZINC IN CRITICAL CARE PATIENTS

Revista: *BIOLOGY OF MAGNESIUM AND ITS TRANSPORTERS: IMPLICATION IN HUMAN DISEASES*

Año: 2011

Volumen:

Número:

Página inicial: 33

Página final: 33

Autores: Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Molina-Lopez, Jorge; Millán-Adame, Elena; Sáez-Pérez, Laura; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Rodriguez-Elvira, Manuel; Planells-Del Pozo, Elena María

6. **Título:** MINERAL INTERACTIONS IN CRITICAL CARE PATIENT

Revista: *CLINICAL NUTRITION SUPPLEMENTES. AN INTERNATIONAL JOURNAL DEVOTED TO CLINICAL NUTRITION AND METABOLISM*

Año: 2011

Volumen: 6

Número: 1

Página inicial: 22

Página final: 223

Autores: Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Sáez-Pérez, Laura; Millán-Adame, Elena; Molina-Lopez, Jorge; López-González, Beatriz; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Rodriguez-Elvira, Manuel; Planells-Del Pozo, Elena María

7. **Título:** ASSOCIATION BETWEEN HOMOCYSTEINE AND B VITAMIN IN CRITICAL CARE PATIENT DURING ICU STAY

Revista: *Clin. nutr. (Pleasantville N.J.)*

Año: 2010

Volumen:

Número:

Página inicial: 117

Página final: 118

Autores: Planells-Del Pozo, Elena María; Millán-Adame, Elena; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Quintero- Osso, Bartolome; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Cabeza-Gonzalez, M^a. Del Carmen; Rodriguez-Elvira, Manuel

8. Título: ROLE OF ZINC ON ANTIOXIDANT STATUS IN CRITICALLY ILL PATIENT

Revista: Intensive care med. (Print)

Año: 2010

Volumen:

Número:

Página inicial: 1279

Página final: 1279

Autores: Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Millán-Adame, Elena; Planells-Del Pozo, Elena María; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Castaño-Perez, Jose; Rodriguez-Elvira, Manuel; González-Díaz, Francisco; Gonzalez-Martin, Francisco Manuel

9. Título: ZN 2+ DEFICIENCY IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH SIRS IS LINKED TO MG AND OXIDATIVE STATUS

Revista: Proc. Nutr. Soc.

Año: 2010

Volumen:

Número:

Página inicial: 21

Página final: 24

Autores: Planells-Del Pozo, Elena María; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Millán-Adame, Elena; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Quintero-Osso, Bartolome; Cabeza-Gonzalez, M^a. Del Carmen; Rodriguez-Elvira, Manuel; González-Díaz, Francisco; Gonzalez-Martin, Francisco Manuel; Aranda-Ramírez, Pilar

10. Título: THIAMINE DEFICIENCY IN CRITICAL CARE PATIENTS: ASSOCIATION WITH VITAMINS INVOLVED IN HOMOCYSTEINE METABOLIC ROUTE.

Revista: Intensive care med. (Print)

Año: 2010

Volumen:

Número:

Página inicial: 1269

Página final: 1269

Autores: Planells-Del Pozo, Elena María; Millán-Adame, Elena; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Perez-De

La Cruz, Antonio Jesus; Rodriguez-Elvira, Manuel; González-Diaz, Francisco; Gonzalez-Martin, Francisco

Manuel; Castaño-Perez, Jose

Índice de impacto (ISI): 4.996

11. **Título:** ASOCIACIÓN DE LA DEFICIENCIA DE CINCO CON FACTORES INMUNOLÓGICOS Y CLÍNICOS

Revista: ARS PHARMACEUTICA

Año: 2010

Volumen: 51

Número: 3

Página inicial: 711

Página final: 722

Autores: Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Garcia -Avila, Maria Angeles; Millán-Adame, Elena; Saez -perez, Laura; Lopez-Gonzalez, Beatriz; Molina-Lopez, Jorge; Quintero-Osso, Bartolome; Cabeza, Maria Del Carmen; Planells-Del Pozo, Elena María

12. **Título:** VALORACIÓN DEL ESTATUS DE TIAMINA EN UN COLECTIVO ANDALUZ Y SU RELACIÓN CON OTROS PARÁMETROS

Revista: ARS PHARMACEUTICA

Año: 2010

Volumen: 51

Número: 3

Página inicial: 803

Página final: 809

Autores: Garcia -Avila, Maria Angeles; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Millán-Adame, Elena; Saez-PeREZ, Laura; Molina-Lopez, Jorge; Lopez-Gonzalez, Beatriz; Planells-Del Pozo, Elena María

13. **Título:** DEFICIENCIA DE COBRE EN UN COLECTIVO Y FACTORES ASOCIADOS

Revista: ARS PHARMACEUTICA

Año: 2010

Volumen: 51

Número: 3

Página inicial: 789

Página final: 801

Autores: Sáez-Pérez, Laura; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; García -ávila, María Ángeles; Millán- Adame, Elena; Molina-Lopez, Jorge; González-lópez, Beatriz; Quintero-Osso, Bartolome; Cabeza-gonzález, Carmen; Planells-Del Pozo, Elena María

14. **Título:** HIGH PREVALENCE OF PIRIDOXIN DEFICIENCY IN CRITICAL CARE PATIENT WITH SIRS DURING 7 DAYS OF STAY IN ICU

Revista: Clin. nutr. (Edinb.)

Año: 2009

Volumen:

Número:

Página inicial: 9

Página final: 9

Autores: Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Millán-Adame, Elena; Rodriguez-Elvira, Manuel; Perez-De La

Cruz, Antonio Jesus; Quintero-Osso, Bartolome; Sáez-,Laura; Planells-Del Pozo, Elena María

Índice de impacto (ISI): 3.274

15. **Título:** ZN-DEFICIENT STATUS IS ASSOCIATED WITH MG-DEFICIENT AND OXIDATIVE STATUS IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH SIRS

Revista: Clin. nutr. (Pleasantville N.J.)

Año: 2009

Volumen:

Número:

Página inicial: 26

Página final: 26

Autores: Planells-Del Pozo, Elena María; Millán-Adame, Elena; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Garcia- Avila, Mariangeles; Sáez-,Laura; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Rodriguez-Elvira, Manuel; Quintero- Osso, Bartolome; Cabeza-Gonzalez, M^a. Del Carmen; Aranda-Ramírez, Pilar

16. **Título:** DEFICIENCIA DE PIRIDOXAL- 5 P Y SU ASOCIACIÓN CON HIPERHOMOCISTEINEMIA EN PACIENTE CRÍTICO

Revista: Nutrición hospitalaria

Año: 2009

Volumen:

Número:

Página inicial: 56

Página final: 56

Autores: Millán-Adame, Elena; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Rodriguez-Elvira, Manuel; Martin-, J; González-Díaz, Francisco; Gonzalez-Martin, Francisco Manuel; Martin-Lopez, Javier; Aranda-Ramírez, Pilar; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Planells-Del Pozo, Elena María
Índice de impacto (ISI): 1.065

17. **Título:** MG-DEFICIENCY IS ASSOCIATED WITH ZN2+-DEFICIENT AND ANTIOXIDANT STATUS IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH SYSTEMIC INFLAMMATORY RESPONSE SYNDROME

Revista: Magnes. res.

Año: 2009

Volumen: 22

Número: 3

Página inicial: 193S

Página final: 193S

Autores: Planells-Del Pozo, Elena María; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Millán-Adame, Elena; Sáez-,Laura; Rodriguez-Elvira, Manuel; Martin-Lopez, Javier; Aranda-Ramírez, Pilar; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus

Índice de impacto (ISI): 1,246

18. **Título:** PLASMA AND ERYTHROCYTE MAGNESIUM CONTENT IN INTENSIVE CARE PATIENTS AT ADMISSION AND 7TH DAY OF STAY IN ICU

Revista: Magnes. res.

Año: 2009

Volumen: 22

Número: 3

Página inicial: 192S

Página final: 193S

Autores: Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Millán-Adame, Elena; Llopis-González, Juan; Quintero-Osso, Bartolome; Aranda-Ramírez, Pilar; Rodriguez-Elvira, Manuel; Cabeza-Gonzalez, M^a. Del Carmen; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Planells-Del Pozo, Elena María

Índice de impacto (ISI): 1,246

19. **Título:** PLASMA AND ERYTHROCYTE MG CONTENT IN INTENSIVE CARE PATIENTS AT ADMISSION AND 7TH DAY OF STAY IN ICU

Revista: Clin. nutr. (Pleasantville N.J.)

Año: 2008

Volumen:

Número:

Página inicial: 113

Página final: 113

Autores: Planells-Del Pozo, Elena María; Rodríguez-Elvira, Manuel; Castaño-Perez, Jose; Quintero-Osso, Bartolome; Florea-C. Crisovan, Daniela Ioana; Millán-Adame, Elena; Llopis-González, Juan; Perez-De La Cruz, Antonio Jesus; Cabeza-Gonzalez, M^{ra}. Del Carmen; Aranda-Ramírez, Pilar

Original

Deficient selenium status of a healthy adult spanish population

E. Millán Adame, D. Florea, L. Sáez Pérez, J. Molina López, A. Pérez de la Cruz and E. Planells del Pozo

Hospital Virgen de las Nieves. España.

Abstract

Introduction: Selenium is an essential micronutrient for human health, being a cofactor for enzymes with antioxidant activity that protect the organism from oxidative damage. An inadequate intake of this mineral has been associated with the onset and progression of chronic diseases such as hypertension, diabetes, coronary diseases, asthma, and cancer. For this reason, knowledge of the plasma and erythrocyte selenium levels of a population makes a relevant contribution to assessment of its nutritional status.

Objective: The objective of the present study was to determine the nutritional status of selenium and risk of selenium-deficiency in a healthy adult population in Spain by examining food and nutrient intake and analyzing biochemical parameters related to selenium metabolism, including plasma and erythrocyte levels and selenium-dependent glutathione peroxidase (GPx) enzymatic activity.

