



107  
zei

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE QUIMICA**

**LA IMPORTANCIA DEL ZINC EN LA LACTANCIA  
Y EN LA REPRODUCCION. CUANTIFICACION EN  
MUESTRAS BIOLÓGICAS.**



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

**TRABAJO MONOGRAFICO  
DE ACTUALIZACION  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :  
LAURA GUADALUPE SALAZAR SELVAS**

MEXICO, D. F.

MARZO DE 1995

**FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**JURADO ASIGNADO**

PRESIDENTE	PROFR. RAUL GENARO AGUILAR CABALLERO
VOCAL	PROFR. HOMERO HERNANDEZ MONTES
SECRETARIO	PROFR. GUILLERMO GONZALEZ VARGAS
1er SUPLENTE	PROFR. GRACIELA EVANGELINA NAVA DIAZ
2do SUPLENTE	PROFR. JORGE REYES JIMENEZ

ESTE TRABAJO SE REALIZO EN LAS BIBLIOTECAS DE LAS SIGUIENTES  
INSTITUCIONES:  
-CENTRO MEDICO NACIONAL, SIGLO XXI.  
-INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA.  
-INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION.  
-FACULTAD DE QUIMICA.

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
DR. HOMERO HERNANDEZ MONTES

SUSTENTANTE

  
\_\_\_\_\_  
LAURA GUADALUPE SALAZAR SELVAS

Dedico este trabajo con profundo amor a Dios, que me ha permitido estar aquí, a mi hijo, motivo de mi vida y a mis padres y hermanos, por el amor, el apoyo y la comprensión que me han dado siempre. Los quiero.

Agradezco al Dr. Homero Hernandez Montes por su paciencia y valiosa ayuda para la realización de este trabajo monográfico, así como a todos aquellos que ayudaron a terminarlo, especialmente a María Teresa y Eduardo.

# INDICE

	página
JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.....	7
I. INTRODUCCION.....	8
El balance nutrimental.....	9
Los elementos "traza" como nutrimentos.....	14
II. GENERALIDADES SOBRE EL ZINC.....	20
Metabolismo.....	21
Fisiología.....	27
Estados de deficiencia y toxicidad.....	38
III. LA PARTICIPACION DEL ZINC EN LA LACTANCIA.....	42
El zinc en la leche materna.....	43
Distribución del zinc en la leche humana.....	46
Disponibilidad del zinc en la leche materna.....	47
Requerimientos de zinc en el lactante.....	49
El zinc en las fórmulas para lactantes.....	49
Deficiencia del zinc en la lactancia.....	50
La deficiencia marginal.....	53
La suplementación materna de zinc.....	55
El zinc en los niños prematuros.....	57
El zinc y la desnutrición en los niños.....	59
El zinc en diarreas infantiles.....	62
IV. EL ZINC Y LA REPRODUCCION.....	64
Efectos del zinc en la hembra.....	65
El zinc y el síndrome premenstrual.....	66
El zinc y los anticonceptivos.....	66
Valores normales del zinc en el embarazo.....	67
Requerimientos del zinc.....	68
Deficiencia de zinc.....	69
La deficiencia marginal del zinc en el embarazo.....	72
Mecanismos bioquímicos de la deficiencia de zinc.....	76
El zinc y el etanol.....	79
El zinc y las madres diabéticas.....	82
El zinc y la vitamina D.....	85
El zinc y el cadmio.....	85
La suplementación con zinc durante el embarazo.....	87
El zinc y el ácido fólico.....	89
La dieta vegetariana y la mujer embarazada.....	90
Factores dietarios en el embarazo.....	91
Mecanismos de adaptación.....	93
El zinc y el hombre. Influencia en el desarrollo sexual.....	94
El zinc y la testosterona.....	95
El zinc y la fertilidad masculina.....	97
El zinc y la motilidad espermática.....	100

página

V. CUANTIFICACION DEL ZINC EN MUESTRAS BIOLÓGICAS POR	
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	102
Espectroscopia atómica.....	103
Instrumentación en la espectroscopia de absorción atómica..	106
Determinación de zinc por absorción atómica de flama.....	109
La técnica de la absorción atómica de flama.....	111
Material y Reactivos.....	111
Muestras y su preparación.....	112
Soluciones estándar.....	122
Procedimiento.....	123
Valoración de la técnica analítica.....	125
Método de adiciones de estándar.....	126
Cálculos.....	127
CONCLUSIONES.....	128
BIBLIOGRAFIA.....	132

## J U S T I F I C A C I O N

El zinc es un elemento esencial para la vida; se encuentra asociado a receptores y factores hormonales y como cofactor de enzimas críticas como la anhidrasa carbónica, la fosfatasa alcalina y algunas polimerasas de los ácidos nucleicos. Se ha resaltado su intervención en la expresión genética principalmente a nivel de receptores hormonales, lo que enfatiza la importancia de su participación en la fisiología de varios procesos fundamentales como son la reproducción y la lactancia y en algunos mecanismos inmunes.

## O B J E T I V O S

- Reafirmar la importancia nutricional de los elementos traza inorganicos.
- Destacar al zinc como nutrimento traza esencial para el organismo humano.
- Revisar el conocimiento actual sobre el metabolismo y la fisiología del zinc.
- Inferir la importancia del zinc en los diferentes periodos de la vida, principalmente en aquellos de rápido crecimiento como son reproducción y lactancia.
- Verificar la importancia del zinc en la lactancia.
- Confirmar la importancia del zinc en la reproducción animal.
- Revisar la técnica de absorción atómica de flama utilizada para cuantificar el zinc en muestras biológicas.



**CAPITULO I. INTRODUCCION**

**EL BALANCE NUTRIMENTAL**

**LOS MINERALES TRAZA**

## EL BALANCE NUTRIMENTAL

El organismo humano es un sistema dinámico muy complejo que se encuentra en intercambio constante de sustancias con el medio externo. Ingiere los compuestos necesarios para su crecimiento, desarrollo y mantenimiento y finalmente excreta los productos no útiles (1).

Las sustancias necesarias para la realización y el mantenimiento de las funciones en un organismo se llaman nutrimentos y participan en procesos como el crecimiento, la regeneración tisular, la conservación de las funciones corporales y la reproducción (2, 3).

El conjunto de procesos por los que el hombre obtiene y utiliza los nutrimentos (ingestión, digestión, asimilación y uso) tanto en estados normales como patológicos, se puede definir como nutrición (3, 4).

Por todo lo anterior, es obvio que el hombre necesita mantener una adecuada nutrición durante la vida intrauterina, los periodos de crecimiento, desarrollo y reproducción (5).

Para lograr esto, es necesario aportar los nutrimentos en las cantidades adecuadas, así, la dieta debe proveer de: agua, aminoácidos, hidratos de carbono, lípidos, vitaminas, nutrimentos inorgánicos y energía. Esta energía se obtiene de la oxidación de hidratos de carbono, lípidos y aminoácidos, por lo que los

requerimientos de estos compuestos deberán ser cubiertos por una combinación equilibrada de ellos en la dieta (6, 7).

La ingesta calórica debe ser equivalente al gasto corporal sea como trabajo o en forma de calor. Cuando la ingesta es insuficiente, los hidratos de carbono y los lípidos almacenados, son catabolizados. Los requerimientos calóricos varían entre los individuos (4, 6, 8).

## **MACRONUTRIMENTOS**

### **AGUA**

El agua es el compuesto más abundante del organismo, abarcando hasta un 60% del peso corporal total. Este compuesto es de vital importancia ya que la gran mayoría de las reacciones químicas de la célula ocurren en medio acuoso, es determinante en procesos como el transporte de sustancias, la regulación de la temperatura corporal y condiciona la organización y propiedades de las macromoléculas (4, 8, 9).

### **HIDRATOS DE CARBONO**

Estas macromoléculas proporcionan la mayor parte de la energía necesaria (50-70%) y se dividen en monosacáridos (glucosa, fructosa, galactosa, ribosa), disacáridos (lactosa, sacarosa y maltosa) y polisacáridos (glucógeno, almidón y celulosa). Estos nutrimentos pueden ser utilizados como reservas de energía y desempeñan funciones estructurales intra y extracelularmente,

como por ejemplo en los ácidos nucleicos, las globulinas, las mucoproteínas, y las glucoproteínas de las membranas y también forma parte de moléculas pequeñas como son las coenzimas (NAD<sup>+</sup>, NADP<sup>+</sup>, FAD Y FMN). Estos nutrimentos se encuentran principalmente en frutas, verduras y cereales (4, 5, 8, 9).

#### AMINOACIDOS Y PROTEINAS

Las proteínas desempeñan muy diversas funciones todas ellas esenciales para el buen funcionamiento de los tejidos, ya que pueden formar parte de estructuras fundamentales como el citoesqueleto o bien actuar como enzimas que catalizan todas las transformaciones en el metabolismo celular. Estas macromoléculas están constituidas por aminoácidos, que en realidad son las especies químicas utilizadas como nutrimentos. La dieta debe proporcionar los aminoácidos esenciales valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptofano, histidina, metionina, treonina, lisina y arginina, siendo las fuentes más completas el huevo, la leche, las carnes de bovino, ovino, de aves de corral y de pescados (3, 4, 5, 9).

#### LIPIDOS

Los lípidos son compuestos cuya característica más importante es ser insolubles en agua por lo que sus funciones van desde ser constituyentes de la bicapa hidrofóbica de las membranas hasta formar complejos con proteínas y participar en el transporte de

vitaminas liposolubles y lípidos en la sangre y además ser importantes fuentes y reservas de energía en el tejido adiposo, que a su vez actúa como aislante térmico y como material de amortiguación mecánica en regiones subcutáneas y alrededor de órganos internos. Los lípidos en la dieta deben proveer de los ácidos grasos esenciales (ácidos oleico, linoleico, linolénico y araquidónico) y se obtienen principalmente de las grasas animales y vegetales, como lo son la mantequilla, los quesos, las almendras, las nueces, los cacahuates y los diferentes aceites obtenidos de las semillas del maíz, el cártamo, el girasol, el coco y el algodón (1, 4, 5, 9).

#### **MICRONUTRIMENTOS**

Los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos constituyen lo que podríamos llamar la "masa de nutrimentos"; sin embargo, existen otros nutrimentos que son necesarios en cantidades mucho menores, sin que por ello sus funciones sean menos importantes, que son las vitaminas y los minerales (4, 5).

#### **VITAMINAS**

Las vitaminas son constituyentes orgánicos esenciales en la dieta; varían enormemente en sus funciones y requerimientos así como en su composición química y en sus fuentes alimenticias. Intervienen en procesos metabólicos específicos, generalmente como cofactores de sistemas enzimáticos. Se clasifican en liposolubles (A, D, E, K) e hidrosolubles (complejo B, C) (5, 7).

## NUTRIMENTOS INORGANICOS

El C, H, O y N forman parte de las macromoléculas orgánicas que denominamos macronutrientes y constituyen aproximadamente el 96% del peso corporal total.

Existen al menos otros 15 elementos que se denominan nutrientes inorgánicos y que en conjunto constituyen solo un pequeño porcentaje del peso corporal total (2, 10, 11, 12).

Los nutrientes inorgánicos se pueden clasificar en elementos mayores y elementos traza. Los elementos mayores son aquellos que constituyen al menos un 0.05% del peso corporal total como lo son el Ca, P, K, S, Na, Mg y Cl. Estos elementos tienen funciones generalizadas en el organismo; el ejemplo más representativo de esto sería el fósforo, que es tanto componente del esqueleto como de las membranas celulares, interviene en la mayor parte de los intercambios energéticos y actúa como electrolito en el sistema amortiguador de fosfatos (1, 4, 9).

Cabe aclarar que los electrolitos son iones inorgánicos en solución que se localizan dentro y fuera de la célula y son necesarios para el control de la presión osmótica, la regulación del equilibrio ácido/base, determinan las propiedades bioeléctricas de las células y algunos participan como se dijo anteriormente como cofactores en diversos sistemas enzimáticos. Los electrolitos más representativos son: Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>++</sup> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (1, 4, 9, 13).

## ELEMENTOS TRAZA

Los elementos traza, denominados así porque se encuentran en cantidades muy pequeñas en el organismo, tienen funciones muy variadas y específicas que involucran desde su participación como componentes estructurales de proteínas y hormonas hasta ser elementos indispensables en el sitio activo de muchas enzimas. Hasta la fecha se conocen como elementos traza: Fe, Mn, Cu, I, Zn, Se, Mo, Si, Sn, Ni, F, Cr, Co y Va (10, 11, 12, 13).

El organismo humano necesita establecer y mantener un buen estado nutricional; fácilmente puede caer en estados de hipo o hipernutrición por déficit o excesos de uno o más nutrientes, conduciendo así a graves trastornos en la salud, que pueden ocasionar incluso la muerte si no son controlados y/o corregidos a tiempo (4, 10, 11).

Mientras más pequeña es la cantidad necesaria de los nutrientes, más difícil es establecer un control sobre ellos, peor aún si no se conoce completamente su función biológica, por ello, estos últimos nutrientes continúan bajo investigación hasta la fecha y se obtienen nuevos conocimientos día con día.

El avance en el conocimiento de su participación en el metabolismo ha estado fuertemente ligado al desarrollo de la metodología y de las técnicas analíticas adecuadas para su estudio (10, 11).

## EL ESTUDIO DE LOS ELEMENTOS TRAZA

El interés de los elementos traza empezó hace de cerca de 100 años con el aislamiento de algunos compuestos de los organismos vivos. Estos compuestos contenían uno o varios metales, para algunos de los cuales se desconocía su importancia biológica (10).

Posteriormente, se relacionó la presencia de estos metales con procesos enzimáticos y sus deficiencias con desórdenes metabólicos (2, 11).

Los primeros elementos estudiados fueron el hierro y el yodo; el primero se estableció como constituyente de la sangre y su deficiencia se relacionó con anemias; el segundo se estableció como constituyente de la tiroxina, relacionando su deficiencia con el bocio. Estas observaciones dieron pie a otros estudios destinados a descubrir los elementos del organismo y su participación en el metabolismo. Para ello, fué necesario desarrollar nuevas técnicas analíticas (10, 11)

Así, se encontraron otros elementos en cantidades mínimas, por lo que se les llamó "elementos traza" y fué necesario definir su concentración en los tejidos y en los alimentos, y determinar los factores que afectan sus concentraciones como son la contaminación ambiental y la presencia de quelatos, etc. y otras condiciones fisiológicas relacionadas con el envejecimiento. Se estableció, también, su importancia biológica, al relacionar algunos estados de deficiencia con síntomas clínicos y desórdenes funcionales.

Finalmente, se establecieron como nutrimentos y empezaron a estudiarse como tales (3).



Paralelamente surgió la metodología aplicable al análisis de los elementos traza, mostrándose un avance impresionante en la variedad, precisión y exactitud de las técnicas analíticas.

Hoy, podemos definir a los nutrimentos traza como un elemento que está presente en los tejidos saludables en concentraciones muy pequeñas pero constantes, los cuales al ser eliminados del organismo inducen, en forma reproducible, las mismas anomalías estructurales, fisiológicas y bioquímicas cuya adición pudo prevenir o revertir (5, 10, 13).

Hay 14 elementos aceptados como nutrimentos traza: hierro, cobre, zinc, manganeso, níquel, cobalto, molibdeno, selenio, cromo, yodo, flúor, estaño, silicio y vanadio. Otros elementos como son el aluminio, el antimonio, cadmio, mercurio, germanio, rutenio, plata, plomo, oro, bismuto, titanio y zirconio no han podido establecerse como nutrimentos, pero aparecen constantemente en los tejidos dentro de un amplio intervalo de concentraciones, aunque algunos de ellos, como son el plomo, el mercurio y el cadmio han demostrado ser muy tóxicos a concentraciones mayores (4, 5, 6, 11).

Las concentraciones fisiológicas de los nutrimentos traza, se ubican desde microgramos hasta miligramos por litro y deben de ser mantenidas dentro de un estrecho intervalo, para lograr y mantener un buen estado de crecimiento, salud y fertilidad (10, 11).

Por todo esto, ha sido necesario establecer para cada elemento una recomendación mínima diaria, su tolerancia máxima, las formas asimilables y los factores que controlan o afectan su asimilación, para poder prevenir o detectar tempranamente, algunos estados de deficiencia o toxicidad.

A continuación, se da una breve información de cuatro de los elementos traza más estudiados y que muestra su importancia biológica.

**HIERRO.** El cuerpo humano adulto contiene de 4 a 5 gramos de hierro (aproximadamente 0.004% en peso) ampliamente distribuido, principalmente en sangre. Sus funciones en el organismo involucran el transporte de oxígeno y el transporte de electrones ya que es constituyente de hemoproteínas como son la hemoglobina, la mioglobina, los citocromos y de enzimas como la lipoxidasa, las catalasas, la triptofanpirrolasa y las peroxidases. Se encuentra también, unido a flavoproteínas como la NADH deshidrogenasa y la acil CoA deshidrogenasa (4, 10, 11, 13).

**COBRE.** El cobre constituye el 0.0002% del peso corporal. El cuerpo humano adulto contiene de 100 a 150 mg de cobre, siendo el hígado el órgano de mayor concentración, seguido por los huesos y los músculos. Interviene en la mielinización de la médula espinal, en la hematopoyesis, en la formación de los tejidos óseo y conectivo, en los procesos de pigmentación y queratinización y en la función cardíaca. El cobre es necesario para la absorción del hierro, su movilización a los tejidos y su incorporación al

grupo hemo en la síntesis de la hemoglobina. Además, es necesario para la actividad de varias enzimas como son la tirosinasa, las oxidasas de la lisina y del ascorbato, la citocromo oxidasa, la uricasa, la monoaminoxidasa, la dopamina beta hidroxilasa, la butiril CoA deshidrogenasa, la triptofano 2-3 dioxigenasa, la ceruloplasmina y la superóxido dismutasa (4, 10, 11).

YODO. El yodo se encuentra en un 0.00004% en peso en el organismo. Del total de 50 mg de yodo contenidos en el cuerpo humano adulto, cerca de 10 a 15 mg se encuentran concentrados en la glándula tiroideas. Es elemento indispensable en la composición de las hormonas tiroideas, por ejemplo, la tiroxina (tetrayodo tironina) contiene un 65% de su composición de yodo. La tiroxina y la triyodo tironina incrementan la actividad metabólica de la mitocondria en el músculo esquelético y participan en el intercambio de energía y liberación de calor por el organismo (4, 5, 10, 11).

MANGANESO. El organismo contiene entre 12 y 20 mg de manganeso, principalmente en el riñón, la sangre, el hígado y la médula ósea. Participa en las enzimas que realizan las descarboxilaciones en el ciclo de Krebs y en otras enzimas como son hidrolasas, cinasas y transferasas. Las enzimas piruvato carboxilasa y superóxido dismutasa mitocondriales contienen manganeso fuertemente unido. Este metal es esencial para la síntesis del colesterol y la protrombina, para la estabilidad de la estructura ósea normal y para las funciones del sistema nervioso central y la reproducción (desórdenes en la ovulación y

degeneración del epitelio testicular en la rata y esterilidad y ausencia de la libido en el conejo) (4, 10, 11).

ZINC. El zinc está ampliamente distribuido en los tejidos del cuerpo, principalmente en el hígado, los riñones, los huesos, la retina, la próstata y el músculo. Se estima que el cuerpo humano adulto contiene entre 1.4 y 2.3 gramos de zinc. Es parte constitutiva de un gran número de metaloenzimas entre las que se incluyen la anhidrasa carbónica, algunas carboxipeptidasas, la fosfatasa alcalina, DNasa, las DNA y RNA polimerasas y otras involucradas en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

Se ha propuesto que participa en la síntesis y/o almacenaje de la insulina. El zinc también participa en la síntesis de las hormonas sexuales destacando la esteroidogénesis testicular e interviene en el metabolismo de la colágena y la cisteína. Este elemento interviene en la función inmune y los mecanismos de defensa del organismo (2, 10, 11).

Debido a sus múltiples funciones en el organismo, las deficiencias de zinc muestran signos severos que incluyen enanismo, anemia, hipogonadismo, hepatoesplenomegalia, retardo en la maduración esquelética, hiperpigmentación facial y letargia mental entre otros (3, 4, 5, 10, 11, 13).

Lo anterior ilustra la gran importancia del zinc en el cuerpo humano, lo que ha estimulado el interés de los investigadores por profundizar en las funciones de este elemento tanto a nivel fisiológico como bioquímico y esto ha llevado, también, al desarrollo de una metodología adecuada para su cuantificación.

**CAPITULO II. GENERALIDADES**

**EL ZINC:**

**METABOLISMO**

**FISIOLOGIA**

**DEFICIENCIA Y TOXICIDAD**

## METABOLISMO DE ZINC

### DISTRIBUCION EN EL ORGANISMO.

Como ya se mencionó, el zinc se encuentra ampliamente distribuido en el organismo principalmente unido a proteínas. Cerca del 20% del total de este metal se encuentra en la piel, aunque otros tejidos son también ricos en zinc (10, 11). La tabla que se incluye a continuación muestra algunos de los valores publicados del contenido de zinc en algunos tejidos y fluidos del organismo (14):

tejido o fluido	mg/kg de peso seco	ug/100ml
Retina	571	
Próstata	520	
Hígado	141-245	
Riñón	184-230	
Músculo	197-226	
Hueso	218	
Cabello	175	
Páncreas	115-135	
Corazón	100	
Pulmón	67-86	
Testículos	65-85	
Epidermis	70	
Dermis	13	
Esmalte dental	0.2	
Sangre completa		810
Suero o plasma		70-124
Glóbulos rojos		1250
Leche		75-400

FALLA DE ORIGEN

## ABSORCION Y EXCRECION.

El zinc se absorbe activamente en la mucosa intestinal, principalmente a nivel de jejunio e ileon (15). Esta absorción contra gradiente de concentración se realiza a través de un ligando de bajo peso molecular que puede ser ácido pícrico, ácido picolínico o alguna otra sustancia aún no determinada. El mecanismo que se ha propuesto para la absorción del zinc establece que el ligando es secretado por el páncreas al lumen intestinal, donde forma un complejo con el zinc; este complejo se transporta a través de las microvellosidades intestinales a las células epiteliales, dentro de las cuales el complejo es transferido a sitios de unión sobre la membrana plasmática vasolateral. La albúmina plasmática libre del metal, interactúa con dicha membrana removiendo el zinc, por lo que la cantidad disponible de albúmina libre determina la cantidad efectiva de zinc disponible para el organismo.

El zinc puede ser secuestrado, en las células de las mucosas, por proteínas enlazantes del metal, que se forman en respuesta a la concentración de éste, inhibiendo su transferencia a la albúmina sérica y produciendo su excreción a través de la descamación del epitelio mucoso (10, 11, 16).

Se ha observado, recientemente, que en la leche humana existe un ligando de bajo peso molecular para el zinc el cual no está presente en la leche de vaca. Se ha sugerido que este ligando, secretado por la madre, puede mejorar el transporte de zinc del infante, en el período neonatal cuando todavía no ha desarrollado los mecanismos intestinales para la absorción de zinc (17).

La absorción de zinc está determinada por varios factores como son el tamaño corporal, la forma química y la concentración del zinc en la dieta, y la presencia y concentración de sustancias que interfieran o inhiban su absorción. Existen padecimientos que disminuyen e inclusive anulan la absorción del metal (16).

Sólo un pequeño porcentaje del elemento es absorbido y únicamente en formas asimilables como son ZnO, ZnCO<sub>3</sub>, ZnSO<sub>4</sub> e inclusive Zn (10, 11).

Los fitatos y la fibra bajan la absorción del zinc ya que lo enlazan y lo arrastran en las heces; el calcio, potencia este efecto, ocasionando una menor absorción del metal (18).

Otros metales, entre ellos el cobre y el hierro, compiten con el zinc en los sitios de transferencia de las células al plasma (19), sin embargo, esta inhibición ocurre si estos metales están presentes en altas concentraciones (20, 21).

El ácido fólico en altas concentraciones también reduce la absorción de zinc (22, 23). Por el contrario, el EDTA, forma complejos fácilmente asimilables con el zinc de la dieta, facilitando su absorción; se ha reportado también, que la vitamina D incrementa en forma indirecta la absorción de zinc, como respuesta homeostática, en la cual interviene el calcio (11).

Padecimientos como mala absorción, esteatorrea (los lípidos atrapan el zinc y lo arrastran en las heces), algunos problemas en el páncreas que impidan la secreción del ligando y otros del riñón que afecten el metabolismo del calcio, disminuyen la absorción de zinc (11, 16).



La acrodermatitis enteropática es una enfermedad hereditaria cuyo defecto primario es una disminución, e inclusive, anulación, de la capacidad de las células intestinales para absorber zinc, mostrando trastornos muy graves (11, 24, 25).

El zinc es excretado principalmente en las heces y consiste principalmente de zinc dietario no absorbido y pequeñas cantidades de origen endógeno excretado a través de las secreciones pancreática y biliar y de los enterocitos hacia el lumen intestinal (26). Pequeñas cantidades del zinc absorbido (3-6%) son excretadas en la orina y esta excreción es importante en la homeostasis del zinc (27). El sudor también contiene trazas de zinc. La presencia de fallas renales, las enfermedades hemolíticas y las proteinurias, incrementan la excreción del zinc (11, 16, 28).

#### **METABOLISMO INTERMEDIARIO**

Una vez absorbido, el zinc es transportado por vía sanguínea a los sitios donde ejerce sus funciones. En el plasma, se combina inicialmente con las proteínas plasmáticas, formando un "pool" plasmático que contiene del 95 al 98% del zinc sérico (29), y posteriormente con los componentes celulares de la sangre. En el plasma, el zinc está unido principalmente a la albúmina (aproximadamente 66%), en menor grado a la transferrina y a la alfa-2 macroglobulina (29, 30) y una fracción aún menor se encuentra unido a aminoácidos libres como son la histidina y la cisteína (31).

Aunque se ha reportado que la albúmina transporta más zinc que la transferrina, la comparación de sus constantes de unión muestra mayor afinidad por la transferrina (32).

Su incorporación a los diferentes tejidos y el recambio en estos ocurre a distintas velocidades por ejemplo, los huesos y el sistema nervioso central captan el zinc en forma relativamente lenta y éste permanece firmemente enlazado por largos períodos, por lo que no está fácilmente disponible al flujo metabólico. Así, el zinc del cabello no está disponible a los demás tejidos mientras que el zinc plasmático es depurado rápidamente a diferentes tejidos como son el páncreas, el hígado, el riñón y el bazo, en donde el elemento se acumula e intercambia rápidamente. Cabe señalar que el zinc es rápidamente transportado por la placenta. De esta forma, el plasma y los tejidos blandos constituyen la mezcla de zinc de intercambio metabólico, cuyas concentraciones están reguladas homeostáticamente (10, 14).

