



Universidad Nacional Autónoma de México

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas,
Odontológicas y de la Salud

Campo del conocimiento: Investigación Clínica Experimental en Salud

Campo disciplinario: Bioquímica Clínica

“Efecto de la suplementación de zinc y selenio sobre la capacidad
antioxidante y su impacto en la función pulmonar de pacientes con
Fibrosis Quística”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

MARIANA ROMÁN CASAS

Director de tesis
Dra. Karla G. Carvajal Aguilera
Instituto Nacional de Pediatría

Ciudad Universitaria, CD.MX.

Junio 2017



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.



Este proyecto de investigación se llevó a cabo en el **INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA** en el laboratorio de **NUTRICION EXPERIMENTAL** a cargo de la Dra. Karla Guadalupe Carvajal Aguilera, en colaboración con el servicio de Neumología y Nutrición.

Agradecimientos

Quisiera dirigirme con mucho cariño y agradecimiento a todas las personas que marcaron mi corazón. Una de ellas es la Dra. Karla a quien admiro y respeto mucho por su paciencia, dedicación y amor a su profesión. Gracias por apoyarme siempre, creer en mí y por ayudarme a crecer profesional y personalmente. También agradezco a mi jurado que con paciencia y dedicación siempre estuvieron al pendiente de mis actividades académicas: María Elena, Dewi, Rafael y Aurelio.

A mis compañeras de laboratorio por regalarme tantas risas y bonitas anécdotas: Aidee, Dany y Gaby.

A todos aquellos personas que compartieron su tiempo, enseñanzas y dedicación en los seminarios de investigación: Bryan, Luz Camacho, Marco y Daniel.

A mis queridas Paty, Reynita y Luz porque siempre estuvieron ahí para facilitarme las cosas del laboratorio.

También quiero agradecer mucho a mi equipo de nutriólogas: Adriana, Miriam y Judith por su paciencia y dedicación, por enseñarme que las nutriólogas somos mucho más que cuenta calorías je,je,je. A todos los papas de mis pequeños que decidieron de manera voluntaria participar en nuestro estudio asistiendo a sus visitas puntualmente y cumpliendo con sus indicaciones de tratamiento. Al equipo de neumología principalmente a la Dra. Alva por apoyarnos y decidir participar en el estudio.

A mis padres: Mario y Martha que siempre me hacen soñar e imaginar en alto y son el ejemplo perfecto del amor verdadero, a mis hermanos: Mario, Clementina y Paco que no dejan de hacerme sonreír y son mi inspiración más grande. A mi tía Lupita que con mucho amor siempre me enseña el verdadero significado de la vida, es mi amiga, mi segunda madre, mi confidente y cómplice.

A mi esposo Felipe que es una de las personas que más admiro y en quien confié, gracias por ayudarme a cumplir todos mis sueños y hacerme feliz. Te amo!

Agradecimientos

Agradezco mucho a **CONACYT** (número de beca: **328691**) y al **INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA** por brindarnos el financiamiento económico necesario para llevar a cabo este proyecto de investigación.

Índice general

Agradecimientos	3
Índice general	5
Resumen	6
Introducción	8
Marco teórico	11
Definición de la FQ.....	11
Fisiopatología de la FQ	12
Hallazgos clínicos de la FQ	13
Mala absorción intestinal.....	13
Estrés oxidante	15
Funciones del Zn	19
Funciones del Se.....	24
Antecedentes	26
Planteamiento del problema	32
Justificación	33
Hipótesis	33
Objetivos	34
Metodología	35
Diseño del estudio.....	35
Universo y Muestra	36
Cálculo de la muestra	37
Criterios de inclusión.....	37
Obtención de muestras sanguíneas y medición de parámetros bioquímicos	38
Análisis Estadístico	42
Resultados	42
Discusión de resultados	56
Conclusiones	63
Limitaciones	63
Implicaciones	63
Bibliografía	65
ANEXO 1. Consentimiento informado del padre o tutor del menor	73
ANEXO 2. Asentimiento informado del menor	78

Resumen

Introducción: La Fibrosis Quística (FQ) es causada por mutaciones del gen que codifica la proteína reguladora de la conductancia transmembrana (RTFQ) y afectan el transporte de cloro en las células secretoras de pulmones, páncreas y células sudoríparas entre otros. El páncreas y los pulmones son los más afectados causando desnutrición, infecciones e inflamación crónica que producen incremento en el estrés oxidante. En países desarrollados el tratamiento es especializado con soporte nutricional que incluye antioxidantes, logrando una expectativa de vida hasta 40 años. Sin embargo, en México apenas alcanzan los 20 años con un detrimento importante de salud y calidad de vida, por ello son necesarios nuevos esquemas de tratamiento que mejoren las condiciones del paciente con FQ.

Objetivo: Analizar el efecto de la suplementación de zinc (Zn) y selenio (Se) sobre la capacidad antioxidante, la función pulmonar y el estado nutricional en pacientes pediátricos que presentan FQ.

Material y métodos: Ensayo clínico pragmático, longitudinal, prospectivo con intervención. Se reclutaron 14 pacientes de 6 a 18 años con FQ como patología de base y atención nutricional de al menos 6 meses en el INP con consentimiento y asentimiento informado en niños mayores de 9 años. Recibieron Zn (30 mg/ día) y Se (200µg/día) durante 12 meses. Se determinaron como marcadores de estrés oxidante: a) la capacidad antioxidante y **concentración** malondialdehído (MDA); b) la actividad de enzimas antioxidantes: catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) en una reacción acoplada con glutatión reductasa (GR) en plasma; c) parámetros antropométricos, peso, talla, e IMC; y d) absorción intestinal en heces: azúcares reductores, grasa y actividad trípica. Los parámetros se cuantificaron antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses aunado al tratamiento convencional,

Resultados: A seis meses de suplementación, el IMC incrementó significativamente ($p=0.001$) en relación a la medición basal. La presencia de

cepas bacterianas pulmonares disminuyó significativamente ($p=0.001$) en un 50% después de recibir el tratamiento por 3 meses. La capacidad antioxidante aumentó significativamente ($p=0.01$) a partir de los seis meses con el tratamiento. La actividad de CAT y SOD incrementó en un 50% a partir de los 6 meses con suplementación ($p=0.001$), alcanzando niveles de niños sanos. GR incrementó significativamente ($p=0.001$) después de recibir el Zn y Se aunado al tratamiento convencional a los doce meses.

Conclusión: El Zn y Se favorecen el estado nutricional, los sistemas antioxidantes y disminuyen la recurrencia de infecciones bacterianas de los pacientes con FQ después de la suplementación por doce meses, aunado al tratamiento convencional que incluye antibióticos, broncodilatadores, fisioterapia pulmonar, enzimas pancreáticas, vitamina E, y dieta alta en grasas.

Introducción

La Fibrosis Quística (FQ) es un trastorno genético de herencia autosómica recesiva. Es causado por mutaciones en el gen que codifica la proteína reguladora de la conductancia transmembrana (RTFQ) de la FQ (Fig. 1). La proteína RTFQ es responsable del intercambio del ión cloruro a través de las células; las mutaciones de este gen dan lugar a un defecto en el transporte de cloro en las células epiteliales del aparato respiratorio, hepatobiliar, gastrointestinal, reproductor, páncreas y de las células sudoríparas. Como resultado del defecto en esta proteína, se genera una producción anormal de moco espeso en el cuerpo. Este moco congestiona principalmente las vías respiratorias y los conductos pancreáticos provocando insuficiencia pancreática (IP); siendo un medio idóneo para el crecimiento bacteriano lo que provoca infecciones e inflamación. Otro factor importante en los pacientes con FQ es la mala absorción de nutrientes por vía gastrointestinal, ocasionada principalmente por la falta de secreciones pancreáticas y biliares que ayudan al transporte de nutrientes lipofílicos como las vitaminas y algunos minerales. Esto conduce a un estado crónico de desnutrición y baja tasa de crecimiento que agrava el cuadro neumológico (1).

Se encuentra demostrado que en los pacientes con FQ los niveles de antioxidantes se encuentran bajos, particularmente en aquellos con IP que son más del 95% de los individuos los que la presentan; por lo que es de vital importancia la suplementación con enzimas pancreáticas (lipasa, amilasa y tripsina) que favorecen la absorción de lípidos, carbohidratos y proteínas; así como, de vitaminas liposolubles (A,D,E,K) que participan como antioxidantes no enzimáticos. La disminución de estas últimas puede deteriorar el sistema respiratorio afectando el pulmón y contribuyendo a daño oxidante (2).

Estudios recientes sustentan la importancia de administrar Zinc (Zn) y Selenio (Se) a pacientes que presentan fibrosis quística. Se conoce que el Zn es uno de los elementos traza más abundantes en el plasma, tiene funciones estructurales, catalíticas y reguladoras, interviene en la actividad de factores de transcripción,

receptores nucleares y enzimas, entre otras funciones (3). El Se actúa como mecanismo defensivo contra el estrés oxidante y regula la función tiroidea (4).

Es importante destacar que la FQ es una enfermedad común en los niños, cada año nacen en México de 300 a 400 niños con este padecimiento, de los cuales 85% mueren antes de los cuatro años de edad por falta de diagnóstico oportuno y tratamiento, y solo el 15% de los casos se diagnostica a tiempo para su tratamiento, por lo tanto es importante brindar soporte nutricional de manera oportuna para esta patología, así como evitar complicaciones y mejorar la calidad de vida de estos pacientes (5).

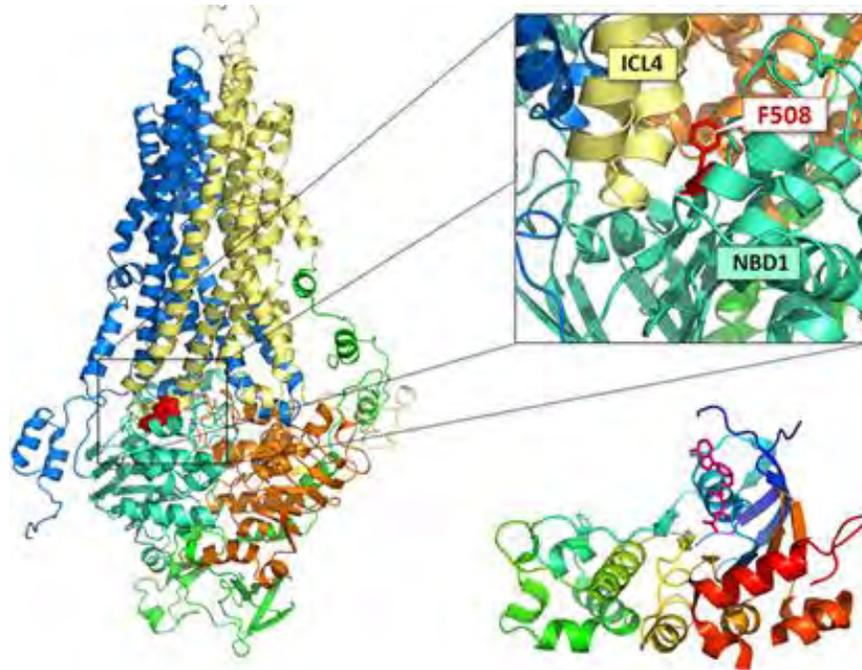


Fig. 1. Proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la FQ.

El gen que codifica la proteína RTFQ está situado en la especie humana en el brazo largo del cromosoma 7, en la posición q31.2, entre el par de bases 116.907.253 y el 117.095.955. Este gen se ha identificado en todas las especies de mamíferos a las que se le ha decodificado el genoma completo. De entre las más de mil mutaciones que se han descrito, la más habitual es la $\Delta F508$, que consiste en la delección de 3 pares de bases en el gen, lo cual ocasiona la pérdida del

aminoácido fenilalanina en la posición 508 de la proteína. Las personas afectadas por esta mutación padecen FQ (6).

Actualmente existen investigaciones que sustentan la suplementación de terapias antioxidantes con vitamina E, A y C principalmente (2,7), sin embargo los ensayos clínicos que respaldan la suplementación de Zn y Se son limitados debido a la escasa información que existe sobre el papel bioquímico, metabólico y clínico que desempeñan estos minerales, sin embargo su impacto a nivel funcional ya se encuentra descrito en la literatura (1,5).

En este proyecto de investigación se ministró a pacientes pediátricos que presentan como patología de base FQ atendidos en el Instituto Nacional de Pediatría una dosis terapéutica o suplementaria de Zn y Se, que supera la ingesta diaria recomendada, incluso a la que se encuentra descrita para los pacientes con FQ de acuerdo a la Asociación Mexicana de Fibrosis Quística, con el objetivo de fortalecer las defensas antioxidantes y disminuir las incidencias de infecciones crónicas en la vía aérea y exacerbaciones infecciosas, así como favorecer el crecimiento lineal aunado a la mejora de la absorción intestinal. Además se hizo una evaluación a nivel bioquímico para determinar el impacto sobre los sistemas antioxidantes y evaluar la eficacia del tratamiento.

Marco teórico

Definición de la FQ

La FQ es un padecimiento genético que se caracteriza por una alteración en la función de las células epiteliales que componen las glándulas sudoríparas de la piel y que recubren el interior de las vías y conductos dentro de los pulmones, el hígado, el páncreas, sistemas digestivo y reproductor (1).

El gen de la FQ hace que las células epiteliales del cuerpo fabriquen una proteína denominada RTFQ en las células que recubren el interior de los pulmones, el tubo digestivo, las glándulas sudoríparas y el sistema genitourinario. Cuando la proteína RTFQ es defectuosa, las células epiteliales no pueden regular la forma en que el ión cloruro pasa a través de las membranas celulares. Esto altera el equilibrio fundamental entre el agua y los iones, necesario para mantener una fina capa de fluido y moco que recubre el interior de los pulmones, el páncreas y las capas de mucosas secretoras que forman parte de otros órganos. El moco se espesa y densifica, haciéndolo sumamente difícil de desplazar o eliminarse (1,5).

Fisiológicamente hablando, el moco que hay en el interior de los pulmones atrapa agentes bacterianos que luego son expulsados del cuerpo. Sin embargo en la FQ, el moco, denso y pegajoso, junto con las bacterias queda atrapado dentro de las vías aéreas provocando infecciones crónicas.

En el páncreas, el moco espeso obstruye los conductos secretores que se encargan de producir y transportar enzimas como lipasa, tripsina y amilasa pancreática que se caracterizan por ayudar a metabolizar nutrientes como los lípidos, proteínas, carbohidratos y vitaminas liposolubles (A, D, E y K). Finalmente, la deficiencia de estas enzimas provoca mala absorción intestinal y esteatorrea en los pacientes, causando desnutrición, talla baja y falta de apetito (8,9).

Fisiopatología de la FQ

La disfunción del canal de cloro en el epitelio respiratorio determina una alteración en las secreciones bronquiales, con aumento de su viscosidad y alteración de la depuración mucociliar. La infección endobronquial con microorganismos característicos, especialmente *Pseudomona Asaeruginosa* y *Staphylococcus Aeurus*, induce un proceso inflamatorio persistente y no controlado, se desencadena un círculo vicioso que conduce a la triada característica de la edad: obstrucción bronquial- inflamación- infección, que conduce a daño pulmonar irreversible, con bronquiectasias, insuficiencia respiratoria y muerte (5).