Material and methods: We studied 84 healthy adults (31 males and 53 females) from the province of Granada, determining their plasma and erythrocyte selenium concentrations and the association of these levels with the enzymatic activity of glutathione peroxidase (GPx) and with life style factors. We also gathered data on their food and nutrient intake and the results of biochemical analyses. Correlations were studied among all of these variables.

Results: The mean plasma selenium concentration was $76.6 \pm 17.3 \mu\text{g/L}$ ($87.3 \pm 17.4 \mu\text{g/L}$ in males, $67.3 \pm 10.7 \mu\text{g/L}$ in females), whereas the mean erythrocyte selenium concentration was $104.6 \mu\text{g/L}$ ($107.9 \pm 26.1 \mu\text{g/L}$ in males and $101.7 \pm 21.7 \mu\text{g/L}$ in females). The nutritional status of selenium was defined by the plasma concentration required to reach maximum GPx activity, establishing $90 \mu\text{g/L}$ as reference value. According to this criterion, 50% of the men and 53% of the women were selenium deficient.

Conclusions: Selenium is subjected to multiple regulation mechanisms. Erythrocyte selenium is a good marker of longer-term selenium status, while plasma selenium appears to be a marker of short-term nutritional status. The present findings indicate a positive correlation between plasma selenium concentration and the practice of physical activity. Bioavailability studies are required to establish appropriate reference levels of this mineral for the Spanish population.

(Nutr Hosp. 2011;27:524-528)

DOI:10.3305/nh.2012.27.2.????

Key words: *Selenium status. Glutathione peroxidase. Healthy adult population.*

Correspondence: Elena Millán Adame.
Hospital Virgen de las Nieves.
Spain.
E-mail: millanadame@hotmail.com

Recibido: 5-IX-2011.
1.ª Revisión: 27-IX-2011.
Aceptado: 28-IX-2011.

DEFICIENCIA DE SELENIO EN UNA POBLACIÓN ADULTA SANA ESPAÑOLA

Resumen

Introducción: El selenio es un micronutriente esencial para la salud del ser humano, debido fundamentalmente a su implicación como cofactor de enzimas con actividad antioxidante que protegen al organismo del daño oxidativo, de modo que una ingesta inadecuada de este mineral está asociada con la aparición y desarrollo de enfermedades crónicas tales como hipertensión, diabetes, enfermedades coronarias, asma y cáncer. Por esta razón, la determinación de selenio plasmático y eritrocitario contribuirá a la valoración del estado nutricional de la población estudiada.

Objetivo: El objetivo de estudio fue valorar el estado nutricional de selenio en una población adulta sana en riesgo de deficiencia, a través de una evaluación de la ingesta, así como de los niveles de selenio en plasma y eritrocito, y la actividad de la enzima selenio-dependiente Glutathione Peroxidasa (GPx) en eritrocito.

Material y métodos: El estudio se realizó en un grupo de población de 84 adultos sanos pertenecientes a la provincia de Granada (31 hombres y 53 mujeres) en los que se determinó la ingesta de nutrientes y selenio, sus niveles plasmáticos y eritrocitarios, así como su asociación con la actividad de la enzima Glutathione Peroxidasa y con diversos factores del estilo de vida.

Resultados: Las concentraciones medias de selenio en plasma fueron de $76,6 \pm 17,3 \mu\text{g/L}$ ($87,3 \pm 17,4 \mu\text{g/L}$ en los hombres, y de $67,3 \pm 10,7 \mu\text{g/L}$ para las mujeres), mientras que los valores eritrocitarios de selenio de la población total del estudio fue de $104,6 \mu\text{g/L}$ ($107,9 \pm 26,1 \mu\text{g/L}$ en hombres y $101,7 \pm 21,7 \mu\text{g/L}$ en mujeres). La evaluación del estado nutricional de selenio, se realizó en función de la concentración en plasma necesaria para alcanzar la máxima actividad de GPx, estableciendo como valor de referencia $90 \mu\text{g/L}$, observamos que el 50% de los hombres y el 53% de las mujeres se encuentran en situación de deficiencia.

Conclusiones: El selenio es un mineral sujeto a múltiples mecanismos de regulación. El selenio eritrocitario es un buen indicador del estatus mineral de selenio a largo plazo, mientras que el selenio plasmático es un indicador de estatus nutricional de selenio a corto plazo. Los resultados obtenidos mostraron una correlación positiva entre los niveles de selenio en plasma y la realización de actividad física. Es necesario disponer de más estudios de bio-disponibilidad de selenio con el fin de poder establecer niveles de referencia de este mineral para la población española.

(Nutr Hosp. 2012;27:524-528)

DOI:10.3305/nh.2012.27.2.????

Palabras clave: *Estatus de selenio. Glutathione peroxidasa. Población adulta sana.*

Introduction

The relationship between diet and numerous chronic diseases is well documented,^{1,2,3} and the eating habits of humans has become a major research field in developed countries.⁴ Assessment of the nutritional status of a specific group is a useful method for relating the habits of a population to their health status.⁵ Selenium deficiency alone is infrequent in developed countries, but an inadequate intake of this mineral has been associated with the development of cancer,⁶ asthma, and coronary disease, among other chronic conditions. Given the absence of symptoms, partial or subclinical deficiency is generally an incidental finding in biochemical analyses,^{7,8} either routine or ordered for another motive. Detection of this condition allows a rapid and total recovery of levels to be achieved through a balanced diet. The recommended selenium intake for healthy adults is considered to be 55 µg/day for females and 70 µg/day for males.⁹

An inadequate selenium nutritional status has been associated with Kashin-Beck disease^{10,11} and Keshan disease¹¹ which are endemic in some Chinese populations with a low intake of this mineral.⁴ These conditions are treated by supplementation with selenium. In developed countries, new trends in eating habits¹³ may produce micronutrient deficiencies that can manifest as growth restriction or other specific syndromes.¹⁴ Marked socio-cultural changes in Spain¹⁵ over recent decades have modified the diet of the population, with a possible impact on the intake of relevant nutritional components.¹⁶

With this background, the objective of the present study was to determine the nutritional status of selenium and risk of selenium-deficiency in a healthy adult population in Spain by examining food and nutrient intake and analyzing biochemical parameters related to selenium metabolism, including plasma and erythrocyte levels and selenium-dependent glutathione peroxidase (GPx) enzymatic activity.

Subjects and methodology

Subjects

The study population comprised 84 volunteers from Granada province (southern Spain), 31 males and 53 females aged from 21 to 59 yrs. Study exclusion criteria were: the presence of any disease that could affect their nutritional situation, the receipt of any nutritional supplement, and the withholding of informed consent to participation in the study, which was approved by the ethical committee of our institution.

Blood samples were drawn between 8 am and 10 am in fasting conditions. The individuals then underwent a personal interview for completion of a validated questionnaire on food consumption frequency, habits (smoking, drinking and physical exercise habits), and personal details¹⁷ and for gathering data on the clinical history.

Laboratory techniques

Blood samples were centrifuged for 15 min at 3,000 rpm to obtain plasma and erythrocyte samples (in 250-µl aliquots), which were stored at -80° C until their analysis. Samples were mineralized by wet method before the determination of serum and erythrocyte selenium levels. Selenium was measured by means of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), diluting plasma samples with Triton X-100 and nitric acid for the measurement of plasma selenium concentrations. GPx activity was determined by using the BIOXYTECH GPx-340™ kit, an indirect colorimetric assay (OxisResearch™).

Statistical analysis

Numerical data were expressed as arithmetic mean (\pm standard deviation [SD]) and standard error of the mean (SEM). Application of Kolmogorov-Smirnov test confirmed the normal distribution of the data. An analysis of variance (ANOVA) was performed. The parametric Student's t test was used for independent and related samples and the non-parametric Kruskal-Wallis test and Wilcoxon tests for independent samples and related samples, respectively. The Mann-Whitney test was used for intergroup comparisons of categorical data. Linear regression analysis was applied to determine bivariate correlations, using Pearson's correlation coefficient. Logistic regression analysis was performed to estimate the degree of association between each plasma variable and biochemical findings. $P < 0.05$ was considered significant in all tests.

Results

This sample of 84 healthy adults reported the following mean daily intakes: 1,946 \pm 651 kcal of energy, 77.6 \pm 34.7 g of protein, 91.01 \pm 31.6 g of lipids, and 221.01 \pm 81.9 g of carbohydrates. Figure 1 depicts these values as percentages of the total intake. Among food groups, cereals (55%), fruits (63%), or vegetables (56%) were consumed every day by 55-63% of participants.

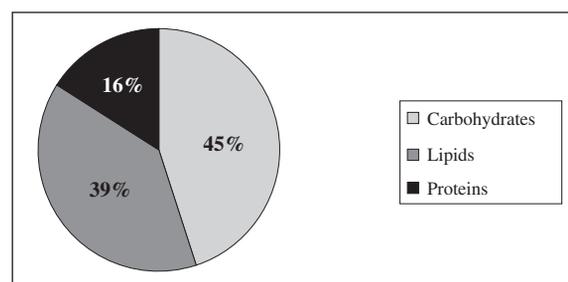


Fig. 1.—Percentage of macronutrients in diet of study population.

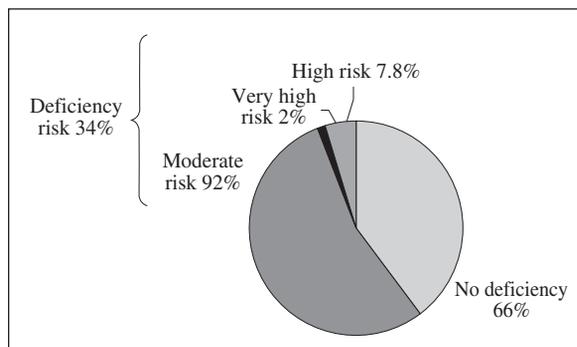


Fig. 2.—Percentage of subjects at risk of selenium deficiency.