Cerca del 99% del zinc corporal total es intracelular. En las células, el zinc se encuentra en un 30 a 40% en el núcleo, alrededor de un 50% en el citoplasma y sus organelos y el porcentaje restante se localiza en la membrana; aparentemente, todo el zinc intracelular se encuentra enlazado a macromoléculas como enzimas/proteínas o nucleótidos (15).

El órgano principal en relación al metabolismo del zinc es el hígado a donde es transportado por la transferrina proveniente del plasma de la porta. En ese órgano se encuentra la

metalotioneína, una proteína que también une al zinc y que parece participar en su almacenaje, (o en la acumulación del exceso de zinc) ya que se induce la síntesis de esta proteína por un aumento de la concentración del zinc en la dieta o por su inyección. El análisis del tejido muestra que en esas condiciones la diferencia de zinc está unido a la metalotioneína (10, 11). Esta es una proteína de bajo peso molecular localizada en el citoplasma, rica en grupos sulfhidrilo (33), con un alto contenido de metales como Cd, Zn, Fe y Cu. Se ha involucrado también en la homeostasis del cobre y en la detoxificación del cadmio (34) y otros metales pesados y en la estabilización de membranas (15).

En las células epiteliales de la mucosa intestinal el zinc está unido a su ligando pancreático (ácido picolínico o ácido pícrico), cuando la metalotioneína está presente compite por el zinc con su ligando evitando que el metal quede disponible a la albúmina para su transporte plasmático (35).

Aunque se ha establecido la importancia de la metalotioneína en el metabolismo del zinc, Mark Failla y Rebecca Kiser (36) han sugerido su participación en otras funciones aún no bien establecidas, sin embargo se sabe que la concentración de la proteína está afectada por la concentración de la insulina y el glucagón.

## FISIOLOGIA DEL ZINC

Como ya se dijo, el zinc es necesario para mantener las funciones biológicas del organismo, ya que participa en numerosas vías metabólicas, además de formar parte de macromoléculas.

En el organismo existen un gran número de metaloenzimas dependientes de zinc. Una metaloenzima de zinc, se define como una metaloproteína con actividad catalítica que contiene cantidades estequiométricas de zinc firmemente enlazadas al sitio activo el cual participa directamente en el proceso catalítico, además de poder hacerlo como estabilizador de la estructura proteica o como regulador de la actividad catalítica (10, 11, 15). En estos casos, el zinc se encuentra en coordinación con los radicales de tres aminoácidos de la proteína (preferentemente histidina y además los ácidos glutámico y aspártico y la cisteína) y con una molécula de agua activada que completa la esfera de coordinación (15, 37).

El zinc es un elemento muy estable por su configuración electrónica  $d^{10}$ , invariablemente existe en el estado de oxidación  $2+$  y no es susceptible a las oxidorreducciones lo que podría explicar su participación en los procesos biológicos de hidrólisis, transferencias, adiciones a dobles enlaces e inclusive oxidorreducciones, donde actúa como ácido de Lewis, capacidad que es sin duda de vital importancia en muchas metaloenzimas. Tiene una esfera de coordinación variable y gran adaptabilidad estereo-química para asumir geometrías de

coordinación múltiples, que resultan en números de coordinación que varían de dos a ocho, siendo los más frecuentemente encontrados en las funciones biológicas del zinc los complejos de coordinación con cuatro, cinco y seis, con geometrías desde tetrahédricas regulares o distorsionadas hasta bipiramidal trigonal, piramidal cuadrada y octahédrica; esto refleja la habilidad del zinc para cooperar con las demandas de sus ligandos (11, 15).

Por otro lado, el zinc también puede unirse a enzimas formando asociaciones mas débiles, que se conocen como complejos metal-enzima en donde, sin necesidad de participar en el proceso catalítico, ejercen funciones reguladoras o de estabilización de la proteína, en donde el zinc se coordina con 4 cisteínas del polipéptido (37). La caracterización química de estas moléculas no se ha logrado y la especificidad y el modo de interacción del metal están mal definidas (15).

Las metaloenzimas del zinc participan en el metabolismo de todos los compuestos biológicos, algunos ejemplos son: la anhidrasa carbónica, la fosfatasa alcalina, las carboxipeptidasas pancreáticas A y B, la alcohol deshidrogenasa, la deshidrogenasa del ácido glutámico, la dehidrogenasa málica, la deshidrogenasa del ácido láctico, la aldolasa, la NADH diaforasa, la piridoxal fosfocinasa, las ARNasas, las ADN y ARN polimerasas, la timidina cinasa, la desoxinucleotidil transferasa terminal y la retineno reductasa (4, 11, 12, 15, 38, 39).

En vista de que el zinc es necesario para estas enzimas, el nivel de zinc en las células controla los procesos fisiológicos por los cuales se sintetizan o bien regula su actividad. En las deficiencias del zinc, se presentan trastornos bioquímicos que ilustran la participación del elemento en los diferentes procesos metabólicos.

La rapidez con la que ocurren estos cambios en respuesta a la disminución de zinc y la rapidez con la que desaparecen al reponerse los valores normales del metal, permiten identificar los sitios primarios de las funciones metabólicas del zinc (11).

#### **LA PARTICIPACION DEL ZINC EN EL METABOLISMO DE LOS ACIDOS NUCLEICOS Y PROTEINAS.**

En la deficiencia de zinc, ocurren cambios en el metabolismo de las proteínas y de los aminoácidos que sugieren que la deficiencia del zinc estimula el catabolismo o bien afecta la síntesis de las proteínas, debido probablemente a que la deficiencia influye en el metabolismo de los ácidos nucleicos, siendo más afectado el del ARN (10, 11, 37, 40).

El contenido de los ácidos nucleicos de los tejidos es menor en la deficiencia de zinc; lo que puede ser el resultado tanto de un incremento en el catabolismo como de un decremento en la biosíntesis de los polinucleótidos.

Se han observado incrementos en la actividad de las ribonucleasas y una disminución en la actividad de las ARN y ADN polimerasas y de la timidina cinasa (15, 41).

Rubin y Koide han mostrado en cultivos en monocapa de células animales que el zinc es necesario para la síntesis de los ácidos nucleicos (42). Otros grupos han observado que el zinc es necesario para la incorporación de fósforo 32 en los nucleótidos y que estimula la incorporación de ácido orótico en el ARN nuclear de ratas parcialmente hepatectomizadas (11).

Ya que el zinc afecta la actividad de la timidina cinasa, su deficiencia produce un daño inmediato en la síntesis de ADN y por consiguiente un retardo en el crecimiento celular, esto ha sido demostrado (41) en el hígado, el riñón y el bazo de la rata. Se ha establecido, además, que el zinc es importante para revertir la inhibición producida por el EDTA de la expresión del potencial genético de los linfocitos estimulados con fitohemaglutinina para sintetizar las enzimas requeridas para la síntesis de ADN y para iniciar la división celular, lo que indica que el proceso llamado de "activación genética" requiere zinc (43).

El zinc no sólo participa en la acción de enzimas que llevan a cabo la transcripción, también es un componente de las proteínas que regulan este proceso; esto se puede apoyar con el aislamiento de una proteína que contiene zinc, que activa la transcripción y la cual muestra 9 secuencias repetidas de cerca de 30 aminoácidos. Cada secuencia contiene 2 moléculas de cisteína y 2 de histidina, las que formarían un complejo de coordinación tetrahédrico con el átomo de zinc, generando así el dominio que se ha postulado para su interacción con el DNA (15, 37). Ahora se conocen algunas proteínas activadoras críticas para la

replicación y/o transcripción que contienen zinc y en algunas se han identificado los ligandos que son por lo general cisteínas; cuando se suprime al zinc por agentes quelantes, la capacidad de enlazar fragmentos específicos de ADN se inhibe (15).

Lo anterior ilustra el efecto del metal en las enzimas dependientes de él y que regulan el metabolismo de los ácidos nucleicos. Además, el zinc es importante para estabilizar la conformación de los polinucleótidos.

El hígado de los animales deficientes en zinc muestra perfiles anormales de polisomas y en el tejido conectivo se observa un decremento en el contenido de polisomas asociado a un aumento en el número de subunidades inactivas.

La administración del metal estimula la formación de polisomas tanto in vivo como in vitro. Por otro lado, el zinc parece estimular la formación del ARN ribosomal (10, 11).

#### ZINC E INSULINA

Anteriormente se expuso que la insulina contiene cantidades considerables (0.5%) de zinc. Se ha demostrado que en estados de deficiencia de zinc, se encuentra una concentración reducida de insulina plasmática y el grado de secreción de la hormona, en respuesta a la estimulación por glucosa, también se ve reducida (44-47).

Estudios realizados al microscopio de luz han demostrado que las células beta del páncreas de los animales deficientes en zinc



exhiben una baja granulación lo que se relaciona con un bajo contenido de insulina. Se ha demostrado, también, que la estimulación de la secreción de la insulina reduce el contenido de zinc en las células beta. Ambas observaciones permiten suponer que el zinc participa en la síntesis y almacenaje de la insulina haciendo posible que la cantidad de insulina almacenada sea baja en los estados deficientes de zinc (11, 44, 46).

Se ha mostrado que en animales deficientes en zinc el páncreas secreta una cantidad menor de insulina inmunoreactiva al estímulo de glucosa relacionando este efecto con una tolerancia deficiente a la glucosa o con la presencia de una hormona de baja potencia biológica, lo que podría significar que el zinc afecta en forma diferente a la insulina circulante o bien un aumento en la hidrólisis de la hormona (44-46).

También se ha demostrado, en estudios in vitro, que la deficiencia de zinc disminuye el transporte total de glucosa del tejido adiposo (11).

Faure y otros colaboradores han sugerido que la deficiencia de zinc produce una condición pre-diabética la cual puede ser revertida con la suplementación (44, 46).

Por otro lado, se ha demostrado que la proporción entre la insulina y el glucagón influye en el metabolismo de la metalotioneína en el hígado de los mamíferos; por ejemplo, en ratas diabéticas insulino-dependientes las concentraciones del cobre, del zinc y de la metalotioneína en el hígado y el riñón son marcadamente elevados, observándose que el tratamiento con

insulina reduce esta elevación. Esto muestra que el desbalance hormonal es el responsable de esta alteración y sugiere que la insulina y glucagon participan en la regulación homeostática del metabolismo de cobre y zinc (36).

#### **EL ZINC Y LAS HORMONAS SEXUALES Y DEL CRECIMIENTO**

Se ha demostrado en estudios in vitro que la adición de sales de zinc incrementa y prolonga la potencia fisiológica de algunas preparaciones de corticotropina y la actividad glucocorticoide de los esteroides adrenales (33, 46).

Por otro lado, la hormona del crecimiento necesita del zinc para demostrar su actividad; de hecho, una característica de la deficiencia de zinc, es un retardo en el crecimiento. Con respecto a esto, ahora se acepta que los efectos promotores del crecimiento por parte de la hormona del crecimiento, están mediados por factores, entre los que se encuentra el Factor de Crecimiento Similar a la Insulina-1. Este factor que se libera del hígado, donde es producido en respuesta a la hormona del crecimiento, se reduce en un 69% en el plasma de ratas con deficiencia de zinc, se incrementa hasta 194% con la dieta de recuperación y posteriormente se normaliza lentamente, junto con el rango de crecimiento; debido a esto se sugiere que el retardo en el crecimiento en la deficiencia de zinc, puede llevarse a cabo mediante la reducción del Factor de Crecimiento Similar a la Insulina-1 (40, 47).

Se ha observado, también que este elemento afecta los niveles plasmáticos de algunas hormonas como la luteinizante, la progesterona, la hormona estimulante del folículo y la testosterona (46, 48, 49). El zinc tiene un papel muy importante en la función de los testículos, y se sugiere que afecta la función gonadal alterando la esteroidogénesis testicular (46, 50).

Como se puede inferir, el papel del zinc es muy importante en la correcta función de la reproducción; además, se sabe que la espermatogénesis y el desarrollo de los caracteres sexuales primarios y secundarios masculinos, así como todas las fases en los procesos reproductivos de la mujer pueden ser afectados adversamente por la deficiencia del zinc (46, 49, 51).

En el capítulo 4 se profundiza en el efecto del zinc en los procesos de la reproducción.

#### **LA PARTICIPACION DEL ZINC EN EL METABOLISMO DE LA COLAGENA**

Anteriormente se indicó que el zinc juega un papel fundamental en la biosíntesis de las proteínas. La proteína es el componente principal del tejido conectivo, es rica en glicina, prolina y lisina, y en gran parte es la responsable del desarrollo de la resistencia a la tensión en la cicatrización de las heridas.

Se ha demostrado que en la deficiencia de zinc se reduce la incorporación de glicina, prolina y lisina a la piel de la rata, sin cambios marcados en otros tejidos que son ricos en zinc como

son el hígado, el riñón, los testículos y el músculo. Ya que la suplementación con zinc estimula el desarrollo del tejido conectivo, se ha sugerido que este elemento es más importante en el metabolismo de la colágena de la piel que en el de otras proteínas, sin embargo, no se ha podido establecer el efecto específico (10, 11).

#### **EL EFECTO DEL ZINC EN EL METABOLISMO DE LA CISTINA**

Se ha observado que en la deficiencia de zinc se incrementa la excreción urinaria de azufre-35 después de la inyección de cistina-35-S. Esto sugiere que el zinc participa en el metabolismo del sulfato y que su deficiencia puede afectar la biosíntesis proteica o bien incrementar el catabolismo de las proteínas azufradas (10, 11).

#### **EL EFECTO DEL ZINC EN LA CONCENTRACION DE LIPOPROTEINAS**

La deficiencia de zinc disminuye significativamente la cantidad total circulante de las lipoproteínas de alta densidad sin afectar las concentraciones de proteína total, triglicéridos, fosfolípidos y colesterol.

El perfil de las apolipoproteínas muestra un marcado decremento en el contenido de las apolipoproteínas (Apo) E y C y un incremento en Apo A-I, efecto que puede influir significativamente en el transporte y el metabolismo del colesterol (52).

## **EL EFECTO DEL ZINC EN LAS FUNCIONES DE LAS MEMBRANAS CELULARES**

El zinc se encuentra en pequeñas cantidades en las membranas celulares. La mayor parte se encuentra ligado a distintas macromoléculas constituyentes de la fracción lipoproteica. Se ha sugerido que el zinc interactúa con los grupos tiol de las membranas formando mercaptanos estables, lo que interfiere en la actividad de enzimas y proteínas que regulan el transporte. Se ha establecido que a una concentración de 0.5 mM el zinc inhibe completamente la actividad de ATPasa en los macrófagos activados; este sistema es esencial para funciones celulares importantes como son la fagocitosis, la pinocitosis y algunos procesos de transporte iónico activo. El zinc inhibe, también, a la NADPH oxidasa, constituyéndose en un regulador importante de esta enzima que se involucra con la actividad fagocítica de los macrófagos (10, 11, 53, 54).

## **EFFECTO DEL ZINC SOBRE LA RESPUESTA INMUNE**

La deficiencia de zinc puede dañar una gran variedad de funciones inmunes y mecanismos de defensa del huésped. Los estudios realizados hasta ahora, en animales de laboratorio, y en menor grado, en seres humanos, demuestran los siguientes trastornos (2, 43, 54, 55): hipoplasia en timo, bazo, nódulos linfáticos, placas de Peyer y otros tejidos linfoides que puede progresar a atrofia. Disminución en el número y en la actividad de linfocitos T cooperadores y de células "Killer", baja actividad de células NK, y aparición progresiva de linfocitos inmaduros en sangre periférica (15, 56, 57). Se ha observado una disminución de las

células formadoras de anticuerpos en respuesta a la inyección tanto de glóbulos rojos de carnero como de células tumorales y también una disminución de IgM, IgA e IgG2 (54, 55, 58).

También se observa una disminución en la respuesta a pruebas cutáneas y en la proliferación celular in vitro en respuesta a mitógenos y a antígenos, así como una disminución en la concentración sérica de timopoyetina y de timulina, con la consecuente disminución en la respuesta mediada por células. A este respecto, se ha demostrado el carácter esencial del zinc en la transformación blastoide de los linfocitos y se ha sugerido inclusive, que puede actuar como mitógeno débil para las células B y T (59-61).

Por otro lado, las alteraciones en el nivel de zinc, producen una inhibición de la agregación plaquetaria y de la liberación de histamina por las células cebadas, sugiriéndose un efecto a nivel de membrana celular. En altas concentraciones, (mayores de 200 uM) el zinc inhibe totalmente los factores del complemento y se ha propuesto que puede inhibir la formación del "complejo de ataque a la membrana" (MAC) aún a concentraciones muy cercanas a las fisiológicas (11, 15, 54).

Los datos anteriores sugieren que el zinc es indispensable para el correcto funcionamiento de la respuesta inmune, y en la mayoría de los casos, estos trastornos se corrigen cuando se cubren los requerimientos de este nutriente; sin embargo, no se ha logrado determinar la participación exacta del zinc en dicha respuesta.

## DEFICIENCIA DE ZINC

En el organismo no existen grandes reservas tisulares de zinc, y por ello el aumento en su utilización (crecimiento, reproducción) o la disminución en su aporte (factores dietarios) pueden producir deficiencias de este nutrimento (16, 28). La disminución en el aporte de zinc puede ocurrir cuando las dietas son bajas en zinc y/o altas en ciertos componentes que complejan al elemento impidiendo su absorción; en los países centroamericanos, los alimentos básicos son las tortillas y los frijoles, que contienen alto contenido de fitatos, fibra dietaria y calcio, componentes todos que disminuyen la biodisponibilidad del zinc y aumentan la probabilidad de su deficiencia (62, 63).

Además, existe un padecimiento que se hereda en forma autosómica recesiva, denominado acrodermatitis enteropática (24, 25), cuyo defecto primario es una deficiencia en las células intestinales para absorber el zinc, desarrollando la deficiencia específica de este elemento y manifestando los síntomas clínicos característicos.

La deficiencia de zinc se asocia con graves lesiones en la piel, trastornos gastrointestinales y del sistema nervioso central, y una mayor susceptibilidad a las infecciones (particularmente por hongos), ya que el paciente muestra un estado de inmunodepresión (64-66). En la acrodermatitis enteropática, además, se localiza dermatitis vesicopustular alrededor de la boca, los ojos, la nariz y en las extremidades; también es característica la

presencia de diarrea, retardo en el crecimiento y alteraciones emocionales; se pueden presentar trastornos oftalmológicos como conjuntivitis, fotofobia y opacidad corneal. Si no se trata adecuadamente, esta enfermedad es mortal (15).

La recomendación diaria de este elemento para el adulto es de 15 mg y para los niños varía con la edad ya que la recomendación para el lactante es de 3 mg hasta los seis meses de edad, de 5 mg para los niños entre los seis y los doce meses y a partir de esta edad la recomendación aumenta a 10 mg (67).

Durante el embarazo y la lactancia la mujer debe agregar 15 mg y 10 mg, respectivamente (68).

Estas recomendaciones son satisfechas si se consume una dieta con proteína animal como carne, pescado, productos lácteos, hígado de res, huevos y mariscos; sin embargo, se ha observado que a partir de los dos años de edad, no se cubren las recomendaciones RDA, especialmente en las mujeres (27, 67).

Los cuadros clínicos por la deficiencia severa del zinc incluyen retardo en el crecimiento asociado con anorexia, hipoguesia y disguesia, enanismo e hipogonadismo en los jóvenes, anemia, hepatoesplenomegalia, alopecia y letargia mental (11, 15, 46, 69, 70, 71). Todos estos transtornos son debidos a los dramáticos cambios bioquímicos que ocurren por la deficiencia del zinc y son más frecuentes y con consecuencias más graves en las mujeres que en los hombres (67) y el efecto será mayor en aquellas etapas en donde se aumenta la utilización del zinc como son el crecimiento y la reproducción (72, 73).



Por ello, este trabajo revisa los avances logrados en los últimos años, en el estudio de la lactancia, del crecimiento, del desarrollo y de la biología de la reproducción, además de enfatizar la importancia de un buen control del estado nutricional del elemento y consecuentemente la necesidad de métodos analíticos adecuados para realizar la cuantificación en las muestras biológicas.

#### TOXICIDAD DEL ZINC

Así como pueden desarrollarse estados de deficiencia del zinc, también pueden presentarse casos de toxicidad por este elemento lo cual será presentado en este espacio.

Aunque el zinc se considera como un elemento no tóxico, en especial si se le compara con otros elementos como el cobre o el cadmio, se ha informado de algunas reacciones tóxicas.

La "fiebre del vapor del metal" que se observó en personas expuestas a los vapores industriales de zinc se manifestó al presentarse daño en los pulmones, fiebre, gastroenteritis y escalofríos; esta enfermedad no es fatal y es reversible después de 48 horas (10, 11, 15).

En hombres jóvenes (16 años) que ingirieron 12g de  $ZnSO_4$  en dos días, se manifestó la letargia mental, la somnolencia y un incremento en la lipasa y la amilasa del suero (11).

En pacientes sujetos a la hemodiálisis la toxicidad por el zinc se manifestó como náusea, vómito, fiebre y anemia severa.

Otros síntomas que se han reportado por la toxicidad del zinc son la deshidratación, el desbalance electrolítico, el dolor abdominal, mareos, falta de coordinación muscular y deficiencia de cobre (74, 75).

**CAPITULO III. LA PARTICIPACION DEL ZINC EN LA LACTANCIA**

## EL ZINC EN LA LECHE MATERNA

El zinc esta presente en la leche de todas las especies estudiadas, aunque en concentraciones diferentes; en el humano su concentración oscila entre 0.14 a 3.95 ug/ml y no varía mucho en un mismo individuo, por lo que una sola muestra de leche puede proveer una estimación representativa del contenido de zinc individual (76); el incremento de la edad, los partos múltiples y la lactancia previa son factores que se han asociado con un aumento en las concentraciones de zinc en leche, aunque hay alguna controversia en estos puntos (77).

El contenido de zinc en la leche varía con la especie y el tiempo de lactancia. En todas las especies, el calostro es de tres a cuatro veces más rico en zinc que la leche madura, y los niveles declinan con el avance de la lactancia, mucho mas rápidamente en los primeros diez días (78-80). Alcanzando su nivel más alto el segundo día de la lactancia y la mayor declinación del día 2 al día 4 (81).

En un estudio realizado por Lamounier y colaboradores en el Brasil, se observó que los valores de zinc en leche materna caen cerca de un 40% durante las dos primeras semanas de lactancia y sigue decreciendo lentamente hasta la semana 24 (79).

Se ha sugerido que entre otras razones, la declinación en la concentración de zinc en la leche, puede deberse a una alteración progresiva en el mecanismo de transporte de este metal o bien

una disminución en la concentración o en la afinidad de los ligandos (82-84).

Simmer, Ahmed, Carlsson y Thompson señalan que la práctica seguida en los países en vías de desarrollo, de amamantar exclusivamente al seno a los infantes por períodos mayores a los seis meses tiene como resultado valores por debajo de lo normal en el peso adecuado a la edad, y lo relacionan con un aporte de zinc en la leche menor a los valores recomendados por el Subcomité de la décima edición de los aportes dietarios recomendados (RDAs) del Consejo Nacional de Investigación (National Research Council) (85, 86).

Walravens y cols, apoyan estos señalamientos e indican que en infantes nutridos con leche de pecho por mas de cuatro meses se observa una disminución en la velocidad de crecimiento que resulta parcialmente de la ingesta inadecuada de zinc y puede ser signo de una deficiencia marginal del elemento ya que en niños de cinco a siete meses de edad alimentados con leche materna a los cuales se les da un suplemento de 5 mg de zinc muestran, a los tres meses, un mayor crecimiento lineal y una mayor ganancia de peso con respecto a un grupo placebo (87). Reportes clínicos confirman estas observaciones (88, 89).

Considerando que la concentración láctea del zinc es semejante en ambos senos y muestra un patrón característico de declinación con el tiempo de postparto independientemente de la concentración presente y que hay diferencias marcadas entre las especies, tanto

en los niveles normales de zinc en leche, como en sus cambios durante la lactancia, Casey, Neville y Hambidge han sugerido que la secreción de zinc en leche debe ser controlada, probablemente a nivel genético. Esto se apoya por las observaciones en los animales de una cepa de ratones en donde se obtuvo una mutación recesiva "lethal milk" (lm) en la que se observa una excreción de cantidades inadecuadas de zinc en leche (81, 90).

Durante los primeros seis meses de la lactancia, las concentraciones del zinc encontradas en la leche son diferentes a las encontradas en el plasma, y no guardan relación con la concentración del zinc ingerido en la dieta o en suplementos (81, 91-93).

Sin embargo, se ha observado en las ratas, cuya leche es más rica en zinc (13-17 ug Zn/ml) que la leche humana (3 ug Zn/ml o menos), que la deficiencia materna de zinc durante la lactancia ocasiona una menor producción de la leche cuya concentración de zinc es menor.

Esto produce una menor ingesta por sus crías lo que ocasiona daños en el crecimiento y un aumento en la mortandad de la camada (94).

Por otro lado, Kirksey, et al (95) confirman que los niveles de zinc en la dieta o los suplementos no influyen sobre su concentración en leche, ya que observan que ingestas de 11 y de 28 mg de Zn/día producen niveles similares en la leche.

Además, demuestra que el uso prolongado de anticonceptivos orales antes del embarazo no afecta significativamente las concentraciones de zinc en el calostro sobre el día 3 o en leche más madura sobre el día 14 de lactancia.

Ya que se han observado diferencias significativas entre la concentración de zinc ingerida diariamente y la recomendación para mujeres basada en los estudios realizados en diferentes países, se ha remarcado la necesidad de revalorar los requerimientos dietarios de zinc para jóvenes infantes (92, 96), ya que parecen ingerir sólo un 50% del RDA para zinc, calculado en base a la concentración del elemento en la leche y la cantidad de leche consumida al día (79).

#### **DISTRIBUCION DEL ZINC EN LA LECHE HUMANA**

El 20-40% del zinc de la leche se localiza en la grasa, una porción significativa está ligada a compuestos de bajo peso molecular (menores de 25,000) entre los que se ha identificado el ácido picolínico y el citrato. Lo que resta, se encuentra asociado a la caseína. En el transcurso de la lactancia, el porcentaje del zinc asociado a los lípidos disminuye notablemente, mientras que el del citrato aumenta. El zinc asociado a la caseína muestra poca variación (97).