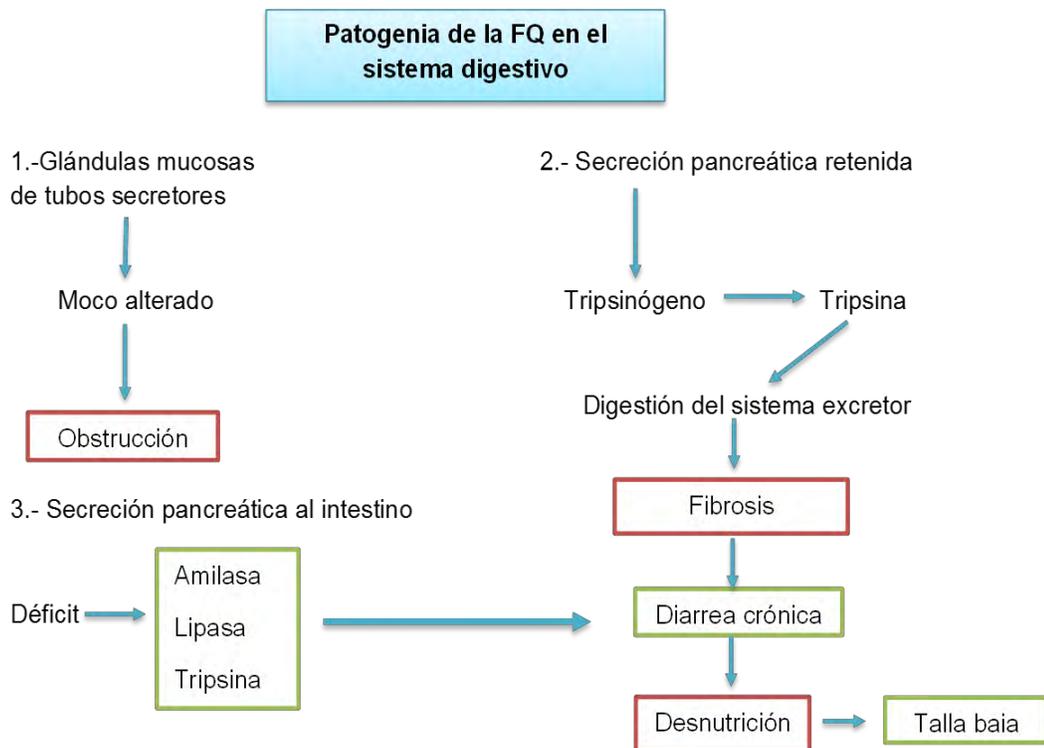


Fig. 2. Patogenia de la FQ en el sistema digestivo. En este esquema se describe la fisiopatología de la FQ, los hallazgos clínicos y complicaciones que afectan a nivel de sistema digestivo de diversos órganos (8).

Hallazgos clínicos de la FQ

◆ Mala absorción intestinal

Entre el 85 y el 90% de los pacientes con FQ tienen IP exócrina que se manifiesta con deposiciones fecales abundantes, fétidas y con presencia de grasa (hipocoloreadas, brillantes, aceitosas). Por otro lado, en la mayoría de los pacientes que tienen suficiencia pancreática hay alteraciones hidroelectrolíticas no detectables por los métodos habituales de diagnóstico, solo manifestadas por la secreción de bicarbonato. En estos pacientes sin mala absorción, el diagnóstico es más difícil y, por lo general, tardío. El 90% de los pacientes desarrolla IP con la enfermedad, por lo que en ellos debe controlarse la excreción de grasas trimestralmente (9).

◆ Retraso en el crecimiento

Es frecuente y se produce por una combinación de factores, entre ellos: incremento de los requerimientos energéticos, mala digestión con malabsorción intestinal y disminución del apetito por inflamación pulmonar activa, por lo que la detención o falta de progreso en la curva ponderal son una alerta de sospecha en FQ aunado a la disminución en la producción de la hormona de crecimiento (8).

◆ Enfermedad respiratoria

Las enfermedades respiratorias son las responsables de la mayor morbilidad de FQ, la padecen más del 95% de los pacientes, aunque los grados de afección y la colonización crónica de la vía aérea y exacerbaciones infecciosas por los microorganismos habituales son variables. En los niños menores de un año, es habitual la tos seca y repetitiva. En el examen físico, taquipnea persistente, aumento leve del diámetro anteroposterior del tórax, disminución de la expansión de este en su parte superior, persistencia de retracción intercostal y obstrucción bronquial. En niños más grandes puede presentarse con obstrucción bronquial, pero la tos es el síntoma más constante, con secreciones que varían de mucosas a purulentas, de acuerdo al grado de compromiso infeccioso. La tos se acompaña

de grados variables de deformidad torácica con aumento del diámetro anteroposterior (9).

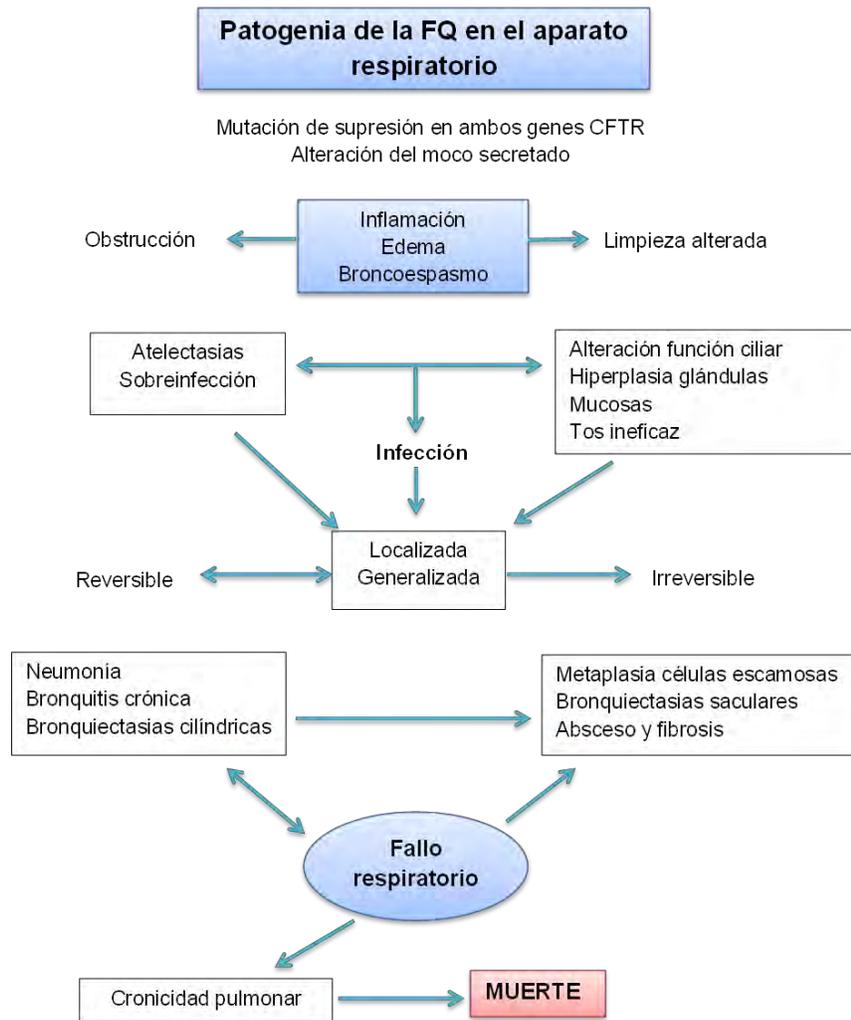


Fig. 3. Patogenia de la FQ en el aparato respiratorio. En este esquema se describe la fisiopatología de la FQ, los hallazgos clínicos y complicaciones que afectan a nivel de sistema respiratorio (8).

◆ Diagnóstico

Examen del sudor (método de Gipson y Cook)

La determinación del ión Cl^- en el sudor por el método de ióntoforesis cuantitativa con pilocarpina descrito por Gipson y Cook, es considerado como el método bioquímico más concluyente para confirmar el diagnóstico de FQ. Consiste en introducir una cantidad conocida de pilocarpina en la piel a través de una pequeña corriente eléctrica de 5 mAmp (ióntoforesis), a fin de estimular las glándulas del sudor. La muestra de sudor (50 a 100mg) es colectada, pesada y en ella se determinan las concentraciones de sodio y/o cloro. Resultados en la determinación de cloruro menor de 40mmol/L en una muestra de 100mg de sudor, descartan el diagnóstico; un resultado entre 40 y 60 mmol/L de cloruro es dudoso y resultados mayores a 60 mmol/L en dos determinaciones distintas, confirman el diagnóstico. El 99% de los sujetos homocigotos para el gen de FQ tiene concentraciones de cloruro mayores de 60 mmol/L y 1% de los pacientes con FQ presenta un cuadro atípico con niveles de cloruro en sudor normales (5).

Estrés oxidante

El desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS) y la defensa antioxidante provoca daño orgánico que se conoce como estrés oxidante, que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos los cuales ocasionan el deterioro y muerte celular (10,11). Se puede medir este daño mediante métodos directos e indirectos. Entre los primeros tenemos la medición de los propios radicales libres, lo cual es muy difícil porque tienen una vida media muy corta y lo caro de los equipos para realizar esta técnica (Resonancia paramagnética del electrón); lo que obliga a medirlos indirectamente mediante:

- **Determinación de productos terminales de la acción oxidante sobre biomoléculas (biomarcadores de exposición):** los métodos para medir peróxidos lipídicos son el patrón de oro cuando se trata de demostrar el papel de los oxidantes en el daño celular. Ej. malondialdehído (MDA).

- **Medición de la concentración de antioxidantes:** que se realiza con la técnica de HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), sobre material biológico que puede ser plasma, orina o tejido. A fines prácticos solo se determinan niveles plasmáticos de los siguientes antioxidantes: vitaminas A, D, E, coenzima Q (ubiquinol), glutatión y vitamina C.
- **Medición del estado oxidante:** refleja el balance entre el sistema oxidante y pro-oxidante, beneficia en muchas enfermedades. Ej. Relación glutatión oxidante- glutatión reducido. Actividad de las enzimas antioxidantes: Catalasa (CAT), Superóxido dismutasa (SOD), Glutatión peroxidasa (GPx).

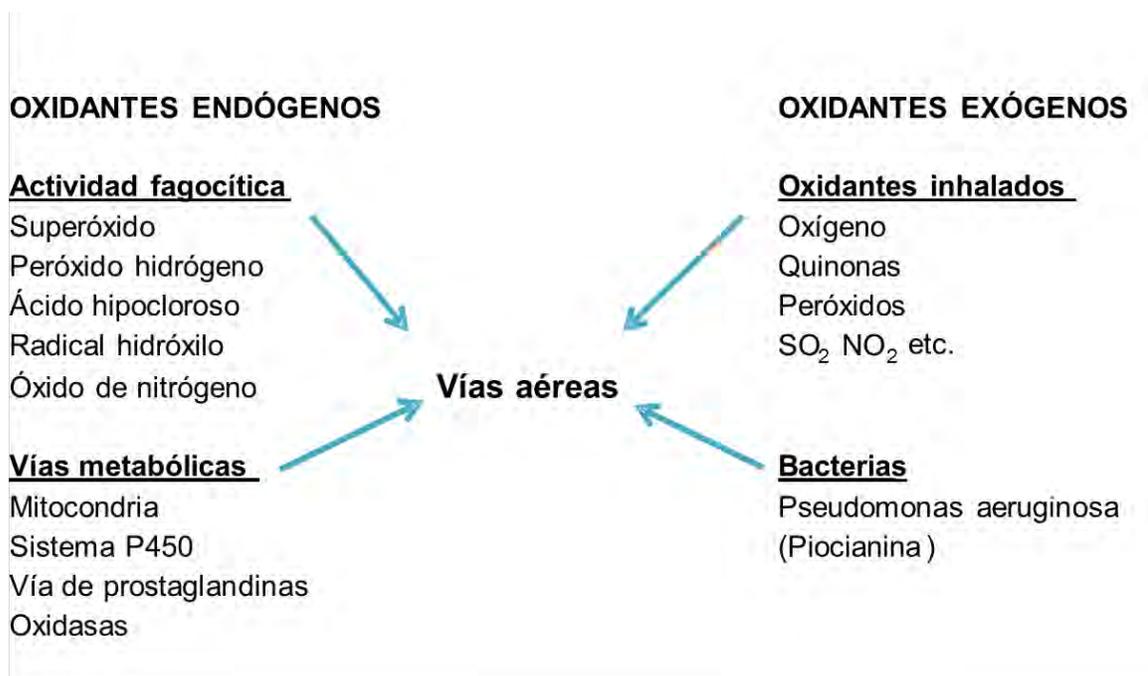


Fig. 4. Origen del estrés oxidante en vías aéreas de pacientes con FQ

◆ Radicales libres

Se consideran radicales libres aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una

configuración espacial que genera una alta inestabilidad, esto lo hace extraordinariamente reactivo y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse inespecíficamente en la mayoría de los casos; así como, con la diversidad de moléculas integrantes de estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados de cada uno de ellos. Los radicales libres se producen continuamente como un producto del metabolismo normal de cada célula y son inactivados por un conjunto de mecanismos celulares conocidos como defensas antioxidantes (alto peso molecular enzimáticos y no enzimáticos; y bajo peso molecular) (12).

Las EROS se producen en las células durante procesos tales como la inflamación producida por infecciones bacterianas, los fagocitos producen y liberan radicales oxigenados tóxicos para matar las bacterias invasoras en un proceso conocido como explosión respiratoria. En una infección aguda, la producción de radicales oxigenados y la muerte de las bacterias son procesos eficientes; sin embargo en las infecciones crónicas, los fagocitos tienden a morir, liberando radicales oxidados tóxicos que afectan a las células vecinas (13).

Las EROS reaccionan con las principales clases de biomoléculas causándoles lesiones. Los fosfolípidos presentes en las membranas plasmáticas y de organelos están sujetos a peroxidación lipídica, una reacción en cadena de radicales libres iniciada por la abstracción de hidrógeno de un ácido graso poliinsaturado por el radical hidroxilo. Los radicales lipídicos resultantes reaccionan a continuación con O_2 para formar radicales peróxido e hidroperóxidos lipídicos junto con MDA y otros productos finales de la peroxidación de lípidos. El MDA, es hidrosoluble y se puede detectar en sangre (13).

◆ **Peroxidación lipídica**

Las características de la oxidación lipídica por los radicales libres, tratan de una reacción en cadena en la que el ácido graso al oxidarse, se convierte en radical de ácido graso con capacidad de oxidar a otra molécula vecina; genera numerosos subproductos, uno de los productos finales de esta lipoperoxidación es el MDA,

que es una molécula más estable y cuya determinación en tejidos, plasma u orina es uno de los métodos para evaluar el estrés oxidante (12).

◆ Enzimas Antioxidantes

Todas las células eucariotas contienen enzimas antioxidantes poderosas. Las tres clases principales de enzimas antioxidantes son la SOD, CAT y GPx.

- **SOD:** es una familia de metaloenzimas que contienen cobre y Zn; esta enzima cataliza el cambio del radical superóxido a peróxido de hidrógeno, es una reacción en la que dos moléculas de sustrato idénticas tienen destinos diferentes (dismutación), una se oxida y otra se reduce:



- **CAT:** contiene un grupo hemo unido a un sitio activo. Su actividad se localiza básicamente en los peróxidos donde cataliza la conversión de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular:



- **GPx:** es una enzima que utiliza como cofactor al Se. Cataliza la reacción a través de la cual el glutatión reducido (GSH) reacciona con peróxidos para transformarlos en agua y alcohol. Durante el proceso el glutatión es oxidado (GSSG) para posteriormente regenerarse a su estado original mediante la catálisis de una reacción de reducción mediada por la enzima glutatión reductasa (GR).



Protección antioxidante	
<u>Superóxido dismutasa</u> Mg- SOD Cu/Zn-SOD Fe-SOD	<u>Antioxidantes hidrofílicos:</u> Glutación (GSH) Vitamina C Metalotioneinas Ceruloplasmina
CAT	<u>Antioxidantes hidrofóbicos:</u> Vitamina E Carotenos Ubiquinonas (Q10)
GPx	

Tabla 1. Describe los diferentes tipos de antioxidantes endógenos y exógenos (14).