The mean selenium intake of this population was 75.3 ± 37.1 $\mu\text{g}/\text{day}$ (range, 38.2-112.4 $\mu\text{g}/\text{day}$). It was below the recommended intake (RI) for healthy adults in 34% of the females (< 55 $\mu\text{g}/\text{day}$) and 34% of the males (< 70 $\mu\text{g}/\text{day}$). Stratification of these individuals at risk of selenium deficiency according to their intake showed (fig. 2) that 2% were at very high risk (intake $< 1/3$ IR), 7.8% were at high risk (intake $< 2/3$ IR), and 90.2% at moderate risk (intake between $2/3$ and IR).

The mean plasma selenium value was 76.6 ± 17.3 $\mu\text{g}/\text{L}$ (range, 45.6-121.0 $\mu\text{g}/\text{L}$): 67.3 ± 10.7 $\mu\text{g}/\text{L}$ in the females, and 87.3 ± 17.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ in the males. When 90 $\mu\text{g}/\text{L}$ was considered as the minimum plasma concentration, 50% of males and 53% of females evidenced selenium deficiency; when 125 $\mu\text{g}/\text{L}$ was used as the reference value, 100% of males and 100% of females were selenium deficient.

Mean erythrocyte selenium values of the study population were 104.60 ± 23.36 $\mu\text{g}/\text{L}$ (69-160 $\mu\text{g}/\text{L}$): 120 ± 21.48 $\mu\text{g}/\text{L}$ in males and 101.7 ± 21.67 $\mu\text{g}/\text{L}$ in females. When 90 $\mu\text{g}/\text{L}$ was considered as the minimum erythrocyte selenium value, 30.4% of males and 37.7% of females were below this level.

A positive correlation was found between plasma and erythrocyte selenium levels (fig. 3) ($p = 0.009$; $r = 0.292$), and between erythrocyte GPx activity and

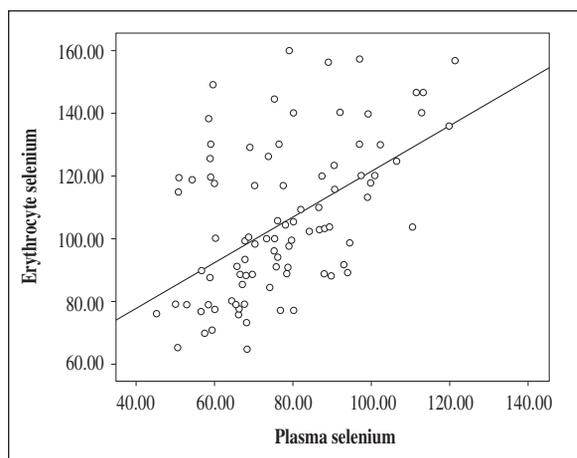


Fig. 3.—Relationship between erythrocyte and plasma selenium levels.

erythrocyte selenium concentrations ($p = 0.407$, $r = 0.001$).

The practice of physical activity was significantly and positively correlated with selenium intake ($p = 0.018$; $r = 0.266$) and with plasma selenium concentration ($p = 0.039$; $r = 0.227$). When the selenium intake was adjusted by the energy intake, a significant positive association was again found for the whole sample ($p = 0.009$; $r = 0.292$).

Discussion

The mean intake of selenium was below recommendations in one-third of the males and females in this population of healthy adults from Southern Spain. Plasma selenium levels were deficient in 60-100% of both males and females, depending on the minimum threshold value considered, and the erythrocyte selenium concentration was deficient in 30.4% of males and 37.7% of females, taking 90 $\mu\text{g}/\text{L}$ as minimum value. A significant and positive correlation was found between plasma selenium level and the practice of physical activity.

Interestingly, a deficient selenium intake was evidenced by 34% of both sexes, despite the distinct minimum recommendations for females and males (55 $\mu\text{g}/\text{day}$ vs. 70 $\mu\text{g}/\text{day}$). The mean plasma selenium concentration was low in our population (76.6 ± 17.3 $\mu\text{g}/\text{L}$). The nutritional status of selenium is related to the plasma levels required to reach the maximum activity of GPx, which range between 90 $\mu\text{g}/\text{L}$ ¹⁸ and 125 $\mu\text{g}/\text{L}$ according to the literature.¹ Some authors have suggested that a healthy adult should have levels of around 100 $\mu\text{g}/\text{L}$.¹⁹ Reference plasma selenium values for each sex have not been published. In our sample, around half of the males and females could be considered selenium deficient when 90 $\mu\text{g}/\text{L}$ was taken as minimum threshold value, and all males and females could be considered deficient when 125 $\mu\text{g}/\text{L}$ was used as the reference level.

The mean erythrocyte selenium value of the study population (104.60 $\mu\text{g}/\text{L}$) was within the normal range (90-190 $\mu\text{g}/\text{L}$).²⁰ Nevertheless, taking 90 $\mu\text{g}/\text{L}$ as the minimum erythrocyte selenium value, 30.4% of males and 37.7% of females were found to be at risk of selenium deficiency.

The above findings are consistent with the daily consumption of cereals, fruit and vegetables reported by a large proportion of our sample, because these fiber-rich foods hinder selenium absorption and have shown a negative association with plasma selenium concentrations.^{21,22}

Most studies found no clear relationship between selenium levels and the practice of physical activity,^{1,21,23} suggesting that the increase in plasma selenium levels was due to the higher energy intake by individuals performing more physical activity. No other lifestyle factor studied (smoking, alcohol consumption, etc)

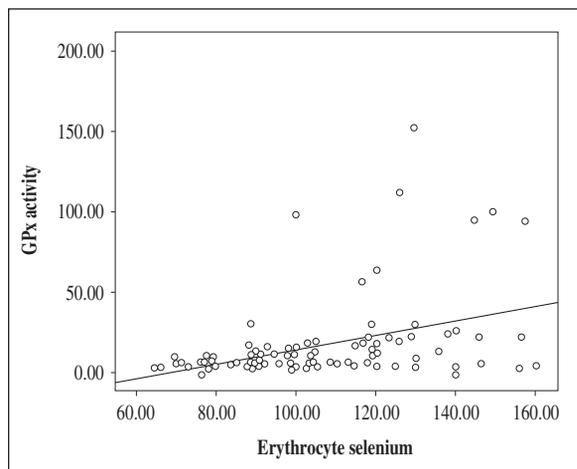


Fig. 4.—Correlation between GPx activity and erythrocyte selenium levels.

showed a significant association with plasma selenium levels. Accordingly, we analyzed the selenium intake adjusted by the energy intake, considering the study population as a whole, finding that the significant relationship with physical activity was maintained ($p = 0.009$; $r = 0.292$).

A significant and positive correlation was found between plasma and erythrocyte selenium levels. While plasma selenium is regarded as a good indicator of the short-term nutritional status of this mineral, erythrocyte selenium acts as a long-term marker due to the incorporation of selenium during cell synthesis; the red blood cells function, to a certain extent, as reservoirs of this mineral,⁴ which can then be released to meet the physiological needs of individuals.

A positive correlation was also observed between erythrocyte GPx activity and erythrocyte selenium concentration ($p = 0.407$, $r = 0.001$), confirming their dependent relationship (fig. 4). GPx appears to be the most sensitive indicator of selenium intake, showing higher activity at 1-2 weeks after the onset of supplementation, attributable to the short half-life (8-14 days) of platelets *versus* erythrocytes (120 days). However, GPx is part of a system of antioxidant reactions, and low GPx activity could be compensated by other components of this system, such as vitamin C and E. Nevertheless, the protective effect of GPx has a specific role when the organism is exposed to additional stress conditions; furthermore, individuals with vitamin E-deficient diets have a greater need for selenium.⁴ Selenium is highly involved in antioxidant defense as cofactor of numerous antioxidant enzymes.²⁴

Higher energy intake is generally associated with a greater consumption of protein and fat-rich foods, which may explain the increased plasma levels of TAG, total cholesterol, and LDL cholesterol and decreased HDL cholesterol levels with higher plasma and erythrocyte selenium levels. Other studies on healthy populations²¹ have shown a positive association between plasma selenium levels and the consump-

tion of meat and fish, which can both increase blood cholesterol levels. We found a positive correlation between plasma selenium level and uric acid, which may also be explained by meat consumption.

Conclusions

Selenium is subjected to multiple regulation mechanisms. Erythrocyte selenium is a good marker of longer-term selenium status, while plasma selenium appears to be a marker of short-term nutritional status. The present findings indicate a positive correlation between plasma selenium concentration and the practice of physical activity. Bioavailability studies are required to establish appropriate reference levels of this mineral for the Spanish population.