Suzuki y cols (78) muestra que la distribución del zinc cambia diariamente en el calostro, observando que el 2o día de postparto el metal está principalmente enlazado a la lactalbúmina mientras

que al 3er día, baja la concentración del elemento en lactalbúmina y se incrementa la cantidad enlazada al citrato. El 5o día el zinc permanece asociado al citrato y a otros compuestos de bajo peso molecular, mientras desaparece en la lactalbúmina. A los 12 días postparto el zinc se observa asociado a nuevas sustancias de bajo peso molecular, mientras que el asociado al citrato disminuye, esta distribución se mantiene hasta los 135 días de postparto.

#### **DISPONIBILIDAD DEL ZINC EN LA LECHE MATERNA**

La disponibilidad del zinc en la leche humana es muy alta, (cerca de un 60%) (19), quizás por la presencia en ella de factores que promueven su absorción.

Duncan y Hurley (17), descubrieron en la leche humana un ligando de bajo peso molecular para zinc el cual no está presente en leche de vaca, y que de acuerdo a estos autores es necesario para una eficiente absorción intestinal del elemento cuando en el infante no se ha sintetizado aún el ligando intestinal que interviene en la absorción; se debe añadir que los niños que sufren acrodermatitis enteropática son tratados satisfactoriamente con leche humana, pero no con leche bovina o con suplementos de zinc (24).

Lonnerdal ha sugerido que la alta biodisponibilidad del zinc en la leche humana puede ser explicada por la presencia de lactoferrina, la cual puede facilitar la absorción del metal por



medio de un receptor intestinal; las altas concentraciones del ascorbato y del citrato presentes en la leche humana pueden facilitar también la absorción de zinc (19).

Greger y cols han propuesto que en la rata la lactosa puede mejorar la absorción o retención de zinc (98), mientras que Evans y Johnson después de identificar el ácido picolínico en la leche humana proponen que este compuesto, entre otros, facilite la absorción del zinc en el intestino del neonato (99).

Por otro lado, en la leche de vaca la distribución del zinc es diferente, encontrándose predominantemente enlazado a la caseína. Esto podría explicar el problema del uso de la leche bovina en las primeras semanas de edad del humano, ya que el problema puede radicar en la diferente disponibilidad del zinc en la leche humana y en la leche bovina. Bates y Tsuchiya (77), atribuyen la mayor disponibilidad biológica de la leche humana (60%) sobre la bovina o de fórmulas (25%), a la mayor concentración de caseína en la leche de vaca, la cual forma un complejo insoluble con zinc, de pobre disponibilidad.

Aún no se establece la importancia o modo de acción de las moléculas hidrosolubles, proteicas y no proteicas, que enlazan el zinc en la leche, como determinantes en la biodisponibilidad del zinc para el infante (97).

## **REQUERIMIENTOS DE ZINC EN EL LACTANTE**

Estudios de balance tradicionales indican que una ingestión de zinc de 0.82 mg/kg/día es adecuada para tener un balance positivo en todos los infantes nacidos a término, incluyendo a aquellos infantes alimentados con fórmulas a base de proteína de soya.

Los requerimientos para el crecimiento y reemplazo de pérdidas endógenas por orina y sudor se han calculado en 0.8 mg Zn/día en la infancia temprana declinando hasta menos de 0.5 mg/día al 40 mes. Las pérdidas endógenas fecales son menores de 0.075 mg/kg/día; así el infante parece requerir una absorción de cerca de 0.3 mg Zn/100 kcal declinando a 0.15 mg/100 kcal cerca de los 4 meses (100).

## **EL ZINC EN LAS FORMULAS PARA LACTANTES**

Aunque existen fórmulas minerales para suplementar a la leche de vaca que se da a los niños, se ha demostrado que dichas fórmulas son deficientes en zinc, Lonnerdal, et. al. (101), encontraron que de 53 fórmulas aplicadas en 8 países diferentes, 17 de ellas se encontraron deficientes en zinc.

Por otro lado, no se han definido con precisión los límites superiores de los niveles del zinc en las fórmulas infantiles, a pesar de que se ha sugerido que un exceso del metal puede ser tóxico (75).

Considerando los requerimientos de zinc para el lactante y como la absorción es de aproximadamente un 20%, las concentraciones del zinc en las fórmulas infantiles varían desde un mínimo de 0.5 a un máximo de 1.5 mg Zn/ 100 kcal, considerando una cantidad de cobre no menor de 60 ug Cu/100 kcal. Se recomienda no emplear concentraciones de zinc cercanas a los extremos pues existe el riesgo de alterar las proporciones con otros elementos (75), ya que, como se explicó anteriormente, el hierro, el zinc, el cobre y el manganeso antagonizan en su absorción y transporte, por lo que es prudente mantener un equilibrio entre esos elementos. Así Lonnerdal (19), estableció como límites superiores: 12 mg de Zn/L de fórmula, 1.2 mg de Cu/L, 14 mg de Fe/L y 0.6 mg de Mn/L guardando así la proporción adecuada de Zn:Cu (10:1).

#### **DEFICIENCIA DE ZINC EN LA LACTANCIA**

Como se ha explicado anteriormente, el zinc es crítico en los primeros meses de vida, en los que se incluye la lactancia, ya que son los periodos en donde el niño crece y se desarrolla rápidamente por lo que se convierte en un sujeto muy susceptible a las deficiencias nutricionales, y entre ellas a la del zinc, lo que produce las graves consecuencias ya mencionadas.

Por esto es importante que la madre tenga un buen estado nutricional que produce una leche de buena calidad para que el niño no desarrolle la deficiencia de zinc.

Mutch y Hurley (94) indican que en la rata, la deficiencia de zinc durante la lactancia, reduce rápidamente los niveles plasmáticos del elemento, produciendo una caída del contenido de proteínas y zinc de la leche, por lo que las crías reciben una menor cantidad de zinc, lo que daña el crecimiento de los lactantes e incrementa su mortalidad.

Cuando se ha experimentado en las ratas una deficiencia de zinc desde su nacimiento, los animales muestran a los 21 días de edad, un cerebro de menor tamaño con maduración retardada, concentraciones reducidas de proteínas y ácidos nucleicos, una marcada reducción en la síntesis proteica y reducción en lípidos cerebelares totales. A los 10 días de edad, los animales deficientes muestran que la síntesis proteica en el hígado, el cerebro y el cerebelo puede ser menor en un 30% a 50%, lo que se relaciona con los efectos adversos que la deficiencia de zinc tiene en la replicación celular y que se han demostrado en el cerebro durante el desarrollo postnatal (102). Se ha relacionado también, la deficiencia de zinc, durante la gestación y la lactancia, con un retardo en la mielinización (11).

Se ha demostrado que la concentración de zinc en la leche tiene efectos muy importantes en el crecimiento y el desarrollo de los ratones neonatos. Esta concentración disminuye con el tiempo de lactancia, de tal forma que el calostro y la leche temprana son las porciones más ricas en zinc. Experimentalmente se ha privado a la camada de ser lactados por su madre y son lactados por una ratona nodriza cuya camada ya ha sido destetada. Se observó en

estas crias que la ganancia de peso era cada vez menor, así como una reducción en el peso del cerebro y del riñón. Se observó también, una descalcificación ósea a pesar de observarse una mayor retención de zinc. Estos efectos fueron mayores al ser mayor el tiempo de destete de la nodriza (103).

También ha quedado claramente establecida la importancia del zinc en la lactancia humana y la necesidad de que este metal esté presente para lograr una función correcta de la glándula mamaria. Durante el embarazo tardío y la lactancia temprana, la glándula mamaria tiene una gran actividad de proliferación celular; el zinc es esencial para la síntesis de los ácidos nucleicos en la división celular, por lo que su deficiencia durante el desarrollo de la glándula mamaria afecta adversamente la hiperplasia.

Después del parto, el contenido de ARN de la glándula mamaria se incrementa dramáticamente lo que se relaciona con un aumento en la síntesis proteica por célula y en la cual se incluye la síntesis de la caseína. Si en esta etapa (embarazo tardío y lactancia temprana) se afecta la síntesis de ARN y de proteínas por la deficiencia de zinc, se puede limitar la habilidad de la glándula mamaria para producir las proteínas de la leche (41). La deficiencia de zinc desde el día 0 de lactancia en la rata, reduce el contenido total de ARN medido en las glándulas mamarias el día 14 de la lactancia. El contenido de ARN y ADN disminuye por la baja ingesta de alimento consecuencia de la anorexia causada por la deficiencia de zinc.

Además, la deficiencia de zinc desde el día 14 de embarazo ocasiona una fuerte anorexia, complicaciones en el parto, incapacidad para cuidar a sus críos y muerte neonatal; impide la elevación normal en la concentración de ARN y la leche producida tiene un bajo contenido de zinc. En estas condiciones la reducción en la producción de la leche es el resultado tanto del efecto sobre el metabolismo de los ácidos nucleicos, como del deterioro producido por la inanición (41).

Sin embargo, en los estudios de Atkinson, Whelan, White y Lonnerdal (104) no se obtienen evidencias concluyentes de anomalías en la capacidad secretora de la glándula, sin embargo especulan que la anomalía puede radicar en la capacidad de la glándula mamaria para transportar el zinc a su interior ya que la concentración del zinc en el plasma es normal, así como los niveles de citrato, hierro y cobre.

#### **LA DEFICIENCIA MARGINAL DE ZINC**

La deficiencia marginal de zinc durante los periodos de crecimiento y desarrollo es mucho mas frecuente que la deficiencia severa y ha sido asociada, por algunos autores, con un pobre crecimiento; sin embargo, ya que no hay un acuerdo en esta observación se ha sugerido que el organismo puede adaptarse ala deficiencia marginal del zinc dependiendo de la magnitud y duración de la deficiencia.

Un mecanismo compensatorio de gran valor para el neonato sujeto a una ingestión marginal de zinc durante su vida temprana puede ser un aumento en absorción del zinc, por lo que Lonnerdal, et. al. (70) estudió en el mono Rhesus, el efecto de una dieta marginal de zinc en la madre sobre la absorción de zinc y el crecimiento de sus crías.

Para ello, los monos fueron separados de sus madres (alimentadas con dietas bajas en zinc) a los tres meses de edad y se les dió una fórmula conteniendo zinc radiactivo; se determinó la retención de zinc midiendo la radiactividad corporal total, observándose una retención muy alta (33 al 71%) sin diferencia significativa entre el grupo marginal y el grupo control. Sin embargo, se observó una correlación positiva entre la ganancia de peso y la retención de zinc en los infantes marginales, mientras que dicha correlación fué negativa en los infantes control.

Estos resultados apoyan fuertemente la idea de que en el grupo marginal, el zinc es un limitante potencial del crecimiento, por lo que en una situación de escases de zinc, deben presentarse mecanismos compensatorios que pueden movilizar el zinc de otros compartimentos metabólicos.

En contraste, se observó en los infantes control, que el recambio de zinc está afectado por la velocidad de crecimiento por lo que el infante de menor crecimiento retiene más zinc y lo conserva para su crecimiento posterior.

Sugieren lo autores que el destino metabólico del zinc en los infantes nacidos de madres alimentadas con dietas adecuadas en zinc, es diferente al de los infantes nacidos de madres alimentadas con dietas marginales en zinc y que en ello pueden participar tanto alteraciones en el recambio de zinc como la presencia de factores necesarios para el crecimiento. Ambas condiciones podrían ser alteradas en el periodo perinatal.

Estas conclusiones se ven apoyadas por experimentos realizados en ratones de donde se concluye que el metabolismo del ratón lactante está directamente relacionado a cambios en la composición de la leche materna observándose que el recambio corporal total de zinc en el lactante disminuye conforme disminuye la concentración de zinc en la leche materna a través del tiempo de lactancia, esto es, existe un incremento en la retención de zinc por el neonato mientras se observa una disminución en la concentración del zinc de la leche materna, conforme aumenta el tiempo de la lactancia (103, 105).

#### **LA SUPLEMENTACION MATERNA DE ZINC**

Existe controversia en el efecto que puede tener la suplementación de zinc en la dieta de la madre lactante con los niveles de este metal observados en la leche, el plasma o los glóbulos rojos.

Moser-Veillon y Reynolds (106) demostraron que el suplemento de 25 mg de zinc suministrado desde el primer día postparto hasta



los nueve meses de lactancia, no tuvo efecto alguno sobre la concentración del zinc en la leche, los glóbulos rojos o el plasma. Ellos sugieren que el zinc suministrado en la dieta materna no controla la concentración de zinc en leche, ya que incluso se ha demostrado una disminución al avanzar el periodo de lactancia independiente de la cantidad del metal ingerido por la madre, y proponen la presencia de un factor, posiblemente una hormona, la que sería responsable de regular la concentración de zinc en la leche.

Ha sido sugerido por algunos autores que la biodisponibilidad del zinc puede verse influida por la cantidad de vitamina B6 presente en la dieta. Ya que se ha observado que la concentración de esta vitamina en la dieta de las mujeres durante la lactancia es menor que la cantidad recomendada en las RDA, estos mismos autores estudiaron el efecto de la suplementación de la vitamina B6 en mujeres lactantes sobre la concentración de zinc en la leche. Sus resultados mostraron que no existe ninguna relación (106).

Por el contrario, Krebs y colaboradores (107) demostraron que un suplemento de 15 mg diarios de zinc a mujeres durante los primeros 7 meses de la lactancia aumentaron las concentraciones del zinc plasmático, pero los niveles de éste metal en la leche, fueron semejantes a los encontrados en las madres control, no suplementadas; sin embargo, la velocidad con que declina la concentración del zinc en la leche durante la lactancia fué mucho menor cuando se utilizó el suplemento. Concluyen que la concentración del zinc en la leche se ve influenciada por la

ingestión materna de zinc dentro del rango fisiológico, y que los efectos de la baja ingestión de zinc por la madre serán más aparentes con la lactancia prolongada. Las observaciones de Donangelo, Truyo y Kouri (108) y de Khoshoo (88) apoyan esa sugerencia.

Las discrepancias entre esos autores podría explicarse si consideramos el estado nutricional de las madres que participaron en los estudios, pues podría ser que las participantes en el estudio de Krebs, en donde sí se observa un efecto del suplemento de zinc, presentaran una deficiencia del elemento mientras que las mujeres del estudio de Moser-Veillon podrían ser madres cuya dieta sí aporta los niveles adecuados de zinc.

#### **EL ZINC EN LOS NIÑOS PREMATUROS**

En la vida intrauterina, los niños acumulan durante el último trimestre del embarazo, dos terceras partes del zinc corporal total con el que nacen. De esta forma, los niños pretérmino son particularmente susceptibles a desarrollar una deficiencia de zinc ya que muestran valores, al nacer, inferiores a los mostrados por los infantes a término, lo cual fue explicado por Altigani, Murphy y Gray como una diferencia en su habilidad de absorber ese elemento (109).

Para regular su crecimiento, los infantes prematuros necesitan del zinc, lo que ocasiona una declinación en sus niveles plasmáticos; por lo que estos mismos autores establecen que el crecimiento modifica la concentración plasmática de zinc y una suplementación

con zinc puede producir un efecto benéfico en la ganancia de peso corporal del infante (110), la cual pudo verse afectada por una ligera deficiencia del elemento.

Existe evidencia de que los infantes prematuros enfermos pueden necesitar más zinc que lo recomendado para suplementar las soluciones empleadas en la nutrición parenteral y las fórmulas disponibles para los infantes prematuros.

La concentración de zinc requerida por los infantes prematuros aún no se ha establecido, por lo que Thorp y cols evaluaron el estado nutricional de 55 infantes en cuidado intensivo. Los infantes con menos de 12 semanas de edad gestacional, mostraron niveles más altos de zinc al ser admitidos en el estudio, pero esta disminuyó más rápidamente que en los infantes más maduros. Cerca de la sexta semana de estudio los niveles de zinc plasmático en 14 de los niños mostraron valores de 45 ug/dl o menos y en 2 de ellos se manifestó una verdadera deficiencia de zinc con incrementos de residuos gástricos, menor succión y pobre crecimiento. Todo esto indica que los niveles del zinc deben ser monitoreados en los infantes prematuros de los 6 a los 8 meses postparto y que se les debe suplementar cuando sea necesario (111).

Cuando se ha estudiado la absorción y la retención de zinc en los niños prematuros, alimentados por su madre, se ha observado que dicha leche puede ser insuficiente en cubrir los requerimientos de cobre y de zinc (112), y muestran un balance negativo hasta los 60 días de vida por lo que los infantes agotan sus reservas y

pueden originarse deficiencias de estos nutrimentos, inclusive en la infancia posterior (113, 114). Zimmerman y Hambidge estudiaron a dos niños prematuros que fueron alimentados exclusivamente con leche de pecho, que ganaron peso y se desarrollaron normalmente en la primera semana, pero que en la novena semana de edad mostraron un síndrome parecido a la acrodermatitis, caracterizado por salpullido, pobre apetito, pobre ganancia de peso, irritabilidad y bajas concentraciones de zinc plasmático. Diez días después de administrar sulfato de zinc, se eliminaron los síntomas. Ambos niños fueron normales a los 4 años (112, 114).

#### **EL ZINC Y LA DESNUTRICION EN LOS NIÑOS**

Se sabe que los niños que sufren de una desnutrición severa muestran bajas concentraciones de zinc, sin embargo, se desconoce la participación del metal en la patogénesis y su importancia en la terapia.

Golden observó que los niños que se recuperan de una desnutrición, después de administrarles dietas que contenían proteínas de soya o caseína, conducen a la caída en la concentración plasmática de zinc. Esto es comprensible si se considera que los niños desnutridos pueden ganar peso hasta veinte veces más rápido, por lo que la síntesis de nuevos tejidos depende de la dieta, y si el zinc aportado es insuficiente, puede limitar la ganancia de peso. Cuando se utilizan las dietas basadas en soya, la recuperación de la desnutrición es menor, se observan concentraciones plasmáticas de zinc más bajas y una

mayor ganancia de grasas cuando se comparó con los niños cuya dieta empleó caseína. Esto se asoció con un menor contenido de zinc (25% menor) y un mayor contenido de ácido fólico en la dieta con soya (115).

Golden también observó, que la suplementación con zinc promovía el crecimiento de estos niños, con menor ganancia de grasas y mayor agua corporal total. Concluyó que en los niños que se recuperaron de la desnutrición, empleando fórmulas basadas en caseína o soya se observó un crecimiento rápido, produciéndose una deficiencia de zinc, lo cual limita el mismo crecimiento y la ganancia de masa corporal magra, muy rica en zinc.

Esto es de vital importancia ya que las dietas recomendadas para el tratamiento de la desnutrición severa, usualmente permite a los niños lograr un adecuado peso para la talla, pero el crecimiento lineal y la composición de la ganancia de peso se ven frecuentemente comprometidos cuando se comparan con los estándares antropométricos; esto puede deberse a que la rápida ganancia de peso corporal está marcada por una ganancia de grasa desproporcionadamente alta (115, 116).

De forma semejante, Morgan y colaboradores (117) investigaron los efectos que tiene la variación de la ingesta de zinc dietario sobre el crecimiento, la composición corporal y la composición de la ganancia corporal en la recuperación de la desnutrición producida en crías de ratón destetadas. Observaron que el nivel de zinc dietario durante la recuperación de la desnutrición

afecta no solo el crecimiento sino también, la ganancia de masa corporal magra, especialmente en machos; esto último se explica por el hecho de que los machos tienen una mayor cantidad de masa corporal magra que las hembras, por lo que necesitan más proteínas y zinc.

Estos datos apoyan la hipótesis formulada en estudios realizados en humanos que sugieren que la recuperación de la desnutrición incrementa los requerimientos de zinc dietario, y que el crecimiento, así como la ganancia proteica, se ven afectados por la ingesta marginal o baja de zinc; de esta forma, las dietas de recuperación de la desnutrición necesitan estar mejor suplementadas con este nutrimento. Una fórmula láctea fortificada con 0.15 mg de zinc/g de fórmula concentrada puede satisfacer estos requerimientos (89).

Profundizando en su estudio, Morgan y sus colaboradores valoraron, (118) en el mismo experimento, las concentraciones del mineral en algunos tejidos, los pesos relativos de diferentes órganos y la composición del músculo, para determinar su sensibilidad a las ingestas bajas o marginales de zinc en los ratones; esto fué dirigido a encontrar algunos indicadores confiables del estado de zinc, que son necesarios para valorar la deficiencia marginal del elemento, muy extendida en las poblaciones humanas. Durante la desnutrición en el animal lactante, las concentraciones del zinc en e hígado fueron muy bajas normalizándose cuando las crías fueron sometidas a las dietas de recuperación, independientemente de la concentración de

zinc en las dietas. La concentración de zinc en el hueso, fué 30% menor en las crías con baja ingesta de zinc y 30% mayor en las crías alimentadas con una dieta alta en zinc, cuando fueron comparadas con los controles. Así, las concentraciones óseas de zinc mostraron una buena correlación con los niveles de zinc en la dieta mientras que las bajas concentraciones de zinc en el hígado se correlacionaron con la desnutrición.

En general, los pesos relativos de los órganos no fueron diferentes, ya que mantuvieron una relación con respecto al peso corporal total, a excepción del cerebro, los riñones y el músculo gastronemio. El peso relativo del cerebro fué mayor en todos los ratones desnutridos que recibieron en la dieta una ingesta baja en zinc y en aquellos machos con una ingesta marginal de zinc, lo que demuestra que el desarrollo cerebral puede ser controlado mas por influencias genéticas que por la dieta. El riñón, por el contrario, mostró bajo peso en las crías desnutridas lactantes y poco desarrollo después de la recuperación con una dieta baja en zinc. El músculo gastronemio mostró muy poco desarrollo en las crías deficientes, mucho menos que los otros tejidos estudiados. La gran susceptibilidad de este órgano a la deficiencia del zinc puede observarse en los ratones desnutridos ya que, aún después de la administración de una cantidad suficiente de zinc, los pesos musculares no se consideraron recuperados.

#### **EL ZINC EN DIARREAS INFANTILES**

Las deficiencias nutricionales de zinc y cobre en niños, han sido asociadas con enfermedades diarreicas en donde se incrementan las

pérdidas fecales de estos elementos. Castillo Durán, Vial y Vany (119), evaluaron el efecto de la suplementación de cobre, durante la diarrea aguda en niños hospitalizados, observando una mejor retención del cobre que del zinc, lo que manifiesta una interferencia significativa en la absorción de zinc y una mayor eliminación fecal debido a la suplementación con cobre, por lo que no recomiendan dicha suplementación durante la fase temprana de la recuperación de la diarrea aguda.

Todos estos estudios muestran la importancia del zinc en las diferentes funciones celulares y la necesidad de mantener un aporte adecuado de zinc en períodos de cambio y crecimiento acelerados, como es el caso de la lactancia. La alta concentración de zinc en el calostro así como la alta biodisponibilidad de zinc en la leche humana enfatizan la importancia de este nutrimento en los primeros días de vida; la posibilidad de que la ingesta de zinc sea baja en niños lactantes, ya sea prematuros o a término, alimentados con leche materna o sustitutos deficientes, hacen necesaria la revaloración de los requerimientos dietarios y de la suplementación materna ya que se corre el riesgo de desarrollar una deficiencia de zinc que impida el desarrollo normal del lactante.



#### **CAPITULO IV. EL ZINC Y LA REPRODUCCION**

## EL ZINC Y LA REPRODUCCION

El zinc es de vital importancia en los procesos de la reproducción y su deficiencia experimental en animales de laboratorio así como la deficiencia observada en humanos, produce una serie de alteraciones relacionadas.

### EFFECTO DEL ZINC EN LA HEMBRA

Los efectos de la deficiencia de zinc en la mujer dependen de la severidad y duración de la deficiencia; en ratas, en conejos y monos se han observado alteraciones en los ciclos estrales, mal desarrollo de los caracteres sexuales secundarios, e infertilidad (120, 121). En mujeres adolescentes se ha observado una asociación inversa entre el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y el consumo de fibra dietaria (lo que aparentemente origina la deficiencia de zinc) (122), y se ha observado que el tratamiento con zinc de mujeres con enanismo y retardo en la maduración sexual es efectivo (121).

Los estrógenos y otras hormonas esteroides secretadas por las gónadas y por las suprarrenales, requieren para desencadenar sus funciones, unirse a sus receptores intracelulares específicos. Una vez que esas moléculas se asocian a su receptor, el complejo es transportado del citoplasma al núcleo donde se enlaza a un segmento específico de ADN y a la RNA polimerasa, una metaloenzima del zinc.

La deficiencia de zinc puede evitar la unión del complejo receptor-hormona al ADN, y así evitar la activación de los genes y por lo consiguiente se pueden desarrollar algunas de las anormalidades endocrinológicas asociadas con esta deficiencia. También puede afectarse directamente la actividad de la RNA polimerasa.

Estos dos aspectos podrían explicar los síntomas de deficiencia de zinc en la hembra, aún cuando sea normal la concentración plasmática de los estrógenos (15).

#### **EL ZINC Y EL SINDROME PREMENSTRUAL**

Mucho se ha discutido que el síndrome premenstrual es debido a deficiencias nutricionales; por ello se valoró (123) el estado nutricional de 38 mujeres con base en las concentraciones plasmáticas de algunas vitaminas y elementos traza (entre ellos el zinc). Estas mujeres sufrían el síndrome premenstrual y no se encontró ninguna evidencia que apoye la hipótesis de que los síntomas premenstruales sean causados por deficiencias nutricionales absolutas o relativas, por lo que se concluye que el síndrome premenstrual no tiene etiología nutricional.

#### **EL ZINC Y LOS ANTICONCEPTIVOS**

El estrógeno (y probablemente la progesterona) contenido en los anticonceptivos orales causan cambios en las concentraciones tisulares de cobre y de zinc en la rata (124). El cobre aumenta en el suero a expensas del cobre hepático, y finalmente se

acumula en el cerebro. El zinc en el hígado disminuye considerablemente, aunque no manifiesta cambios en el plasma ni en el cerebro. Así, se observó que se agotan los almacenes hepáticos de estos elementos, con la acumulación anormal de cobre en el cerebro. Se desconocen las implicaciones metabólicas de estos cambios, si bien se ha demostrado una asociación entre el uso de anticonceptivos orales y una alta incidencia de cáncer osteogénico; en este aspecto, aunque se ha establecido una relación Cu/Zn elevada en pacientes con ciertas malignidades, no se ha demostrado que los niveles séricos de estos elementos sean índices de estas lesiones.