Funciones del Zn

El Zn es un micronutriente esencial para el organismo humano que tiene un importante papel en la reproducción, crecimiento, desarrollo y metabolismo celular. Las funciones catalíticas de este ion se ejercen por enzimas pertenecientes a las seis clases existentes. Se conoce que aproximadamente 300 metaloenzimas requieren de Zn para su actividad catalítica y debemos señalar que se considera que una enzima es una metaloenzima con Zn cuando la eliminación de Zn causa una reducción de su actividad y cuando se le añade el metal la restablece. La respuesta del crecimiento que se observa en los niños, a los que se ministra el Zn es un ejemplo más reciente en relación con la función que tiene este metal en la síntesis de proteína, ya que se ha demostrado que favorece la actividad de la acidoribonucleíco (ARN) polimerasa (15).

El Zn también desempeña funciones estructurales en las metaloproteínas, por ejemplo la enzima citosólica SOD-CuZn, en ella el cobre asume la función

catalítica mientras que el Zn ejerce la estructural; otro ejemplo del Zn con funciones estructurales se presenta cuando forma un complejo tetraédrico con cuatro cisteínas tomando una disposición estructural que se ha dado en llamar *dedos de Zn* (Fig. 5), de suma importancia pues se han localizado en muchos receptores de membrana y en factores de transcripción (15).

El sistema homeostático del Zn está compuesto por proteínas que incluyen a la familia de metalotioeninas (MT) formada por tres isoformas diferentes, ampliamente distribuidas en todo el organismo y se caracterizan por tener un alto contenido de grupos sulfhidrilo mediante los que unen metales como el Zn. Dichas MT participan en procesos de detoxificación de metales pesados, estabilización de membranas celulares, activación de apoenzimas, captura y eliminación de radicales libres, así como en la modulación de la expresión de algunos genes, tal es el caso del factor de transcripción de unión de elementos sensibles a metales 1 (MTF- 1) (16). Otras proteínas que participan en este proceso son las encargadas de transportar Zn, conocidas como Zip de las cuales se han descrito 15 miembros y, la familia de transportadores de Zn codificados por los genes CDF, también conocidos como SLC30 (17).

El papel del Zn está vinculado muy estrechamente al sistema inmune, modulando la susceptibilidad a infecciones. Es importante para el desarrollo normal y la función de los neutrófilos y las células natural killer (NK). Influye también en ciertas funciones de linfocitos T, como la activación, la producción de citocinas Th1, en el desarrollo de linfocitos B y la producción de anticuerpos, especialmente IgG. Influye además en la actividad de los macrófagos, es un regulador de apoptosis de linfocitos y tiene actividad antioxidante (18).

Regula la expresión genética de citocinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y la interleucina 1β (IL- 1β), conocidos generadores de EROS, pudiendo ser éste un mecanismo adicional por el cual este elemento puede estar funcionando como un regulador del estado redox celular en el organismo humano (3).

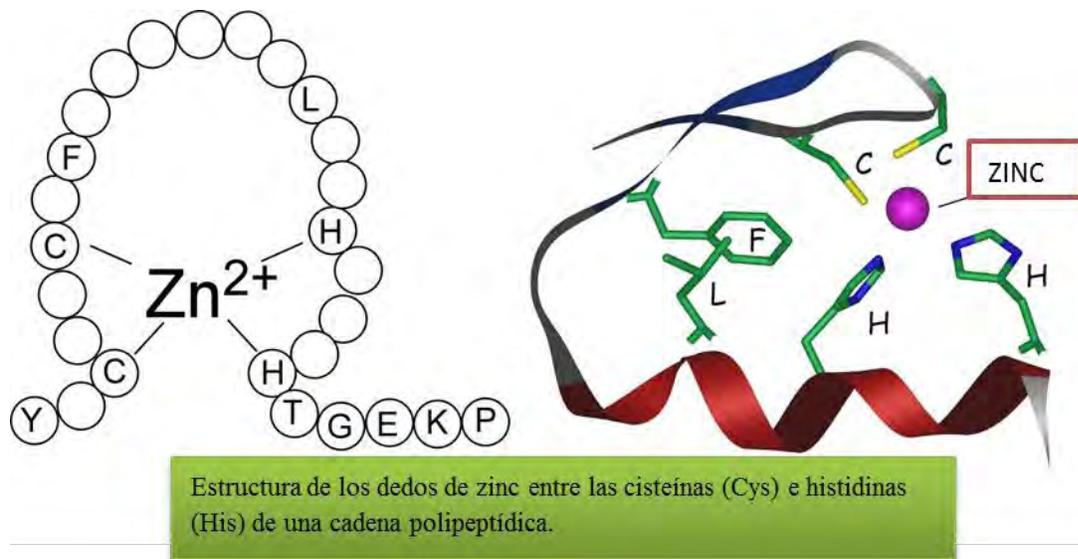


Fig. 5. Muestra como se forman los dedos de Zn. El esquema pertenece a un motivo de la familia cys-cys-his-his, en donde se puede observar a 2 cisteínas (Cys) y dos histidinas (His) formando el tetraedro característico de los dedos de Zn (18).

◆ Usos terapéuticos

Muchos estudios han demostrado los beneficios de la suplementación de Zn sobre: infecciones en las poblaciones humanas, reducción en la incidencia y duración de diarreas agudas y crónicas, infecciones del tracto respiratorio inferior en lactantes y niños pequeños, reduce las manifestaciones clínicas causadas por el *Plasmodium falciparum*, en la anemia falciforme disminuye la incidencia de la neumonía por *Staphylococcus Aureus*, tonsilitis por *S. Neumoniae*, y las infecciones del tracto urinario (Fig. 6) (15).

◆ Propiedades antioxidantes del Zn

La deficiencia de Zn ha sido asociada con altos niveles de daño oxidante en tejidos que incluyen la oxidación a lípidos, proteínas y DNA. Los efectos de este

metal como antioxidante fueron propuestos a finales de la década de los 80 y comprende 2 mecanismos diferentes:

1. La protección de los grupos sulfhidrilos de las proteínas y las enzimas contra el ataque de ERO (ejemplo: dihidro orotasa, alanil tRNA sintetasa, tRNA sintetasa clase 1, farnesiltransferasa, proteínas del DNA unidas a Zn, entre otras) (17).
2. Reducción de la formación del radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) a partir de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a través de la prevención de la formación de ERO, ya que es un cofactor importante de la SOD o como antagonista de metales de transición como el hierro (Fe) y cobre (Cu) (17).

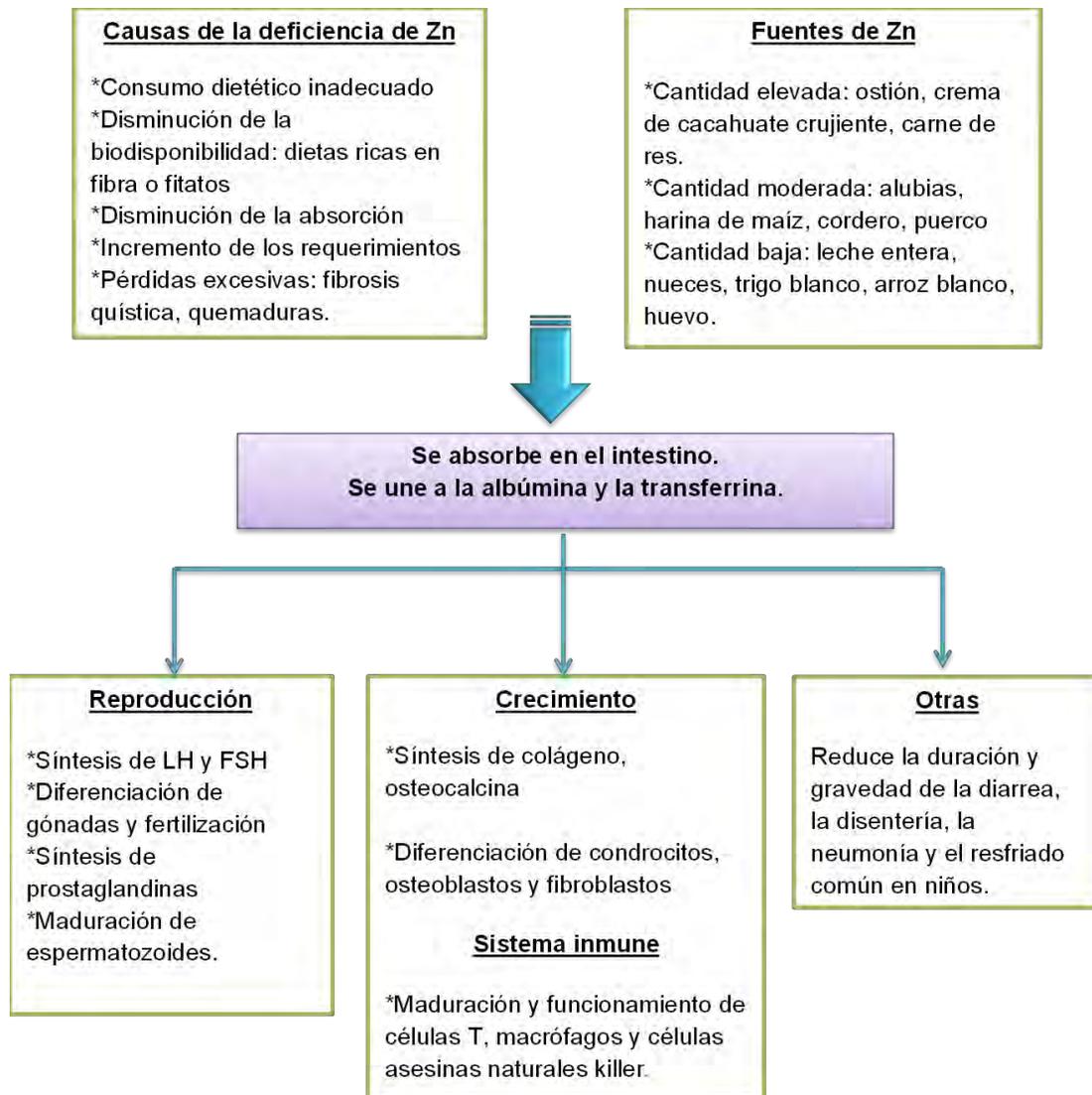


Fig. 6. Fuentes y funciones del Zn en el humano. LH, hormona luteinizante; FSH, hormona estimulante de los folículos (19).

Funciones del Se

El Se en forma de selenometionina o selenocisteína, aparece en varias proteínas de distribución amplia en el organismo como la GPx. Se ha detectado GPx en casi todas las células de los mamíferos, así como en el suero y la leche. La GPx actúa de manera conjunta con otros antioxidantes para reducir los peróxidos celulares y los radicales libres en general, que se convierten en agua y otras moléculas inocuas. El Se actúa como inactivador de radicales libres. La yodotironina 5'-desyodasa de tipo 1, es una enzima capaz de convertir T₄ en T₃ y es una selenoproteína. También se ha mostrado que las enzimas GPx son necesarias en el sistema endocrino (4).

Destacar la función del Se en la GPx es importante, ya que actúa con otros antioxidantes y eliminadores de radicales libres para reducir los peróxidos celulares. Cuando el Se actúa con la vitamina E tiene una función sustancial en la acción antioxidante. El Se actúa con el tocoferol para proteger las membranas de las células y los organelos del daño oxidante, también facilita la unión entre el oxígeno y el hidrógeno al final de la cadena respiratoria mitocondrial, ayuda en el transporte de iones a través de las membranas celulares y en la síntesis de inmunoglobulinas y ubiquinona (fig.7) (20).

Una función recién descrita del Se es que forma parte de la enzima tirosina desyodocinasa necesaria para la síntesis de la triyodotironina (T₃), por lo que juega un papel muy importante en el metabolismo tiroideo, y la ingestión adecuada de Se puede depender no sólo del estado del mismo, sino también del estado de ingestión de yodo, vitamina E y otros factores (20).

Existen otras seleno-proteínas en el músculo, una proteína transportadora de Se, la deshidrogenasa de xantina y en algunas enzimas bacterianas. En los sistemas bacterianos se han identificado otras enzimas dependientes de Se, como la reductasa de la glicina. También se conoce que el Se es cofactor de la enzima

tioredoxina reductasa y ejerce la misma función que en la GPx. En los microorganismos el Se se incorpora a la porción aminoácida del RNA de transferencia. El Se reduce la toxicidad del mercurio, cadmio y otros metales tóxicos (20).

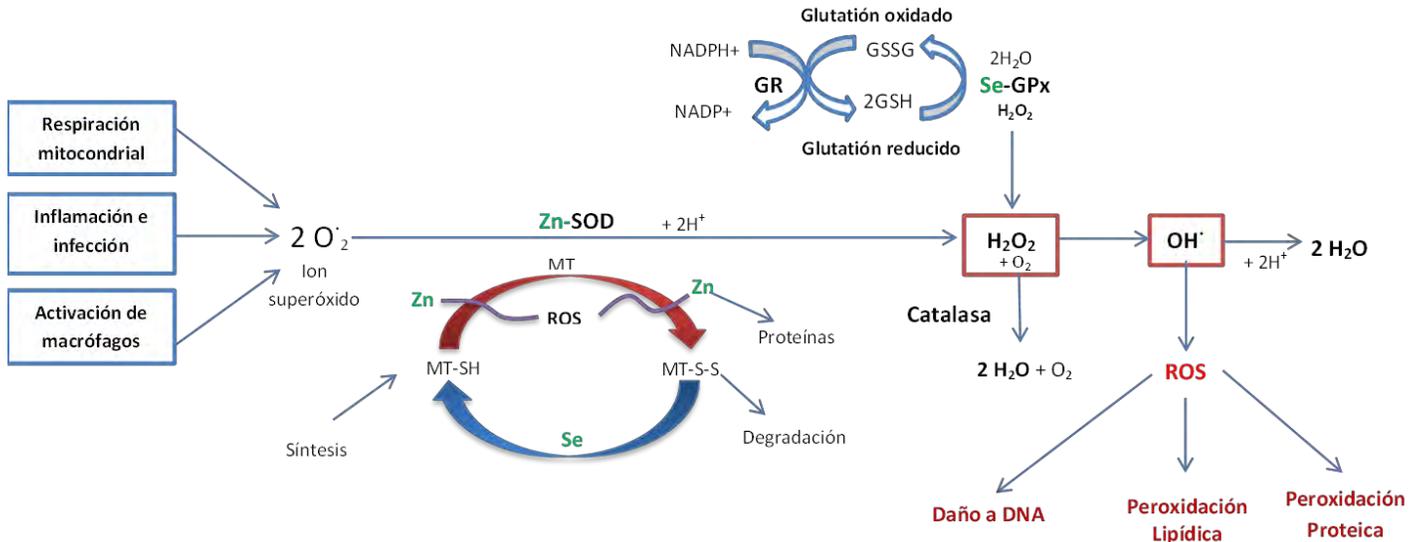


Fig. 7. Muestra la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), durante procesos fisiológicos y patológicos como inflamación e infección; así como la intervención de las enzimas de los sistemas antioxidantes y su mecanismo de acción para convertir H_2O_2 en H_2O y la función de las MT durante procesos de óxido- reducción y la integración del Zn y Se como cofactores enzimáticos o grupos prostéticos para disminuir la producción de OH^{\cdot} , evitando daño celular a nivel de DNA, lípidos y proteínas

Antecedentes

Antropometría y estado nutricio en pacientes con FQ

La FQ es una enfermedad frecuente en la población caucásica por lo que algunos estudios realizados en España y Cuba refieren que la intervención nutricional incluyendo enzimas pancreáticas, ministración de vitaminas liposolubles, una dieta hipercalórica ajustando el porcentaje de proteínas, lípidos y carbohidratos; mejora parámetros antropométricos como peso para la talla (P/T), talla para la edad (T/E), peso para la edad (P/E), IMC, pliegue cutáneo tricípital y perímetro braquial; dichos indicadores mejoraron ante la intervención nutricional, por lo que dichos estudios observaron mejor respuesta al tratamiento antibiótico, disminuyendo la recurrencia de infecciones respiratorias y favoreciendo la absorción de nutrimentos e incrementando la esperanza de vida (21, 22, 23).