References

1. Sánchez C, López-Jurado M, Aranda P, Llopis J. Plasma levels of copper, manganese and selenium in an adult population in southern Spain: Influence of age, obesity and lifestyle factors. *Science of the Total Environment* 2010; 408 (5): 1014-20. Epub 2009 Dec 16.
2. 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.
3. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA). La alimentación en España. Madrid: Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Dirección General de Alimentación, 2008.
4. Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *European Journal of Clinical Nutrition* 2004; 58 (3): 391-402.
5. Mataix J. Tratado de Nutrición Humana. Ergón, Eds. 2009. Barcelona.
6. Vieira FG, Pietro PF, Boaventura BC, Ambrosi C, Rockenbach G, Fausto MA, Crippa CG, Silva EL. Factors associated with oxidative stress in women with breast cancer. *Nutr Hosp* 2011; 26 (3): 528-36.
7. Sauberlich HE. In: Wolinsky I, editor. Laboratory tests for the assessment of nutritional status. *Boca Raton (fla)*, 1999.
8. González Madroño A, Mancha FJ, Rodríguez JI, de Ulibarri, Culebras J. The use of biochemical and immunological parameters in nutritional screening and assessment. *Nutr Hosp* 2011; 26 (3): 594-601
9. Food and Nutrition Board. Institute of Medicine (2000) Dietary reference for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids.. National Academi of Sciences.
10. Kimbrough RD, Meng B, Han JY, LeVois M, Hou X, Yin XN. Kashin-Beck disease: a cross-sectional study in seven villages in the People's Republic of China. *J Toxicol Environ Health* 1990; 30 (4): 239-59.
11. Hinsenkamp M, Mathieu F, Claus W, Collard J-F, De Maertelaer V. Effects of physical environment on the evolution of Kashin-Beck disease in Tibet. *International Orthopaedics (SICOT)* 2009; 33: 1085-108.
12. Yang GQ, Wang SZ, Zhou RH, Sun SZ. Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am J Clin Nutr* 1983; 37 (5): 872-81.
13. González-Solanellas M, Romagosa Pérez-Portabella A, Zabalata-del-Olmo E, Grau-Carod M, Casellas-Montagut C, Lancho-Lancho S, Moreno-Feliu R, Pérez Portabella M^c. Estudio de prevalencia sobre los hábitos alimentarios y el estado nutricional en población adulta atendida en atención primaria. *Nutr Hosp* 2011; 26 (2): 337-344. ISSN 0212-1611.



14. Miller PS, Moreno R, Johnson RK. Effects of restricting energy during the gilt developmental period on growth and reproduction of lines differing in lean growth rate: responses in feed intake, growth, and age at puberty. *J Anim Sci* 2011; 89 (2): 342-54. Epub 2010 Oct 22.
15. Durá Travé T, Castroviejo Gandarias A. Nutr Hosp. Adherence to a Mediterranean diet in a college population. *Nutr Hosp* 2011; 26 (3): 602-8.
16. Mataix J, Aranda P, López-Jurado M, Sánchez C, Planells E, Llopis J. Factors influencing the intake and plasma levels of calcium, phosphorus and magnesium in southern Spain. *Eur J Nutr* 2006; 45 (6): 349-54.
17. Rodríguez G, Planells E. Información para la práctica nutricional. Anexo B, pp. 689-744. En Mataix J, Nutrición y Alimentación Humana, 2ª edición Ed. Ergon, 2009, Barcelona.
18. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF Jr, Slate EH, Fischbach LA, Marshall JR, Clark LC. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11 (7): 630-9.
19. Rayman M. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* 2008; 100 (2): 254-68. Epub 2008 Mar 18.
20. Cardoso BR, Ong TP, Jacob-Filho W, Jaluul O, Freitas MI, Cozzolino SM. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. *Br J Nutr* 2010; 103 (6): 803-6. Epub 2009 Dec 1.
21. Arnaud J, Bertrais S, Roussel AM, Arnault N, Ruffieux D, Favier A et al. Serum selenium determinant in French adults: the SU.VI.M.AX study. *British Journal of Nutrition* 2006; 95 (2): 313-20.
22. Rasmussen LB, Hollenbach B, Laurberg P, Carlé A, Hög A, Jorgensen T et al. Serum selenium and selenoprotein P status in adult Danes – 8-year followup. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2009; 23 (4): 265-71.
23. Letsiou S, Nomikos T, Panagiotakos D, Pergantis SA, Fragopoulou E, Antonopoulou S et al. Serum Total Selenium Status in Greek Adults and Its Relation to Age. The ATTICA Study Cohort. *Biol Trace Elem Res* 2009; 128 (1): 8-17. Epub 2008 Oct 25.
24. Vanda Papp L, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health Antioxidants & Redox Signaling, Volume 9, Number 7, DOI: 10.1089/ars.2007.1528, 2007.



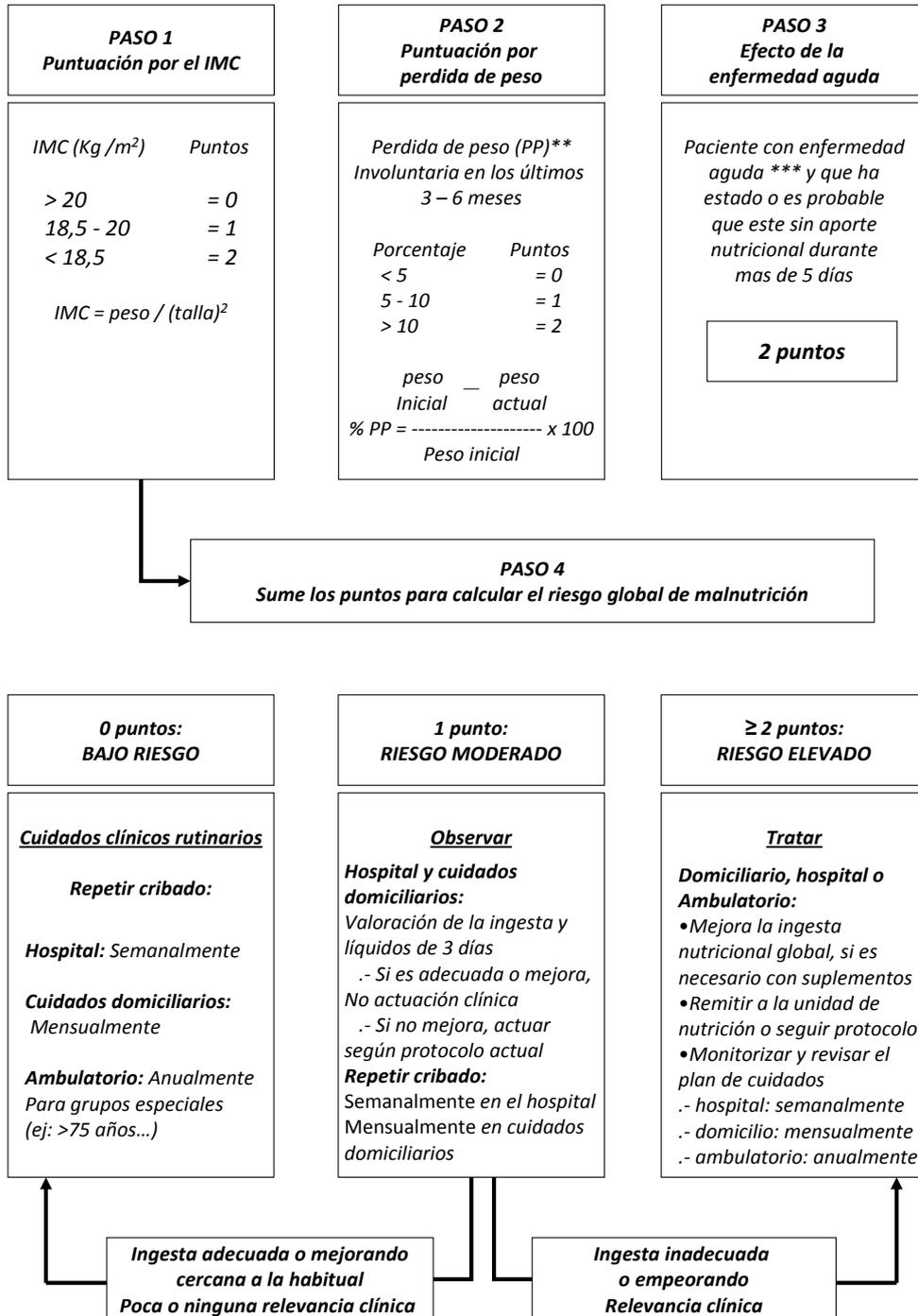
Anexo I

NUTRITIONAL RISK SCREENING 2002

Cribado inicial		Si	No
¿Índice de masa corporal < 20?			
¿Pérdida de peso en los últimos tres meses?			
¿Reducción de la ingesta en la última semana?			
¿Enfermedad grave?			
Si la respuesta a alguna de las preguntas es "Si" se debe pasar el cribado completo:			
Alteración del estado nutricional		Severidad de la enfermedad (Requerimientos / estrés - metabolismo)	
0	Normal	0	Requerimientos normales
Leve Score 1	<i>Perdida de peso 5 % en 3 meses, o ingesta < 50 – 70 % de las necesidades en la semana anterior</i>	Leve Score 1	<i>Fractura de cadera. Pacientes crónicos con complicaciones agudas: hemodiálisis, diabetes, cirrosis, EPOC, oncológica</i>
Moderado Score 2	<i>Perdida de peso < 5% en 2 meses o IMC de 18,5 – 20,5 kg/m² + alteración del estado general o ingesta del 25 – 50% de las necesidades en la semana anterior</i>	Moderado Score 2	<i>Cirugía mayor abdominal Accidente cerebrovascular Infecciones severas Neoplasias hematológicas</i>
Severo Score 3	<i>Perdida de peso < 5% en 1 mes (15% en 3 meses) o IMC de <18,5 kg/m² + alteración del estado general o ingesta del 0 - 25% de las necesidades en la semana anterior</i>	Severo Score 3	<i>Traumatismo craneoencefálico Transplante de médula ósea Pacientes en la unidad de cuidados intensivos (APACHE > 10)</i>
Score	+	Score	= Total Score
Añadir un punto si la edad es ≥ 70 años Si la puntuación total es ≥ 3, estamos ante un paciente con desnutrición o en riesgo de presentarla			

Anexo II

MALNUTRITION UNIVERSAL SCREENING TOOL (MUST)



* Si es posible medir y/o pesar al paciente, se considerarán medidas alternativas o utilizarán criterios subjetivos

** Es un factor de riesgo nutricional mas importante que el IMC

*** Incluye condiciones agudas, fisiopatológicas o psicológicas: pacientes críticos, dificultad para tragar, traumatismo craneoencefálico, cirugía gastrointestinal...