#### **EL ZINC Y EL EMBARAZO**

Durante el embarazo la necesidad del zinc se incrementa en alto grado, debido al alto índice de crecimiento y desarrollo que se experimenta; además, se puede observar un decremento en el aporte dietario debido a la pérdida del apetito y a la presencia de vómitos. La deficiencia de zinc, por lo tanto, es frecuente y con graves consecuencias biológicas y clínicas para la madre y el feto.

#### **VALORES NORMALES DE ZINC EN EL EMBARAZO**

Se observa una disminución en la concentración del zinc circulante la cual empieza tempranamente en el embarazo y continúa hasta el término del mismo (125) por lo que deben obtenerse estándares de zinc en el suero de las mujeres

embarazadas que considere la edad gestacional; a este respecto Lehti (92), indica que el límite más bajo aceptable de zinc sérico es de 0.69 ug/ml en el primer trimestre cayendo hasta 0.59 ug/ml en el tercer trimestre e incrementándose a 0.66 ug/ml en la lactancia.

La declinación de los niveles séricos de zinc durante el embarazo podrían explicarse, al menos en parte, por el incremento gradual (muy marcado en el tercer trimestre) en las concentraciones de corticosteroides en plasma, la cual alcanza niveles dos o tres veces mayores de los encontrados en mujeres no embarazadas. Este incremento conlleva un aumento de estrógenos los que, a su vez, incrementan la ceruloplasmina sérica con lo cual aumenta la concentración de cobre, que como ya sabemos, es antagonista del zinc. Todo esto resulta en una disminución del zinc y un aumento del cobre observados en el transcurso del embarazo (29, 126).

Otros factores responsables de la disminución en la concentración del zinc pueden ser, la hemodilución y un decremento de las proteínas que unen al metal (29, 112).

#### **REQUERIMIENTOS DE ZINC DURANTE EL EMBARAZO**

El requerimiento de zinc durante la última mitad del embarazo humano es cercano a 2.6 mg de zinc absorbido por día. Si se considera una biodisponibilidad del 25%, se requiere ingerir adicionalmente 11 mg/día. Sin embargo, la mujer no incrementa su ingesta de zinc en el embarazo (10 mg/día) lo que representa aproximadamente un 50% de lo recomendado (121, 125, 127), por lo que puede originarse fácilmente, una deficiencia de zinc.

## LA DEFICIENCIA DE ZINC EN EL EMBARAZO

La deficiencia durante el embarazo se manifiesta frecuentemente con el aborto y cuando el producto sobrevive puede afectarse la edad gestacional produciendo niños prematuros o bien postérmino, el parto es difícil y el producto puede presentar malformaciones congénitas que incluyen malformaciones de ojos y del cerebro (defectos en tubo neural, hidrocefalia, exencefalia y anencefalia), puede presentar también paladar hendido, anomalías en el corazón, el pulmón, el sistema urogenital y algunas malformaciones óseas (posiblemente por efectos sobre la calcificación) (15, 25, 120, 121, 125, 128).

Se ha propuesto en las ratas, que los efectos teratogénicos se deben a la baja actividad de la timidin cinasa fetal, lo que afecta la incorporación de timidina al ADN. Cuando la deficiencia de zinc se establece durante el último tercio del embarazo, el tamaño del cerebro de los infantes es menor, con un número menor de células cerebrales totales y pueden presentar fallas en la división celular durante el período crítico de proliferación macroneuronal. Todo esto afecta permanentemente la función cerebral.

Hay que incluir anomalías en el comportamiento como son el efecto en la capacidad de evasión del macho adulto y en la agresividad de las hembras.

La deficiencia de zinc durante los dos primeros tercios del embarazo de la rata produce también efectos adversos sobre la maduración del cerebro y otros tejidos (15, 129).

Standstead y colaboradores (129) estudiaron la deficiencia de zinc en monas Rhesus embarazadas. La deprivación de este elemento entre los días 110 al 150 de la gestación, se manifestó con salpullido, alopecia, anorexia, disminución en la eficiencia alimenticia y baja concentración de zinc plasmático en las madres.

Los infantes mostraron una mayor velocidad de crecimiento postnatal, mayor tiempo de asociación con la madre y menor actividad con respecto a los controles, por lo que este estudio demuestra que la deficiencia de zinc materna en el tercer trimestre del embarazo en primates no humanos, puede dañar la conducta de los descendientes. Esa conducta anormal puede deberse a anomalías cerebrales de los infantes durante el crecimiento rápido y la diferenciación intrauterina del órgano.

Otros estudios demuestran que la deficiencia moderada de zinc durante el tercer trimestre del embarazo en monas (Maccaca mulatta), se manifestó con dermatitis, los fetos fueron pequeños para su edad gestacional y algunos presentaron retardo en el crecimiento (128).

En el humano, los fetos también pueden sufrir efectos teratogénicos por una deficiencia de zinc en la madre.

En mujeres embarazadas con acrodermatitis enteropática se ha observado un aumento en abortos y malformaciones congénitas (130, 131). En mujeres "normales" las bajas concentraciones de zinc plasmático, se asocian con infecciones maternas, anormalidades durante el parto, sangrado atónico, sangrado vaginal,

hipertensión en la madre, malformaciones congénitas, parto prematuro (se ha sugerido que la deficiencia de zinc juega un papel en la iniciación del trabajo en el parto pretérmino), se puede observar también la ruptura prematura de las membranas fetales (132) y los embarazos tardíos (29, 66, 112, 125, 126, 133).

El parto en las mujeres con deficiencia de zinc presenta anomalías que pueden asociarse con alteraciones en el metabolismo de las prostaglandinas (120). La iniciación del trabajo de parto es un proceso complejo activado por prostaglandinas, pero inhibido por la progesterona.

En ratas gestantes deficientes en zinc, la caída en los niveles de progesterona es lenta, lo que puede conducir a un retardo en la iniciación del trabajo de parto.

Además, durante el embarazo, la prostaglandina PGE2 promueve la secreción de relaxina por el útero, lo que es necesario para lograr la dilatación del cervix. La PGE2 junto con la PGF2 activan las contracciones requeridas para la liberación del producto. Se ha demostrado una reducción en los niveles plasmáticos de PGF2 en ratas deficientes en zinc, y una síntesis disminuída en el tejido uterino (121).

Los bebés pueden mostrar retardo del crecimiento intrauterino (133), bajo peso al nacer (112, 134) y se ha propuesto que la deficiencia nutricional materna de zinc puede ser uno de los factores responsables de los defectos del tubo neural en los infantes (135). Se ha relacionado también, la deficiencia moderada de zinc con un retardo en el crecimiento somático (velocidad de crecimiento y maduración ósea) de niños con bajos



niveles séricos de zinc, ya que en ellos se observa un mayor retraso en la edad ósea con respecto a la edad cronológica, menor velocidad de crecimiento (en mm/mes), una menor velocidad de crecimiento con respecto a la velocidad teórica y una edad ósea menor con respecto a niños pequeños con niveles normales de zinc séricos (136).

El daño en el crecimiento por la deficiencia de zinc puede presentarse, también, durante la niñez y la adolescencia. Dependiendo del país, del 5 al 30% de los niños sufren de una deficiencia moderada de zinc, la cual es responsable de una menor talla para la edad. La suplementación con zinc puede ser efectiva inclusive en algunos casos que presentan resistencia al tratamiento con la hormona del crecimiento (134).

Chen y colaboradores observaron que 10 mg diarios de zinc suministrados en una bebida dulce, son suficientes para la prevención y el tratamiento de la deficiencia moderada de zinc en niños preescolares chinos (137).

#### **LA DEFICIENCIA MARGINAL DEL ZINC EN EL EMBARAZO**

Los cálculos del requerimiento de zinc durante el embarazo y el contenido de zinc en las dietas consumidas por mujeres jóvenes, sugieren que muchas mujeres pueden tener una deficiencia marginal de este elemento durante el embarazo, particularmente si el consumo de carne es bajo (129).

A este respecto Golub y su equipo de trabajo (138), observaron que los niveles dietarios de zinc que no producen signos de deficiencia en monas no embarazadas, no lactantes o que se

encuentren en el primer trimestre del embarazo, pueden conducir, en el embarazo avanzado, al síndrome de deficiencia marginal (decremento del 20 al 30% en la concentración plasmática de zinc), o bien a un efecto severo (niveles plasmáticos de zinc menores a 65 ug/dl), mostrando dermatitis, anorexia, anemia, disfunción inmunológica y baja actividad de fosfatasa alcalina en suero.

Golub y colaboradores evaluaron el crecimiento de las crías de monas Rhesus con deficiencia marginal de zinc y observaron que al nacimiento las crías macho mostraron un retardo en el crecimiento mientras que en las hembras el retardo se observó 30 días después. A los tres meses las crías alcanzaron el peso corporal de las crías control y lo mantuvieron hasta los nueve meses de edad, sin embargo se observó un retraso en el crecimiento de los animales durante el primer año de vida. Los niveles de zinc plasmático encontrados, desde el nacimiento hasta los nueve meses fueron bajos, observándose además un incremento en la grasa subcutánea, después del destete. De los nueve a los doce meses, observaron una disminución en la ganancia de peso, asociado con hipoguesia, una menor ingesta de alimentos y pobre eficiencia alimenticia (139).

En otro artículo (35) se observa también, tanto el retardo en el crecimiento como los bajos niveles del zinc plasmático en infantes de monas Rhesus que recibieron dietas marginales de zinc durante el embarazo, observándose además niveles séricos bajos de triacilgliceroles y una baja respuesta a los mitógenos. Esto

permite asociar el crecimiento infantil con el agotamiento de los almacenes tisulares de zinc y se sugiere que las dietas bajas en zinc afectan el potencial genético de crecimiento en los infantes, convirtiendo al zinc en un regulador importante del crecimiento perinatal.

Leek et. al. observaron también en monos Rhesus, que la deficiencia marginal de zinc durante la gestación y el primer año de vida afecta el esqueleto de las crías (140), asociándolo con un retardo en la maduración esquelética y una mineralización defectuosa con características similares al síndrome de raquitismo humano lo cual sugiere que el zinc tienen una participación importante en la formación del hueso.

Investigaciones recientes, en la rata y en el mono, confirman el efecto nocivo que produce la deficiencia marginal de zinc en la madre durante la gestación. La deficiencia se produjo en el periodo en el que se logra la mielinización y la proliferación de las células oligodendrogiales, y la cantidad de mielina aislada de los animales lactantes fué más baja y mostró un porcentaje de proteínas de alto peso molecular significativamente más alto, mientras que el porcentaje de proteínas básicas largas y pequeñas fue más bajo con respecto al grupo control, sin embargo, en ambas especies, no se detectaron signos de deficiencia de zinc en las madres y los neonatos no mostraron malformaciones; al mes postparto, la concentración total de proteínas en el cerebro de las crías no fué diferente a la del grupo control.

Así se demuestra la vulnerabilidad del cerebro durante el periodo perinatal. Las proteínas de la mielina son específicas y de gran

importancia en la formación y estabilización de su estructura; además, su presencia muestra una correlación con la maduración cerebral, por lo que un perfil proteico alterado en la mielina de los infantes, puede ser la causa de las alteraciones en los procesos de mielinización que podrían explicar, en parte, el deterioro que muestra el sistema nervioso central del infante cuando la madre presenta una deficiencia de zinc (141).

#### **DEFICIENCIA MARGINAL: POSIBLES INDICADORES**

Se ha observado que existe una correlación entre la concentración de zinc en el suero materno y el peso de los neonatos (72, 142) y se ha sugerido que existe un umbral de la concentración plasmática de zinc (50 - 60 ug/dl) por debajo de la cual se incrementa la posibilidad de que el neonato presente bajo peso (143). Por esto la concentración del zinc sérico en la madre, podría usarse como un índice que permitiera identificar a aquellas mujeres con riesgo de que sus productos tuvieran bajo peso al nacimiento.

Sin embargo, existe gran controversia al respecto, y se han reportado casos en los cuales no se muestra ninguna relación entre la concentración de zinc en el plasma de las madres y el peso del recién nacido (127, 144, 145). Esto podrá sugerir que el zinc en el suero esta sujeto a una excelente homeostasis, por lo que no pueden demostrarse fácilmente las deficiencias tempranas o marginales de zinc que puedan tener efecto sobre el producto.

Wells y colaboradores (146) mostraron en 70 mujeres, que en el tercer trimestre del embarazo, se presenta una correlación directa entre la concentración de zinc en los leucocitos maternos (aunque no en plasma) y el peso del recién nacido, y sugirieron que la deficiencia de zinc en los leucocitos maternos puede ser un indicador del retardo en el crecimiento intrauterino.

Malhotra y colaboradores han relacionado los niveles placentarios del zinc con el peso del recién nacido (147); demostrando que las placentas de las madres de niños que pesaron más de 3 kg al nacer tenían una concentración media de zinc placentario de 52 ug/g de peso seco, mientras que en las madres de niños con peso menor de 3 kg al nacer, era de 40 ug/g de peso seco.

Se ha mostrado también, una correlación entre el retardo en el crecimiento intrauterino y la concentración de zinc en los leucocitos polimorfonucleares postnatales como una medida del estado de zinc (130).

#### **MECANISMOS BIOQUIMICOS QUE EXPLICAN LOS EFECTOS DE LA DEFICIENCIA DE ZINC**

Aunque se observa una reducción severa en la síntesis de los ácidos nucleicos que se traduce en alteraciones importantes en el grado de diferenciación celular, los mecanismos bioquímicos no son bien conocidos.

Dreosti (65) sugiere que las anormalidades pueden generarse por un incremento en el grado de peroxidación de los lípidos de la membrana celular, lo que resulta en daños graves a la membrana y muerte celular, produciendo una asincronía en el desarrollo. Estos resultados se ven apoyados por las observaciones de otros investigadores (148, 149).

Existe la hipótesis de que una de las lesiones bioquímicas inducida teratógicamente en la deficiencia de zinc puede ser una alteración en la formación de los microtúbulos ocasionado por una falla en la polimerización de la tubulina. Dado que la tubulina tiene múltiples funciones en el metabolismo celular, el daño a este nivel en el tejido embrionario y/o fetal produce graves anormalidades en el desarrollo.

Oteiza y sus colaboradores (64) valoraron esta hipótesis, induciendo la deficiencia de zinc en ratas embarazadas y estudiaron su efecto sobre la polimerización de la tubulina.

Los fetos de 19 días mostraron bajas concentraciones de zinc en los sobrenadantes del cerebro y una baja polimerización de la tubulina cuando se comparó con los controles, sin embargo la concentración de proteínas y tubulina en los sobrenadantes, fué similar en los fetos deficientes y en los controles. Además, se estudió el efecto de la adición de zinc a los sobrenadantes cerebrales fetales, observándose un incremento en la polimerización de la tubulina, efecto que fue más notable en los fetos deficientes que en los controles.

Todos estos resultados muestran que como resultado de la deficiencia de zinc en el feto, se observa una drástica reducción

en el grado o velocidad de polimerización de tubulina, sin descartar la posibilidad de que este efecto pudiera involucrar a las proteínas asociadas con la tubulina o a otros factores que regulen la polimerización, puesto que la concentración de la tubulina no se ve afectada, y el zinc incrementa la velocidad de polimerización.

La deficiencia de zinc reduce, en el cerebro, la actividad de varias enzimas entre esas la timidina cinasa, la fosforilasa de nucleótidos 2'-3' cíclicos, la deshidrogenasa láctica y la 1-glutamato deshidrogenasa, lo que puede detener la multiplicación celular en un periodo crucial de la morfogénesis (121).

El zinc también puede afectar el crecimiento por medio de las hormonas. La hormona del crecimiento es un polipéptido secretado por la glándula pituitaria anterior por el efecto de un factor liberador hipotalámico. Esta secreción se evita por la somatostatina y por un retrocontrol negativo de las somatomedinas sobre el hipotálamo.

La deficiencia de zinc disminuye la secreción de la hormona del crecimiento, y la suplementación con el elemento aumenta los niveles séricos de la hormona y, por lo tanto, el crecimiento.

Ahora bien, la hormona del crecimiento actúa induciendo, principalmente en el hígado, la síntesis de los factores de crecimiento parecidos a la insulina (IGF1 y IGF2), que estimulan el crecimiento del cartílago incrementando la síntesis de ARN y ADN, la incorporación de sulfato en los proteoglicanos y la incorporación de prolina en la colágena; además, muestra una

acción sobre el tejido adiposo y el músculo, similar a la de la insulina, estimulando la multiplicación celular.

La deficiencia de zinc en la rata produce una caída en los niveles de IGF1, lo que se ha sugerido como la causa del daño en el crecimiento ya que el efecto persiste aún con la inyección de la hormona del crecimiento, pero desaparece al suplementar con zinc (134).

El zinc puede participar, también, en un mecanismo de expresión genética en el cual se producen proteínas específicas llamadas "dedos del zinc"; una de las cuales, la Egr-1 interviene en la proliferación y diferenciación de los fibroblastos y las células epiteliales (15, 121).

#### **EL ZINC Y EL ETANOL**

La exposición prenatal al etanol causa el llamado síndrome de alcohol fetal: retardo del crecimiento pre y post natal y anomalías del sistema nervioso central, que se reflejan por incapacidades sicomotoras y mentales (150) y una dismorfología característica. Si bien se desconoce como se producen esos efectos, se sabe que el etanol, bajo ciertas condiciones, altera el metabolismo de los aminoácidos azufrados, de la metalotioneína y del zinc. Se ha propuesto que una causa del síndrome, es una alteración en el metabolismo del zinc, pues se ha observado que tanto en la deficiencia del zinc como en la exposición al etanol se presentan algunos síntomas comunes.



Para determinar si el etanol altera el metabolismo del zinc induciendo la metalotioneína, trastornando con ello la transferencia normal del zinc de la madre al feto, Harris realizó un estudio en ratas que habían recibido etanol crónicamente. Los resultados mostraron que el etanol no induce la metalotioneína hepática ni afecta que el feto obtenga una concentración de zinc hepática similar al de las ratas control (151).

Sin embargo, aunque se desconocen los mecanismos por los cuales se manifiesta el síndrome de alcohol fetal, hay evidencia que muestra que el zinc juega un papel importante en su patogénesis, ya que este síndrome se manifiesta cuando los niveles plasmáticos del zinc materno son bajos y los niveles del zinc en el plasma de los infantes se mantienen bajos por su excreción urinaria. Estudios experimentales y epidemiológicos muestran que la deficiencia de zinc se asocia con el retardo de crecimiento fetal y algunos defectos del desarrollo; mas aún, la alcohol deshidrogenasa es una metaloenzima dependiente del zinc y en la deficiencia de este elemento baja su actividad y por lo tanto su capacidad de eliminar el alcohol.

De cualquier forma se requiere de estudios para esclarecer el mecanismo por el cual se dan los efectos teratogénicos del alcohol y poder buscar una solución terapéutica apropiada para mujeres alcohólicas embarazadas (152).

En el cerebro de los mamíferos la concentración más alta de zinc se encuentra en el sistema de fibras musgosas del hipocampo y en la corteza cerebral. Aproximadamente el 25% del zinc localizado

en este sistema está débilmente unido por lo que se ha sugerido que esta fracción se recambia constantemente con la sangre (15). Es en el hipocampo donde alcanza el etanol los niveles máximos, y es ahí donde se han observado pérdidas neuronales importantes, una distribución anormal de fibras musgosas e inmadurez enzimática. En los casos en los que el etanol ya ha logrado afectar la formación de neuronas y la producción de factores neurotróficos, la suplementación con zinc produce un incremento importante en las ramificaciones dendríticas, un aumento en el contenido de proteínas y por lo tanto, un mayor peso del órgano. Sin embargo, los efectos de la suplementación son limitados y nunca alcanzan los niveles sin etanol, por lo que se ha sugerido que la deficiencia de zinc actúa como un coteratógeno de acción sinérgica.

En la rata, la exposición prenatal al etanol puede causar profundas aberraciones en el crecimiento y la maduración del sistema nervioso central, conduciendo a una gran variedad de desórdenes conductuales o neurobiológicos sutiles (como sería la deficiencia en el aprendizaje) (153), que pueden presentarse aún en ausencia de daños morfológicos o neurológicos gruesos, como es el caso de la formación del hipocampo.

Se ha observado, que deficiencias nutricionales de zinc durante el desarrollo cerebral, afectan al sistema nervioso central y periférico, lo que se manifiesta con desórdenes neuroconductuales relacionados con el aprendizaje, la memoria y la estabilidad emocional lo que puede reflejar una función anormal de las estructuras del hipocampo ricas en zinc (15). Se ha observado, también, que la deficiencia de zinc disminuye la capacidad de

generar la llamada potenciación de largo plazo del hipocampo (154), la que resulta muy importante en la consolidación de la memoria, por lo que una falla en el proceso produce deficiencias en el aprendizaje.

En la formación del hipocampo, la fibra de proyección musgosa celular es rica en elementos traza y el zinc parece ser el elemento principal y se localiza en las terminales fibrosas, aunque su función aún se desconoce. Savage, et. al. (155), estudió los efectos a largo plazo que produce la exposición prenatal al etanol, sobre la fibra musgosa del hipocampo de la rata. Los resultados muestran que la exposición repetida a niveles relativamente bajos de etanol en el útero produce a las 6.5 semanas de nacimiento (edad a la cual la migración y maduración de la fibra es completa) una marcada reducción en la concentración de zinc en la fibra de proyección musgosa, sin cambios morfológicos aparentes, y sin cambios en alguno de los índices de la nutrición corporal total como son el peso seco de los tejidos o las concentraciones tisulares de zinc, y concluye que la exposición prenatal al etanol produce efectos sutiles a largo plazo en la formación del hipocampo, lo que puede deberse, al menos en parte, a una disminución en la capacidad de las fibras musgosas terminales del feto para mantener el zinc almacenado.

#### **EL ZINC Y LAS MADRES DIABÉTICAS**

Uriu-Hare (156) y su equipo de trabajo observaron que tanto en las madres deficientes en zinc como en las madres diabéticas se

observan efectos teratogénicos semejantes del sistema nervioso entre ellos la anencefalia y una alta incidencia de anomalías de la espina como la es la espina bífida. Observaron, además, que la diabetes no solo se manifiesta con trastornos del metabolismo energético sino también con errores en el metabolismo de los minerales traza (147); por eso decidieron estudiar en ratas hechas diabéticas con estreptozotocina, la concentración de algunos minerales en los tejidos de la madre y del feto. A los veinte días de gestación, la cesárea mostró que los fetos de las ratas diabéticas tenían un peso menor, una menor longitud de sus huesos largos y una placenta más larga que los fetos de las ratas control.

En las madres diabéticas, el contenido de zinc en el suero, el hígado y el riñón fue mayor que en las ratas no diabéticas; en contraste el hígado de las crías de las ratas diabéticas mostró niveles de zinc mucho más bajos que los órganos de los fetos de las ratas control. Por esto, se sugiere que la diabetes puede inducir una deficiencia fetal de zinc y que esta deficiencia puede ser uno de los mecanismos teratogénicos de la diabetes.

Este grupo profundizó en sus estudios (157) para investigar como influye la variación de zinc en la dieta sobre la expresión de la teratogenicidad inducida por diabetes. De esta forma las ratas diabéticas y no diabéticas (controles) fueron alimentadas con dietas bajas, adecuadas o altas en zinc desde el primer día del embarazo hasta el día veinte de la gestación cuando realizaron la cesárea. Observaron que los fetos de las ratas diabéticas fueron más pequeños, con menor peso, menor calcificación esquelética y

mayor frecuencia de malformaciones que en los fetos de las ratas control. También observaron, que en los fetos de las ratas no diabéticas, la variación en la ingesta dietaria de zinc tuvo poca influencia sobre la frecuencia de la teratogenicidad, mientras que en los fetos de las ratas diabéticas, la dieta baja en zinc mostró efectos teratogénicos dramáticos y tanto la dieta adecuada como la dieta alta en zinc mejoraron la longitud y el peso de los fetos (curiosamente más que en los fetos control), sin embargo, no lograron mejorar la frecuencia de las malformaciones (ausencia de rabo y extremidades, paladar hendido y mala calcificación ósea, entre otras).

Los resultados mostraron, además, que las concentraciones de zinc, cobre y metalotioneína en el hígado y el riñón maternos, fueron mayores en las ratas diabéticas que en las ratas control. Por el contrario, en el hígado de los fetos, las concentraciones fueron más bajas en los fetos de madres diabéticas que en los de las ratas control. Estos resultados, como los obtenidos en la investigación anterior, sugieren que la diabetes altera el transporte de zinc y cobre a través de la placenta y/o altera la retención de estos elementos por los fetos de las ratas, independientemente de los niveles de zinc que ingiera la madre, lo que contribuye a la expresión de los efectos teratogénicos.

Borella et. al. en 1990 observaron un incremento en el zinc plasmático de mujeres embarazadas que mostraron diabetes o retardo en el crecimiento intrauterino, probablemente como resultado de una reducción de zinc en el feto (158).

#### **EL ZINC Y LA VITAMINA D**

Se ha observado que el zinc tiene un efecto estimulante sobre el crecimiento y la mineralización óseos en ratas destetadas y que la vitamina 1, 25 dihidroxi D3 promueve la formación y mineralización ósea. Yamaguchi y Oishi (159), estudiaron la posible interacción de la 1, 25 dihidroxi D3 y el zinc sobre el metabolismo del hueso de ratas machos de 3 semanas de edad cultivado en presencia de la dihidroxivitamina, observando que el calcio óseo, los esteroides, la actividad de la fosfatasa alcalina, la incorporación de leucina tritiada al hueso y aún más, el ADN óseo, se incrementaron en forma significativa; además, la presencia de zinc, amplificó significativamente el efecto de la dihidroxivitamina principalmente sobre la actividad de la fosfatasa alcalina y el contenido de ADN del hueso de la rata. De esta forma se demuestra que la vitamina 1, 25 dihidroxi D3 tiene un efecto directo sobre el metabolismo óseo en cultivo de tejidos y que el zinc puede amplificar el efecto, sugiriéndose que este elemento tiene importancia fisiológica en la formación ósea, por estimular la síntesis de proteínas que como consecuencia, afecta la proliferación celular en el hueso y eleva el contenido de ADN.

#### **EL ZINC Y EL CADMIO**

Se sabe que el cadmio produce una serie de efectos en la reproducción de los animales expuestos como es el daño en la implantación en los roedores, la disminución en el número de

crías de la camada, retardo en el crecimiento fetal y malformaciones congénitas.