Se realizó un estudio en el Instituto Nacional de Pediatría por parte del servicio de nutrición donde se observó el estado nutricio de los pacientes con FQ mediante la valoración antropométrica (P/E, P/T, T/E, IMC, perímetro cefálico, pliegue cutáneo tricípital y perímetro braquial), se proporcionó tratamiento nutricional mediante dieta hipercalórica, dosis de enzimas pancreáticas y suplementos vitamínicos, las dosis se estandarizaron según las guías establecidas para pacientes con FQ. El estudio llegó a la conclusión de que el 50% de los pacientes presentaba afección sobre la talla antes de la intervención nutricional y posteriormente al tratamiento se logró compensar el peso para la talla. Finalmente se concluyó que brindar soporte nutricional especializado de manera continua, favorece el estado nutricional de los pacientes, disminuyendo la recurrencia de infecciones y la mortalidad (24). Sin embargo, a pesar de esta intervención no se ha alcanzado la calidad de vida óptima del paciente con FQ en nuestro país, es necesario implementar nuevas medidas de apoyo nutricional y metabólico con validaciones bioquímicas y ensayos clínicos que respalden estas intervenciones.

Terapias antioxidantes en el tratamiento de FQ

Wood y cols; demuestran que la suplementación con antioxidantes como vitamina A, E, C y minerales como Se y Zn están vinculados con la función pulmonar y la disminución del estrés oxidante que es producido por las exacerbaciones pulmonares y el aumento de ácidos grasos en la dieta; por lo que consideran que para la recuperación de las exacerbaciones infecciosas causadas principalmente por *Pseudomonas* en pacientes con fibrosis quística se debe considerar la suplementación con antioxidantes que ayudan a mantener un equilibrio oxidante-antioxidante. La literatura actual describe que existe una relación estrecha entre los niveles de estrés oxidante y la función pulmonar (25, 26, 27, 28, 29, 30).

En una revisión sistemática de 5 artículos analizados por Shamseer y cols (7); de estudios clínicos realizados en EUA, Australia y Francia, donde reportaron resultados alentadores en pacientes que recibieron terapia con antioxidantes (vitamina E, C, β -caroteno, Se y vitamina A) desde los primeros 15 días hasta los 6 meses posteriores a la suplementación, se midieron marcadores de lipoperoxidación: F2-isoprostanos H_2O_2 y TBARS, niveles de MDA. Función de GPx, SOD, capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC). Se reportó que no había diferencias significativas en los marcadores de lipoperoxidación, sin embargo se reflejaron resultados significativos en las enzimas GPx y SOD. El autor refiere que en dos de los artículos donde se administró Se de manera conjunta o sola se encontró un efecto significativo posterior a las 8 semanas de tratamiento (30). En otro estudio donde se incluyeron 46 niños con FQ, edad de 10- 12 años y se suplementaron 90 mcg de Se, 200 mg vitamina E, 300 mg de vitamina C, 25 mg de β -caroteno, y 500 g de vitamina A durante 8 semanas, se observó un incremento de los niveles plasmáticos de Se, el estrés oxidante se evaluó mediante el marcador F 2 -isoprostanos, sin embargo no mostró algún cambio pero se encontró una correlación positiva del incremento plasmático del Se con un aumento en el porcentaje de volumen espirado forzado en 1 segundo (VEF_1), así este estudio mostró significancia estadística y biológica (7).

Cantin y col; refieren en su estudio que la suplementación de Se en pacientes con FQ mejora la absorción de enzimas pancreáticas, aumenta los niveles plasmáticos de Se y la actividad de la enzima GPx (7). La enzima GPx contiene en su estructura molecular 4 átomos de Se por molécula, cumpliendo un rol metabólico como antioxidante. Por ello, la deficiencia de Se ocasiona una reducción de la actividad de la GPx, lo que induce un desequilibrio en el balance entre oxidantes y antioxidantes, generando en el organismo estrés oxidante (31). En los pacientes con FQ la actividad de la enzima GPx se encuentra disminuida en un 50% a nivel plasmático, lo que podría explicar la presencia de inflamación crónica en las vías respiratorias, lo que conduce a una amplia gama de consecuencias en el daño oxidante, por lo que la GPx es un marcador importante para detectar este daño a nivel celular. Además, si se aumentan los niveles de GPx podrían aumentar los niveles de s-nitrosoglutatión (GSNO), una molécula que puede mejorar la maduración de CFTR y estimular otros canales de cloro para aumentar el flujo (7).

Estudios recientes han demostrado que niveles elevados de antioxidantes en la dieta o en plasma se han asociado con una mejor función pulmonar y una disminución en el VEF₁ y una disminución del riesgo de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). La mayoría de los antioxidantes enzimáticos son principalmente intracelulares, la SOD, pequeñas cantidades de CAT y GPx, también se encuentran descritas en los fluidos de las vías respiratorias. El aumento de los niveles plasmáticos de Se se asocia con un menor riesgo de asma y con mayor VEF₁ (32). En los pacientes con FQ los niveles plasmáticos de Se generalmente se encuentran por debajo de lo normal, aún no se conocen claramente las razones, ya que existen diversos factores que intervienen como la ingesta dietética, absorción, distribución y excreción.

Utilización de Zn y Se en el tratamiento de infecciones respiratorias

Estudios sobre la ministración de Zn en niños con neumonía grave han demostrado que el tratamiento adyuvante con 20-30 mg/día de Zn y/o 100-200 µg/día de Se acelera la recuperación de la neumonía grave en niños (20). Las

infecciones respiratorias agudas predominantemente neumonía, son una causa importante de mortalidad y morbilidad en los niños menores de 5 años de edad. En los países en desarrollo se observan un estimado de 146 hasta 159 millones de nuevos episodios de neumonía por año. La deficiencia de Zn y Se es común en los niños de los países en desarrollo debido a la alta incidencia de desnutrición, la falta de ingesta de alimentos de origen animal, el alto contenido de fitatos en la dieta y la ingesta inadecuada de alimentos con una mayor pérdida fecal durante la diarrea (33), esta situación podría empeorar en los pacientes que padecen FQ los que los hace una población altamente vulnerable y podría explicar la baja calidad de vida y supervivencia con respecto a países desarrollados.

La mayoría de los estudios realizados en países como EUA, España, Inglaterra, India, Egipto y Colombia refieren que la ministración de Zn y Se disminuyen la incidencia de infecciones respiratorias principalmente neumonía muy grave (33, 34, 35). La FQ es una enfermedad que se caracteriza principalmente por afección pulmonar, ya que los pacientes sufren deterioro continuo debido a la presencia de colonización crónica de la vía aérea y exacerbaciones infecciosas, por lo que una de las principales opciones de tratamiento es el trasplante de pulmón, dicho tratamiento es muy costoso y difícil de llevar a cabo aquí en México; por lo tanto la esperanza de vida de estos pacientes se ve condicionada, aunado a la desnutrición que generalmente presentan por mala absorción intestinal, falta de recursos económicos para comprar las enzimas pancreáticas y requerimientos energéticos elevados que son difíciles de alcanzar con un plan de alimentación simple. También presentan incremento del estrés oxidante por la falta de oxígeno; generalmente estos pacientes muestran disminución de oxígeno y aumento de CO₂ por el deterioro pulmonar que existe, factor que condiciona la acumulación de radicales libres; subsecuente muerte celular, aumentando la incidencia de mortalidad infantil (36).

El estrés oxidante juega un papel importante en la fisiopatología de la FQ. El pulmón es el principal órgano responsable de la morbilidad y mortalidad en esta

enfermedad, es particularmente vulnerable a altos niveles de estrés oxidante. Está expuesto a 8.000 L/día de aire rico en oxígeno, así como partículas tóxicas, dióxido de nitrógeno, ozono y otros oxidantes (37, 38). Además, existen grandes cantidades internas de radicales libres de oxígeno, incluyendo procesos metabólicos mitocondriales, metabolismo de ácidos grasos, peroxisomas, reacciones del citocromo P450, la activación de los fagocitos y el sistema de la óxido nítrico sintasa (7). Las bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* que crónicamente infectan las vías respiratorias en los pacientes con FQ también generan EROS a través de la liberación de piocianina y otros pigmentos. Por lo tanto, las vías respiratorias de los niños con FQ se encuentran expuestas no solo a la carga normal de oxidantes del medio ambiente, sino también a los oxidantes derivados de procesos inflamatorios e infecciosos, causando un exceso de estrés oxidante (7).

Utilización de Zn y Se en pacientes con FQ

Un metaanálisis reciente de ensayos clínicos demostró que el uso de complementos de Zn se relaciona con disminución de la mortalidad por diarrea y neumonía (19). La mayoría de las vitaminas utilizadas en la población con FQ, a excepción de Vitamax, ya contienen Zn, aunque a dosis inferiores a las utilizadas en los estudios de Zn en los países en desarrollo, lo que significa que ni siquiera cubren la ingesta diaria recomendada para población sana (2).

La FQ es una enfermedad multi-sistémica, que produce IP exocrina en el 90% de los pacientes (36), ocasionando esteatorrea y mala absorción de nutrientes como Zn y Se entre otros (4, 20), sin embargo son minerales necesarios para el sistema endocrino y el crecimiento en los niños por lo que se recomienda la suplementación de estos minerales principalmente en los pacientes que presentan IP exocrina, esto ya se encuentra descrito en la literatura y existen estudios que lo respaldan (5, 19, 20, 39).

En la mayoría de los estudios realizados en pacientes que presentan neumonía y diarrea crónica persistente se utiliza la dosis terapéutica de Zn que generalmente

se estandariza entre 20 y 30 mg/día de Zn y de 100-200 µg/día de Se (20, 25, 35). En un estudio se midieron los niveles séricos de Zn para buscar la correlación con la colonización crónica de la vía aérea y se encontró que en los niños que presentaban niveles bajos de Zn se veían más severamente afectados por neumonía. Otras Investigaciones demostraron que entre mayores sean los niveles séricos de Zn, menor es el soporte respiratorio necesario. Esto se puede atribuir a la función de Zn y Se en la reducción de la inflamación de las vías respiratorias (33, 34, 35).

En niños con diarreas es necesario el suministro de Zn para el buen funcionamiento del epitelio intestinal, la reparación de los tejidos lesionados, mejorar la absorción de sodio y agua, a la vez que lo consideran indispensable para la utilización adecuada de la vitamina A, la que tiene reconocida capacidad para la reparación del daño mucosal secundario a la infección y además en la protección de la mucosa y en la absorción intestinal. Se plantea el uso del Zn como un antioxidante y que además puede estabilizar las membranas celulares al igual que la vitamina E (15). El Zn es un mineral importante en las defensas antioxidantes, debido a su asociación con la enzima superóxido dismutasa. Además, hay evidencia de que el Zn estabiliza las membranas de lípidos y evita la peroxidación (40).

Se ha demostrado que el Se contenido en la dieta se absorbe entre un 55% a un 70%, y en estos pacientes en particular existen pérdidas de Se por sudor y heces, aunado a mala absorción, dichos factores condicionan el estado nutricional de los niños con FQ (20). El metabolismo del Se de la sangre humana y de otras especies, es distinto. El índice GPx/Se es más alta en la sangre de ratas y ciertos monos, que en la especie humana, de tal forma que la sangre contiene aproximadamente 0.1 mcg de Se/mL de sangre (20). La excreción fecal se ha determinado en 86 mcg/día, más del 40% de la ingestión total diaria (20).

Planteamiento del problema

Actualmente, existen reportes de ensayos clínicos con intervención en pacientes con FQ donde se ministran antioxidantes de forma conjunta o individual; sin embargo la información es escasa, aunado al poco tiempo que son ministrados; ya que la mayoría de los estudios reportan un periodo máximo de 4 meses de suplementación con antioxidantes y los resultados resultan ser ambiguos, debido a la falta de monitoreo de biomarcadores clínicos de inflamación y estrés oxidante (7).

Los pacientes con FQ se caracterizan por desnutrición severa, causada principalmente por mal absorción de nutrientes, baja ingesta calórica, presencia de infecciones bacterianas recurrentes y falta de apetito. Aunado a los recursos económicos bajos que presentan la mayoría de los pacientes Mexicanos que limita la compra de enzimas pancreáticas, antibióticos, broncodilatadores, vitaminas y minerales. Los niños con FQ a diferencia de los niños de otros países apenas alcanzan los 18 años de vida, sin embargo en otros países tienen una supervivencia de hasta los 40 años (1). Por otra parte en nuestro país no contamos con antibióticos y suplementos alimenticios diseñados exclusivamente para pacientes con FQ, que cumplan con la demanda fisiopatológica de los pacientes con FQ. A diferencia de otros países se utilizan suplementos como el AquADEKs, sin embargo en México no contamos con guías que regulen el use de micronutrientes como son el Zn y Se. La nutrición es un componente primordial en el manejo de la fibrosis quística, donde el estado nutricional se encuentra directamente asociado con la afección pulmonar y a la supervivencia de quienes padecen esta enfermedad.

Bajo este contexto se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿La suplementación de Zn y Se fortalecerá los sistemas antioxidantes y mejorará la función pulmonar en pacientes pediátricos con FQ?

Justificación

En Estados Unidos existen cerca de 30, 000 personas con fibrosis quística. La expectativa de vida para personas con FQ es de 32.9 años. Alrededor del 40% de los pacientes registrados en Cystic Fibrosis Foundation tiene más de 18 años de edad (1). Por el contrario, en México y Latinoamérica, las expectativas de supervivencia promedio de un paciente con FQ es de 17 años 5 meses, debido en gran medida a la falta de atención oportuna y carencia de guías clínicas integrales que incluyan el aporte nutricional y soporte metabólico (41).

El conocimiento actual sobre las complicaciones de los pacientes con FQ es todavía limitado. Las terapias utilizadas actualmente son de alguna forma empíricas. Hay muchas cosas pendientes por hacer en esta área, ya que se encuentran comprometidos diversos órganos de manera irreversible desde el nacimiento (42).

A pesar de toda la evidencia que sugiere que el apoyo nutricional con elementos como el Zn y Se en pacientes que cursan enfermedades crónicas de las vías respiratorias, como el caso de niños con FQ, puede coadyuvar al tratamiento y mejora de la calidad de vida del infante, no existen en México guías médicas que indiquen su prescripción. Es por tanto imperante que se realicen protocolos de validación que demuestren su efecto a nivel bioquímico y nutricional e que impacten en el tratamiento de este tipo de pacientes.

Hipótesis

La suplementación de Zn y Se fortalecerá los sistemas antioxidantes enzimáticos, mejorará la función pulmonar y el estado nutricional en pacientes pediátricos con FQ.

Hipótesis estadísticas

H0: La ministración de Zn y Se no muestra ningún cambio sobre los sistemas antioxidantes enzimáticos, la función pulmonar y el estado nutricional en pacientes pediátricos con FQ.

H1: La ministración de Zn y Se fortalecerá los sistemas antioxidantes enzimáticos, mejorará la función pulmonar y el estado nutricional en pacientes pediátricos con FQ.

Objetivos

Objetivo general

Analizar el efecto de la suplementación de Zn y Se sobre la capacidad antioxidante, la función pulmonar y el estado nutricional en pacientes pediátricos que presentan FQ.

Objetivos específicos

1.- Determinar el efecto del tratamiento Zn y Se sobre parámetros antropométricos y absorción intestinal.

Estrategia experimental

- Determinar el estado nutricional de los pacientes mediante los parámetros peso, talla, talla/ edad e IMC.
- Evaluar el grado de absorción intestinal en heces mediante la identificación de presencia de grasa, azúcares reductores y actividad trípica.