VALORACION GLOBAL SUBJETIVA

A	Historia			
	<p>1. Cambios de peso</p> <ul style="list-style-type: none"> Perdida en los últimos 6 meses: Peso actual ____ Kg. Peso habitual ____ Kg. Peso perdido ____ Kg. Perdida de peso (%) ____% (<5%, 5 – 10%, > 10%) Cambios en las ultimas 2 semanas Aumento de peso Sin cambios Perdida de peso <p>2. Cambios en la ingesta dietética (comparado con la ingesta normal)</p> <ul style="list-style-type: none"> Sin cambios Cambios Duración: _____ semanas Tipos: Ayuno Líquidos hipocalóricos Dieta líquida completa Dieta sólida insuficiente <p>3. Síntomas gastrointestinales (< 2 semanas de duración)</p> <p>Ninguno Náuseas Vómitos Diarrea Anorexia</p> <p>4. Capacidad funcional</p> <ul style="list-style-type: none"> Sin disfunción Disfunción Duración: _____ semanas Tipos: Trabajo reducido Ambulatorio sin trabajar Encamado <p>5. Enfermedad y su relación con los requerimientos nutricionales</p> <ul style="list-style-type: none"> Diagnóstico primario (específico): _____ Requerimientos metabólicos (estrés) Sin estrés Estrés bajo Estrés moderado Estrés alto 			
B	Examen Físico			
		Normal (0)	Déficit ligero (1)	Déficit moderado (2)
	Perdida de grasa subcutánea (tríceps, tórax)			
	Perdida de masa muscular (cuadriceps, deltoides)			
	Edema maleolar			
	Edema sacro			
	Ascitis			
C	Diagnóstico (seleccionar uno)			
	<i>No se establece un método numérico para la evaluación de este test. Se valora en A, B o C según la predominancia de síntomas, con especial atención a las siguientes variables: pérdida de peso, cambios en la ingesta habitual, pérdida de tejido subcutáneo y pérdida de masa muscular.</i>			
	A = Bien Nutrido			
	B = Sospecha de malnutrición o malnutrición moderada 5 – 10 % de pérdida de peso en las últimas semanas antes del ingreso. Disminución de la ingesta en las últimas semanas. Pérdida de peso subcutáneo			
	C = Malnutrición severa Pérdida > 10 % del peso. Severa pérdida de masa muscular y tejido subcutáneo. Edema.			

Anexo IV

MINI NUTRITIONAL ASSESSMENT

Nombre	Apellidos	Sexo	Fecha
Edad	Peso (Kg)	Talla (m)	Talón - rodilla
<p>Responda a la primera parte del cuestionario indicando la puntuación adecuada para cada pregunta. Sume los puntos correspondientes al cribado y, si la suma es igual o inferior a 11, complete el cuestionario para obtener una valoración precisa del estado nutricional.</p>			
<p>CRIBADO</p>		<p>J) ¿Cuántas comidas completas toma al día?</p> <p>0 = 1 comida <input type="checkbox"/></p> <p>1 = 2 comidas</p> <p>2 = 3 comidas</p>	
<p>A) ¿Ha perdido el apetito? ¿Ha comido menos por falta de apetito, problemas digestivos o dificultades en la masticación o la deglución en los últimos 3 meses?</p> <p>0 = anorexia grave <input type="checkbox"/></p> <p>1 = anorexia moderada</p> <p>2 = sin anorexia</p>		<p>K) ¿Consume el paciente... ... productos lácteos al menos 1 vez al día? ... huevos o legumbres 1 o 2 veces a la semana? ... carne, pescado o aves diariamente?</p> <p>0,0 = 0 a 1 "sí" <input type="checkbox"/></p> <p>0,5 = 2 "sí" <input type="checkbox"/></p> <p>1,0 = 3 "sí" <input type="checkbox"/></p>	
<p>B) Pérdida reciente de peso (en los últimos 3 meses)</p> <p>0 = no pérdida de peso <input type="checkbox"/></p> <p>1 = no lo sabe</p> <p>2 = pérdida de peso entre 1 y 3 kilos</p> <p>3 = no ha habido pérdida de peso</p>		<p>L) ¿Consume frutas o verduras al menos 2 veces al día?</p> <p>0 = no <input type="checkbox"/></p> <p>1 = sí</p>	
<p>C) Movilidad</p> <p>0 = de la cama al sillón <input type="checkbox"/></p> <p>1 = autonomía en el interior</p> <p>2 = sale del domicilio</p>		<p>M) ¿Cuántos vasos de agua u otros líquidos toma al día?</p> <p>0,0 = menos de 3 vasos <input type="checkbox"/></p> <p>0,5 = de 3 a 5 vasos <input type="checkbox"/></p> <p>1,0 = más de 5 vasos</p>	
<p>D) ¿Ha padecido alguna enfermedad aguda o alguna situación de estrés psicológico en los últimos 3 meses?</p> <p>0 = sí <input type="checkbox"/></p> <p>1 = no</p>		<p>N) Forma de alimentarse</p> <p>0 = necesita ayuda <input type="checkbox"/></p> <p>1 = se alimenta solo pero con dificultad</p> <p>2 = se alimenta solo sin dificultad</p>	
<p>E) Problemas neuropsicológicos</p> <p>0 = demencia o depresión <input type="checkbox"/></p> <p>1 = demencia o depresión moderada</p> <p>2 = sin problemas neuropsicológicos</p>		<p>O) ¿Se considera el paciente bien nutrido?</p> <p>0 = malnutrición grave <input type="checkbox"/></p> <p>1 = no lo sabe o malnutrición grave</p> <p>2 = sin problemas de nutrición</p>	
<p>F) Índice de masa corporal (IMC)</p> <p>0 = IMC < 19 <input type="checkbox"/></p> <p>1 = 19 ≤ IMC < 21</p> <p>2 = 21 ≤ IMC < 23</p> <p>3 = IMC ≥ 23</p>		<p>P) En comparación con las personas de su edad ¿Cómo encuentra el paciente su estado de salud?</p> <p>0,0 = peor <input type="checkbox"/></p> <p>0,5 = no lo sabe <input type="checkbox"/></p> <p>1,0 = igual <input type="checkbox"/></p> <p>2,0 = mejor <input type="checkbox"/></p>	

<p>Evaluación del cribado (Subtotal, máximo 14 puntos)</p> <p>12 puntos o más: normal <input type="checkbox"/> (no es necesario continuar la evaluación)</p> <p>11 puntos o menos: posible malnutrición <input type="checkbox"/> (continuar la evaluación)</p>	<p>Q) Circunferencia braquial (CB) en cm</p> <p>0,0 = CB < 21 0,5 = 21 ≤ CB ≤ 22 1,0 = CB > 22</p> <p style="text-align: right;"><input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/></p>
<p>EVALUACION</p>	<p>R) Circunferencia de la pantorrilla (CP) en cm</p> <p>0 = CP < 31 1 = CP ≥ 31</p> <p style="text-align: right;"><input type="checkbox"/></p>
<p>G) ¿El paciente vive independientemente, en su domicilio?</p> <p>0 = no <input type="checkbox"/> 1 = si</p>	<p>Evaluación (máximo 16 puntos) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/></p> <p>Cribado <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/></p>
<p>H) ¿Toma más de tres medicamentos al día?</p> <p>0 = no <input type="checkbox"/> 1 = si</p>	<p>Evaluación global (máximo 30 puntos) <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/></p>
<p>I) ¿Úlceras o lesiones cutáneas?</p> <p>0 = no <input type="checkbox"/> 1 = si</p>	<p>EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL</p> <p>De 17 a 23,5 puntos: Riesgo de malnutrición <input type="checkbox"/></p> <p>Menos de 17 puntos: Malnutrición <input type="checkbox"/></p>

Anexo 5

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Para satisfacción de los Derechos del Paciente, como instrumento favorecedor del correcto uso de los Procedimientos Diagnósticos y Terapéuticos, y en cumplimiento de la Ley General de Sanidad.

Yo, D/Dña....., como participante candidato/a (o D./Dña.....DNI....., como su representante), en pleno uso de mis facultades, libre y voluntariamente, EXPONGO:

Que he sido debidamente INFORMADO/A por D./Dña....., en entrevista personal realizada el día/...../....., de que es conveniente que se me efectúe la valoración del estado nutricional. Que he recibido explicaciones tanto verbales como escritas (Anexo), sobre la naturaleza y propósitos del procedimiento, beneficios, riesgos, y medios con que cuenta la UGR para su realización, habiendo tenido ocasión de aclarar las dudas que me han surgido.

MANIFIESTO: Que he entendido y estoy satisfecho de todas las explicaciones y aclaraciones recibidas sobre el proceso médico citado

Y OTORGO MI CONSENTIMIENTO para que me sea realizado La : valoración del estado nutricional,

Entiendo que este consentimiento puede ser revocado por mí en cualquier momento antes de la realización del procedimiento.

Y, para que así conste, firmo el presente documento

Granada, a de de

Firma del paciente y N°D.N.I.

Firma del investigador Informante

(O su representante legal en caso de incapacidad)

En caso de negativa por parte del paciente a firmar el consentimiento. Firma del testigo.

D.N.I.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL

Si usted participa de éste estudio, será sometido a mediciones que permitirán conocer su situación, se evaluará la alimentación que recibe actualmente, valorando la adecuación de la misma.

También se estudiará, dentro de la analítica que se le realizará diariamente, indicadores bioquímicos de minerales para lo que se necesita obtener una cantidad extra de la que se le extraerá rutinariamente.

Éstos procedimientos no suponen ningún riesgo para su estado clínico actual, no se realizará ninguna intervención medicamentosa ni nutricional derivada de éste estudio.

Los resultados obtenidos nos permitirán conocer mejor la situación clínica-nutricional que presenta. Su participación contribuirá enormemente a ampliar los conocimientos científicos que se tienen hasta ahora y posibilitará mejorar la calidad del tratamiento brindado.