El mecanismo de la fetotoxicidad del cadmio no es bien conocido, pero se cree que puede ser mediado por una alteración en el metabolismo del zinc, ya que dichas alteraciones pueden ser prevenidas por la administración de zinc durante el embarazo. Además, estudios realizados en humanos sugieren que un incremento en la concentración de cadmio en la sangre se asocia con una disminución en el peso del recién nacido y una baja concentración de zinc en el cordón umbilical.

Esto sugiere que la exposición al cadmio durante el embarazo produce una deficiencia en la concentración fetal de zinc, por lo que Sorell y Graziano estudiaron el efecto que se produce en ratas embarazadas que recibieron diferentes cantidades de cadmio durante el embarazo (69). Estas ratas recibieron desde el día seis hasta el día veinte del embarazo 0, 5, 50 y 100 ppm de cadmio en el agua que tomaban, y fueron sacrificadas el día veinte del embarazo. La menor ganancia de peso materno fue obtenida en los animales que recibieron entre 50 y 100 ppm de Cd, observándose la acumulación de cadmio en el hígado, la sangre, el páncreas, el timo, el corazón, la placenta, el riñón y los huesos. Observaron también, concentraciones elevadas de zinc en el hígado y los riñones pero las concentraciones en la placenta y el feto eran bajas. El feto también acumula cadmio (aunque menos que la madre) y las concentraciones de zinc disminuyen considerablemente, observándose una correlación negativa entre el zinc y el cadmio fetal, lo que sugiere que la exposición al cadmio afecta específicamente la disponibilidad del zinc. Todo

esto parece indicar que la exposición materna al cadmio disminuye el peso del recién nacido como consecuencia de la privación de zinc fetal y/o de la acumulación de cadmio, ya que, aunque la placenta es una buena barrera para el cadmio (como lo indica la mayor acumulación en la madre que en el feto), no es una barrera completa.

#### **LA SUPLEMENTACION CON ZINC DURANTE EL EMBARAZO**

Con base en los antecedentes escritos en los párrafos anteriores, surge la posibilidad de utilizar suplementos de zinc para asegurar un nivel adecuado en el organismo de la mujer embarazada; sin embargo, se ha demostrado que en mujeres embarazadas con un estado nutricional medianamente adecuado, la suplementación con zinc no produce ningún efecto benéfico (130, 147, 160), y aunque el zinc es considerado no tóxico, se ha sugerido que un suplemento entre 15 y 100 mg por día, interfiere con la utilización de cobre y hierro, y produce además, una disminución en los niveles de colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) e incrementa el colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (74).

Sin embargo, en mujeres con riesgo de tener niños pequeños para su edad gestacional, un suplemento diario de 22.5 mg de zinc redujo significativamente la incidencia de retardo del crecimiento intrauterino y mejoró la labor de parto y la salud fetal (133). Se requieren más estudios que puedan confirmar la bondad de una suplementación selectiva del zinc durante el



embarazo (al menos en los embarazos de alto riesgo: anomalías congénitas, madres alcohólicas y dietas pobres combinadas con algunos factores que inhiban la absorción intestinal) (112).

Otros autores apoyan la suplementación de zinc durante el embarazo ya que mejoran los niveles plasmáticos de zinc en las madres (161, 162), reducen la frecuencia de complicaciones materno-fetales tanto en el embarazo como en el trabajo de parto como son hipotrofia, trabajo pre o postérmino, la separación prematura de la placenta, sangrado vaginal y malformaciones fetales (especialmente neurológicas) (31). La suplementación con zinc también aumenta la velocidad de ganancia de peso en infantes con el síndrome de "falta para prosperar" (110, 163). Kynast y Saling (31), confirman la eficiencia profiláctica del suplemento de aspartato de zinc durante el embarazo, indicando que es bien tolerado y aceptado y no causa efectos colaterales. Siendo el zinc un elemento importante con efectos protectores sobre el crecimiento fetal y el desarrollo del embarazo, se le ha recomendado en el 2o y 3er trimestre del mismo. La dosis efectiva cae entre 20 y 40 mg de zinc al día (121).

Las adolescentes embarazadas representan una población de alto riesgo pues pueden presentar grandes deficiencias nutricionales; el zinc es uno de los nutrientes que más frecuentemente se limita en sus dietas (164). Factores como fuentes económicas limitadas, fallas educacionales, una selección inapropiada de los alimentos y los altos requerimientos de zinc para el crecimiento de la propia adolescente (que puede desarrollar una competencia entre la madre y el feto por el elemento), pueden ser las causas

del estado deficiente de zinc. En estas muchachas, la suplementación con zinc se ha asociado con una reducción en la prematuridad, un incremento en el tiempo de gestación a 28 semanas, una menor morbilidad neonatal y una menor necesidad de atención a los infantes que, además, muestran un mayor peso neonatal (165).

#### **EL ZINC Y EL ACIDO FOLICO**

La deficiencia de zinc produce efectos adversos en el metabolismo del ácido fólico como son la absorción del folilpoliglutamato y una reducción en la concentración del folato tanto en el hígado como en la sangre completa y el plasma; por esto, Quinn y colaboradores (23) investigaron la posibilidad de que, la suplementación con ácido pteroilmonoglutámico pudiese aliviar la teratogénesis en ratas embarazadas con deficiencia de zinc.

La carencia de zinc produjo reabsorción fetal, retardo del crecimiento fetal, bajas concentraciones de zinc en el plasma y en la tibia de la madre y del feto y una reducción en la concentración del folato plasmático en la madre; todos estos efectos mostraron correlación con una disminución en el número de las crías por camada y del peso neonatal.

La suplementación con ácido pteroilmonoglutámico incrementó las concentraciones maternas de folato plasmático, pero no redujo la alta incidencia de teratogénesis que mostraron las ratas deficientes de zinc e inclusive pudo potenciarla, pues se demostró un incremento importante en la frecuencia del paladar hendido y de anomalías cerebrales o meníngeas, sin observar algún efecto sobre la nutrición del zinc en la madre o el feto.

La falla de la suplementación con folato para reducir la teratogenicidad puede indicar que en las ratas deficientes de zinc no hay deficiencia de ácido fólico sino que el metabolismo de este se encuentra alterado (por ejemplo, por falta o falla de una enzima), haciendo ineficiente el suplemento.

Quinn y colaboradores sugieren que la gama-glutamil hidrolasa requiere del zinc para su activación, por lo que la deficiencia del elemento disminuye su actividad; en contraste, la actividad de la metionina sintetasa se incrementa en la deficiencia de zinc; ambas enzimas son reguladoras importantes de la distribución en los tejidos del folato. Se propone que durante el ciclo estrogénico en la rata, la enzima gama-glutamil hidrolasa controla la división celular uterina regulando la longitud de la cadena lateral gama-glutamil, sugiriendo que la longitud de la cadena determina la proporción de la inhibición pues estimula la forma activa del folato y por lo tanto el crecimiento tisular y la diferenciación.

La falla del ácido pteroilmonoglutámico suplementado puede ser explicada por una falla en la conversión de la vitamina a la forma metabólicamente activa. De cualquier forma, el ácido pteroilmonoglutámico es incapaz de reducir el efecto teratogénico de la deficiencia de zinc, e inclusive lo puede potenciar.

#### **LA DIETA VEGETARIANA Y LA MUJER EMBARAZADA**

Se han realizado estudios que intentan prevenir una situación deficiente de zinc en las mujeres embarazadas; King, Stein y Doyle (73) estudiaron el efecto de las dietas vegetarianas sobre

el nivel del zinc en el plasma, el cabello y la orina de mujeres embarazadas, observando que los niveles de zinc fueron similares a los del grupo no vegetariano, y aunque existió un mayor porcentaje de fibra en la dieta de las primeras, esto no pareció afectar el estado de zinc. Se confirma que el nivel de zinc plasmático en las mujeres embarazadas es 21% menor que en las mujeres no embarazadas. De cualquier forma, los datos obtenidos sugieren que el embarazo, más que los hábitos dietarios afectan el estado de zinc.

#### FACTORES DIETARIOS EN EL EMBARAZO

Ya que es importante la nutrición materna de zinc durante el embarazo, es importante también identificar los factores fisiológicos y dietarios que pueden afectar los niveles de zinc en este periodo.

#### HIERRO

Las preparaciones multivitamínicas prenatales, tan populares en la etapa del embarazo, contienen comunmente hierro, el cual puede deprimir en forma importante las concentraciones séricas prenatales de zinc, probablemente por una competencia entre los dos elementos en la absorción intestinal, relación antagónica que es de gran importancia en estos periodos de rápido crecimiento y desarrollo; se han reportado bajas concentraciones séricas de zinc en infantes entre 12 y 16 semanas de edad, alimentados con fórmulas suplementadas con hierro (166) así como en mujeres embarazadas suplementadas con este metal (22, 167, 168).

Se ha propuesto que el hierro afecta el recambio de zinc tanto en primates embarazadas como en lactantes, si están nutridos con dietas bajas en zinc (166), y que también afecta la retención del zinc en la rata (22). Por otro lado, algunos estudios sugieren que la suplementación con hierro en concentraciones menores de 60 mg/día, durante el embarazo, no tienen ningún efecto sobre la concentración sérica de zinc en poblaciones adultas (169). Sin embargo, la edad materna puede ser un factor importante para establecer la dosis de suplementación, por ejemplo, una suplementación con 18 mg/día de hierro (aproximadamente la mitad de la dosis recomendada), disminuyó la concentración sérica de zinc en adolescentes embarazadas, por lo que, si a este grupo se le administra un suplemento de hierro, este debe ser acompañado con un suplemento de zinc (170).

#### CALCIO

Se sabe que la ingesta de hierro, folato y calcio en alta concentración reducen la absorción del zinc de la dieta, por lo que su suplementación durante el embarazo puede tener efectos adversos sobre la absorción del zinc, por otro lado, dietas que contienen zinc en altas concentraciones, reducen la deposición de calcio en el hueso y la acumulación de hierro fetal; esto indica que se debe ser cauteloso con la suplementación mineral durante el embarazo, sobre todo para conservar las proporciones de los minerales adecuadas (22).

Se ha observado una disminución de los efectos teratogénicos causados por la deficiencia de zinc, en ratas deficientes de

calcio. Las ratas alimentadas con dietas deficientes en zinc y calcio, durante el embarazo, tuvieron crías más grandes, con menos malformaciones y con menos reabsorciones, si se compara con ratas alimentadas con una dieta deficiente solamente en zinc, ya que las dietas bajas en calcio, aumentaron la liberación de calcio óseo y también de zinc; esto tienen un efecto negativo en la madre, ya que disminuye su concentración de zinc y calcio en el hueso, pudiendo ocasionar su fractura (171).

#### **MECANISMOS DE ADAPTACION EN EL EMBARAZO**

En algunos casos no se observa ninguna manifestación que muestre la deficiencia de zinc durante el embarazo (127), por lo que se sugiere que la madre presenta algunas adaptaciones en su metabolismo que le permiten satisfacer sus necesidades (26, 166); adaptaciones que pueden incluir un incremento en la absorción del zinc, una reducción en la pérdida del zinc endógeno, una mayor retención del elemento, la redistribución del zinc tisular y una transferencia materno-fetal muy eficiente. Además, los infantes mantienen un balance positivo de zinc en caso de una baja ingesta, incrementando la eficiencia de la absorción del zinc de la dieta y disminuyendo la pérdida del zinc endógeno (26, 35).

## **EL ZINC Y EL HOMBRE**

La deficiencia de zinc causa retardo en el crecimiento y atrofia testicular en los animales de laboratorio; en la rata se ha observado retardo en el desarrollo de la pituitaria, del epidídimo, la próstata y los testículos, mostrando atrofia del epitelio germinal (11, 15, 121).

En el hombre, la deficiencia de zinc afecta la espermatogénesis y el desarrollo de los órganos sexuales (50, 172). El zinc, secretado por la próstata humana parece ser indispensable para el desarrollo testicular, la espermatogénesis y la motilidad espermática. Se ha sugerido que este elemento tiene actividad antibacteriana y además, ya que inhibe las DNAsas, que evita la degradación de los espermatozoides (173, 174).

### **INFLUENCIA DEL ZINC EN EL DESARROLLO SEXUAL**

Se ha observado que una deficiencia de zinc produce en niños retardo tanto en su crecimiento como en su desarrollo sexual (175, 176). Aún más, se ha demostrado que la deficiencia de zinc produce una disfunción gonadal reversible en algunas enfermedades como son: la anemia de células enfermas, la uremia (49), el alcoholismo crónico y en la esterilidad masculina idiopática (51). En hombres que muestran hipogonadismo, la suplementación con zinc restaura el desarrollo sexual normal, eleva los niveles de testosterona plasmática y mejora la cuenta espermática, (lo

que abre nuevas perspectivas en el tratamiento de algunos tipos de oligospermia) (49, 51).

Se ha sugerido que el hipogonadismo masculino puede basarse al menos en dos mecanismos: en un daño en la acción del Factor de Inhibición Mulleriano, necesario para la diferenciación testicular y en una alteración en la síntesis y/o actividad de la testosterona (121).

#### **EL ZINC Y LA TESTOSTERONA**

La testosterona y algunos andrógenos sintéticos estimulan el crecimiento lineal en jóvenes y promueven el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios. Castro Magana y colaboradores (48) sugieren que la testosterona incrementa la absorción intestinal del zinc. Observaron que, tanto en muchachos con retardo constitucional del crecimiento como en muchachos con corta estatura familiar (grupos que muestran bajos niveles de zinc, especialmente los primeros), existe una correlación entre el desarrollo de los genitales y la concentración de zinc tanto en el suero como en el pelo, y establecieron una relación lineal entre los niveles de zinc y las concentraciones séricas de testosterona (hasta 250 ng/dl).

Además, observaron que la administración de metil testosterona eleva la concentración de zinc en el suero y en el pelo, especialmente de jóvenes con retraso constitucional del crecimiento y concluyeron que, un incremento en la producción endógena o el suministro de testosterona está asociado con un



incremento en los niveles de zinc, lo que implica que la testosterona desempeña un importante papel en el metabolismo del zinc.

Finalmente, sugieren que la deficiencia relativa de testosterona y el hipogonadotropismo visto en el retardo constitucional del crecimiento, puede resultar en una disminución de los niveles de zinc, lo que a su vez causa un retardo posterior en la aparición de los caracteres sexuales secundarios y un mayor retardo en el crecimiento.

Otras observaciones que apoyan la relación positiva entre la testosterona y el zinc son: las altas concentraciones de zinc en el tracto genital masculino, y el incremento de la concentración de zinc en la glándula prostática después de la administración de testosterona y los decrementos en los niveles de zinc y testosterona, dependientes de la edad.

Por otro lado, se ha sugerido que el zinc influye en el metabolismo de la testosterona, ya que el hipogonadismo es una característica de la deficiencia de zinc (50) y que la administración de zinc produce un incremento en los niveles de testosterona (49, 51). La deficiencia de zinc se ha asociado con una respuesta exagerada de las hormonas folículo estimulante y luteinizante a la administración de la Hormona Liberadora de Gonadotropinas y con una reducción importante de los niveles de testosterona sérico y testicular (172, 174, 177). Todo esto apoya fuertemente la idea de que el hipogonadismo asociado con la deficiencia de zinc se produce por alteraciones de la esteroidogénesis testicular u otras fallas en las células de Leydig. Además, el receptor nuclear de la testosterona, como el

de otras hormonas esteroides, es una proteína con "dedos" de zinc, y este elemento es necesario para el correcto funcionamiento del receptor de la próstata (121).

#### **EL ZINC Y LA FERTILIDAD MASCULINA**

El nivel de zinc en el plasma seminal puede ser un indicador de infertilidad masculina, ya que se ha observado que la concentración de zinc en hombres infértiles, es mucho más baja que en hombres fértiles (1237.7  $\mu\text{mol/L}$  y 2118.5  $\mu\text{mol/L}$  respectivamente) (173, 178). Recientemente, Heidel y Schill sugirieron el uso del zinc como terapia empírica contra la infertilidad masculina (179).

En la eyaculación normal, la mayoría del esperma es expelido en las primeras fracciones, junto con el fluido prostático, rico en zinc; las últimas fracciones contienen principalmente la secreción de las vesículas seminales (180).

La principal función de la próstata es la secreción de un fluido al cual corresponde cerca de una tercera parte del plasma seminal. La secreción prostática tiene altos niveles de zinc (libre o como citrato), ácido cítrico y fosfatasa ácida fuertemente interrelacionados y que determinan el pH de la secreción. De esta forma, los niveles de zinc pueden servir como índices de la función secretora de la próstata y pueden dar evidencia objetiva de alguna falla glandular. Se ha demostrado que los niveles de zinc son dependientes de los andrógeno, ya que

se ha observado en primates que, después de la castración, se presenta una caída dramática en la concentración de zinc en la secreción de la próstata. En el humano se ha observado un incremento en el contenido de zinc de la próstata, después de la pubertad (181).

Se ha observado que en la deficiencia de zinc, disminuye el volumen seminal, sin embargo, la concentración seminal de zinc se mantiene constante (174); el hecho de que el zinc corporal total sea parcialmente conservado por reducción en el volumen seminal y no por reducción en la concentración muestra la importancia de este elemento en la fisiología del semen.

Normalmente, la mayor parte de los espermatozoides es eyaculada junto con el fluido prostático ácido, muy rico en citrato de zinc, en sus primeras fracciones expelidas. Las fracciones posteriores, contienen principalmente fluido vesicular alcalino, rico en frutosa y ligandos de zinc de alto peso molecular; el esperma expelido junto con el fluido prostático es rico en zinc y tiene una alta estabilidad de cromatina, mientras que la dilución posterior del semen baja el contenido de zinc y la estabilidad de la cromatina (180, 182); esto quiere decir que el esperma expuesto al líquido de la vesícula seminal muestra un decremento en la estabilidad de cromatina.

Los espermatozoides humanos son muy ricos en zinc; el elemento es incorporado dentro de los espermatozoides de mamíferos durante las últimas fases de la diferenciación de esperma. Estudios

realizados por Kvist y Bjordahl (183), muestran que el zinc estabiliza la cromatina de esperma humano (15, 182), por lo que una insuficiente cantidad de este elemento en el núcleo, reduce el potencial de fertilización del espermatozoide (173). Una evidencia indirecta de la importancia del zinc localizado en el núcleo de los espermatozoides, para la fertilidad masculina, es que en hombres infértiles se encuentra un bajo contenido de zinc nuclear y por lo tanto una estabilidad reducida de la cromatina (184).

En un estudio hecho por Bjordahl y Kvist (185) se concluye que el contenido de zinc de la cromatina espermática puede ser disminuido por la presencia de ligandos de zinc, cuyo origen es la vesícula seminal o por una contribución anormalmente alta de fluido de la vesícula seminal a las primeras fracciones del eyaculado, las cuales son ricas en espermatozoides.

El mecanismo propuesto es que las vesículas seminales secretan ligandos con alta afinidad por el zinc, los cuales, al enlazarlo, pueden disminuir la fracción disponible para interactuar con la cromatina, o bien, el fluido vesicular seminal puede cambiar la biodisponibilidad del zinc enlazado a citrato al aumentar el pH seminal, ya que el citrato puede unir más el zinc al aumentar el pH.

De cualquier forma, el cociente molar fructosa:zinc y el zinc ligado a compuestos de alto peso molecular, pueden usarse como una medida de la disponibilidad de zinc en el plasma seminal y por consiguiente, de la estabilidad de la cromatina del espermatozoide (180).

Ahora, para la transferencia del genoma masculino es esencial que el estado condensado de la cromatina se conserve hasta el momento adecuado y el zinc ayuda a preservar este estado, disminuyendo la vulnerabilidad de la cromatina durante la transferencia al óvulo. Esto puede ser relevante en aquellos casos de infertilidad en los cuales el esperma es eyaculado predominantemente con fluido vesicular seminal.

De la misma forma, la combinación de algunos componentes del citoplasma del óvulo con el zinc del espermatozoide podrían facilitar la descondensación de la cromatina del espermatozoide; la disminución de la concentración intracelular de zinc desestabiliza la membrana espermática y activa a la fosfolipasa A2, indispensable para que ocurran los cambios en la permeabilidad de la membrana durante el proceso de la reacción acrosomal, necesaria para la fertilización (186).

#### **EL ZINC Y LA MOTILIDAD ESPERMÁTICA**

Las secreciones de las glándulas sexuales accesorias pueden tener una influencia directa sobre la motilidad del esperma eyaculado; la relación fructosa:zinc parece correlacionarse negativamente con la motilidad espermática, o sea que un aumento en la secreción de la vesícula seminal, afecta adversamente la motilidad de los espermatozoides eyaculados (187). Por otro lado, se ha propuesto que altos niveles de zinc en el plasma seminal afectan adversamente la motilidad y la morfología de los espermatozoides. Carrera y Mendoza (173) mostraron una correlación negativa entre el porcentaje de espermatozoides con

motilidad progresiva normal y las concentraciones de zinc en el plasma seminal, lo que les sugiere que el ión zinc influye sobre la motilidad espermática. Existe controversia en este punto, ya que se han observado incrementos en la motilidad espermática en el epidídimo de perro después de la adición de diferentes concentraciones de zinc al medio de cultivo; en contraste, hombres con bajos contenidos de zinc en el plasma seminal no fueron astenozoospermicos, lo que puede indicar que no son indispensables las altas concentraciones de zinc para una motilidad espermática satisfactoria y que, de hecho, se requieren bajos niveles de zinc para mantener la motilidad espermática (173).

**CAPITULO V. CUANTIFICACION DEL ZINC EN MUESTRAS BIOLÓGICAS POR  
ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

## DETERMINACION DEL ZINC EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

La determinación de que el zinc es esencial para el organismo humano ha sido producto de una gran variedad de métodos que han permitido medir las concentraciones del zinc en muestras biológicas. La mayoría de esas técnicas son espectroscópicas (188, 189); por ejemplo, algunos métodos se basan en la formación de quelatos del zinc que muestran absorción en el rango visible o ultravioleta del espectro electromagnético. Otro método es la fluorescencia de rayos X que mide la intensidad de un tipo específico de rayos X emitidos por los átomos de zinc que son expuestos a la fuente de rayos X.

También se emplea la activación neutrónica la cual transforma los isótopos estables del zinc, contenidos en las muestras biológicas, en isótopos radiactivos los cuales decaen con una emisión gama característica.

Estos métodos, junto con la espectroscopía atómica, la cual se describe enseguida, proveen de una gran flexibilidad en cuanto a límites de detección, intervalo de concentración lineal, costo, etc., de acuerdo a las necesidades del estudio y al sitio en donde se lleve a cabo (190, 191).

### 1. ESPECTROSCOPIA ATÓMICA

Para explicar estos métodos, es necesario remontarnos a la estructura del átomo propuesta por Bohr. Un átomo está compuesto, para propósitos prácticos, por un núcleo positivo rodeado de un número específico de electrones que ocupan posiciones orbitales en forma predecible y ordenada, lo que se conoce como configuración. La configuración de menor energía, (aquella en la



cual los electrones están lo más cerca posible del núcleo), es la más estable y se denomina "estado fundamental".

Si a un átomo en "estado fundamental" se le aplica energía de una magnitud apropiada, ésta será absorbida por el átomo e inducirá que el electrón exterior sea promovido a un orbital de mayor energía (más externo), pasando a un "estado excitado"; la energía absorbida es, por lo tanto, proporcional a la cantidad de átomos presentes y su longitud de onda debe ser característica para cada tipo de átomo.

Por otro lado, el "estado excitado" es inestable y el átomo espontáneamente retorna a su "estado fundamental", liberando en forma de energía radiante, de una longitud de onda característica, la energía absorbida. La intensidad de la energía emitida será proporcional a la cantidad de átomos presentes (192, 193).

Como se observa, hay dos tipos de energía que se relacionan directamente con la concentración de átomos en una muestra: la energía absorbida durante la excitación y la emitida en el decaimiento. Ambos conceptos se utilizan en los diferentes métodos de espectrometría atómica que se aplican en el análisis de los elementos.

Los métodos de espectrometría atómica son los siguientes:

#### 1.1. Espectrometría de absorción atómica.

Esta se basa en la medición de la energía absorbida por un átomo al ser excitado por energía luminosa de una longitud de onda

característica para ese átomo. La energía absorbida se determina al comparar la intensidad de la energía que incide en los átomos con la intensidad disminuida de aquella que llega al detector. Como en los métodos espectrométricos, la concentración en una muestra se calcula, extrapolarlo en una curva de concentraciones conocidas del analito, la absorbancia obtenida con la muestra.

### 1.2. Espectrometría de emisión atómica.

Se basa en la medición de la energía, de una longitud de onda característica, emitida durante el periodo de decaimiento, por los átomos que han sido excitados por una llama o por un arco eléctrico. En este método se cuida que la luz que llega al detector sea exclusivamente la emitida por el átomo.

### 1.3. Espectrometría de fluorescencia atómica.

Se basa en la medición de la energía, de una longitud de onda característica, emitida durante el decaimiento, por los átomos que resultaron excitados por una energía luminosa específica. En este caso, la fuente de energía se localiza a 90 grados del plano donde se localiza el detector, de modo que la luz que llega a éste, sea sólo la energía emitida por el átomo excitado (194).

En vista de que de los tres métodos mencionados, el de absorción atómica es el método más ampliamente utilizado para la determinación de metales en materiales biológicos, la siguiente sección profundiza en sus características y cualidades.

FALLA DE ORIGEN

El método es muy versátil, pues mide con gran sensibilidad una gran variedad de metales en muestras pequeñas. El límite de detección está en el rango de las ppm y para algunos metales, como en el caso del zinc, el límite es de 1 ppb. La precisión es de 1% y se puede mejorar si se tiene cuidado en la preparación de los estándares y si la preparación de las muestras se realiza con procedimientos sencillos y rápidos para evitar la contaminación (195).

Una ventaja puede ser que los espectrofotómetros de absorción atómica se encuentran altamente automatizados pues algunos sistemas pueden determinar 6 elementos en 50 muestras en menos de 35 minutos lo que significa cerca de 500 análisis por hora. Además, acoplados a sistemas computarizados permiten el manejo de grandes cantidades de información, lo cual hace más versátil el equipo (189, 196).

## 2. INSTRUMENTACION EN LA ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATOMICA

La espectroscopía de absorción atómica utiliza un sistema instrumental complejo que a grandes rasgos está formado por lo siguiente:

### 2.1. Sistema emisión o emisor.

Los emisores pueden ser continuos o discontinuos. Los primeros producen una emisión continua a través de un rango considerable del espectro, como son las lámparas de tungsteno y lámparas de

hidrógeno; los segundos se caracterizan por un espectro discontinuo de líneas separadas y estrechas; ejemplos de éstos son las lámparas de cátodo hueco y las lámparas de descarga de alta frecuencia sin electrodos. Como su nombre lo indica, su función es emitir la energía adecuada para que el átomo la absorba y se excite.