2.- Determinar el efecto de la suplementación con Zn y Se sobre el estrés oxidante (Malondialdehído y carga antioxidante en plasma).

Estrategia experimental

- Determinar marcadores de estrés oxidante en plasma (MDA y carga antioxidante por ácido tiobarbitúrico (TBARS) antes y después de la suplementación con Zn y Se.

3.- Determinar el efecto de la suplementación de Zn Se sobre la actividad de enzimas antioxidantes en plasma (GPx, CAT y SOD en plasma).

Estrategia experimental

- Cuantificar por métodos espectrofotométricos la actividad de las enzimas SOD, GPx y CAT en pacientes con FQ antes y después de la suplementación con Zn y Se.

4.- Determinar el efecto del tratamiento Zn y Se sobre la recurrencia de cepas bacterianas.

Estrategia experimental

- Cuantificar la presencia de cepas bacterianas por medio del esputo.

Metodología

Diseño del estudio

Se definió el protocolo de investigación como **Ensayo Clínico Pragmático**, ya que nuestra población cuenta con características poblacionales similares, lo que nos permite valorar la eficiencia del tratamiento con Zn y Se en los pacientes con FQ con la finalidad de que posteriormente dichos suplementos se ministren en la práctica clínica como parte del tratamiento convencional de los individuos. Esto de acuerdo al criterio de clasificación utilizado por los autores Schwartz y Lellouch, que fueron los que definieron al ensayo clínico pragmático, como la comparación entre los tratamientos que se efectúan en condiciones semejantes durante la práctica clínica, con el propósito de llegar a una decisión terapéutica (43).



Fig. 8. Flujograma experimental.

Universo y Muestra

Se llevó a cabo un estudio con pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Pediatría por el servicio de Neumología y Gastroalimentación. El proyecto consistió en que a 14 niños se les ministró 200 mcg/día de levadura de Se (selenometionina) y 30 mg/día de Zn (gluconato de zinc) marca GNC vía oral durante un año (44). Se realizó una evaluación inicial del número de exacerbaciones infecciosas causadas principalmente por *Pseudomonas* y *Staphylococcus aureus* un año antes de que entraran al protocolo y posteriormente un año después de recibir el tratamiento para comparar el número de exacerbaciones infecciosas que presentaban, así como de parámetros antropométricos como peso, talla, IMC y absorción intestinal, marcadores de estrés oxidante al inicio del protocolo y posteriormente en sus visitas subsecuentes a los tres, seis y doce meses después de recibir el Zn y Se.

Cálculo de la muestra.

El número de muestra se calculó tomando en cuenta lo reportado por Renner en 2001 y Durieu en 2007 en donde se midieron capacidad antioxidante y marcadores de lipoperoxidación en pacientes con FQ intervenidos con suplementos antioxidantes y ácidos grasos respectivamente, obteniendo una desviación estándar de 0.26 nmol en el estudio realizado por Renner y cols; para capacidad antioxidante y un intervalo de confianza de 138- 431 nmol/L en el estudio realizado por Durieu y cols; para MDA con un nivel de significado alfa de 0.05, y un análisis de dos colas lo cual nos dio un poder de prueba estadística de 95% (28, 29). El cálculo de tamaño de muestra se efectuó utilizando el software StatMate v.2.0 de Graph Pad Co, dándonos respectivamente una $n= 11$; por lo que de acuerdo a la población con la que contamos nosotros consideramos incluir un total de 14 pacientes.

Inicialmente reclutamos 20 pacientes, sin embargo, tres de ellos dejaron de asistir a sus consultas subsecuentes, razón por la que se eliminaron del estudio. Más tarde fueron eliminados otros tres individuos debido a que presentaban cloruros en sudor negativos y tenían un comportamiento clínicamente diferente. Finalmente para el estudio se consideró una $n= 14$.

Criterios de inclusión

1. Edad de 6 a 18 años.
2. Ambos sexos.
3. Patología de base FQ previamente diagnosticada con la prueba confirmatoria de sudor (Gipson y Cook).
4. Que presenten IP exócrina.
5. Soporte nutricional especializado más de 6 meses en el INP.
6. Ambulatorios.
7. Firma de carta de consentimiento informado de padres o tutores.
8. Firma de carta de asentimiento informado en niños mayores de 9 años.

Criterios de exclusión

1. Pacientes que presenten alguna otra patología crónica además de FQ.

2. Pacientes que hayan recibido algún suplemento nutricional adicional que contenga dosis terapéuticas de Zn y Se en un periodo menor a tres meses antes de ingresar al protocolo.
3. Pacientes que no tengan acceso a las enzimas pancreáticas de manera rutinaria.
4. Pacientes que no puedan ingerir el suplemento.

Criterios de eliminación

1. Abandono del protocolo por voluntad propia.
2. Pacientes que dejen de tomar las enzimas pancreáticas durante el protocolo.
3. Falta de asistencia a las consultas o que no cumplan con las consultas subsecuentes.
4. Pacientes que deban ser internados e interrumpan el tratamiento durante el protocolo.
5. Pacientes que tengan una adherencia menor al 90% al tratamiento de suplementos minerales.

Valoración del estado nutricional

Se utilizaron las tablas de la OMS para el diagnóstico del estado nutricional IMC por percentiles y para la clasificación se emplearon los criterios de la Asociación Mexicana de Fibrosis Quística (45). Para el diagnóstico del estado nutricional IMC por Z-score se utilizaron las tablas y los criterios de la CDC, para fines de comparación con artículos científicos. Finalmente, para obtener los percentiles de la variable T/E se utilizaron las tablas de la OMS y para el diagnóstico se emplearon los criterios establecidos por Waterlow (5, 45).

Obtención de muestras sanguíneas y medición de parámetros bioquímicos

Se obtuvo una muestra sanguínea por punción venosa cubital de 5 mL aproximadamente, se recolectaron en tubos con tapa color morado que contiene anticoagulante EDTA, posteriormente las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm a 10 °C durante 15 min, se realizaron alícuotas de aproximadamente 200 µL y

fueron almacenadas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso para determinación de metabolitos y parámetros bioquímicos.

◆ **Actividad de la GPx**

La actividad de la enzima GPx se midió en una reacción acoplada a la GR utilizando el kit (ENZO glutathione reductase activity kit, catalog No. ADI-900-159) y de acuerdo a las instrucciones provistas por la marca comercial. Se realizaron diluciones de las muestras 3:2 de los plasmas utilizando como solución salina inyectable (0.9% NaCl). Posteriormente se realizó la curva de estandarización de GR a concentración 0, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025, 0.0010, 0.0005 unidades de acuerdo a las instrucciones del proveedor y se agregaron 50 μL de cada tubo en la placa. Más tarde se añadieron 50 μL de las muestras diluídas por duplicado en cada pozo de una placa de 96 pozos. Posteriormente se añadieron 100 μL del Master Mix (GR 10X + GSSG + agua MiliQ) en cada pozo. Posteriormente para iniciar la reacción enzimática se adicionaron 50 μL del NADPH en todos los pozos y la placa se agitó oscilatoriamente por 10 segundos antes de iniciar la lectura. Se utilizó un espectrofotómetro de placa para detectar la disminución en la fluorescencia derivada del consumo NADPH, utilizando una longitud de onda de excitación de 365 nm y emisión de 440 nm, se realizaron 10 lecturas, una por minuto.

◆ **Actividad de la CAT**

La actividad de la enzima se midió utilizando un kit (ENZO catalase fluorometric detection, catalog No. ADI-907-027) y de acuerdo a las instrucciones provistas por la marca comercial. Se realizaron diluciones de los plasmas 1:100 y 1:200 utilizando solución salina inyectable (0.9% NaCl). Posteriormente se realizó la curva de calibración, o de estándares de CAT a concentración 0, 0.2, 0.4, 0.8, 2, 4 unidades de acuerdo a las instrucciones del proveedor, se agregaron 50 μL de cada tubo en los pozos de una placa de 96 pozos. Más tarde se agregaron 50 μL de las muestras diluídas en cada pozo. Se adicionaron 50 μL de peróxido de hidrógeno 40mM en todos los pozos. Luego se dejó incubando la placa durante una hora a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 100 μL del cóctel

de reacción (reactivo de detección + concentrado de peróxidasa de rábano+ Concentrado de CAT). Se dejó incubando nuevamente la placa durante 15 minutos a temperatura ambiente en un cuarto oscuro. Se utilizó un espectrofotómetro de placa para detectar fluorescencia, utilizando una longitud de onda de excitación de 530-570nm y una de emisión 590- 600nm aproximadamente (analito: Oxired).

◆ **Actividad de la SOD**

La actividad de la enzima se midió utilizando un kit (Enzo SOD activity kit, catalog No. ADI-900-157) y de acuerdo a las instrucciones provistas por la marca comercial. Se realizaron diluciones del plasma 1:100 utilizando solución salina inyectable (0.9% NaCl). Posteriormente se realizó la curva de calibración, o de estándares de SOD a concentración 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10 unidades, de acuerdo a las instrucciones del proveedor y se agregaron 25 µL de cada tubo en los pozos de una placa de 96. Más tarde se agregaron 25 µL del reactivo para SOD 1X (50 unidades/µL) en todos los pozos de la placa. Posteriormente se añadieron 25 µL de las muestras de los plasmas con dilución 1:100 por duplicado en cada pozo. Más tarde se agregaron 150 µL del master mix (Enzima SOD 10x + Xantina oxidasa + Agua Mili Q) en todos los pozos. Finalmente para iniciar la reacción enzimática se añadieron en todos los pozos 25 µL de solución de xantina (Xantina 10x + SOD 1X (1:10), agitando la placa oscilatoriamente por 10 segundos. Se utilizó un espectrofotómetro de placa para la lectura de la absorbancia (analito: WST-1 formazan) a 450 nm realizando 10 lecturas, una por minuto.

◆ **Determinación de MDA**

La determinación de malonaldehído equivalente a la formación de sustancias reactivas de ácido 2- tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés) se utilizó para determinar marcadores de estrés oxidante (lipoperoxidación) en plasma. Se utilizó el método modificado fluorescente para TBARS. El procedimiento se llevó a cabo con 200 µL de plasma por ensayo. Las muestras fueron tratadas con 50 µL

de metanol con BHT (butilhidroxitolueno) al 4% mas 1 mL de amortiguador de fosfato 150 mM a pH 7.4, se agitaron en vortex 30 segundos, después se incubaron por 30 minutos en baño maría a 37°C con agitación constante, enseguida se añadió 1.5 mL de ácido tiobarbitúrico al 1.6% + 1 mL de ácido acético al 20% (pH 3.5). Dando 30 segundos de vortex. La mezcla se calentó en agua hirviendo por una hora, inmediatamente después se colocaron las muestras en hielo durante 10 minutos. Posteriormente se adicionó 1 mL de KCL al 2% + 5 mL de n- butanol y se le agitó en vortex por 90 segundo. Las muestras fueron centrifugadas a temperatura ambiente durante 2 minutos a 1500 rpm. La fase de n- butanol (fase orgánica) se separó, tomando 200 µL del tubo para adicionarlos en una placa con fondo oscuro y se midió fluorescencia en un espectrofluorómetro de placa a 515 nm de excitación y 553 nm de emisión. La concentración de equivalentes MDA, se determinó por medio de una curva de calibración, utilizando tetraetoxipropano como estándar a las siguientes concentraciones: 0, 5, 10, 20 µmol/ L.

◆ **Carga antioxidante en suero por ABTS**

La reacción del H_2O_2 con la peroxidasa genera radicales hidroxilos (OH^*) que reaccionan con el ABTS (sal de amonio del ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzolin-6-sulfónico)). Este sustrato en presencia de radicales hidroxilo forma un producto final (o catión radical ABTS+) soluble, color verde y que se detecta espectrotométricamente por absorbancia a una longitud de onda de 405 a 414 nm. Cada ensayo químico se realizó con solución amortiguadora de fosfato de sodio 30mM a pH de 7.0, ABTS 20 µM, peróxido de hidrógeno 200 µM (titulado por absorbancia) 5 µL de peroxidasa y 5 µL de plasma. Las lecturas espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro a 420 nm de longitud de onda. Estas lecturas se expresaron como porcentaje de inhibición de la peroxidasa.

Análisis Estadístico

Los resultados fueron analizados en tres periodos durante un año, se realizó una base de datos en el programa Excel para almacenar la información obtenida. El análisis de variables continuas como enzimas antioxidantes, lipoperoxidación y capacidad antioxidante fue analizado con un ANOVA para muestras repetidas, utilizando como post test el método de Tukey, de acuerdo a la evaluación en los diferentes tiempos de tratamiento basal, tres, seis y doce meses. Para las variables discontinuas o categóricas como absorción intestinal y diagnóstico nutricional se utilizó una prueba de Chi cuadrada utilizando el paquete estadístico PRISM v.2.0 Graph Pad Co.

Resultados

Reclutamiento de pacientes

Inicialmente se reclutaron 20 pacientes de los cuales tres de ellos no asistieron a sus consultas subsecuentes, razón por la que fueron eliminados del protocolo. Posteriormente se eliminaron tres individuos por que presentaban datos clínicamente diferentes, esto quiere decir que después de iniciar el tratamiento con Zn y Se presentaron suficiencia pancreática de acuerdo a lo reportado en los estudios de absorción intestinal y fueron suspendidas las enzimas pancreáticas como parte del tratamiento y de acuerdo a los criterios de inclusión solo se incluirían pacientes con IP; finalmente para el estudio se consideró una n= 14, a quienes se les realizó la toma de muestra sanguínea por punción venosa cubital aproximadamente de 5 ml y se recolectó en tubos Vacutainer con tapa morada que contienen anticoagulante EDTA, se les realizaron mediciones antropométricas antes de recibir el tratamiento con Zn y Se, después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (peso, talla, IMC y T/E), pruebas de absorción intestinal en heces (actividad trípica, grasa en heces y azúcares reductores) de acuerdo a los estudios reportados por el servicio de parasitología, cuantificación de presencia de bacterias pulmonares, capacidad antioxidante, peroxidación lipídica, actividad enzimática de SOD, CAT y GPx.

Antropometría y estado nutricional

No. Px	Género	Edad (años/ meses)	Peso (Kg)	Edad al diagnóstico	Talla (cm)	T/E Percentil	T/E (Z-Score)	IMC (Kg/m ²)	IMC Percentil	Diagnóstico Nutricional (IMC)	Z- Score IMC	Diagnóstico Z-Score (IMC)
1	F	6	17.3	2 M	101	90	<-2	16.9	85	S	1	E
2	M	6/1	14.9	2 A	102	88	<-2	14.3	15	RN	-1	DNL
3	M	6/3	16.3	9 M	108.1	92	-2	14.01	15	RN	-1	DNL
4	M	6/5	18.7	2 M	114.1	96	-0.5	14.0	15	RN	-1	DNL
5	M	7/7	18.2	4 A	117.5	94	-1.5	13.4	3	DN	-1.5	DNL
6	M	8/1	20.4	3 A	121	95	-2	13.7	5	DN	-2	DNM
7	F	8/7	20	2 A	119.5	92	-2	14	15	RN	-1	DNL
8	F	9/6	21.6	4 A	120.8	89	<-2	14.8	25	E	-1	DNL
9	F	10/3	29.9	4 A	136.6	97	-0.5	16.0	25	E	-0.5	E
10	F	13/11	40	4 M	153	96	-1	17.1	25	E	-1	DNL
11	F	13/5	52.1	9 A	157	99	-0.5	21.1	75	E	1	E
12	M	14/2	38.5	10 A	159.5	97	-0.5	15.0	<1	DN	-3	DNS
13	M	14/5	24.3	10 A	131.5	79	<-2	14.2	<1	DN	-3	DNS
14	F	14/3	46.2	13 A	159	99	0	18.3	25	E	-0.5	E
$\mu \pm S$	F= 7 M= 7	9.9± 3	27±12	M= meses A= años	128±21	93±5	-1.6±1.1 Mediana -1.7	15±2	23±25		-1± 1.1 Mediana -1	

Tabla 2. Características basales de la muestra. Describe las características antropométricas de los 14 pacientes al momento del reclutamiento para el estudio. F= Femenino, M= Masculino, Px= Paciente. De acuerdo a la clasificación de la Asociación Mexicana de FQ se utilizaron las siguientes categorías para el diagnóstico del estado nutricional por IMC (percentiles), S= Sobrepeso, E=Eutrófico, RN= Riesgo nutricional, DN=Desnutrición. De acuerdo a la clasificación de la CDC se utilizaron las siguientes categorías para el diagnóstico del estado nutricional por IMC (Z-Score), E= Eutrófico, DNL= Desnutrición leve, DNM= Desnutrición moderada, DNS= desnutrición severa.