Si en algún momento quiere abandonar el estudio, podrá hacerlo libremente y sin perjuicio de tratamiento en el futuro



Universidad de Granada
Vicerrectorado de Investigación
y Tercer Ciclo

**COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN
DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA**

La Comisión de Investigación de la Universidad de Granada, en sesión ordinaria de 7 de marzo de 2006, emite informe favorable a la metodología y a la utilización de recursos en la investigación titulada "*Implicaciones de la desnutrición y del estado antioxidante en la evolución del paciente crítico*", a realizar en las instalaciones de la UCI de la Fundación Virgen de las Nieves de la Universidad de Granada por la investigadora D^a. Elena María Planells del Pozo.

Granada a veinte y cuatro de marzo de 2006

EL PRESIDENTE

Fdo: Rafael Payá Albert



LA SECRETARIA

Fdo.: M^a José Cano Pérez



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

D. Jesús Martínez Tapias, Presidente del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Virgen de las Nieves

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta de la investigadora Dña. Elena Planells del Pozo para que se realice el estudio titulado: "Implicaciones de la desnutrición y del estado antioxidante en la evolución del paciente crítico. Factores asociados" de la Unidad de Nutrición y Dietética y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo.

Y que este Comité acepta que dicho ensayo clínico sea realizado en el Hospital Virgen de las Nieves, en colaboración con la Universidad de Granada por D^a. Elena Planells del Pozo como investigadora principal.

Lo que firmo en Granada a treinta y uno de octubre de dos mil seis.



Anexo VIII.- Meta análisis individuos sanos

Año y autores	Objetivo y Sujetos de estudio	Resultados	Conclusion
Rasmussen, Hollenbach, Laurberg y col. 2009 Dinamarca	817 sujetos con edades de entre los 18 a los 65 años y se le realizó una encuesta de frecuencia de consumo	Se obtuvieron niveles medios de selenio en plasma de $98 \pm 19,8 \mu\text{g/L}$ y de SEPP de $2,72 \mu\text{g/L}$. Mayores niveles de selenio en hombres frente a mujeres y en ambos casos, aumento de los niveles plasmáticos con la edad. Se considera que la GPx se saturó a niveles de selenio en plasma de $70 - 80 \mu\text{g/L}$ y que la SEPP se satura a $100 \mu\text{g/L}$	Se observó una ligera asociación entre el consumo de pescado y niveles de selenio en plasma, pero no así con los niveles de selenoproteína, tampoco se apreció asociación entre los niveles de selenio en plasma con el consumo de pan o leche, ser o no fumadores, ser o no bebedores, ni con la práctica de ejercicio o el consumo de medicamentos.
Arnaud, Bertrais, Roussel y col. 2006 Francia	Objetivo: Establecer una relación entre niveles de selenio y determinantes ambientales. Sujetos: Se estudiaron 13.017 sujetos entre 35 – 60 años de distintas regiones Francia junto con una serie de encuestas de estilo de vida, área demográfica, estado familiar, actividad física...	Niveles medios de selenio de $90,01 \pm 15,79 \mu\text{g/L}$ en el caso de los hombres, y $86,06 \pm 15 \mu\text{g/L}$ para las mujeres	El 75% de los hombres y el 83% de las mujeres ños niveles de selenio se situaban por debajo del umbral óptimo para la actividad de la GPx, considerando dicho nivel, valores medios en plasma superiores a $98,7 \mu\text{g/L}$. Se observó una asociación positiva con el consumo de alcohol, carne, pescado y en fumadores, y una asociación negativa con el consumo de leche, frutas, vegetales y alimentos ricos en almidón producen una disminución de dichos niveles.
Kim, Galindev, Sei y col. 2009 Corea	Seguimiento de valores plasmáticos de selenio en 100 voluntarios sanos con edades entre 21 – 69 años (50 mujeres y 50 hombres)	Se obtuvieron niveles medios de selenio en plasma de $112,05 \pm 30,42 \mu\text{g/L}$ en los que se apreciaron los mayores niveles de selenio los sujetos con edades comprendidas entre 60 – 69 años, con niveles más altos en hombres que en mujeres.	Se cree que los hombres poseen niveles mayores de selenio en plasma debido a el mayor consumo de alimentos con alto contenido en selenio. En comparación con otros estudios, los niveles de selenio son mayores a los encontrados en India, Sureste de España, Polonia y sur de Suecia, pero menores a los de Singapur, USA, Taiwán y norte de España
Farzin, Moasses, Sajadi y col. 2009 Teherán	115 sujetos voluntarios sanos con edades comprendidas entre los 2 - 62 años (60 mujeres y 55 hombres)	Se obtuvieron valores medios de $99,10 \pm 21,78 \mu\text{g/L}$, siendo la media para los hombres de $104,31 \pm 24,70 \mu\text{g/L}$ y de $94,33 \pm 17,60 \mu\text{g/L}$ para las mujeres.	Se observó un ligero aumento de los niveles de selenio plasmático en los grupos de individuos de mayor edad independientemente del sexo.
Letsiou, Nomikos, Panagiotakos y col. 2010 Grecia	estudio de cohorte sobre 506 voluntarios con edades entre 26 – 51 años	Valores medios de selenio de $91,8 \pm 33,7 \mu\text{g/L}$, de los cuales el 87,6% de las mujeres y el 88,5% de los hombre presentaban valores de selenio en plasma por debajo de los $125 \mu\text{g/L}$, considerados adecuados para la óptima actividad de la GPx.	Se observó una asociación positiva entre los niveles de selenio y la edad, y no se observó asociación positiva entre los niveles de selenio y el sexo de los sujetos aunque de que los índices de salud eran peores en hombres.
Díaz, López, Henríquez y col. 2001 Islas Canarias	se determinaron valores de selenio en plasma en 395 sujetos procedentes de las siete islas (187 hombres y 208 mujeres), con una media de edad de 38 ± 20 años.	Se obtuvieron concentraciones de selenio en plasma de $74,7 \pm 24,2 \mu\text{g/L}$. Se estimó una ingesta diaria de selenio de 50 y 49 $\mu\text{g/día}$ para hombres y mujeres respectivamente. Las concentraciones de selenio en hombres y mujeres fueron muy similares.	A partir de los 20 años se observó una correlación positiva entre concentraciones de selenio y la edad de los individuos. Se observó que el consumo de alcohol, (cerveza, vino y bebidas espirituosas), muestran cierta tendencia a incrementar los valores de selenio en suero. No se encontraron diferencias significativas en concentraciones de selenio entre fumadores y no fumadores, ni con la práctica de ejercicio.
López-Jurado, Aranda y col. 2010	Se evaluaron adultos de entre 25 – 60 años, recogiendo un total de 340 sujetos (167 hombres y 173 mujeres).	Se analizaron en los niveles de selenio en plasma la influencia debida a la edad, la obesidad y a otros factores del estilo de vida. Niveles de selenio en plasma comprendidos entre $82 \pm$	No se observaron diferencias significativas entre los niveles plasmáticos de selenio en hombres y mujeres. La población sedentaria presentó unos niveles de selenio en plasma ligeramente

Andalucía			<p>1,99 µg/L. Los sujetos fumadores presentaron niveles inferiores de selenio en plasma que los no fumadores.</p>	<p>mayor que la población mas activa. Se apreció una correlación positiva entre los niveles de selenio y la edad, y negativa entre el consumo de grasa, dulces y carne.</p>
<p>Carmona – Fonseca. 2010 Europa y América Latina</p>	<p>revisión de 161 estudios publicados desde 1972,</p>	<p>En Europa, donde generalmente el suelo es pobre en selenio, se han encontrado unos niveles medio de selenio en plasma que oscilan entre 48,2 y 124 µg/L, siendo el valor medio ponderado de selenio en suero/plasma de 85,19 ± 14,58 µg/L.</p>	<p>En el punto inicial del estudio, para todos los sujetos, los niveles medios de selenio en plasma fueron de 95,7 ± 11,5 µg/L, viéndose estos niveles incrementados tras diez semanas de suplementación a concentraciones de 118,3 ± 13,1 µg/L, 152,0 ± 24,3 µg/L y 177,4 ± 26 µg/L en los casos en los que el consumo fue de 50, 100 y 200 µg/día respectivamente.</p>	<p>Aunque en Europa existen muchos trabajos dedicados a Selenio en suero y plasma en humanos sanos, no existen unos valores de referencia establecidos.</p>
<p>Hurst, Armah, Dainty y col. 2010 Reino Unido</p>	<p>Estudio doble ciego, con placebo controlado, con una población de 119 hombre y mujeres sanas de entre 50 y 64 años, a los que se suplementaron diariamente con placebo o selenio en dosis de 50, 100 o 200 µg/día.</p>	<p>También se determinaron niveles de SEPP como marcador del estado nutricional, obteniendo niveles medios de 4,99 ± 0,80 µg/L antes de comenzar la suplementación, y produciéndose un incremento significativo en los grupos suplementados, obteniendo valores medios de 6,17 ± 0,85 µg/L, 6,73 ± 1,01 µg/L y 6,59 ± 0,64 µg/L en los casos en los que el consumo de selenio fue de 50, 100 y 200 µg/día respectivamente.</p>	<p>Se concluyo que la SEPP era un adecuado biomarcador del estatus de selenio para poblaciones con ingestas relativamente bajas de selenio. Se apreció un aumento significativo en los sujetos que recibieron un suplemento dietético de 50 µg/día, pero estos niveles se estabilizaron en los sujetos que recibieron un suplementaciones de 100 y 200 µg/día.</p>	<p>Se concluyo que la SEPP era un adecuado biomarcador del estatus de selenio para poblaciones con ingestas relativamente bajas de selenio. Se apreció un aumento significativo en los sujetos que recibieron un suplemento dietético de 50 µg/día, pero estos niveles se estabilizaron en los sujetos que recibieron un suplementaciones de 100 y 200 µg/día.</p>
<p>Combs, Watts, Jackson y col. 2011 USA</p>	<p>261 sujetos sanos, a los que se determinaron niveles plasmático de selenio, así como niveles de SEPP en plasma y niveles de actividad de GPx, así como la ingesta energética, de macronutrientes y de selenio.</p>	<p>Se obtuvieron niveles medios de selenio en plasma de 142,0 ± 23,5 µg/L y una ingesta del mismo de 109,1 ± 43,6 µg/día, siendo la ingesta de selenio por según el sexo, de 122 ± 51 µg/día en el caso de los hombres y 101 ± 35 µg/día para las mujeres, obteniendo que el mayor aporte dietético de selenio se realizo principalmente a partir de pan, huevos y pasta.</p>	<p>No se apreció una asociación significativa entre la ingesta de selenio y los niveles plasmáticos de selenio, ni se encontraron diferencias entre hombres y mujeres. Tampoco se apreciaron diferencias significativas asociadas a la edad o índice de masa corporal.</p>	<p>No se apreció una asociación significativa entre la ingesta de selenio y los niveles plasmáticos de selenio, ni se encontraron diferencias entre hombres y mujeres. Tampoco se apreciaron diferencias significativas asociadas a la edad o índice de masa corporal.</p>