## 2.2. Sistema de absorción.

El sistema de absorción va a depender de la técnica utilizada. La más extensamente usada es la espectroscopía de absorción atómica de flama, cuyo sistema de absorción está compuesto esencialmente de la flama, el quemador y el atomizador. La función de este sistema es la de recibir la solución de la muestra que contiene al analito, atomizarla al quemador donde se producirá un vapor atómico y mantener este vapor durante el proceso que dure la absorción.

Las flamas más utilizadas y que pueden ser aplicadas en la determinación de un mayor número de elementos, son dos: aquella constituida por una mezcla de aire-acetileno, que alcanza una temperatura de 2300 grados Celsius (°C) y la constituida por óxido nitroso-acetileno, que alcanza temperaturas de 2800 °C. Otras flamas menos utilizadas son aire-hidrógeno, que alcanza 2000 °C y se usa para metales alcalinos y la de argón-hidrógeno que alcanza 300 a 800 °C y se utiliza en la determinación de metales volátiles como son el arsénico y el selenio (192).

Otras técnicas que no utilizan la flama convencional, emplean la volatilización con rayos laser, el uso de plasmas y el calentamiento electrotérmico en el horno de grafito (197).

### 2.3. Sistema de selección espectral.

Está constituido por filtros y monocromadores que seleccionan las radiaciones provenientes del sistema de absorción. El filtro selecciona una banda pequeña de longitudes de onda y el monocromador aísla la línea de resonancia, de otras líneas muy cercanas que puedan ser emitidas por la fuente emisora. La rendija de los monocromadores debe ser lo más pequeña posible para eliminar al máximo las radiaciones indeseadas.

### 2.4. Sistema fotométrico.

La radiación seleccionada es fotodetectada y convertida a señales eléctricas, los impulsos correspondientes son amplificados y medidos ya sea por lectura directa o un registrador.

### 2.5. Interferencias.

La absorción atómica puede presentar interferencias físicas o químicas. Las interferencias físicas están relacionadas con los procesos de atomización y vaporización en la llama y pueden ocasionarlas la viscosidad de la muestra, cambios en la matriz y el grado de aspiración (195); por otro lado, pueden presentarse fluctuaciones en la llama o bien el chisporroteo de la luz emisora. Las interferencias químicas pueden ser catiónicas o

aniónicas por la naturaleza de la matriz, una disociación insuficiente de la muestra, la excitación de los átomos por la flama o la ionización de los átomos (193).

### 3. DETERMINACION DE ZINC POR ABSORCION ATOMICA DE FLAMA

La espectroscopía de absorción atómica de flama es el método más usado para el análisis de zinc en muestras biológicas; es preciso, simple, sensible y relativamente libre de interferencias cuando se compara con otros métodos como son la espectroscopía de absorción atómica electrotérmica y la espectroscopía de emisión de plasma acoplado inductivamente (195, 198-200).

El método se puede resumir como sigue:

Una lámpara de cátodo hueco emite un espectro de línea estrecha específica para cada elemento, un monocromador aísla la longitud de onda particular, que para el zinc es de 213.9 nm. El sistema de detección convierte la energía radiante no absorbida en una señal eléctrica.

Una muestra líquida (1 a 2 ml) se aspira al sistema de absorción donde los átomos de zinc son atomizados; los átomos absorben la radiación emitida por la lámpara de cátodo hueco en proporción a su concentración.

Para la mayoría de los instrumentos la proporcionalidad entre la concentración de zinc y la absorbancia sigue la ley de Beer y es

lineal en el rango de 0.1 - 2.0 ug de Zn /ml de muestra. El límite de detección es de 0.8 ug/L y la precisión promedio (coeficiente de variación) es de 0.3% (192, 201).

### 3.1. Interferencias

El método muestra pocas interferencias, presentándose aquellas ocasionadas por las matrices complejas de las muestras biológicas que difieren de las soluciones estándar.

Para evitar estas interferencias se puede diluir la muestra o bien preparar estándares secundarios con constituyentes apropiados como amortiguadores, glicerol, detergentes, solventes orgánicos, etc, previa digestión de la materia orgánica (195), e inclusive existen soluciones comerciales para usarse en casos específicos. Otra interferencia que puede presentarse en muestras biológicas, es que algunos iones pueden formar con el zinc complejos metálicos insolubles con un alto punto de ebullición y baja volatilidad. Para prevenir estas interferencias se puede realizar una dilución simple de la muestra o bien utilizar agentes protectores como quelatos que formen especies estables con el zinc, pero volátiles.

Por lo demás, este análisis es rápido (tiempo de análisis alrededor de 15 segundos), se pueden analizar muestras de tamaño pequeño (0.1 ml) y el costo del instrumento es menor que otros (190).

#### 4. LA TECNICA DE LA ABSORCION ATOMICA DE FLAMA

A continuación se describe la técnica empleada, en la espectroscopía de absorción atómica de flama, para determinar el zinc en los diferentes tipos de muestras biológicas que son utilizadas como referencia (suero, orina, etc) (190).

##### 4.1. MATERIAL Y REACTIVOS

###### 4.1.1. AGUA

Es esencial que se utilice exclusivamente agua ultrapura, con una resistividad de 18 Mohms y una concentración máxima de zinc de 0.3 ppb.

Para purificar el agua se debe utilizar una combinación de ósmosis inversa, adsorción orgánica y cromatografía de intercambio iónico (190, 201-204).

###### 4.1.2. MATERIAL DE LABORATORIO.

Se prefiere usar material de plástico y NO de vidrio, ya que tiene menores cantidades de zinc. Para utilizarlo se debe lavar con agua desionizada (libre de zinc). También puede usarse material de vidrio (Pyrex), pero requiere un lavado previo con HNO<sub>3</sub> 6N por un mínimo de 12 horas y antes de su uso lavarlo con agua libre de zinc.



Se sugiere también que, después del lavado con ácido, el material debe sumergirse durante 24 horas, en una solución al 1% de EDTA y después enjuagarlo con agua desionizada (199, 205).

Deben utilizarse espátulas de platino o bien podrán usarse espátulas y tijeras de acero inoxidable que estén cubiertas con teflón. Antes de usar el material tratado y limpio, se debe determinar su contaminación con zinc adicionándole por una hora agua, HCL 0.01 M o una solución balanceada y después determinar el contenido de zinc de la solución (190, 201, 202, 204, 206, 207).

#### 4.1.3. REACTIVOS QUIMICOS.

Se deben utilizar químicos de alta pureza o bien reactivos grado químico los cuales pueden ser purificados por cromatografía de intercambio iónico o bien extrayéndolos con dithizona/CCl<sub>4</sub> (190, 206).

#### 4.2. MUESTRAS

Se ha empleado sangre total, plasma, suero, eritrocitos, leucocitos, orina, heces, cabello, y otros tejidos.

##### 4.2.1. PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

La preparación de la muestra es tan importante como el control analítico-instrumental, por lo que un resultado confiable en la determinación de zinc depende, en gran parte, de ello.

Las muestras deben contener cantidades mínimas de materia orgánica, ya que pueden presentarse interacciones entre los átomos de zinc y la materia orgánica. Ya que esas interacciones no ocurren en las soluciones estándar, se podrían introducir errores muy graves en la calibración. Por esto, es necesario disminuir al máximo la matriz orgánica a través de diluciones con agua, precipitaria con ácido tricloroacético o bien calcinarla (208).

Para evitar la contaminación de las muestras por la piel se recomienda el uso de guantes de polietileno (sin talco).

Para disminuir las posibilidades de contaminación externa, principalmente por polvos contaminantes, se recomienda sellar los contenedores con parafilm y procesar las muestras dentro de una campana de flujo laminar (190).

A continuación se resumen algunas recomendaciones obtenidas de la información publicada:

#### 4.2.1.1. FLUIDOS BIOLÓGICOS.

El plasma, el suero, el líquido amniótico (209), la orina y el líquido cerebroespinal son algunos de los fluidos biológicos que pueden diluirse con agua, HCl 0.1M o HNO<sub>3</sub> 0.3M (usualmente 1:4 a 1:10).

Para la leche pueden emplearse varios métodos: a) determinarse después de diluir 1:99 con una solución de Tritón X-100 al 0.1% (216), b) se puede desproteínizar previamente con ácido

tricloroacético (83, 108, 113, 190, 192, 195, 199, 205, 207, 210-215), c) se puede realizar una digestión seca durante 24 horas entre 450 y 480 °C y una dilución posterior en HCl 1N (79, 108, 113, 215) o bien d) se realiza una digestión húmeda con HNO<sub>3</sub> concentrado y la adición posterior de peróxido de hidrógeno como oxidante adicional, al final las cenizas se diluyen con HCl 0.1N (83).

En cada método los estándares deben de prepararse con la matriz empleada en la preparación de la muestra.

#### 4.2.1.1.1. Dilución.

En ocasiones, para mejorar el análisis, se han utilizado algunos diluyentes para reducir el efecto de la viscosidad en las muestras diluidas con agua y los estándares acuosos.

-Suero: se ha sugerido una dilución 1:10 de la muestra de suero, en butanol al 6% V/V cuando se utilizan soluciones estándar acuosas. También se ha sugerido la dilución 1:6 en Brij 35 al 0.03% en agua (218).

-Plasma: cuando se utilizan las muestras de plasma diluidas 1+4 con agua, se ha recomendado preparar los estándares en glicerol al 5% para aproximar la viscosidad (191, 192, 199, 212, 219). Otra sugerencia es diluir los estándares con propanol al 10% (195). Si se escoge una dilución del plasma 1:2 con agua, los estándares deberán diluirse en sacarosa al 12% (215).

-Sangre completa: se recomienda una dilución 1:10 con Tritón X-100 o bien una dilución 1:25 con HCl 0.1M (210).

-Orina: se sugiere una dilución 1:6 con butanol.

-Líquido cerebrospinal: como el contenido de zinc es aproximadamente 1/10 del contenido en suero, se ha usado una dilución 1:2 con butanol al 6% (188, 192, 198, 214).

#### 4.2.1.1.2. Desproteínización.

Para la precipitación con ácido tricloroacético, se mezclan volúmenes iguales de la muestra y del ácido al 25% y se dejan reposar de 10 a 30 min a temperatura ambiente. Algunos autores recomiendan calentar por 10 min para facilitar la formación del precipitado y su posterior separación del sobrenadante, por centrifugación a 3000 g; después de reposar por 5 min, se analiza el sobrenadante (217, 218).

Sin embargo, los autores sugieren un manejo extremadamente cuidadoso de este método para evitar alguna contaminación por el ácido.

#### 4.2.1.2. SÓLIDOS BIOLÓGICOS.

Las células y los tejidos requieren del calcinado seco o calcinado húmedo. Cada método presenta ventajas y desventajas; el primero, aunque requiere relativamente poca atención y destreza del analista, su técnica es muy tardada y ya que requiere de

altas temperaturas, puede ocasionar pérdidas por volatilización ó adsorción en las paredes del contenedor. El calcinado húmedo es más corto, pero necesita la constante atención del analista y requiere de ácidos de alta pureza, por lo que se incrementa la posibilidad de contaminación con zinc. Además, algunas veces se utiliza el ácido perclórico, que es explosivo en las condiciones requeridas o bien el ácido sulfúrico, que interfiere con la técnica de absorción atómica (208, 220, 221).

Antes de que se lleve a cabo el calcinado, la muestra debe estar libre de contaminación externa de zinc. El pelo y las uñas, por ejemplo, se pueden lavar con detergente no iónico libre de zinc, seguido de lavados con agua desionizada; las células vegetales, cuyas paredes celulares son fuertes, y otros tejidos como los dientes, pueden ser lavados extensamente con agua desionizada. Otros tejidos animales como el hígado y los eritrocitos y otras células, se lavan con solución salina isotónica libre de zinc.

La metodología empleada en el calcinado es variable, pero se puede resumir en lo siguiente:

#### 4.2.1.2.1. Calcinado seco.

Para el calcinado seco se utilizan crisoles de platino que deben ser lavados previamente con HNO<sub>3</sub> 6N, calentando por 10 a 15 min bajo campana, posteriormente se lavan con agua desionizada y se secan lentamente a peso constante. Se coloca 1 gramo del material biológico en los crisoles ya preparados (algunas muestras, como

el hueso, pueden necesitar una pulverización previa en mortero). Los crisoles se colocan en una mufla que deberá estar cubierta con cuarzo para excluir la contaminación con zinc por la descamación de las paredes del horno. La temperatura de la mufla se lleva lentamente hasta 400 °C y posteriormente hasta 500 °C, temperatura que NO debe excederse.

Es necesario que el incremento de la temperatura sea lento para evitar chisporroteos de la muestra fuera del crisol cuando el agua se evapora. Se dejan en la mufla de 12 a 24 horas hasta que las muestras se reduzcan a cenizas blancas. Las cenizas de cada crisol se carbonizan con algunas gotas de HCl concentrado y se transfieren a matraces volumétricos de 5 o 10 ml. Los crisoles se lavan con HCl al 1% y los lavados se transfieren cuantitativamente a los matraces volumétricos. Se afora con agua o con HCl diluido (113, 135, 190, 192, 222).

Otros autores sugieren que después de 12 horas en la mufla, las cenizas se disuelvan en 10 ml de HNO<sub>3</sub> al 2% o HNO<sub>3</sub> 7N y que posteriormente se diluyan con agua desionizada (198, 204, 223-226), o bien que se disuelvan en HCl 0.1N con la posterior dilución 1:6 con una solución de butanol al 6% en HCl 0.1N (227).

#### 4.2.1.2.2. Calcinado húmedo.

El calcinado húmedo constituye otro medio de descomposición biológica de las muestras. Aquí, las muestras se calientan y reflujan entre 100 y 200 grados centígrados con algún agente oxidante fuerte como H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HNO<sub>3</sub>, HClO<sub>4</sub> o alguna combinación de ellos. Se prefieren el HNO<sub>3</sub> y el H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ya que el HClO<sub>4</sub> puede ser

explosivo en presencia de matriz orgánica; sin embargo se puede utilizar el  $\text{HClO}_4$ , si se adiciona primero  $\text{HNO}_3$ . Esta digestión ácida debe hacerse bajo campana y con material de reflujo y equipo de seguridad adecuado. Además, se debe asegurar que los ácidos utilizados no estén contaminados con zinc.

Los procedimientos de esta digestión ácida en diferentes muestras biológicas, depende en gran parte del tipo de tejido y su solubilidad en ácido (190).

-Sangre: 1 ml de la muestra se coloca en un condensador de reflujo y se adiciona 1 ml de  $\text{HNO}_3$  al 70% (P/P), 0.5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 96% (P/P) y 1 ml  $\text{HClO}_4$  al 70% (P/P). Se calienta hasta que la solución quede incolora y se evapora hasta casi sequedad; el residuo se disuelve en 5 ml de  $\text{HNO}_3$  al 0.25%.

-Tejidos y paquetes celulares: se colocan 5 g de tejido en un matraz erlenmeyer de 125 ml, se agregan perlas de vidrio y 25 ml de agua. Se añaden 10 ml de una mezcla 1:1 de  $\text{HNO}_3$  conc: $\text{HClO}_4$  conc y se calienta hasta que la solución se aclare. Se transfiere a un matraz aforado de 100 ml y se afora con agua (192). Algunos autores han utilizado exclusivamente el  $\text{HNO}_3$  16M (103, 105), o bien  $\text{HNO}_3$  concentrado (224).

También se ha reportado la digestión con  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Para eso se pesan 5 g de tejido, se les añaden 5 ml de  $\text{HNO}_3$  16N y después 5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  36N; cuando la reacción calma, se calienta por 30 min a 60 oC. Después de enfriar 5 min se añaden otros 10 ml del  $\text{HNO}_3$  16N. Se calienta de nuevo, incrementando la temperatura en

etapas hasta 150 oC; los tubos se retiran de los termobloques cuando las muestras se vean negras, se dejan enfriar 5 min y se les añade H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en porciones de 1 ml, calentando, hasta que las muestras sean claras. Al final, las muestras se enfrían y se aforan a 50 ml con agua desionizada o HCl 1N (215, 228).

Para la digestión de neutrófilos y glóbulos rojos se ha sugerido la digestión en HNO<sub>3</sub> 0.3M por una semana a temperatura ambiente (para los neutrófilos se hace una suspensión de 10 a la 7 potencia en el ácido y para los glóbulos rojos, una dilución final 1:40 con el ácido). Al final las muestras se centrifugan a 40 g y se mide el zinc en el sobrenadante (207).

Recientemente se ha descrito un método para determinar zinc, cobre y manganeso en el hígado de la rata que incluye una homogeneización para lo cual una porción del tejido se homogeneiza con cinco porciones de agua y el homogeneizado se ajusta a una concentración de 1 mol/L en HCl. La suspensión obtenida se agita por 30 min y se centrifuga a 12000 g. El sobrenadante sirve para la medición directa de cobre y manganeso y para el zinc se debe realizar una segunda dilución (1:30) (221).

-Heces: las muestras fecales (229) se diluyen 2:3 con agua desionizada y se homogeneizan. De 5 a 10 ml de la muestra se transfieren a un vaso de 250 ml y se les añaden 30 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado y 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Se calientan hasta que carbonice y se les añade H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para oxidar la materia orgánica. Cada muestra se reconstituye con agua y se toma una porción del



sobrenadante a la cual se ajusta el pH a 9.5. Posteriormente se añade 1 ml de agente quelante (ditiocarbamato de pirrolidina de amonio al 5%), que forma un precipitado con el zinc. Dicho precipitado se recupera por filtración al vacío y se redisuelve con HNO<sub>3</sub>; esta solución se hierve para remover el exceso de ácido, se diluye con agua y se analiza.

Otra técnica utiliza para la digestión una mezcla de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50% y HClO<sub>4</sub> al 70%, calentando a 250 °C por 60 min (230).

-Tejidos vegetales: se coloca 0.1 g de muestra dentro de un vaso de precipitados; se añaden 5 ml de HNO<sub>3</sub> al 70% (P/P) en los cuales se deja sumergida; posteriormente se agregan 2 ml de HClO<sub>4</sub> al 70% (P/P), se tapa la muestra con un vidrio de reloj y se calienta hasta que el volumen final sea de 3 a 5 ml. La solución resultante se diluye con 10 a 15 ml de agua y se filtra si es necesario (190); finalmente se afora con agua a 50 ml (192). Algunos autores sugieren agregar 10 ml de HCl 1:2 o 0.1N, calentar y transferir a un matraz de 50 ml aforando con agua o a un matraz de 25 ml previa filtración aforando con HCl 0.1N, respectivamente (203, 204).

Se ha propuesto otro método en el cual 0.5 g de tejido (peso seco) se colocan en un matraz erlenmeyer de 125 ml. Se le agregan 10 ml de HNO<sub>3</sub> 16M y 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 36M. Se calienta la muestra en una parrilla a 90 °C por 10 a 15 min y posteriormente se incrementa la temperatura a 170 °C manteniendo esta temperatura hasta que quede un residuo de aproximadamente 5 ml. Se deja

enfriar, se le añaden 2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 70% (V/V) y se calienta. Esta operación se repite hasta clarificar el digerido, calentando finalmente por otros 30 min y enfriando. Se afora con agua a 50 ml y se analiza (231).

-Cabello: la muestra se corta en piezas de alrededor de 1 cm de largo; se lava en una botella de polietileno de 500 ml conteniendo 150 ml de una solución al 1% de detergente no iónico y se agita con un agitador mecánico por 30 min; se ha recomendado usar un pretratamiento con acetona o hexano para desengrasar el tejido antes de lavarlo con el detergente al 5% (135, 219, 232). El cabello se transfiere a un crisol filtro de polietileno, se lava con un litro de agua y seca toda la noche a 110 oC. Se toma una alícuota de 0.5 g y se coloca en un matraz erlenmeyer de 50 ml; se añaden 6 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado y se deja reaccionar a temperatura ambiente; el digerido se calienta lentamente y se añade 1 ml de HClO<sub>4</sub> concentrado; se aumenta la temperatura a 200 oC hasta que se desarrollen humos blancos densos; la solución resultante, que debe ser clara, se transfiere a un matraz volumétrico de 5 ml y se afora con agua (190, 192).

-Dientes: se toman aproximadamente 250 mg de muestra y se les agregan 5 ml de HNO<sub>3</sub> al 70% (P/P) y 2 ml de HClO<sub>4</sub> al 70% (P/P). Se calienta lentamente hasta clarificar y la solución incolora obtenida se evapora casi a sequedad y se redissuelve con agua (190).

-Uñas: se remueve el polvo superficial usando pinzas cubiertas de teflón. La muestra se coloca en una botella de polietileno que

contenga 25 ml de detergente no iónico al 1% y se agita por 30 min. Se lava con 1 litro de agua y se seca toda la noche a 105 oC. Se digiere en un matraz erlenmeyer de 10 ml usando 1 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado y 0.5 ml de HClO<sub>4</sub> concentrado. El digerido se coloca en un matraz volumétrico de 5 ml y se afora con agua (190, 192).

#### 4.3. SOLUCIONES ESTANDAR

Se recomienda preparar una solución stock de una concentración final de 1000 mg/L como sigue: pesar 1 g de zinc y disolverlo en 10 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado o bien en 30 ml de HNO<sub>3</sub> acuoso (1:2) o en 50 ml de HNO<sub>3</sub> acuoso (1:5); después de la disolución se lleva a 1 L con agua (199, 201, 218). Otros autores recomiendan disolver 1 gramo de zinc en 20 ml de HCl (1:2) diluyendo a 1 L con agua o con HCl acuoso al 1% (192, 202).

Para la preparación de la solución stock de zinc se puede utilizar el óxido de zinc; para eso, se disuelven 1.245 g de ZnO grado reactivo previamente secado a 200 oC en cerca de 20 ml de agua y 2 ml de HCl concentrado; una vez disuelto, se transfiere a un matraz volumétrico de 1 L y se afora con agua (188).

Las soluciones stock se pueden obtener comercialmente (109, 205, 207, 209). Si se preparan en el laboratorio, el zinc y el ácido utilizados deben ser espectroscópicamente puros.

Los estándares intermedios se deben preparar a partir de la solución stock. La solución que contiene 100 mg/L de Zn (188) se prepara añadiendo 10 ml de la solución stock a un matraz volumétrico de 100 ml y diluyendo hasta el aforo con agua desionizada. Las soluciones estándar intermedias también pueden ser de menor concentración (10 mg/L) (218).

Las soluciones estándar de trabajo para calibrar el instrumento, se preparan diariamente diluyendo la solución estándar intermedia y deben contener entre 0 y 1 ppm para fluidos biológicos (188, 209). Estos estándares tan diluidos NO DEBEN ALMACENARSE ya que se puede modificar su concentración de zinc en forma significativa debido a la desadsorción o adsorción del contenedor (190).

Como se indicó anteriormente, los estándares también pueden prepararse en controles comerciales con la misma matriz (suero, orina) (109, 213).

#### 4.4. PROCEDIMIENTO

El manejo y calibración del instrumento se realiza de acuerdo al manual correspondiente. Generalmente se sugiere el siguiente orden: se ajustan las condiciones instrumentales estándares reportadas para el zinc, se coloca la lámpara emisora, se prende el aparato, se deja calentar la lámpara, se alinea la lámpara, se prende la llama, se aspira unos minutos agua desionizada y se realizan las determinaciones.

Para el zinc, las condiciones instrumentales marcan una longitud de onda de 213.9 nm y una rendija (slit) de 0.7 nm, se utiliza una mezcla de gases combustible-oxidante de acetileno-aire y llama pobre-azul (109, 210); se debe ajustar la velocidad de aspiración y la orientación del quemador para obtener la señal máxima y la lámpara de cátodo hueco de zinc se debe operar a un máximo de 1/3 del límite máximo de corriente para obtener la lectura óptima (192, 211).

Los estándares de trabajo (mínimo 4 estándares) y las muestras tratadas o diluidas se aspiran directamente en la flama utilizando el blanco adecuado (que depende del procesamiento de la muestra) para ajustar a cero. Asimismo, es conveniente aspirar agua desionizada después de cada muestra o estándar (213).

La lectura de los estándares debe repetirse cada 6 a 12 muestras (201). Cuando se utiliza un control externo de referencia debe aspirarse después de las soluciones estándar de trabajo y después de las muestras debiendo repetirse en un máximo de 10 lecturas (218).

Dependiendo de la sensibilidad del instrumento, las concentraciones pueden dar lecturas muy bajas, por lo que será necesario la expansión de la escala (109, 188).

Se traza la curva de calibración de la concentración del zinc contra la absorbancia, utilizando los estándares de trabajo, y se

obtiene por interpolación la concentración de zinc en la muestra alicuotada (202, 218).

Existen circuitos integrados (microprocesadores) que controlan los datos; lo que facilita la operación y la calibración, y reporta la concentración de las muestras aún en el caso de que los valores no caigan en el rango lineal (193).

#### 4.5. VALORACION DE LA TECNICA ANALITICA.

Considerando el número de variables desconocidas que influyen en el análisis de las muestras biológicas, se recomienda que se verifique la forma de preparación de la muestra y su medición, ya sea por el análisis de un material conocido (control externo) para lo cual se debe utilizar el mismo método, o bien por el análisis de la muestra desconocida siguiendo un método alternativo e independiente. El primer método puede realizarse analizando materiales estándar de referencia de la National Bureau of Standards, los cuales tienen cantidades conocidas y validadas de zinc (190, 207, 223).

La exactitud de la técnica también se puede valorar por el método de adición de estándares, la cual permite la cuantificación exacta del espécimen y alerta al analista a la respuesta no lineal (210) o bien se puede hacer por pruebas de recuperación, lográndose una recuperación promedio de 98 al 101% para fluidos diluidos con agua, 100% para muestras sólidas con digestión seca

(113) y de 97% para muestras sólidas con digestión húmeda (223) en el rango de 0 a 0.5 ppm.

El uso de esta técnica logra, para diluciones repetidas, coeficientes de variación menores del 3% (189, 199, 204, 209, 211).