La tabla 2 muestra los parámetros antropométricos obtenidos en la primera valoración de los pacientes al reclutamiento, por lo que se observa que el 50% de los individuos son mujeres y el resto varones, con una media de edad de 9 años, se utilizó el IMC para diagnosticar el estado nutricional de los pacientes de acuerdo a los parámetros establecidos por la Asociación Mexicana de Fibrosis Quística, de acuerdo a la literatura éste se correlaciona con parámetros utilizados para medir la función pulmonar (FEV₁ y FVC). Observamos que 4 (29%) pacientes presentaban desnutrición con un percentil menor a 15, 4 (29%) riesgo nutricional con un percentil entre 15-25, y 5 (36%) individuos se encuentran con un IMC adecuado entre el percentil 25-75, sin embargo se observó que un individuo (7%) tenía sobrepeso presentando un percentil mayor a 85. El 28% de los individuos fue diagnosticado en el primer año de vida y el 72% restante después del primer año, la media de edad al diagnóstico en nuestra población es de 5 años 6 meses (tabla 3).

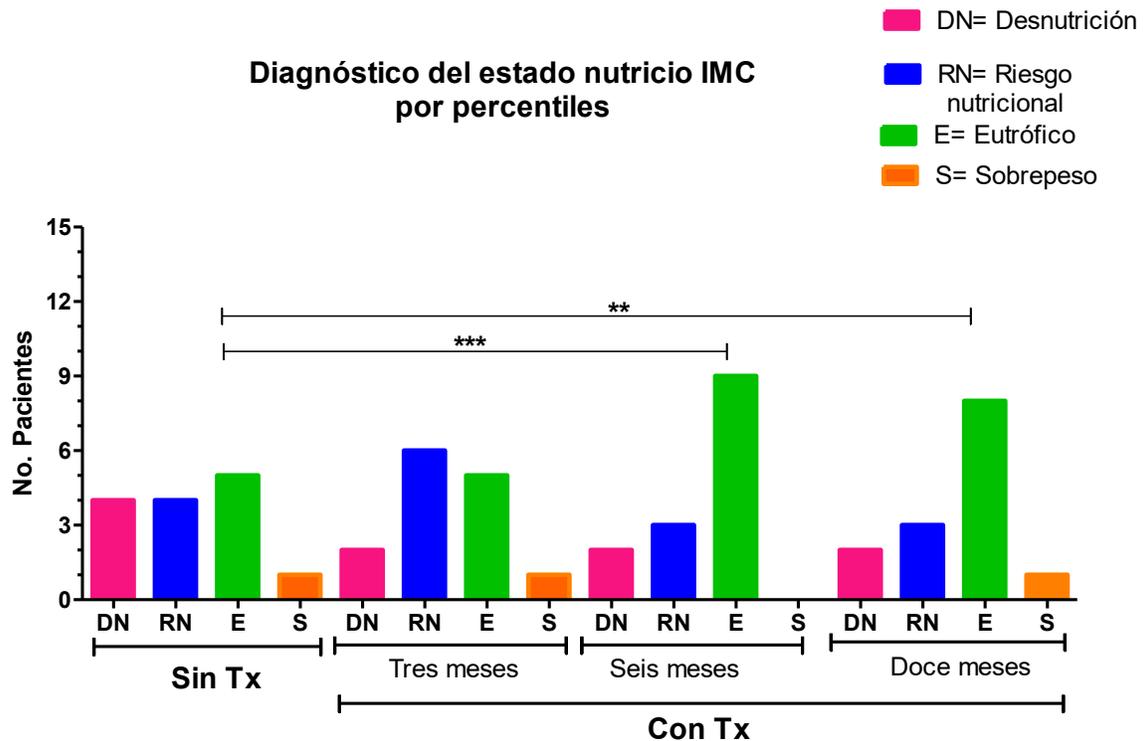


Fig. 9. Diagnóstico nutricional del IMC por percentiles antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n= 14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó Chi² como método estadístico.

Después de recibir el tratamiento durante seis meses observamos que 14% pacientes presentaban desnutrición, 21% riesgo nutricional, 65% eutróficos. En la última medición que se realizó a los doce meses después de haber recibido el tratamiento observamos que 14% pacientes presentaban desnutrición, 21% riesgo nutricional, 58% eutróficos 17% con sobrepeso (fig. 9).

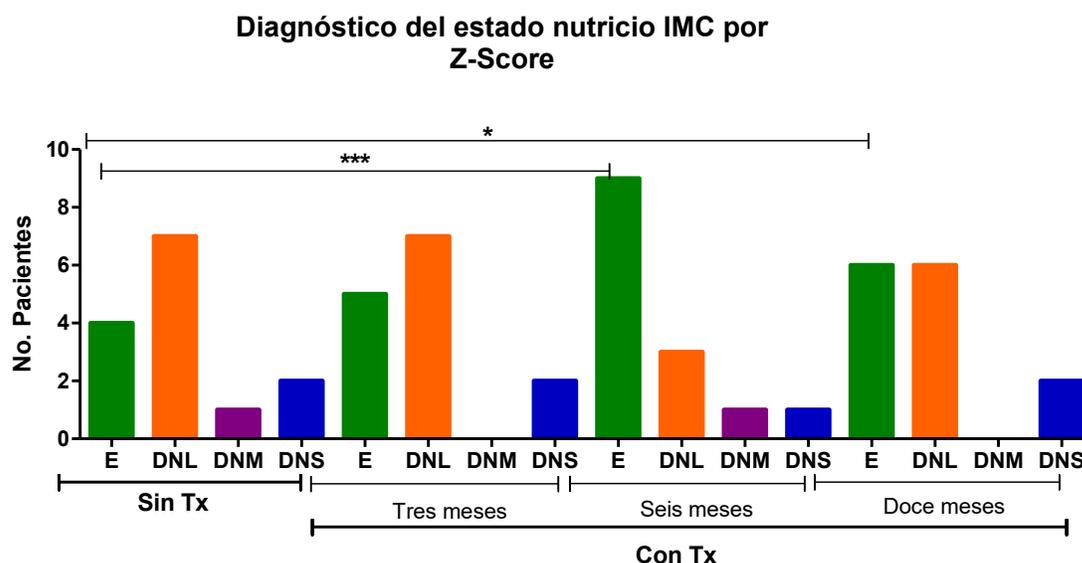


Fig. 10. Diagnóstico nutricional por IMC Z- Score antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n= 14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó Chi² como método estadístico.

De acuerdo al diagnóstico del estado nutricio evaluado por Z- Score utilizando las tablas de la CDC, se encontró que en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento 29% de los pacientes se encontraban eutróficos, 50% con

desnutrición leve, 7% desnutrición moderada y 14% desnutrición severa. Posteriormente a los seis meses después de haber recibido el tratamiento aumentó más del doble el número de eutróficos a 65%, 21% desnutrición leve, 7% desnutrición moderada, 7% desnutrición severa obteniendo una $p= 0.001$ comparando contra la medición basal, finalmente después de recibir el tratamiento por doce meses observamos que disminuyeron el número de pacientes 43% eutróficos , 43% desnutrición leve, 14% desnutrición severa en comparación de la medición a los seis meses; sin embargo se encontró una $p=0.05$ comparada con la medición basal (fig. 10).

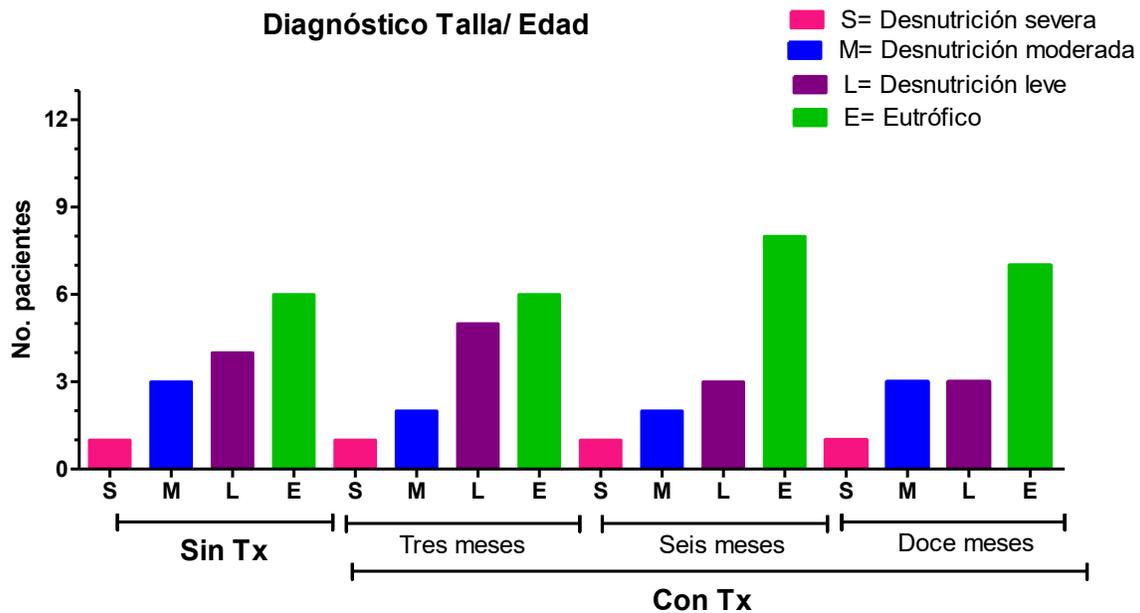


Fig. 11. Parámetro de talla para la edad antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses ($n=14$).*($P=0.05$) ** ($p=0.01$) *** ($p=0.001$). Se utilizó como método estadístico χ^2 .

De acuerdo al diagnóstico del estado nutricional talla/ edad, por definición de los criterios de Waterlow observamos en la medición basal que 7% pacientes presentaban desnutrición severa con un percentil ≤ 84 , 22% desnutrición moderada con un percentil entre 85-89, 29% desnutrición leve con un percentil entre 90-94 y 42% se encontraban eutróficos con un percentil ≥ 95 . Posteriormente en las siguientes tres mediciones no se encontraron cambios significativos en las proporciones de pacientes dentro de cada categorías para el diagnóstico nutricional de acuerdo a talla edad. (fig. 11).

Absorción intestinal

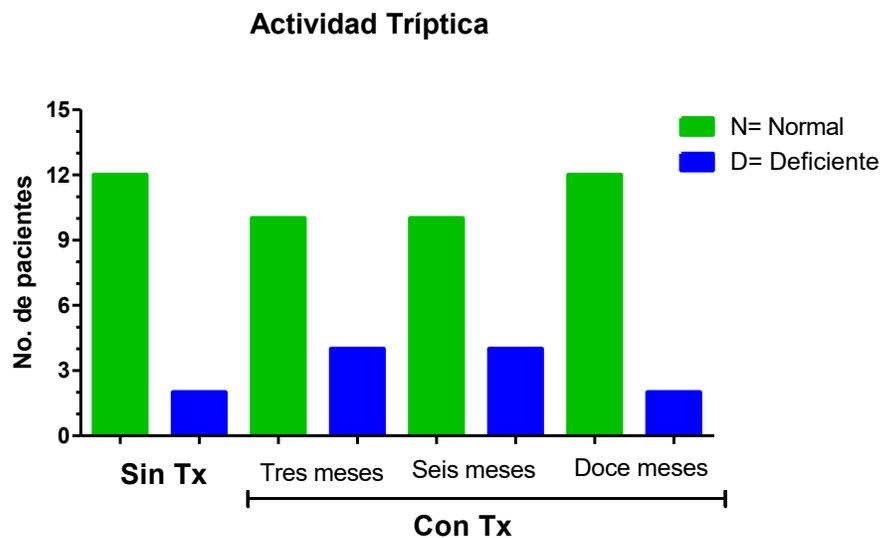


Fig. 12. Absorción de proteínas, cuantificación en heces antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó como método estadístico χ^2 .

Observamos que en la medición basal es decir, antes de recibir el tratamiento el 86% de los pacientes presentaron actividad trípica normal y el 14% actividad trípica deficiente. Posteriormente en las siguientes tres mediciones estos parámetros no se modificaron después de haber recibido el tratamiento con Zn y

Se aunado al tratamiento convencional observamos que entre el 71- 86% de los pacientes presentaron actividad trípica normal y 14-29% actividad trípica deficiente. (fig. 12).

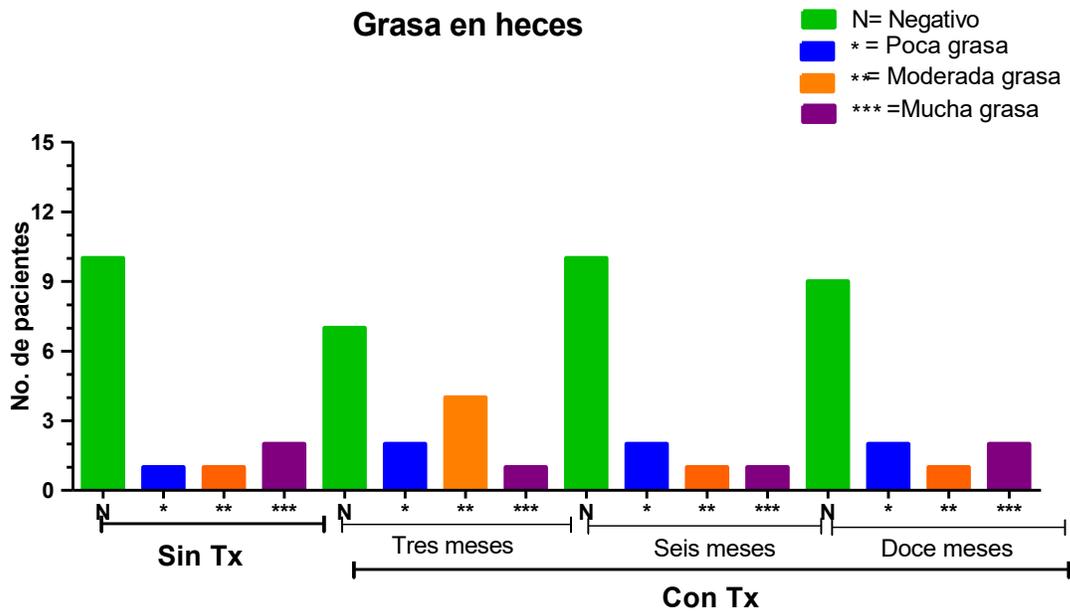


Fig. 13. Absorción de grasa, cuantificación en heces antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó como método estadístico χ^2 .

Observamos que en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento el 72% de los pacientes no presentaba grasa en heces, 7% poca presencia de grasas, 7% moderada presencia de grasa y 14% abundante presencia de grasa. Posteriormente en las siguientes tres mediciones estos parámetros no se modificaron después de haber recibido el tratamiento con Zn y Se aunado al tratamiento convencional observamos que entre el 50%-72% de los pacientes no presentaba grasa en heces, 14% poca presencia de grasas, 7-29% moderada presencia de grasa y 7-14% abundante presencia de grasa (fig. 13).