Anexo IX - Meta análisis paciente Crítico

Año y autores	Objetivo y Sujetos de estudio	Metodología empleada	Resultados
Berger, Spertini, Shenkin y col. 1998	Pacientes quemados graves	Grupo control con dieta estandar en selenio Grupo con alta dosis en Se, Cu y Zn	Reducción de infecciones en un 3,1 en el grupo solo Se frente a un 1,9 en el grupo con Se, Cu y Zn
Angstwuerm, Schotttdorf, Schopohl y col. 1999	Objetivo: determinar el efecto de la suplementación de selenio sobre la morbilidad de pacientes con SIRS y APACHE > 15	suplementación (n = 21) con de selenito de sodio durante 9 días: 535 µg 3 días, 285 µg 3 días siguientes, y 155 µg durante los últimos 3 días, y a partir de entonces, 35 µg/día, grupo de control (n = 21) recibió 35 µg/día todo el periodo de tratamiento	Se tomaron muestras de sangre los días 0, 3, 7, y 14 en las que se analizaron las concentraciones séricas de selenio y de GPx. La mortalidad fue del 33,5 % en el grupo más suplementado, mientras que la que mortalidad del grupo que recibió 35 µg/día fue del 52 %.
Porter, Ivatury, Azimuddin y col. 1999	18 pacientes críticos con infección nosocomial;	El grupo 1 "antioxidante" (n = 9) recibió Selenio (200 µg/d) asociado a Vitamina C (300 mg/d), Vitamina E (1.200 UI/d) y N-acetilcisteína (32 g/d); y el grupo 2 (n = 9) que recibió placebo.	El número de complicaciones infecciosas en el grupo 1 fue de 5, en el grupo 2 se registraron 18 complicaciones infecciosas. Por su parte, la estadía media en la UCI fue de 49 días en el grupo control, mientras que en el grupo suplementado fue de 31 días.
Valenta, Brodska, Drabek y col, 2011	estudiaron a 60 pacientes críticos	pacientes críticos control, n = 35, con un aporte diario: 30-60 µg de Selenio y grupo terapéutico, n = 25 suplementados con Selenito de sodio, 1.000 µg carga y 500 µg/día durante 14 días.	Al finalizar el período de observación el grupo terapéutico evidenciaba un aumento significativo de los niveles plasmáticos de Selenio y GPx y de la Presión Arterial Media > 70 mmHg.
Angstwuerm, Gaertner, Schopohl. 2005	estudio multicéntrico alemán SIC incluyó a 238 pacientes con sepsis severa/shock séptico y APACHE III > 70	En el grupo terapéutico se administró 1.000 µg de selenio y posterior perfusión de 1.000 µg/d durante 14 días,	Se observo una reducción significativa de la mortalidad a los 28 días del 14,3% con relación al grupo control. Siendo el selenito de sodio a altas dosis fue seguro y poco costoso.
Mishra, Baines, Perry y col. 2007	Se estudiaron 40 pacientes críticos con APACHE II > 15	Evaluar los efectos de la administración de Selenio sobre los parámetros de estrés oxidativo y la mortalidad. Grupo terapéutico, n = 18; con dosis de 6,4 y 2 µmol/día vs dosis estándar de 0,4 µmol/día en el grupo control, n = 22.	Los niveles de Selenio y GPx aumentaron significativamente el día 3 y 7 en el grupo terapéutico.
Manzanares, Biestro, Galusso y col. 2009	36 pacientes ingresados en UCI, divididos en 3 grupos, divididos en función de presencia de SIRS y/o MOD con un APACHE >15 además de un grupo control con 23 personas sanas.	Se determinó la actividad de GPx3 y niveles de selenio plasmático, en los pacientes con SIRS y MODS, la GPx3 y selenio plasmático disminuyeron significativamente. Se observó una sensibilidad del 90% en el caso de la GPx3, y una sensibilidad del 90% para las concentraciones de selenio.	Se concluyó que el SIRS y MODS están asociadas con una disminución temprana de los niveles de selenio en plasma y actividad de GPx3. De modo que unos niveles bajos de selenio y GPx en el momento de ingreso en UCI pueden ser valores predictivos del desarrollo de SIRS.
Manzanares, Biestro, Galusso y col. 2010	estudio piloto con 20 pacientes con SIRS sobre los que realizó una intervención nutricional	Se compararon dos grupos que recibieron suplementación de selenio. El grupo HD "High Dose" (n = 10), recibió un bolo inicial de 1200 µg, seguidos de infusión continua de 800 µg/d, el otro grupo VHD "Very High Dose" (n = 10) recibió una primera dosis de 2000 µg, seguidos de una infusión continua de 1600 µg/d.	Se observó la actividad máxima de GPx en el grupo VHD, produciéndose una disminución de los niveles de GPx después del séptimo día de estancia en UCI. En pacientes con SIRS, se observó que el grupo VHD tras 10 días de suplementación, obtuvo una mayor normalización de los niveles de selenio, y una normalización de los niveles de actividad de GPx.

Forceville. 2007	Evaluación de los efectos de la suplementación con altas dosis de selenio en pacientes con shock séptico. 60 pacientes, 29 en el grupo con placebo y 31 en el grupo suplementado	Los pacientes recibieron durante 10 días una suplementación de selenio de 4000 µg el primer día, seguidos de 1000 µg/d durante los 9 días siguientes, o bien recibían un placebo por infusión continua.	No se apreció una relación entre el grupo suplementado con selenio y una mejoría en la evolución de su estancia en UCI, ni con una disminución de la mortalidad.
Berger, Spertini, Shenkin y col. 1998	intervención nutricional en 20 pacientes con más del 30% de su cuerpo con quemaduras	Se suplementó a los pacientes con 40,4 µmol Cu, 159 µg Se, 406 µmol Zn, en comparación con otro grupo que recibió una solución estándar, ambos durante 8 días, con un seguimiento 30 días después de la suplementación.	Concentraciones de Zn y Cu fueron inferiores a las normales hasta el día 20 y 15 respectivamente, los niveles plasmáticos de Se se mantuvieron constantes en el grupo suplementado, pero disminuyó en el grupo que recibió la solución estándar. La suplementación temprana de elementos traza parece beneficiosa en pacientes con quemaduras graves, por la disminución de infecciones respiratorias, y de la estancia hospitalaria.
Berger, Reymond, Shenkin y col. 2001	intervención nutricional en un grupo de 32 pacientes críticos politraumatizados alimentados con nutrición enteral y divididos en dos grupos	Grupo 1: intervención nutricional intravenosa con 500 µg/d de selenio frente a otro grupo con placebo. El grupo 1 fue subdividido entre los pacientes que únicamente recibieron 500 µg/d de selenio, y otros pacientes que recibieron 500 µg/d de selenio + 150 mg/d de α-tocoferol + 13 mg de cinc.	La suplementación de selenio aumentó los niveles de selenio circulante. Además, se vio una normalización de los niveles de T4 y T3 inversa. Sin embargo, la suplementación de cinc no produjo ningún cambio adicional.
Berger. 2006	Investigar los efectos de los elementos traza a grandes dosis y sus efectos en la circulación, y el resultado clínico después de quemaduras graves. intervención nutricional sobre 21 pacientes con quemaduras en el 45% de la superficie corporal	Los pacientes recibieron por vía intravenosa una solución que contenía cobre, selenio y cinc (grupo suplementado) o solución salina (grupo control) durante 14 – 21 días, recogiendo muestras de orina diariamente, y muestras de piel los días 3, 10 y 20.	las concentraciones plasmáticas en el grupo suplementado de elementos traza fueron significativamente superiores con respecto al grupo no suplementado. El número de infecciones en los 30 días de seguimiento fue significativamente menor en el grupo suplementado, y una mejor cicatrización de las heridas en el grupo que recibió el suplemento de elementos traza.
Porter, Ivatury, Azimuddin y col. 1999	suplementación intravenosa sobre 18 pacientes con traumatismos y quirúrgicos ingresados en UCI	Suplementación intravenosa de 50 µg de selenio + 400 IU de Vitamina E + 100 mg de Vitamina C + 8 g de N-acetilcisteína durante 7 días.	En comparación con los controles, el grupo suplementado mostró tioxidas mostraron complicaciones infecciosas y menos órganos disfuncionales aunque no se produjeron muertes en ninguno de los dos grupos. El uso de mezclas de antioxidantes podría disminuir la incidencia del síndrome de fallo multiorgánico y de las complicaciones infecciosas en los pacientes críticos.
Kuklinski, Buchner, Schweder y col. 1991	Se realizó una suplementación intravenosa con 500 µg de selenio vs suplementación estándar en 17 pacientes críticos con necrosis pancreática	Se determinó como marcador de estrés oxidativo, el malónico dialdehído (MDA), observándose unas concentraciones inversamente correlacionadas entre de los niveles de este con los niveles séricos de calcio durante la enfermedad, siendo además indicador de pronóstico	La mortalidad en el grupo no suplementado fue del 89 %, y 0% en el grupo suplementado. A las 24 horas de la suplementación de selenio, se observó una normalización de los niveles de calcio y una disminución de los valores de MDA. La suplementación de selenio aumentó los niveles de la peroxidasa fosfolípido hidroxiperoxido glutatión, induciendo la protección frente a la peroxidación de los ácidos grasos de membrana.
Zimmerman T, Albrecht S, Khne H y col. 1997	suplementaron con 40 pacientes críticos en presencia de SIRS y fallo multiorgánico durante 28 días	De los 40 pacientes, 20 fueron suplementados con 1000 µg de selenio en perfusión continua durante 28 días comparado con otro grupo que recibió suplem. estándar	Se emplearon como parámetros clínicos el APACHE II y el MOF – Score de Goris. Obteniendo como resultado tras los 28 días de seguimiento una reducción de la letalidad del 15 al 40 %