#### 4.5.1. METODO DE ADICIONES ESTANDAR.

Permite la determinación exacta del analito, aún en presencia de una interferencia empleando para la calibración la pendiente de la curva de la muestra más adiciones de una solución estándar de concentración conocida. Para ello, se toma la muestra y se divide en tres porciones. La primera porción no lleva ninguna adición; y a la segunda y tercera porciones, se le añaden cantidades conocidas del analito estándar; se diluyen todas al mismo volumen, de forma que los constituyentes de la muestra son iguales, difiriendo únicamente en la cantidad del estándar añadido. Se grafica la concentración añadida del analito contra su absorbancia y la curva resultante se extrapola al eje de las concentraciones (abcisas), obteniéndose la concentración de la muestra problema (193).

#### 4.6. CALCULOS

$$\text{mg METAL/L} = \frac{\text{mg METAL en alícuota/L} \times \text{dilución final}}{\text{ml alícuota}}$$

(201)

Muestras líquidas:

$$\text{Elemento (mg/L)} = (C) (f. d.)$$

Muestras sólidas:

$$\text{Elemento (mg/L)} = \frac{(C) (V) (f. d.)}{P}$$

P

donde:

C = Concentración del elemento (mg/L) en la soln. muestra por interpolación en la curva de calibración

V = Volumen de la muestra no diluida (ml)

P = Peso de la muestra (g) y

fd = Factor de dilución

$$f. d. = \frac{\text{Volumen de muestra diluida (ml)}}{\text{Volumen de alícuota para dilución (ml)}}$$

(192)



## CONCLUSIONES

Es indudable la importancia del zinc como elemento esencial para la vida del hombre, y aunque aún falta mucho por explicar, se han logrado muchos avances en este campo.

Este elemento se encuentra en todo el organismo, principalmente enlazado a proteínas entre las que se incluyen receptores y factores hormonales, y se ha establecido su participación como constituyente o cofactor de enzimas críticas en el metabolismo que incluyen desde la anhidrasa carbónica y fosfatasa alcalina, hasta polimerasas de los ácidos nucleicos, y su gran importancia como estabilizante de estructuras. Recientemente se ha resaltado la existencia de proteínas con "dedos" de zinc importantes en la expresión genética principalmente a nivel de receptores hormonales, lo que abre una nueva gama de posibilidades en la fisiología del zinc que necesita de futuras investigaciones.

La revisión monográfica aquí realizada resalta la importancia del zinc en el embarazo, la lactancia, el desarrollo y la fertilización, así como la alta incidencia de su deficiencia y por consiguiente la necesidad de observar un aporte adecuado de este nutrimento.

El zinc se encuentra en la leche materna, presentando las concentraciones más elevadas en el calostro y la leche temprana. En la leche también se encuentran ligandos para el metal (ácido picolínico, citrato, lactoferrina) que promueven la absorción por

el neonato, lo que enfatiza la importancia del elemento en los primeros días de vida.

Este trabajo indica también, la alta probabilidad de que se desarrollen deficiencias del zinc en la lactancia, lo que resulta en un bajo crecimiento y desarrollo de los neonatos, siendo los más afectados los niños más prematuros, ya sea alimentados con la leche materna o con las fórmulas sustitutas. Por ello mismo, resalta la necesidad de revalorar las concentraciones y proporciones minerales adecuadas en las dietas maternas así como en las fórmulas para la alimentación de los niños.

Hemos observado la alta frecuencia de deficiencia de zinc en el embarazo ya que la mujer ingiere en promedio el 50% de los requerimientos propuestos. Esto resulta en abortos, partos prematuros o tardíos, dificultades en el parto, retardo del crecimiento intrauterino y malformaciones congénitas, así como el menor crecimiento y desarrollo del neonato, como consecuencia de la participación que tiene el zinc en la síntesis de los ácidos nucleicos y de las proteínas, en la mineralización ósea y en el sistema nervioso central.

Muchos investigadores establecen una relación entre los niveles de zinc en la madre y el peso del recién nacido y, por otro lado, retardo del crecimiento intrauterino; otros establecen la relación entre el nivel de zinc, la altura para la edad, el desarrollo físico y la conducta en los niños; todos ellos proponen mecanismos posibles de la acción del zinc y enmarcan la

crítica necesidad de mantener un buen "status" de zinc desde los primeros meses de vida.

Algunos de los mecanismos que se han propuesto para explicar los efectos de la deficiencia de zinc en el embarazo incluyen:

- reducción de la actividad de metaloenzimas cruciales en la replicación celular
- existencia de proteínas "dedos" de zinc que intervienen en la expresión genética
- fallas en la polimerización de la tubulina, ocasionando daños severos en el metabolismo celular
- disminución de secreciones hormonales, como la de la hormona del crecimiento
- disminución de factores y/o receptores hormonales
- daños funcionales en el hipocampo que resultan en desórdenes neuroconductuales como son deficiencias en el aprendizaje, en la memoria y en la estabilidad emocional

Por todo esto se ha propuesto el uso de suplementos de zinc en etapas de alta proliferación celular como la lactancia y el embarazo, pero existe gran controversia en este aspecto que empieza desde el establecimiento de los niveles normales del metal y de los requerimientos en la madre y el neonato así como de correlaciones estables de ambos con los efectos de la deficiencia. Sin embargo, la mayoría de los estudios apoya la suplementación con zinc, principalmente en personas con alto riesgo como son las adolescentes, guardando siempre las proporciones minerales adecuadas, principalmente con el hierro y el calcio.

También se afirma la importancia del zinc en el desarrollo sexual y la fertilidad, principalmente en hombres, correlacionando los niveles de zinc con los niveles de testosterona y la esteroidogénesis testicular, e indicando que el receptor de esta hormona es una proteína "dedos" de zinc.

Se propone la participación de zinc en el proceso de fertilización en la conservación de la estabilidad de la cromatina durante la transferencia del genoma masculino al óvulo, así como su influencia sobre la motilidad espermática y se sugiere que la terapia con zinc puede resultar en el tratamiento de algunos casos de infertilidad masculina.

Las investigaciones sobre el zinc han propiciado un desarrollo conjunto de las técnicas analíticas adecuadas para su cuantificación en muestras biológicas. La espectrofotometría de absorción atómica de flama es una de las técnicas más desarrolladas y de más amplia aplicación en este tipo de muestras que reporta la sensibilidad, la precisión, el costo y la facilidad de manejo de las muestras que en conjunto la hacen la técnica analítica de elección para la mayoría de los laboratorios.

Cada investigación reportada con respecto al zinc, lejos de conducir a conclusiones definitivas, amplía la visión de su participación en el organismo y abre nuevos caminos para explorar, en una retroalimentación que enriquece el conocimiento humano.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 Hoar, WS. (1978) Fisiología General y Comparada. pp 72-121. Ediciones Omega, S. A., España.
- 2 Gershwin, ME, Beach, RS, Hurley, LS. (1985) Nutrition and Immunity. pp 171-226. Academic Press, London.
- 3 Sherman, HC, Sherman, C. (1957) Essentials of Nutrition. pp 13-125. The Macmillan Company, New York.
- 4 Jensen, D. (1979) Fisiología. pp 828-867. Editorial Interamericana, México.
- 5 Wilson, ED, Fisher, KH, Fuqua, ME. (1978) Fisiología de la alimentación. pp 1-320. Editorial Interamericana, México.
- 6 Ganong, WF. (1981) Review of Medical Physiology. pp 218-249. Lange Medical Publications, New York.
- 7 McClintic, JR. (1989) Fisiología del Cuerpo Human. pp 2-36. Editorial Limusa, México.
- 8 Vick, RL. (1987) Fisiología Médica Contemporánea. pp 972-1017. MacGraw-Hill, México.
- 9 Steen, EB, Montagu, A. (1972) Anatomy and Physiology. pp 248-259. Barnes & Noble, Inc., U. S. A.
- 10 Underwood, EJ. (1977) Trace Elements in Human and Animal Nutrition. pp 1-232. Academic Press Inc., New York.
- 11 Prasad, AS. (1978) Trace Elements and Iron in Human Metabolism. pp 1-168. Plenum Medical Book Company, New York.
- 12 Houssay, BA. (1985) Fisiología Humana. pp 580-630. Editorial Atenea, S. A., España.
- 13 Guyton, AC. (1983) Fisiología Humana. pp 377-404. Editorial Interamericana, México.
- 14 Iyengar, V, Woittiez, J. (1988) Trace Elements in Human Clinicals Specimens: Evaluation of Literature Data to Identify Reference Values. Clin Chem 34: 474-481.
- 15 Valle, BL, Falchuk, KH. (1993) The Biochemical Basis of Zinc Physiology. Physiol Rev 73: 79-118.
- 16 Krause MV, Mahan, LK. (1984) Food, Nutrition and Diet Therapy. pp 164-168. W. B. Saunders Company, Philadelphia.

17 Duncan, JR, Hurley, LS. (1978) Intestinal Absorption of Zinc: a Role for a Zinc-binding Ligand in Milk. *Am J Physiol* 235: E 556-E 559.

18 Drews, LM, Kies, C, Fox, HM. (1979) Effect of Dietary Fiber on Copper, Zinc and Manganese Utilization by Adolescent Boys. *Am J Clin Nutr* 32: 1893-1897.

19 Lonnerdal, B. (1989) Trace Element Absorption in infants as a Foundation to Setting Upper Limits for Trace Elements in Infant Formulas. *J Nutr* 119: 1839-1845.

20 Odell, BL. (1989) Mineral Interactions Relevant to Nutrient Requirements. *J Nutr* 119: 1832-1838.

21 Fairweather-Tait, SJ, Southon, S. (1989) Studies of Iron:Zinc Interactions in Adult Rats and the Effect of Iron Fortification of Two Commercial Infant Weaning Products on Iron and Zinc Status of Weanling Rats. *J Nutr* 119: 559-606.

22 Southon, S, Wright, AJ, Fairweather-Tait, SJ. (1989) The Effect of Combined Dietary Iron, Calcium and Folic Acid Supplementation on Apparent <sup>65</sup>Zn Absorption and Zinc Status in Pregnant Rats. *Br J Nutr* 62: 415-423.

23 Quinn, PB, Cremin, FM, OSullivan, UR, et. al. (1990) The Influence of Dietary Folate Supplementation on the Incidence of Teratogenesis in Zinc-deficient Rats. *Br J Nutr* 64: 233-243.

24 Moynahan, EJ. (1974) Acrodermatitis Enteropathica: a lethal inherited human zinc-deficiency disorder. *Lancet* 2: 399-400.

25 Hambidge, KM, Neldner, KH, Walravens, PA. (1975) Zinc, Acrodermatitis Enteropathica and Congenital Malformations (Letter). *Lancet* 1: 577-578.

26 Ziegler, EE, Serfass, RE, Nelson, SE, et. al. (1989) Effect of low Zinc Intake on Absorption and Excretion of Zinc by Infants Studied with <sup>70</sup>Zn as Extrinsic Tag. *J Nutr* 119: 1647-1653.

27 Rabbani, PI, Prasad, AS, Tsai, R, et. al. (1987) Dietary Model for Production of Experimental Zinc Deficiency in Man. *Am J Clin Nutr* 45: 1514-1525.

28 Blackburn, GL, Bell, SJ, Mullen, JL. (1989) Nutritional Medicine. A case Management Approach. pp 186. V. B. Saunders Company, Philadelphia.

29 Kiilholma, P, Gronroos, M, Erkkola, R, et. al. (1984) The Role of Calcium, Copper, Iron and Zinc in Preterm Delivery and Premature Rupture of Fetal Membranes. *Gynecol Obstet Invest* 17: 194-201.

30 Foote, JW, Delves, TH. (1984) Distribution of Zinc Amongst Human Serum Globulins Determined by Gel Filtration-Affinity Chromatography and Atomic-Absorption Spectrophotometry. *Analyst* 109: 709-711.

31 Kynast, G, Saling, E. (1986) Effect of Oral Zinc Application during Pregnancy. *Gynecol Obstet Invest* 21: 117-123.

32 Harris, WR, Keen, C. (1989) Calculations of the Distribution of Zinc in a Computer Model of Human Serum. *J. Nutr* 119: 1677-1682.

33 (1989) Interleukin-1 Regulates Zinc Metabolism and Metallothionein Gene Expression. *Nutr Rev* 47: 285-287.

34 Kershaw, WC, Lehman-Mckeeman, LD, Klaassen, CD. (1990) Hepatic Isometallothioneins in Mice: Induction in Adults And Postnatal Ontogeny. *Toxicology and Applied Pharmacology* 104: 267-275.

35 Keen, C, Lonnerdal, B, Golub, MS, et. al. (1989) Influence of Marginal Maternal Zinc Deficiency on Pregnancy Outcome and Infant Zinc Status in Rhesus Monkeys. *Pediatric Res* 26: 470-477.

36 Failla, ML, Kiser, RA. (1983) Hepatic and Renal Metabolism of Copper and Zinc in the Diabetic Rat. *Am J Physiol* 244: E 115-E 121.

37 Valle, BL, Auld, DS. (1990) Zinc Coordination, Function and Structure of Zinc Enzymes and Other Proteins. *Biochemistry* 29: 5647-5659.

38 Solomons, NW. (1979) On the Assessment of Zinc and Copper Nutrition in Man. *Am J Clin Nutr* 32: 856-871.

39 Alexander, RS, Kiefer, LL, Fierke, CA, et. al. (1993) Engineering the zinc Binding Site of Human Carbonic Anhydrase II: Structure of the His-94-Cys Apoenzyme in a New Crystalline Form. *Biochemistry* 32: 1510-1518.

40 Dorup, I, Clausen, T. (1991) Effects of Magnesium and Zinc Deficiencies on Growth and Protein Syntheses in Skeletal Muscle and the Heart. *Br J Nutr* 66: 493-504.

41 Mutch, PB, Hurley, LS. (1980) Mammary Gland Function and Development: Effect of Zinc Deficiency in Rat. *Am J Physiol* 238: E 26- E 31.

42 Rubin, H, Koide, T. (1973) Inhibition of DNA Syntheses in Chick Embryo Cultures by Deprivation of either Serum or Zinc. *J Cell Biol* 56: 777-783.

43 Beisel, WR. (1982). Single Nutrients and Immunity. *Am J Clin Nutr (suppl)* 35: 442-451.

44 Faure, P, Roussel, A, Coudray, C, et. al. (1992) Zinc and Insulin Sensitivity. Biol Trace Element Res 32: 305-311.

45 Gomot, MJ, Faure, P, Roussel, AM, et. al. (1992) Effect of Acute Zinc Deficiency on Insulin Receptor Binding in Rat Adipocytes. Biol Trace Element Res 32: 331-336.

46 Neve, J. (1992) Clinical Implications of Trace Elements in Endocrinology. Biol Trace Element Res 32: 173-183.

47 Dorup, I, Flyvbjerg, A, Everts, ME, et. al. (1991) Role of Insulin-like Growth Factor-1 and Growth Hormone in Growth Inhibition Induced by Magnesium and Zinc Deficiencies. Br J Nutr 66: 505-521.

48 Castro, MM, Collip, PJ, Chen, SY, et. al. (1981) Zinc Nutritional Status, Androgens and Growth Retardation. Am J Dis Child 135: 322-325.

49 Antoniou, LD, Shalhoub, RJ, Sudhakar, T, et. al. (1977) Reversal of Uraemic Impotence by Zinc. Lancet 2: 895-898.

50 Hafeez, AA, El-Kirdassy, ZHM, Mansour, MMS, et. el. (1989) Role of Zinc in Regulating the Testicular Function. Part 1. Effect of Dietary Zinc Deficiency on Serum Levels of Gonadotropins, Prolactin and Testosterone in Male Albino Rats. Nahrung 33: 935-940. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, Volumen 114.

51 Hartoma, RT, Nahovi, K, Nettler, A. (1977) Zinc, Plasma, Androgens and Male Sterility. Lancet 2: 1125-1126.

52 I Koo, S, Lee, CC. (1988) Compositional Changes in Plasma High-Density Lipoprotein-Particles in Marginally Zinc-Deficient Male Rats. Am J Clin Nutr 47: 120-127.

53 Johanning, GL, O'Dell, BL. (1989) Effect of Zinc Deficiency and Food Restriction in Rats on Erythrocyte Membrane Zinc, Phospholipid and Protein Content. J Nutr 119: 1654-1660.

54 Castillo, C, Heresi, G, Fisberg, M, et. al. (1987) Controlled Trial of Zinc Supplementation During Recovery from Malnutrition: Effects and Growth and Immune Function. Am J Clin Nutr 45: 602-608.

55 Sherman, AR. (1992) Zinc, Copper and Iron Nutriture and Immunity. J Nutr 122: 604-607.

56 Chandra, RK. (1981) Immunocompetence as a Functional Index of Nutritional Status. Br Med Bull 31: 89-94.

57 Chandra, RK, Scrimshaw, NS. (1980) Immunocompetence in Nutritional Assessment. Am J Clin Nutr 33: 2694-2697.



- 58 Good, RA. (1981) Nutrition and Immunity. *J Clin Immunol* 1: 3-11.
- 59 Wade, S, Parent, G, Bleiberg-Daniel, S, et. al. (1988) Thymulin (Zn-FTS) Activity in Protein-Energy Malnutrition: New Evidence for Interaction between Malnutrition and Infection on Thymic Function. *Am J Clin Nutr* 47: 305-311.
- 60 Chandra, RK. (1979) Serum Thymic Hormone Activity in Protein-Energy Malnutrition. *Clin Exp Immunol* 38: 228-230.
- 61 Duchateau, J, Delespesse, G, Vereecke, P. (1981) Influence of Oral Zinc Supplementation on T Lymphocyte Response to Mitogens of Normal Subjects. *Am J Clin Nutr* 34: 88-93.
- 62 Cavan, KR, Gibson, RS, Grazioso, CF, et. al. (1993) Growth and Body Composition of Periurban Guatemalan Children in Relation to Zinc Status: a Cross-sectional Study. *Am J Clin Nutr* 57: 344-352.
- 63 Cavan, KR, Gibson, RS, Grazioso, CF, et. al. (1993) Growth and Body Composition of Periurban Guatemalan Children in Relation to Zinc Status: a Longitudinal Zinc Intervention Trial. *Am J Clin Nutr* 57: 344-352.
- 64 Dreosti, L. (1987) Zinc Deficiency and the Developing embryo. *Neurotoxicology* 8: 369.
- 65 Oteiza, PI, Cuellar, S, Lonnerdal, B, et. al. (1990) Influence of Maternal Dietary Zinc Intake on In Vitro Tubulin Polymerization in Fetal Rat Brain. *Teratology* 41: 97-104.
- 66 Sandstead, HH. (1991) Zinc Deficiency. A Public Health Problem? *Am J Dis Child* 145: 853-859.
- 67 Moser-Veillon, PB. (1990) Zinc: Consumption Patterns and Dietary Recommendations. *J Am Diet Assoc* 90: 1089-1093.
- 68 Pitkin, RM. (1981) Assessment of Nutritional Status of Mother, Fetus and Newborn. *Am J Clin Nutr* 34: 658-668.
- 69 Sorell, TL, Grazziano, JH. (1990) Effect of Oral Cadmium Exposure During Pregnancy on Maternal and Fetal Zinc Metabolism in the Rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 102: 537-545.
- 70 Lonnerdal, B, Keen, CL, Bell, JG, et. al. (1990) Effect of Marginal Maternal Zinc Intake on Zinc Absorption and Growth of 3-September-Old Infant Rhesus Monkeys. *Am J Dis Child* 144: 1007-1010.
- 71 Gupta, R, Verma, PC, Gupta, P. (1985) Experimental Zinc Deficiency in Guinea Pigs: Clinical Signs and some Haematological Studies. *Br J Nutr* 54: 421-428.

72 Neggers, HY, Culter, GR, Acton, RT, e. al. (1990) A Positive Association between Maternal Serum Zinc Concentration and Birth Weight. *Am J Clin Nutr* 51: 678.

73 King, JC, Stein, T, Doyle, M. (1981) Effect of Vegetarianism on the Zinc Status of Pregnant Women. *Am J Clin Nutr* 34: 1049-1055.

74 Fosmire, GJ. (1990) Zinc Toxicity. *Am J Clin Nutr* 51: 225-227.

75 Hambidge, MK, Krebs, NF. (1989) Upper Limits of Zinc, Copper, and Manganese in Infant Formulas. *J Nutr* 119: 1861-1864.

76 Picciano, MF, Guthrie, HA. (1976) Copper, Iron and Zinc Contents of Mature Human Milk. *Am J Clin Nutr* 29: 242-254.

77 Bates, CJ, Tsuchiya, H. (1990) Zinc in Breast Milk During Prolonged Lactation: Comparison between the UK and the Gambia. *Eur J Clin Nutr* 44: 61-69.

78 Suzuki, KT, Tamagawa, H, Hirano, S, et. al. (1991) Changes in Element Concentration and Distribution in Breast-Milk Fractions of a Healthy Lactating Mother. *Biol Trace Element Res* 28: 109-121.

79 Lamounier, JA, Danelluzi, JC, Vannucchi, H. (1989) Zinc Concentrations in Human Milk During Lactation: a 6 Month Longitudinal Study in Southern Brazil. *J Trop Pediatr* 35: 31-34.

80 Vaughan, LA, Weber, CW, Kemberling, SR. (1979) Longitudinal Changes in the Mineral Content of Human Milk. *Am J Clin Nutr* 32: 2301-2306.

81 Casey, CE, Neville, MC, Hambidge, KM. (1989) Studies in Human Lactation: Secretion of Zinc, Copper, and Manganese in Human Milk. *Am J Clin Nutr* 49: 773-785.

82 Karra, NV, Volipi, SA, Kirksey, A, et. al. (1986) Changes in Specific Nutrients in Breast Milk During Extended Lactation. *Am J Clin Nutr* 43: 495-503.

83 Vaillancourt, SJ, Allen, JC. (1991) Glucocorticoid Effects on Zinc Transport into Colostrum and Milk of Lactating Cows. *Biol Trace Element Res* 30: 185-196.

84 Moutafchiev, DA, Sirakov, LM (1992) Competition of  $Mn^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  with  $^{59}Fe^{2+}$  and  $^{59}Fe^{3+}$  for the Plasma Membrane Receptors from Lactating Mouse Mammary Gland. *Biol Trace Element Res* 35: 203-210.

85 Simmer, K, Ahmed, S, Carlsson, L, Thompson, RPM (1990) Breast Milk Zinc and Copper Concentrations in Bangladesh. *Br J Nutr* 63: 91-96.

86 Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs. Food and Nutrition Board. Commission on Life Sciences. National Research Council. (1989) Recommended Dietary Allowances, pp 205-211. National Academy Press, Washington, D. C.

87 Walravens, PA, Chakar, A, Mokni, R, et. al. (1992) Zinc Supplements in Breastfed Infants. Lancet 340: 383-385.

88 Khoshoo, V, Kjarsgaard, J, Krafchik, B, et. al. (1992) Zinc Deficiency in a Full-Term Breast-Fed Infant: Unusual Presentation. Pediatrics 89: 1094-1095.

89 Schlesinger, L, Arevalo, M, Arredondo, S, et. al. (1992) Effect of a Zinc-Fortified Formula on Immunocompetence and Growth of Malnourished Infants. Am J Clin Nutr 56: 491-498.

90 Piletz, JE, Ganschow, RE. (1978) Zinc Deficiency in Murine Milk Underlies Expression of the Lethal Milk (lm) Mutation. Science 199: 181-183.

91 Moser, PB, Reynolds, RD, Acharya, S, et. al. (1988) Copper, Iron, Zinc, and Selenium Dietary Intake and Status of Nepalese Lactating Women and their Breast-fed Infants. Am J Clin Nutr 47: 729-734.

92 Lehti, KK. (1989) Iron, Folic Acid and the Zinc Intakes and Status of Low Socio-Economic Pregnant and Lactating Amazonian Women. Eur J Clin Nutr 43: 505-513.

93 Maeda, T, Tanaka, T, Oshiro, H, et. al. (1990) Zinc and Copper Concentrations in Breast Milk and Maternal Serum in the Postpartum Period. Nippon Eiseigaku Zasshi 45: 781-787.

94 Mutch, PB, Hurley, LS. (1974) Effect of Zinc Deficiency during Lactation on Postnatal Growth and Development of Rats. J Nutr 104: 828-842.

95 Kirksey, A, Ernst, JA, Roepke, JI, et. al. (1979) Influence of Mineral Intake and Use of Oral Contraceptives before Pregnancy on the Mineral Content of Human Colostrum and of more Mature Milk. Am J Clin Nutr 32: 30-39.

96 Parr, RM, DeMaeyer, EM, Iyengar, VG, et.al. (1991) Biol Trace Element Res 29: 51-75.

97 Lonnerdal, B, Clegg, M, Lucille, S. (1981) Changes in Concentration and Distribution of Trace Element in Human Milk During Lactation. Am J Clin Nutr 34: 640.

98 Greger, JI, Gutkowsky, CM, Khazen, RR. (1989) Interactions of Lactose with Calcium, Magnesium and Zinc in Rats. J Nutr 119: 1691-1697.

- 99 Evans, GW, Johnson, PE. (1980) Characterization and Quantitation of Zinc-Binding Ligand in Human Milk. *Pediatr Res* 14: 876-880.
- 100 Krebs, NF, Hambidge, MK. (1986) Zinc Requirements and Zinc Intakes of Breast-Fed Infants. *Am J Clin Nutr* 43: 288-292.
- 101 Lonnerdal, B, Keen, CL, Ohtake, M, et. al. (1981) Trace Element and Mineral Content of Infant Formulas. *Am J Clin Nutr* 34: 640.
- 102 Duerre, JA, Ford, KM, Sandstead, HH. (1977) Effect of Zinc Deficiency on Protein Synthesis in Brain and Liver of Suckling Rats. *J Nutr* 107: 1082-1093.
- 103 Reis, BL, Keen, CL, Lonnerdal, B, et. al. (1991) Mineral Status of Mice Suckling Early-, Mid-, and Late-Lactating Foster Dams. *J Nutr* 121: 700-710.
- 104 Atkinson, SA, Whelam, D, Whyte, RK, et. al. (1989) Abnormal Zinc Content in Human Milk. *Am J Dis Child* 143: 608-611.
- 105 Reis, BL, Keen, CL, Lonnerdal, B, et. al. (1991) Longitudinal Changes in the Mineral Composition of Mouse Milk and the Relationship to Zinc Metabolism of Suckling Neonate. *J Nutr* 121: 687-699.
- 106 Moser-Veillon, PB, Reynolds, RD. (1990) A longitudinal Study of Pyridoxine and Zinc Supplementation of Lactating Women. *Am J Clin Nutr* 52: 135-141.
- 107 Krebs, NF, Hambidge, MK, Jacobs, MA, et. al. (1985) The Effects of a Dietary Zn Supplement During Lactation on Longitudinal Changes in Maternal Zinc Status and Milk Zinc Concentrations. *Am J Clin Nutr* 41: 560-570.
- 108 Donangelo, CM, Truyo, NMF, Koury, JC, et. al. (1989) Iron, Zinc, Folate and Vitamin B12 Nutritional Status and Milk Composition of Low-Income Brazilian Mothers. *Eur J Clin Nutr* 43: 253-266.
- 109 Altigani, M, Murphy, JF, Gray, OP. (1989) Plasma Zinc Concentration and Catch Up Growth in Preterm Infants. *Acta Paediatr Scand. Suppl.* 357: 20-23.
- 110 Walravens, PA, Hambidge, MR, Koepfer DM. (1989) Zinc Supplementation in Infants With a Nutritional Pattern of Failure to Thrive: A Double-Blind, Controlled Study. *Pediatrics* 83: 532-538.
- 111 Thorp, JW, Boeckx, RL, Robbins, S, et. al. (1981) A Prospective Study of Infant Zinc Nutrition During Intensive Care. *Am J Clin Nutr* 34: 1056-1060.
- 112 Valdés-Ramos, R. (1992) Zinc: a Perinatal Point of View. *Prog Food Nutr Sci* 16: 279-306.