Azúcares reductores

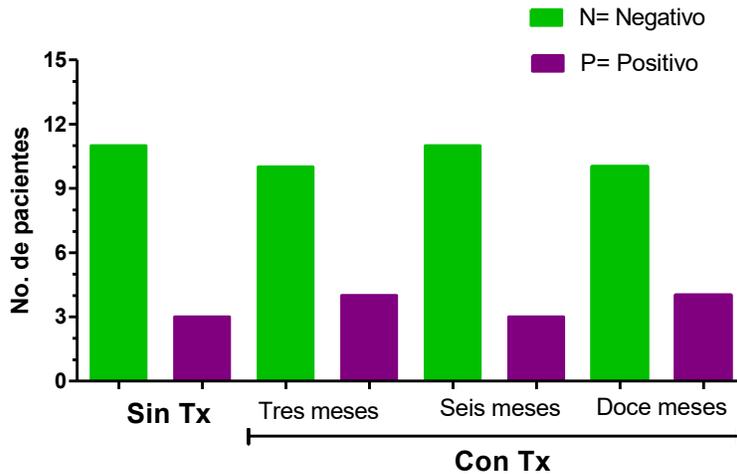


Fig. 14. Absorción de azúcares reductores, cuantificación en heces antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó como método estadístico χ^2

Observamos que de acuerdo a la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento el 79% de los pacientes presentaban azúcares reductores negativos, y 21% azúcares reductores positivos. Posteriormente en las siguientes tres mediciones estos parámetros no se modificaron después de haber recibido el Zn y Se aunado al tratamiento convencional observamos que entre el 71-79% pacientes presentaban azúcares reductores negativos y 21-29% azúcares reductores positivos (fig. 14).

Presencia de cepas bacterianas pulmonares

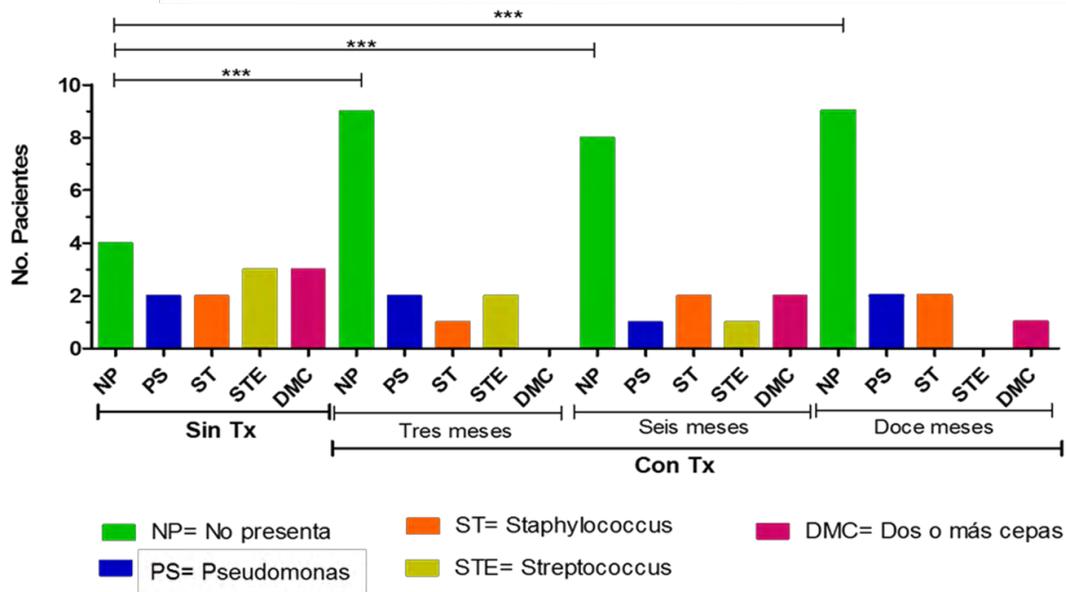


Fig. 15. Presencia de bacterias pulmonares antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó como método estadístico χ^2 .

Observamos que en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento, sólo 4 (30%) pacientes no presentaban bacterias pulmonares de acuerdo a lo reportado en el esputo, 2 (14%) *Pseudomonas*, 2 (14%), *Staphylococcus*, 3(21%) *Streptococcus*, 3 (21%) dos o más cepas bacterianas. Posteriormente a los tres meses después de haber recibido el tratamiento incrementó el número de individuos sin presencia de cepas bacterias a un 65%, más tarde a los 6 meses se continuó observando el mismo cambio, el 58% de los pacientes no presentaban bacterias, finalmente a los doce meses después de haber recibido el tratamiento continuamos obteniendo que el 65% de los niños no presentaba bacterias en pulmones (fig. 15).

Marcadores de estrés oxidante

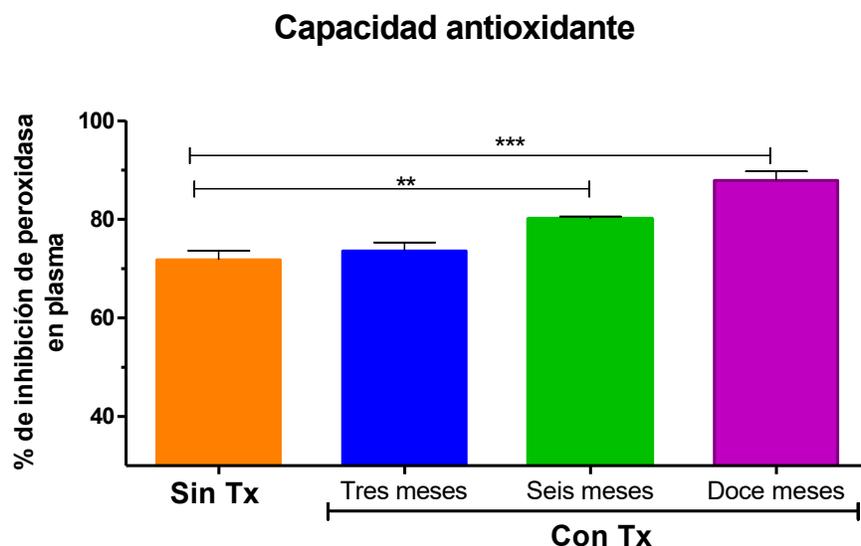


Fig. 16. Capacidad antioxidante total en plasma de los pacientes antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001).. Se utilizó como método estadístico ANOVA de una vía, para muestras repetidas y el post test de Tukey.

Observamos que la capacidad antioxidante en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento presentaba una media del 71%, posteriormente al recibir el tratamiento durante tres meses incrementó un 3% sin embargo estos datos no fueron significativos, más tarde al recibir el tratamiento durante seis meses incremento un 9% encontrando una p=0.01; finalmente en la última medición después de recibir el tratamiento por doce meses observamos que incrementó en un 16% la capacidad antioxidante en plasma a comparación de la medición basal, encontrando una significancia estadística de p=0.001 (fig. 16).

Lipoperoxidación

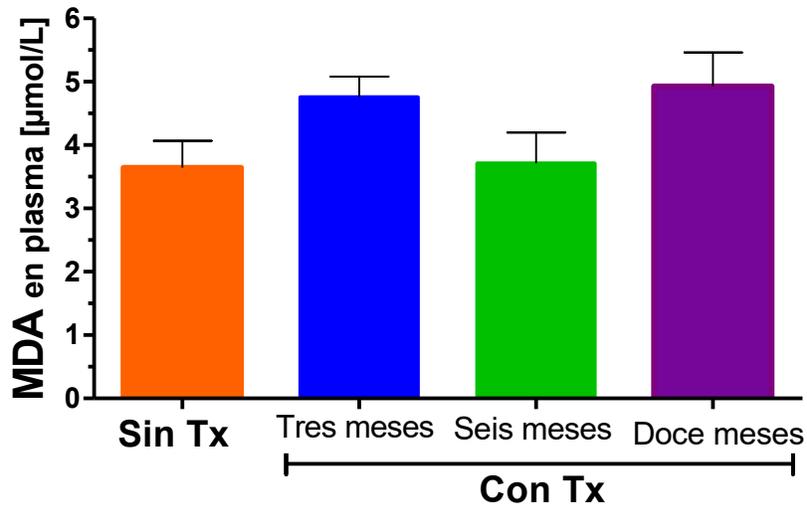


Fig. 17. Esta gráfica muestra los cambios en las concentraciones de MDA en plasma antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). No se encontraron cambios significativos ($p=0.08$). Se utilizó como método estadístico ANOVA de una vía, para muestras repetidas.

Observamos que en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento los pacientes presentaban niveles de MDA con una media= $3.9 \mu\text{mol/L}$ sin embargo estos parámetros estuvieron fluctuando en las siguientes 3 mediciones, por lo que no encontramos cambios significativos durante ministración del Zn y Se (fig. 17).

Enzimas antioxidantes

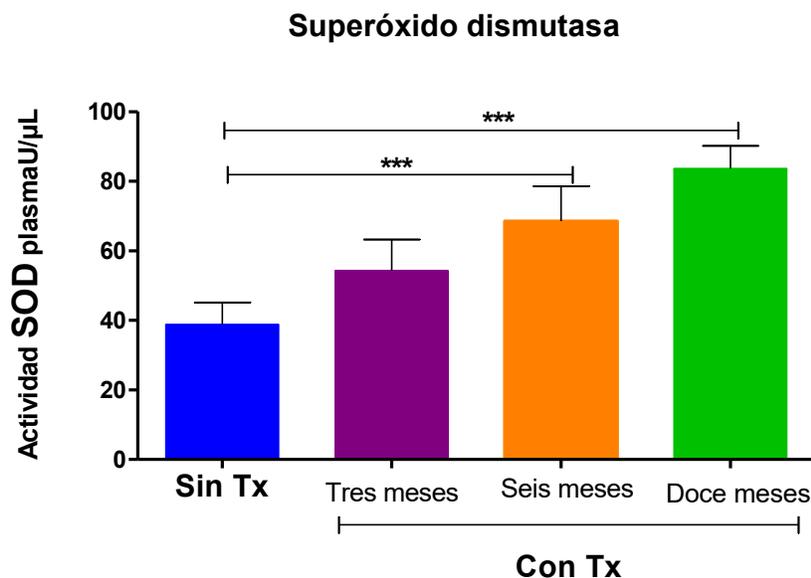


Fig. 18. Actividad enzimática de la enzima SOD antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó como método estadístico ANOVA de una vía, para muestras repetidas y el post test de Tukey.

Observamos que en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento las concentraciones basales en plasma de la enzima SOD tenían una media de 38 U/μL posteriormente a los tres meses después de haber recibido el tratamiento incrementó la actividad de la enzima casi en un 30% (49.4 U/μL), más tarde a los 6 meses con el tratamiento observamos que aumentó en un 74% (66 U/μL), finalmente en la última medición después de recibir el tratamiento por doce meses identificamos que la actividad de enzima había incrementado casi al doble (fig. 18).

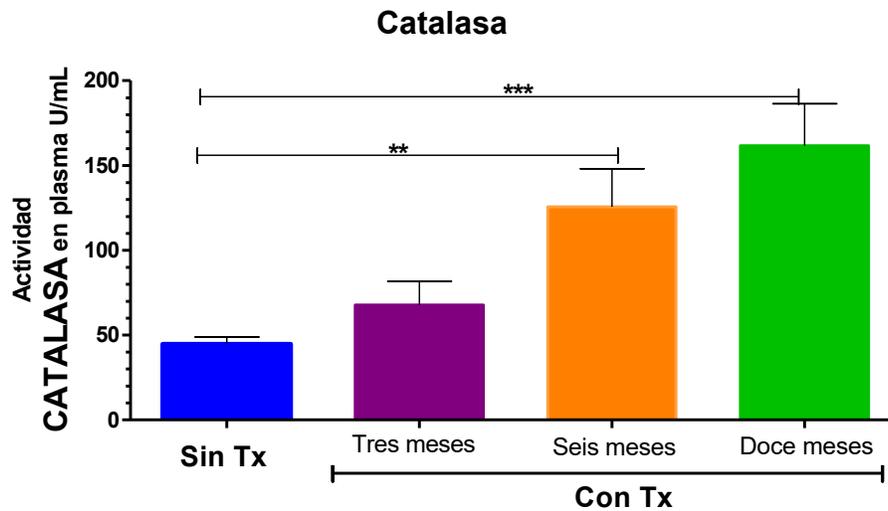


Fig. 19. Actividad enzimática de la enzima CAT antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó como método estadístico ANOVA de una vía, para muestras repetidas y el post test de Tukey.

Observamos en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento los pacientes presentaban una media de 44 U/ml en plasma de CAT, sin embargo, posteriormente después de recibir el tratamiento por 3 meses observamos que la actividad de la enzima incrementó a 57 U/ml pero estos cambios no fueron significativos, más tarde a los seis meses con tratamiento observamos que la actividad incremento casi tres veces de la medición basal, reflejándonos cambios significativos (p= 0.01), finalmente en la medición a los doce meses observamos que la actividad de la enzima incrementó 3.5 veces a comparación de la medición basal, obteniendo significancia estadística (p=0.001) (fig. 19).

Glutación Reductasa

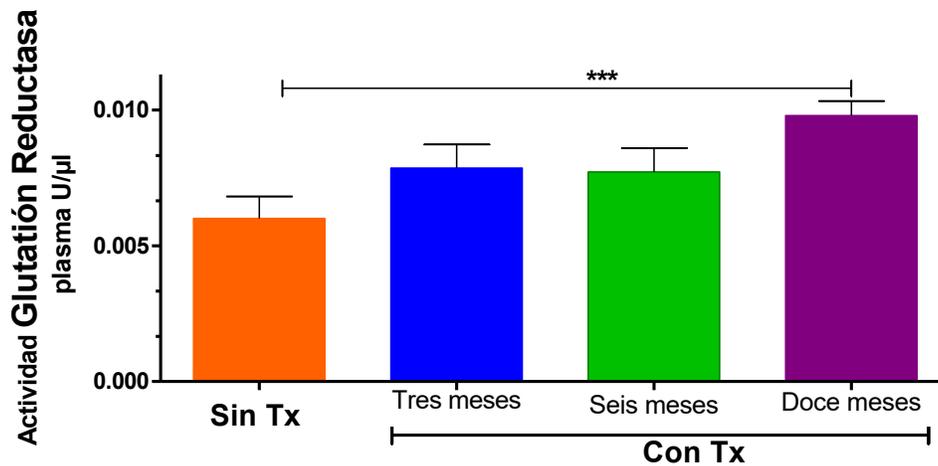


Fig. 20. Actividad enzimática de GR en una reacción acoplada con GPx antes de recibir el tratamiento y después de haberlo recibido a los tres, seis y doce meses (n=14). *(P=0.05) ** (p=0.01) *** (p=0.001). Se utilizó como método estadístico ANOVA de una vía, para muestras repetidas y el post test de Tukey.

Observamos que en la medición basal, es decir antes de recibir el tratamiento los pacientes presentaban una media de 0.006 U/μL de la enzima GR en una reacción acoplada con la GPx, posteriormente en la medición de los tres y seis meses después de recibir el tratamiento observamos que la actividad de la proteína incrementó 0.002 U/μL, sin embargo estos datos no presentaron significancia estadística. Finalmente en la medición de los doce meses con el tratamiento observamos que la actividad de GR incrementaron 0.004 U/μL a comparación de la basal, mostrándonos una p= 0.001 (fig. 20).

Discusión de resultados

Los pacientes con FQ recibieron suplantación con Zn y Se durante un año con el fin de fortalecer los sistemas antioxidantes y con ello impactar positivamente en el estado nutricional y recurrencia de infecciones.