<p>Valenta, Brodska, Drabek y col. 2001</p>	<p>Objetivo: demostrar que dosis elevadas de suplementación de selenio puede actuar a nivel de la inflamación, nutrición, defensa antioxidante y disminuir la mortalidad.</p>	<p>150 pacientes con SIRS / Sepsis y un SOFA > 5. El grupo suplementado (n = 75) recibió selenio durante 14 días (1.000 mg el día1; 1.500 mg / día los días 2-14), y los pacientes del grupo control (n = 75) recibió una dosis estándar de Se (<75 mg / día). Se determino los días 1 - 7 y 14 días el selenio en plasma, la actividad GPx, la proteína C reactiva, la procalcitonina, los niveles de albúmina, prealbúmina y colesterol, APACHE II y SOFA, y se evaluó la mortalidad a los 28 días.</p>	<p>La suplementación con altas dosis de selenio en los pacientes con SIRS / sepsis aumento los niveles de selenio plasmáticos y niveles de actividad de GPx, pero no la mortalidad. Sin embargo, los marcadores de inflamación se redujeron de forma similar en ambos grupos.</p>
<p>Bar-Or y. Garrett. 2011</p>	<p>Objetivo: estudiar el efecto de una baja concentración de selenio plasmático sobre el estatus redox en los pacientes críticos</p>	<p>La disfunción endotelial observada en la enfermedad crítica parece derivarse de la acción de las especies reactivas de oxígeno generadas durante los procesos de isquemia/reperfusión. El pH ácido local inducido por la isquemia, favorece la unión de la selenoproteína P al endotelio activado, al parecer, para proteger al endotelio del daño oxidativo. Esta unión puede explicar la disminución en los niveles de selenio en plasma observados en esas condiciones.</p>	<p>Parece ser que las bajas concentraciones de selenio en plasma observadas en estas condiciones pueden no ser la causa, pero sí un reflejo del daño en la barrera endotelial vascular, que consecuentemente deriva en una fuga vascular y en fallo multiorgánico.</p>

Anexo X: Tablas de Correlaciones realizadas

Tabla selenio correlaciones

	APACHE	SOFA	SePlasma0	SeEritro0	SePlasma7	SeEritro7
APACHE		0,297*				
SOFA	0,297*					
SePlasma0					0,867**	0,338*
SeEritro0					0,736**	0,480**
SePlasma7			0,867**	0,736**		0,494**
SeEritro7			0,338*	0,480**	0,494**	

* Correlacion significativa p = 0,05

** Correlacion significativa p = 0,01

Tabla selenio correlaciones parámetros nutricionales

	Albumina_0	Transferrina_0	Albumina_7	Prealbumina_7	Ferritina_7	Transferrina_7
SePlasma0						0,442*
SeEritro0					-0,646*	0,526**
SePlasma7					-0,580*	
Albumina_0		0,673**				
Transferrina_0	0,673**				-0,658*	0,690**
Albumina_7				0,593**		0,403*
Prealbumina_7			,593**			,681**
Ferritina_7		-0,658*				-,713**
Transferrina_7		0,690**	0,403*	0,681**	-0,713**	

* Correlacion significativa p = 0,05

** Correlacion significativa p = 0,01

Tabla selenio correlaciones – ingesta de energía y macronutrientes ok

	Aporte de Kcal Totales	Aporte de Nitrógeno	Aporte de PROTEINAS	Aporte de glucosa	Aporte de CARBIHIDRATOS	Aporte de LIPIDOS	Aporte de fibra
Selenio Ingesta					0,878**		0,543**
Aporte de Kcal Totales		0,550*	0,698**	0,817**		0,868**	
Aporte de Nitrogeno	0,550*		0,717**	0,794**			
Aporte de PROTEINAS	0,698**	0,717**		0,545*		0,670**	
Aporte de glucosa	0,817**	0,794**	0,545*			0,550**	-0,458*
Aporte de LIPIDOS	0,868**		0,670**	0,550**			
Aporte de fibra				-0,458*			

* Correlacion significativa p = 0,05

** Correlacion significativa p = 0,01

Tabla selenio correlaciones selenio plasma criticos con Hcy y PAO

	Homocisteina 0	Homocisteina 7	PAO 0	PAO 7
SePlasma 0		0,456**		
SePlasma7		0,504**		
Homocisteina 0		0,779**	0,570**	0,704**
Homocisteina 7	0,779**		0,610**	0,654**
PAO 0	0,570**	0,610**		0,546**
PAO 7	0,704**	0,654**	0,546**	

* Correlacion significativa p = 0,05
 ** Correlacion significativa p = 0,01

Tabla selenio correlaciones poblacion total (GC + GPC) con Homocisteina

	Hcy_0	Hcy_7
SePlasma0	-0,059	0,456**
Hcy_0		0,779**
SePlasma7		0,504**

* Correlacion significativa p = 0,05
 ** Correlacion significativa p = 0,01

Correlaciones de ingestas de minerales en pacientes criticos

	Mg_ingesta	Ca_ingesta	P_ingesta	Cu_ingesta	Fe_ingesta	Zn_ingesta	K_ingesta
SeIngesta	0,727**	0,942**	0,723**	0,979**	0,980**	0,963**	0,262
Mg_ingesta		0,802**	0,864**				
Ca_ingesta	0,802**		0,851**				
P_ingesta	0,864**	0,851**					
Cu_ingesta					0,965**	0,972**	
Fe_ingesta				0,965**		0,969**	
Zn_ingesta				0,972**			

* Correlacion significativa p = 0,05
 ** Correlacion significativa p = 0,01

Correlaciones de vitaminas liposolubles en pacientes criticos

	Retinol_ingesta	VitE_ingesta
SeIngesta	0,667**	0,469*
Retinol_ingesta		0,719**
VitE_ingesta	0,719**	
B_Caroteno_ingesta	1,000**	0,719**

* Correlacion significativa p = 0,05

** Correlacion significativa p = 0,01

Tabla Correlaciones selenio en plasma y proteinas enzimaticas

	GOT 0 (U/L)	GPT 0 (U/L)	GGT 0 (U/L)	GGT 7 (U/L)	Lipasa 0 (U/L)	Amilasa 0 (U/L)	Lipasa 7 (U/L)	Amilasa 7 (U/L)
SePlasma7	0,340*							
GOT 0 (U/L)		0,968**			0,566**			
GPT_0_U/I	0,968**				0,561**			
GGT 0 (U/L)				0,896**				
GGT 7 (U/L)			0,896**					
Lipasa 0 (U/L)	0,566**	0,561**				0,726**	0,665**	0,873**
Amilasa 0 (U/L)					0,726**			0,400*
Lipasa 7 (U/L)					0,665**			0,824**
Amilasa 7 (U/L)					0,873**			

* Correlacion significativa p = 0,05

** Correlacion significativa p = 0,01

Tabla Correlaciones niveles palmaticos de proteinas

	Proteinas totales 0 (g/dl)	Proteinas totales 7 (g/dl)	ASLO 0 (UI/ml)	ASLO 7 (UI/ml)	Proteina C reactiva 0 (mg/dl)	Factor Reumatoide 0 (UI/ml)	Proteina C reactiva 7 (mg/dl)	Factor reumatoide 7 (UI/ml)
Proteinas totales 0 (g/dl)		0,469**	0,450**	0,494**				
Proteinas totales 7 (g/dl)			0,975**	0,851**				
ASLO 0 (UI/ml)	0,450**	0,975**		0,933**				
ASLO 7 (UI/ml)	0,494**	0,851**	0,933**					
Proteina C reactiva 0 (mg/dl)						0,425**		0,450*
Factorreumatoide 0 (UI/ml)					0,425**		0,433*	0,406*
Proteina C reactiva 7 (mg/dl)						0,433*		0,540**
Factorreumatoide 7 (UI/ml)					0,450*	0,406*	0,540**	

* Correlacion significativa p = 0,05

** Correlacion significativa p = 0,01

Tabla correlaciones selenio con células inmunes y poder antioxidante

	PAO	PAO7	Leucocitos 0	Neutrofilos 0	Monocitos 0	Eosinofilos 0	Leucocitos 7	Eosinofilos 7
Se Ingesta							-0,478*	
Se Eritro0			0,294*					
Se Plasma7								-0,394*
Se Eritro7					0,413*			
PAO		0,546**		0,336*	-0,333*	-0,327*		-0,413*
Neutrofilos 0	0,336*							
Linfocitos 0				-0,972**				
Monocitos 0	-0,333*	-0,370	-0,013	-0,767**				
Eosinofilos 0	-0,327*	-0,030	0,539**	-0,478**				

* Correlacion significativa p = 0,05

** Correlacion significativa p = 0,01