113 Dauncey, MJ, Shaw, JCL, Urman, J. (1977) The Absorption and Retention of Mg, Zn and Cu by Low Birth Weight Infants Fed Pasteurized Human Breast Milk. *Pediatr Res* 11: 991-997.

114 Zimmerman, AW, Hambidge, MK. (1980) Low Zinc in Mothers Milk and Zinc Deficiency Syndrome in Breast-Fed Premature Infants. *Am J Clin Nutr* 33: 951.

115 Golden, BE, Golden, MHN. (1981) Plasma Zinc, Rate of Weight Gain, and the Energy Cost of Tissue Deposition in Children Recovering from Severe Malnutrition on a Cows Milk or Soya Protein Based Diet. *Am J Clin Nutr* 34: 892-899.

116 Golden, MHN, Golden, BE. (1981) Effect of Zinc Supplementation on the Dietary Intake, Rate of Weight Gain and Energy Cost of Tissue Deposition in Children Recovering from Severe Malnutrition. *Am J Clin Nutr* 34: 900-908.

117 Morgan, PN, Keen, CL, Calvert, CC, et. al. (1988) Effect of Varying Dietary Zinc Intake of Weanling Mouse Pups During Recovery from Early Undernutrition on Growth, Body Composition and Composition of Gain. *J Nutr* 118: 690-698.

118 Morgan PN, Keen, CL, Lonnerdal, B. (1988) Effect of Varying Dietary Zinc Intake of Weanling Mouse Pups During Recovery from Early Undernutrition on Tissue Mineral Concentrations, Relative Organ Weights, Haematological Variables and Muscle Composition. *J Nutr* 118: 699-711.

119 Castillo-Durán, C, Vial, P, Vany, R. (1990) Oral Copper Supplementation: Effect on Copper and Zinc Balance During Acute Gastroenteritis in Infants. *Am J Clin Nutr* 51: 1088-1092.

120 Swanson, CA, King, JC. (1987) Zinc and Pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 46: 763-771.

121 Favier, AE. (1992) The Role of Zinc in Reproduction. *Hormonal Mechanisms. Biol Trace Element Res* 32: 363-380.

122 Sandstead, HH. (1992) Growth, Sexual Maturation and Dietary Fiber in Pubertal Girls. *Am J Clin Nutr* 55: 1186-1187.

123 Mira, M, Stewart, PM, Abraham, SF. (1988) Vitamin and Trace Element Status in Premenstrual Syndrome. *Am J Clin Nutr* 47: 636.

124 Mehta, SW, Eikum, R. (1989) Effect of Estrogen on Serum and Tissue Levels of Copper and Zinc. *Adv Exp Med Biol* 258: 155-162.

125 Metcalf, J. (1986) Association of Fetal Growth with Maternal Nutrition. in: *Human Growth. A Comprehensive Treatise. Volume 3: Methodology Ecological, Genetic and Nutritional Effects on Growth.* (Falkner, F y Tanner, JM, eds) pp 333-339, Plenum Press, New York and London.

126 Jameson, S. (1976) Effects of Zinc Deficiency in Human Reproduction. *Acta Med Scand. Suppl.* 593: 1-89.

- 127 Okonofua, FE, Isinkaye, A, Onwudiegwu, U, et. al. (1990) Plasma Zinc and Copper in Pregnant Nigerian Women at Term and their Newborn Babies. *Int J Gynecol Obstet* 32: 243-245.
- 128 Golub, MS, Tarantal, AF, Gershwin, ME, et. al. (1992) Ultrasound Evaluation of Fetuses of Zinc-Deprived Monkeys (Macaca Mulatta). *Am J Clin Nutr* 55: 734-740.
- 129 Standstead, HH, Strobel, DA, Logan, GM, et. al. (1978) Zn Deficiency in Pregnant Rhesus Monkeys: Effects on Behavior of Infants. *Am J Clin Nutr* 31: 844-849.
- 130 Mahomed, K, James, DK, Golding, J et. al. (1989) Zinc Supplementation During Pregnancy: a double blind randomised controlled trial. *Br Med J* 299: 826-829.
- 131 Verburg, DI, Burd, LJ, Huxtill, ED, et. al. (1974) Achromodermatitis Enterophatica and Pregnancy. *Obstet Gynecol* 44: 233.
- 132 Sikorski, R, Milart, P, Kapoc, E. (1991) Essential Metal and Immunoglobulin Levels in Women and Neonates with PROM. *Zentralbl-Gynakol* 113: 99-103.
- 133 Simmer, K, Lort-Phillips, L, James, C, et. al. (1991) A double-blind trial of Zinc Supplementation in Pregnancy. *Eur J Clin Nutr* 45: 139-144.
- 134 Favier, AE. (1992) Hormonal Effects of Zinc on Growth in Children. *Biol Trace Element Res* 32: 383-395.
- 135 Cavdar, AO, Bahceci, M, Akar, N, et. al. (1991) Maternal Hair Zinc Concentration in Neural Tube Defects in Turkey. *Biol Trace Element Res* 30: 81-85.
- 136 Fons, C, Brun, JF, Fussellier, M, et. al. (1992) Serum Zinc and Somatic Growth in Children with Growth Retardation. *Biol Trace Element Res* 32: 399-404.
- 137 Chen, X, Wang, W, Yan, H, et. al. (1992) Studies on Iron Deficiency Anemia, Rickets and Zinc Deficiency and their Prevention Among Chinese Preschool Children. *Prog Food Nutr Sci* 16: 263-277.
- 138 Golub, MS, Gershwin, ME, Hurley, LS, et. al. (1984) Studies of Marginal Zinc Deprivation in Rhesus Monkeys. I. Influence on Pregnant Dams. *Am J Clin Nutr* 39: 265-280.
- 139 Golub, MS, Gershwin, ME, Hurley, LS, et. al. (1984) Studies of Marginal Zinc Deprivation in Rhesus Monkeys. IV. Growth of Infants in the First Year. *Am J Clin Nutr* 40: 1192-1202.
- 140 Leek, JC, Vogler, JB, Gershwin, ME, et. al. (1984) Studies of Marginal Zinc Deprivation in Rhesus Monkeys. V. Fetal and Infants Skeletal Effects. *Am J Clin Nutr* 40: 1203-1212.

- 141 Liu, H, Oteiza, PI, Gershwin, ME, et. al. (1992) Effects of Maternal Marginal Zinc Deficiency on Myelin Protein Profiles in the Suckling Rat and Infant Rhesus Monkey. Biol Trace Element Res 34: 55-66.
- 142 Yasodhara, P, Ramarajo, LA, Raman, L, (1991) Trace Minerals in Pregnancy. I. Copper and Zinc. Nutr Res 11: 15-21.
- 143 Neggers, YH, Cutter, GR, Alvarez, JO. et. al. (1991) The Relationship Between Maternal Serum Zinc Levels during Pregnancy and Birthweight, Early Hum Dev 25: 75-85.
- 144 Okonofua, FE, Amole, FA, Emofurieta, WO, et. al. (1989) Zinc and Copper Concentration in Plasma of Pregnant Women in Nigeria. Int J Gynecol Obstet 29: 19-23.
- 145 Lao, TT, Loong, EP, Chin, RK, et. al. (1990) Zinc and Birth Weight in Uncomplicated Pregnancies. Acta Obstet Gynecol Scand 69: 609-611.
- 146 Wells, JL, James, DK, Luxton, R, et. al. (1987) Maternal Leucocyte Zinc Deficiency at Start of Third Trimester as a Predictor of Fetal Growth Retardation. Br Med J 294: 1054-1056.
- 147 Malhotra, A, Fairweather-Tait, SJ, Wharton, PA, et. al. (1990) Placental Zinc in Normal and Intra-uterine Growth-retarded Pregnancies. Br J Nutr 63: 613-621.
- 148 Faure, P, Roussel, AM, Richard, MJ, et. al. (1991) Effect of an Acute Zinc Depletion on Rat Lipoprotein Distribution and Peroxidation. Biol Trace Element Res 28: 135-140.
- 149 Coudray, C, Boucher, F, Richard, MJ, et. al. (1991) Zinc Deficiency, Ethanol, and Myocardial Ischemia Affect Lipoperoxidation in Rats. Biol Trace Element Res 30: 103-117.
- 150 Tanaka, H, Iwasaki, S, Nakazawa, K, et. al. (1988) Fetal Acohol Syndrome in Rats: Conditions for Improvement of Ethanol Effects on Fetal Cerebral Development with Supplementary Agents. Biol Neonate 54: 320-329.
- 151 Harris, JE. (1990) Hepatic Glutathione, Metallothionein and Zinc in the Rat on Gestational Day 19 durin Chronic Ethanol Administration. J Nutr 120: 1086.
- 152 Seyoum, GG, Persaud, TV. (1991) Can Methionine and Zinc Prevent the Embryopathic Effects of Alcohol? Med Hypotheses 34: 153-156.
- 153 Sandstead, HH. (1983) Learning and Memory Impairment in Adult Rats due to Severe Zn Deficiency during Lactation. Physiol Behav 30: 371-381.
- 154 Hess, G. (1979) Chronic Zinc Deficiency Alters Neuronal Function of Hippocampal Mossy Fibers. Science 250: 1005-1007.

155 Savage, DD, Montano, CY, Paxton, LL, et. al. (1989) Prenatal Ethanol Exposure Decreases Hippocampal Mossy Fiber Zn in 45-Day-Old Rats. *Alcoholism* 13: 588-593.

156 Uriu-Hare, JY, Stern, JS, Reaven, GM, et. al. (1985) The Effects of Maternal Diabetes on Trace Element Status and Fetal Development in the Rat. *Diabetes* 34: 1031-1040.

157 Uriu-Hare, JY, Stern, JS, Keen, CL. (1989) Influence of Maternal Dietary Zn Intake on Expression of Diabetes Induced Teratogenicity in Rats. *Diabetes* 38: 1282-1290.

158 Borella, P, Szilagyi, A, Than, G, et. al. (1990) Maternal Plasma Concentrations of Magnesium, Calcium, Zinc and Copper in Normal and Pathological Pregnancies. *Sci Total Environ* 99: 67-76.

159 Yamaguchi, M, Oishi, H. (1989) Effect of 1, 25- Dihydroxy vitamin D3 on Bone Metabolism in Tissue Culture. Enhancement of the Steroid Effect by Zinc. *Biochem Pharmacol* 38: 3453-3459.

160 Repke, JT. (1991) Calcium, Magnesium, and Zinc Supplementation and Perinatal Outcome. *Clin Obstet Gynecol* 34: 262-267.

161 Karra, MV, Kirksey, A, Galal, O, et. al. (1988) Zinc, Calcium and Magnesium Concentrations in Milk from American and Egyptian Women. *Am J Clin Nutr* 47: 642-648.

162 Thauvin, E, Fussellier, M, Arnaud, J, et. al. (1992) Effects of a Multivitamin Mineral Supplement on Zinc and Copper Status during Pregnancy. *Biol Trace Element Res* 32: 405-412.

163 (1989) Does Zinc Supplementation Improve Growth in Children who Fail to Thrive? *Nutr Rev* 47: 356-358.

164 Sandstead, HH. (1973) Zinc Nutrition in the United States. *Am J Clin Nutr* 26: 1251-1259.

165 Cherry, FF, Sandstead, HH, Rojas, P, et. al. (1989) Adolescent Pregnancy: Associations among Body Weight, Zinc Nutriture and Pregnancy Outcome. *Am J Clin Nutr* 50: 945-954.

166 Lonnerdal, B, Keen, CL, Hendrickx, AG, et. al. (1990) Influence of Dietary Zinc and Iron on Zinc Retention in Pregnant Rhesus Monkeys and their Infants. *Obstet Gynecol* 75: 369-374.

167 Hambidge, KM, Krebs, NF, Sibley, L, et. al. (1987) Acute Effects of Iron Therapy on Zinc Status during Pregnancy. *Obstet Gynecol* 70: 593-596.

168 Simmer, K, Iles, CA, James, C, et. al. (1987) Are Iron-Folate Supplements Harmful? *Am J Clin Nutr* 45: 122-125.



169 Breskin MW, Worthington-Roberts, BJ, Knopp, RH, et. al. (1983) First Trimester Serum Zinc Concentrations in Human Pregnancy. Am J Clin Nutr 38: 943-953.

170 Dawson, EB, Albers, J, McGanity, WJ (1989) Serum Zinc Changes due to Iron Supplementation in Teen-age Pregnancy. Am J Clin Nutr 50: 848-852.

171 Hurley, LS, Tao, S. (1972) Alleviation of Teratogenic Effects of Zinc Deficiency by Simultaneous Lack of Calcium. Am J Physiol 222: 322-325.

172 Hafiez, AA, El-Kirdassy, ZHM, El-Malkh, NM, et. al. (1990) Role of Zinc in Regulating the Testicular Function. Part 3. Histopathological Changes Induced by Dietary Zinc Deficiency in Testes of Male Albino Rats. Nahrung 34: 65-73. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, volumen 114.

173 Carreras, A, Mendoza, C. (1990) Zinc Levels in Seminal Plasma of Fertile and Infertile Men. Andrologia 22: 279-283.

174 Hunt, CD, Johnson, PE, Herbel, J, et. al. (1992) Effects of Dietary Zinc Depletion on Seminal Volume and Zinc Loss, Serum Testosterone Concentrations and Sperm Morphology in Young Men. Am J Clin Nutr 56: 148-157.

175 Prasad, AS, Midle, A, Farid, Z, et. al. (1963) Zinc Metabolism in Normals and Patients with Syndrome of Iron Deficiency, Anemia, Hypogonadism and Dwarfism. J Lab Clin Med 61: 537-549.

176 Prasad, AS, Schulert, AR, Midle, A, et. al. (1963) Zinc and iron Deficiencies in Male Subjects with Dwarfism but without Ancylostomiasis, Schistosomiasis or Severe Anemia. Am J Clin Nutr 12: 437-444.

177 Mansour, MMS, Hafiez, AA, El-Kirdassy, ZHM, et. al. (1989) Role of zinc in Regulating the Testicular Function. Part 2. Effect of Dietary Zinc Deficiency on Gonadotropins, Prolactin and Testosterone Levels as well as 3-beta-hydroxysteroid Dehydrogenase Activity in Testes of Male Albino Rats. Nahrung 33: 941-947. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, volumen 114.

178 Cui, Y, Zhang, Z, Wang, Q, et. al. (1991) Determination of Seminal Zinc Levels to Appraise Mens Fertility. Zhonghua Yixue Jianyan Zazhi 14: 9-11. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, volumen 114.

179 Haidl, G, Schill, WB. (1991) Guidelines for Drug Treatment of Male Infertility. Drugs 41: 60-68.

180 Bjorndahl, L, Kjellberg, S, Kvist, U. (1991) Ejaculatory Sequence in Men with Low Sperm Chromatin-zinc. Int J Androl 14: 174-178.

- 181 McCallum, KA, Kavanagh, JP, Farragher, EB, et. al. (1988) Ratio of Post-Prostatic Massage Urinary Zinc Concentration to Initial Urinary Zinc Concentration. Br J Urol 62: 565-570.
- 182 Kvist, US, Kjellberg, S, Bjorndahl, L, et. al. (1990) Seminal Fluid from Men with Agenesis of the Wolffian Ducts: Zinc-binding Properties and Effects on Sperm Chromatin Stability. Int J Androl 13: 245-252.
- 183 Kvist, U, Bjorndahl, L. (1985) Zinc Preserves an Inherent Capacity for Human Sperm Chromatin Decondensation. Acta Phys Scand 124: 195-200.
- 184 Kvist, U, Bjorndahl, L, Kjellberg, S, et. al. (1985) Sperm Nuclear Zinc: its Prostatic Origin and its Significance for Human Fertility. Acta Phys Scand 124 (suppl 542): 389.
- 185 Bjorndahl, L, Kvist, U. (1990) Influence of Seminal Vesicular Fluid on the Zinc Content of Human Sperm Chromatin. In J Androl 13: 232-237.
- 186 Reyes, A, Delgado, N, Chavarria, ME, et. al. (1990) Several New Concepts on the Terminal Mechanism of Mammal Fertilization. Ginecol Obstet Mex 58: 292-299.
- 187 Ando, S, Carpino, A, Buffone, M, et. al. (1990) Fructose, Prostatic Acid Phosphatase and Zinc Levels in the Seminal Plasma of Variococales. Int J Fertility 35: 249-252.
- 188 Toro, G, Ackermann, PG. (1975) Practical Clinical Chemistry pp 259-269. Little Brown and Company, Boston, U. S. A.
- 189 Slavin, W. (1986) Flames, Furnaces, Plasmas. How do we Choose? Anal Chem 58: 589A-596A.
- 190 Falchuck, KH, Hilt, Kl, Valle, BL. (1988) Determination of Zinc in Biological Samples by Atomic Absorption Espectrometry. Methods in Enzimology 158: 422-434.
- 191 Lewis, SA, OHaver, TC, Harnly, Jm. (1984) Analisis of Blood Serum for Essentials Metals by simultaneous Multielement AAS with Flame Atomization. Anal Chem 56: 1066-1070.
- 192 Perkin-Elmer Corporation. (1982) Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry. Norwalk, Connecticut, U. S. A.
- 193 Beaty, RD. (1979) Conceptos, Instrumentación y Técnicas de Espectrofotometría por Absorción Atómica. Corporación Perkin-Elmer, Norwalk, Connecticut, U. S. A.
- 194 Sychra, V, Svoboda, V, Rubesvka, I. (1975) Atomic Fluorescence Spectroscopy. Dr. Malcolm Cresser, Editor. Van Nostrand Reinhold Company, London.

- 195 Soriano, MJ, De la Guardia, M. (1984) A comparative Study of Flame Atomic Absorption Methods for determination of Zinc in Serum and Blood Plasma. *Talanta* 31: 347-352.
- 196 Ramirez Muñoz, J. (1968) *Atomic Absorption Spectroscopy*. Elsevier Publishing Company, N. Y.
- 197 Van Loon, JC. (1980) Direct Trace Elemental Analysis of Solids by Atomic (Absorption, Fluorescence and Emission) Spectrometry. *Anal Chem* 52: 955A-963A.
- 198 Slavin, W, (1988) *Atomic Absorption Spectrometry. Methods in Enzymology* 158: 117-145.
- 199 Butrimovitz, GP, Purdy, WC. (1977) The determination of Zinc in Blood Plasma by Atomic Absorption Spectrometry. *Anal Chim Acta* 94: 63-73.
- 200 Brown, AA, Halls, DJ, Taylor, A. (1989) *Atomic Spectrometry Update-Clinical and Biological Materials, Foods and Beverages*. *J Anal At Spectrom* 4: 47R-87R.
- 201 AOAC (1990) *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. Fifteenth Edition*, pp 237-239, Edited By Kenneth Helrich, U. S. A.
- 202 Holak, W. (1980) *Metals and Other Elements. Analysis of Foods for Lead, Cadmium, Copper, Zinc, Arsenic, and Selenium using Closed System Sample Digestion: Collaborative Study*. *J Assoc Off Anal Chem* 63: 485-495.
- 203 Isaac, RA, Johnson, WC, (1975) Collaborative Study of Wet and Dry Ashing Techniques for the Elemental Analysis of Plant Tissue by Atomic Absorption Spectrophotometry. *J Assoc Off Anal Chem* 58: 436-440.
- 204 Smith, DL, Schrenk, WG. (1972) Application of Atomic Absorption Spectroscopy to Plant Analysis. I Comparison of Zinc and Manganese Analysis with Official AOAC Colorimetric Methods. *J Assoc Off Anal Chem* 55: 669-675.
- 205 Brown, AA, Taylor, A. (1984) Determination of Copper and Zinc in Serum and Urine by Use of a Slotted Quartz Tube and Flame Atomic-Absorption Spectrometry. *Analyst* 109: 1455-1459.
- 206 Versieck, J, Cornelis, R. (1980) Normal Levels of Trace Elements in Human Blood Plasma or Serum. *Anal Chim Acta* 116: 217-254.
- 207 Lleung RSC, Turnbull, AJ, Taylor, JA, et. al. (1990) Neutrophil Zinc Levels in Psoriasis and Seborrheic Dermatitis. *Br J Dermatol* 123: 319-323.
- 208 Hill, AD, Patterson, KY, Veillon, C, et. al. (1986) Digestion of Biological Materials for Mineral Analysis using a Combination of Wet and Dry Ashing. *Anal Chem* 58: 2340-2342.

- 209 Facchinetti, F, Borella, P, Valentini, M, et. al. (1989) Intra-Uterine Growth Retardation is Associated with Increased Levels of Magnesium in Amniotic Fluid. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 32: 227-232.
- 210 Liska, SK, Kerkay, J, Pearson, KH. (1985) Determination of Zinc in Whole Blood, Plasma and Serum using Zeeman Effect Flame Atomic Absorption Spectroscopy. Clin Chim Acta 151: 237-243.
- 211 Acominotti, M, Pegon, Y, Valion, JJ. (1988) Determination of Zinc in Blood Serum by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with Matrix Modification. Clin Chim Acta 173: 99-106.
- 212 English, JI, Hambidge, KM, (1988) Plasma and Serum Zinc Concentrations: Effect of Time between Collection and Separation. Clin Chim Acta 175: 211-216.
- 213 Liska, SK, Kerkay, J, Pearson, KH. (1985) Determination of Zinc and Copper in Urine using Zeeman Effect Flame Atomic Absorption Spectroscopy. Clin Chim Acta 151: 231-236.
- 214 Kasman, DJ, Henkin, RI. (1979) Plasma and Serum Zinc Concentrations. Lancet 1: 1410.
- 215 Apgar, J, Everett, GA. (1991) Low Zinc Intake Affects Maintenance of Pregnancy in Guinea Pigs. J Nutr 121: 192-200.
- 216 Arnaud, J, Favier, A, Alary, J. (1991) Zinc Determination in Human Milk. Lait 7: 87-97. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, Volumen 114.
- 217 Veena, R, Narang, APS, Bandoy, AW, et. al. (1991) Copper and Zinc Levels in Maternal and Fetal Cord Blood. Int J Gynecol Obstet 35: 47-49.
- 218 Perry, DF. (1990) Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Serum Zinc: Collaborative Study. J Assoc Off Anal Chem 73: 619-621.
- 219 Folin, M, Contiero, E, Vaselli, GM. (1991) Trace Element Determination in Humans. The Use of Blood and Hair. Biol Trace Element Res 31: 147-158.
- 220 Wu, GJ, Tsai, YH. (1990) Study of Acid Interferences in Atomic Absorption Detection of Metals. Hua Hsueh 48: 109-112. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, Volumen 114.
- 221 Luterotti, S, Zanic-Grubisic, T, Juretic, D. (1992) Rapid and Simple Method for the Determination of Copper, Manganese and Zinc in Rat Liver by Direct Flame Atomic Absorption Spectrometry. Analyst 117: 141-143.

222 Gapar, SG. (1977) Atomic Absorption Spectrophotometric Determination of Lead, Cadmium, Zinc, and Copper in Clams and Oysters: Collaborative Study. *J Assoc Off Anal Chem* 60: 1400-1407.

223 Freeland-Graves, JH, Hendrickson, PJ, Ebangit, ML, et. al. (1981) Salivary Zinc as an Index of Zinc Status in Women Fed a Low-Zinc Diet. *Am J Clin Nutr* 34: 312-321.

224 Donaldson, DL, Kubo, C, Smith, CC, et. al. (1986) Effects of Genetic Diabetes and Zinc Nutrition on In Vivo Cell-Mediated Immunity in the Mouse. *Am J Clin Nutr* 43: 263-271.

225 Feng, X, Cheng, Y, Wang, Z, et. al. (1990) Determination of Zinc, Iron, Manganese, Copper, Potassium, Calcium and Magnesium in Hair by AAS. *Guang Puxue Yu Guangpu Fenxi* 10: 76-80. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, Volumen 114.

226 Edward, JB, Benfer, RA, Morris, J. (1990) The Effects of Dry Ashing on the Composition of Human and Animal Bone. *Biol Trace Element Res* 25: 219-231.

227 Koo, WWK, Succop, P, Hambidge, KM. (1989) Serum Alkaline Phosphatase and Serum Zinc Concentrations in Preterm Infants with Rickets and Fractures. *Am J Dis Child* 143: 1342-1345.

228 Agemian, H, Sturtevant, DP, Austen, KD. (1980) Simultaneous Acid Extraction of Six Trace Metals from Fish Tissue by Hot-Block Digestion and Determination by Atomic-Absorption Spectrometry. *Analyst* 105: 125-130.

229 August, D, Janghorbani, M, Young, VR. (1989) Determination of Zinc and Copper Absorption of Three Dietary Zn-Cu Ratios by using Stable Isotope Methods in Young Adult and Elderly Subjects. *Am J Clin Nutr* 50: 1457-1463.

230 Dastyh, M. (1990) Determination of Copper and Zinc in Feces. *Aerztl Lab* 36: 330-333. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, Volumen 114.

231 Arafat, NM, Glooschenko, WA. (1981) Method by Simple Determination of Zinc and Others in Plants Tissue Without using HClO<sub>4</sub>. *Analyst* 106: 1174-1178.

232 Yan, H, Zhuang, S, Zhou, Y. (1990) Effect of Washing Procedures on Human Hair Samples. *Fenxi Huaxue* 18: 1134-1137. Resumen tomado del Chemical Abstracts 1991, Volumen 114.