Antropometría y estado nutricional

Renner y col. reportaron que después de suplementar a 13 niños con β - carotenos durante seis meses no observaron cambios significativos en el Z-Score de talla/ edad coincidiendo con nuestros datos, sin embargo pudimos observar que la media de sus niños se encuentra por debajo de la desviación estándar -1.13, coincidiendo con los datos que nosotros reportamos donde la media de nuestros niños se encuentra en -1.6 desviaciones estándar, esto señala que nuestros niños tienen la talla más afectada que los pacientes del estudio reportado por Renner, sin embargo es importante resaltar que las tablas que utilizamos para el Z- Score están diseñadas para población de Estados Unidos, debido a que en México no contamos con tablas exclusivas para nuestra población. Por el contrario para el diagnóstico por IMC en percentiles si contamos con parámetros establecidos para niños con FQ de acuerdo a los criterios de la Asociación Mexicana de FQ (29), el estado nutricional de los pacientes se observó más afectado con la utilización de Z-Score que con los percentiles, incluso en niños sanos Mexicanos de acuerdo a lo reportado por Salinas, ya que como previamente se menciona estas tablas están diseñadas para niños de E.U.A. que genéticamente tienen complejidad diferente a los niños Mexicanos. Sin embargo a pesar de eso se encontraron cambios significativos en el IMC por Z-Score después de recibir el tratamiento durante seis meses (46). De acuerdo a lo que Stettler y col. reportaron, donde compararon parámetros antropométricos en niños de 5- 10 años con FQ vs niños sanos encontraron que los pacientes con FQ presentan entre 5 y 7 cm por debajo de la media de los individuos sanos, aunado a eso observaron que el Z-Score de la talla se encontraba en -0.5 SD, lo que se considera normal de acuerdo a la clasificación de la CDC (47). Incluso otro reporte Polaco menciona que sus niños presentan un Z-Score de IMC en -0.72 SD, a diferencia de lo que nosotros encontramos que presentan -1 SD, señalando lo que previamente se menciona: que nuestros niños

Mexicanos con FQ tienen afectado el peso y la talla más que los pacientes con FQ reportados por los grupos Polacos, Austriacos, Canadienses y Estadounidenses (48).

Sadowska-Bartosz y col. reportan que no hay cambios significativos en el peso y talla de niños con FQ en presencia de agentes bacterianos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, sin embargo es importante resaltar que a diferencia de lo que menciona Cantin entre otros autores, las exacerbaciones infecciosas y la presencia de agentes bacterianos condiciona el estado nutricional del paciente con FQ siendo una de las principales causas de desnutrición (7, 49). Algunos autores mencionan que los pacientes con FQ deben tener la misma velocidad de crecimiento que niños sanos, siempre y cuando reciban tratamiento oportunamente y sean diagnosticados al nacimiento, sin embargo la media de edad al diagnóstico de nuestros niños es de 5 años 6 meses; lo cual resulta ser un factor importante ya que los niños antes de ser diagnosticados pudieron cursar por lapsos de desnutrición que impactaron sobre el crecimiento lineal. Lai y col. reportaron en el año 1998 que la media de edad al diagnóstico de FQ era a los 2.9 años en pacientes de US y Canadá, lo que significa que después de 18 años en nuestro país el diagnóstico continúa siendo tardío a comparación de otros países (50). Esto impacta directamente en el crecimiento ya que al ser diagnosticados en edades tardías el rescate nutricional en cuanto a crecimiento lineal es muy pobre. Nosotros esperábamos encontrar cambios principalmente en talla ya que como se encuentra descrito el Zn y Se ejercen funciones importantes en las hormonas T_3 y T_4 , sin embargo como previamente mencioné nuestra población es de niños mayores de 6 años quienes fueron intervenidos después o durante su segundo pico de crecimiento, no obstante nuestros datos coinciden en que si los niños no son diagnosticados en el primer año de vida y no reciben tratamiento con reemplazo enzimático, suplementación de antioxidantes y dieta alta en grasas, la afectación en el crecimiento es severa y no puede rescatarse, aún cuando se implemente apoyo nutricional (7, 49). Sharma y col. reportan que la suplementación con 30 mg/ día de Zn durante 12 meses no mostró cambios significativos en el Z-Score de talla/ edad e IMC, sin embargo de acuerdo a lo que nosotros

encontramos el diagnóstico de IMC en percentiles y en Z- Score reflejó cambios significativos a partir de los 6 meses de recibir el tratamiento, no obstante ellos solo evaluaron parámetros clínicos y no de estrés oxidante (51).

Bacterias pulmonares y estado nutricional

Sharma y col. También reportaron que la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* no disminuye durante la suplementación de Zn y estos datos coinciden con lo que nosotros observamos: que el número de pacientes que presentaban *Pseudomonas* en la medición basal fue el mismo que después de recibir por 12 meses el Zn y Se; sin embargo nosotros encontramos que las cepas bacterianas como *Staphylococcus* y *Streptococcus*, disminuyeron significativamente, pero es importante resaltar que la bacteria que más afecta y daña la función pulmonar es *Pseudomonas* (51). Cabe resalta que principalmente *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria que se mantiene de forma latente o persistente en los pulmones del paciente con FQ desde que nacen; sin embargo el desarrollo de colonias depende del estado nutricional del paciente, el estado inmune, y el apego al tratamiento en general.

Sadowska-Bartoszyńska y col. reportan que es importante considerar la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* en niños con FQ, ya que disminuyen la actividad enzimática de glutatión s- transferasa, CAT y SOD en comparación de niños sanos; de acuerdo a los resultados que nosotros encontramos después de recibir la suplementación con Zn y Se, aunado al tratamiento convencional, la presencia de agentes bacterianos como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* disminuyó, favoreciendo el incremento en la concentración de las enzimas SOD y CAT (49), ya que nosotros consideramos que el Zn y Se aumentan la cantidad de proteína de los sistemas antioxidantes.

Absorción intestinal

Dentro de los parámetros de absorción intestinal como azúcares reductores, grasa en heces y actividad trípica no se observan cambios significativos, sin embargo podemos identificar que la mayoría de los pacientes manejan parámetros normales, lo que nos permite controlar variables confusoras para determinar el

estado nutricional, ya que dentro de nuestros criterios de inclusión se eligieron pacientes con IP que cursan con el mismo fenotipo clínicamente, por lo que es necesario que tomen enzimas pancreáticas, ya que éstas favorecen la absorción de proteínas, lípidos, carbohidratos y vitaminas liposolubles, siendo el principal factor del estado nutricional del paciente con FQ y con ello se favorece la absorción de Zn y Se para garantizar que la suplementación sea aprovechada correctamente (7).

De acuerdo a lo reportado por Sagal y col. quienes suplementaron durante 12 semanas con AquADEKs que contiene antioxidantes como vitaminas A, D, E, K, C, coenzima Q, Se (70 mcg), Zn (10 mg) y vitaminas hidrosolubles: tiamina, riboflavina, niacina, B6, ácido fólico, cianocobalamina, biotina y ácido pantoténico a pacientes pediátricos con FQ y los dividieron en dos grupos con IP vs suficiencia pancreática y encontraron que los pacientes con IP presentan niveles bajos de vitamina D, α -tocoferol, B-caroteno, coenzima Q10, así como percentiles bajos en IMC y T/E, posteriormente después de recibir el tratamiento por 12 semanas los niveles de vitaminas incrementaron significativamente en los individuos con IP, por esta razón dentro de nuestros criterios de inclusión solo se reclutaron pacientes con IP (52). A diferencia de lo reportado por los anteriores autores nosotros no medimos valores de vitamina D, B-caroteno, coenzima Q10 por lo que desconocemos si los mismos pudieron haber aumentado ya que tampoco encontramos cambios significativos en los parámetros de absorción intestinal después de la suplementación por 12 meses, sin embargo, nosotros consideramos que pudo haber mejorado la absorción intestinal ya que incrementaron significativamente parámetros del estado nutricional, IMC por percentiles y Z-Score.

Enzimas antioxidantes

De acuerdo a los resultados la ministración de Zn y Se como apoyo del tratamiento convencional para pacientes con FQ, mostró un incremento en la actividad de la enzima GR a partir de los 12 meses con la suplementación. Cabe resaltar que como reporta Cantin y col. el Se es cofactor de la enzima GPx, la cual actúa en una reacción acoplada con la GR, también se describe que el GSH tiene

funciones como anti inflamatorio, facilita la fagocitosis, ayuda a regular la apoptosis, incrementa los anticuerpos de respuesta primaria, incrementa células B y T, incrementa la producción de IL-2, incrementa los anticuerpos dependientes de células citotóxicas, disminuye IL-4 y actúa como detoxificador de peróxidos, debido a estas funciones se puede asociar positivamente el incremento de glutatión en relación a la disminución de cepas bacterias. Cabe resaltar que de acuerdo a lo reportado en la literatura la actividad de la enzima GPx se encuentra disminuida en un 5- 10% en epitelios pulmonares y en plasma en un 50% al igual que la SOD en pacientes con FQ, sin embargo como se muestra en la Fig. 18 y 20 después de recibir la suplementación durante doce meses se alcanzan parámetros similares a los reportados para niños sanos (7).

De acuerdo a Sandowska y col. donde se suplementaron durante 12 semanas a pacientes pediátricos con AquADEKS se observaron cambios significativos en la actividad de la enzima SOD incrementando más del doble coincidiendo con nuestros resultados, a pesar de que ellos ministraron menor cantidad de Zn y Se (53). De acuerdo a la medición de la actividad de la enzima CAT ellos no encontraron cambios significativos a diferencia de nuestro estudio en donde la actividad de la enzima aumentó tres veces más después de recibir el tratamiento con Zn y Se aunado al tratamiento convencional durante 12 meses.

Wood y col. suplementaron con antioxidantes durante 8 semanas a 46 pacientes con FQ y los dividieron en dos grupos, el primer grupo recibió vitamina E 10 mg, vitamina A 500 µg, el segundo grupo recibió vitamina E 200 mg, vitamina C 300 mg, B- caroteno 25 mg, Se 90 µg y vitamina A 500 µg, encontraron que los niveles de Se incrementaron en el segundo grupo después de recibir la suplementación, no obstante observaron que la enzima SOD no mostró cambios significativos en ninguno de los dos grupos a diferencia de los resultados que nosotros reportamos, también es importante mencionar que las dosis que nosotros ministramos de Se son más del doble que la que utilizaron los autores antes mencionados, aunado al Zn. Por otra parte refieren que la enzima GPx incrementó significativamente en el primer grupo que recibió una menor cantidad de antioxidantes, a comparación de

nuestro estudio ellos encontraron cambios significativos a los dos meses y nosotros después de recibir el tratamiento por 12 meses (25). Esto podría explicarse por un aumento mayor de estrés oxidante en nuestros pacientes y la edad a la que fueron intervenidos con la suplementación de Zn y Se.

Capacidad antioxidante

De acuerdo a lo reportado por Sandowska y col. sobre la capacidad antioxidante en plasma donde se evalúa el equilibrio de los oxidantes vs antioxidantes ellos encontraron que después de la ministración del AquADEKS la capacidad antioxidante aumentó significativamente un 20%, similar a lo que nosotros observamos que fue un 16% después de 12 meses con la suplementación de Zn y Se aunado al tratamiento convencional que incluye enzimas pancreáticas, suplementación de vitamina E y centrum kidts (53). A comparación de Renner y col. quienes suplementaron a 13 niños con FQ β -carotenos 1mg/kg/día durante seis meses pero no encontraron cambios significativos en la capacidad antioxidante, a comparación de nuestro estudio donde suplementamos a los niños con antioxidantes diferentes y encontramos cambios significativos a partir de los 6 meses (29), concluyendo que la suplementación de Zn y Se en este estudio incrementó la capacidad antioxidante en plasma.

Estrés oxidante

Cantin y col. mencionan un estudio controlado en 46 pacientes con FQ edad entre 10- 12 años quienes fueron suplementados comparando diferentes tratamientos, en el primero les ministraron 10 mg vitamina E + 500 μ g vitamina A VS 90 μ g Se + 200 mg vitamina E + 300 mg vitamina C + 500 μ g β -caroteno durante 8 semanas, sin embargo solo observaron que los niveles de Se aumentaron a nivel plasmático, pero no encontraron cambios significativos en los marcadores de estrés oxidante. Esto coincide con nuestros hallazgos, pues nosotros tampoco encontramos cambios significativos en el MDA a pesar de que las dosis de Se que nosotros suplementamos fue mayor y por más tiempo (7). Back y col. en su estudio compararon pacientes pediátricos con FQ vs sanos y encontraron que el MDA se encuentra aumentado en 32% a comparación de niños sanos (54). Oudshoorn y

col. Reportaron que después de suplementar por tres meses a niños con FQ con un multivitamínico que contiene proteínas, lípidos, carbohidratos, electrolitos, vitaminas A 267 µg, D 2 µg, C 100 m, E 215 mg; oligoelementos Fe, Zn (6 mg), Cu, Mn, F, Mo, Se (20 mg), Coenzima Q 10 (60 mg) no se mostraron cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de MDA (55). Por otra parte Sandowska y col. reportan que después de la suplementación por 12 semanas con AquADEKS las concentraciones de MDA disminuyeron significativamente en plasma un 40%, sin embargo, es importante resaltar que nuestros niños mexicanos presentan en promedio 3.5 µmol/L, y los niños Polacos presentan una media de 1 µmol/L en comparación de las concentraciones reportadas para niños sanos que es 0.5 µmol/L, nuestra población con FQ presenta un incremento del estrés oxidante incluso mayor que el de otros países con niños que también tienen FQ (53). Renner y col. también reportaron que no encontraron cambios significativos en el MDA después de suplementar a 13 niños con FQ B-carotenos durante 6 meses (1 mg/kg/día), sino al contrario inicialmente a los 3 meses se observó que aumentaron las concentraciones y posteriormente a los 6 meses las concentraciones disminuyeron a valores basales (29).

Conclusiones

El Zn y Se favorecen el estado nutricional, los sistemas antioxidantes y disminuyen la recurrencia de infecciones bacterianas de los pacientes con FQ después de la suplementación por doce meses, aunado al tratamiento convencional que incluye antibióticos, broncodilatadores, fisioterapia pulmonar, enzimas pancreáticas, vitamina E, y dieta alta en grasas. Aún es necesario continuar investigando más funciones, dosis terapéuticas y efectos secundarios del Zn y Se, para poder implementar guías que nos permitan mejorar la calidad de vida de los pacientes con FQ en México.

Limitaciones

Los pacientes que se incluyeron dentro de nuestro estudio fueron pacientes mayores de 6 años, principalmente por razones éticas ya que existe poca evidencia que sustente el uso de Zn y Se en menores, desafortunadamente este grupo presentaba un diagnóstico tardío de FQ lo que indica que recibieron tratamiento años después del nacimiento impactando principalmente en la función pulmonar, el estado nutricional de los niños y estrés oxidante. Otra de las limitaciones importantes fue el tiempo de ministración del Zn y Se ya que encontramos cambios significativos en las enzimas antioxidantes después de 6 meses de suplementación, sin embargo no observamos cambios significativos en la lipoperoxidación posiblemente porque no se ministró más de un año.

Implicaciones

- a) Investigar las mutaciones de los pacientes con FQ podría facilitar el tipo de tratamiento que deben recibir de acuerdo al fenotipo que corresponden.
- b) Innovar con terapias antioxidantes utilizando minerales como el Zn y Se.
- c) Establecer dosis de micro nutrientes para (minerales y vitaminas hidrosolubles) pacientes con FQ Mexicanos que cubran requerimientos basales o/y terapias alternativas.

- d)** Implementar estrategias para el diagnóstico temprano de la FQ, como la difusión de signos y síntomas en los medios de comunicación.
- e)** Actuar en colaboración con otros hospitales, institutos y asociaciones del país donde se atiendan pacientes con FQ para realizar estudios multicéntricos que beneficien a los pacientes y nos permitan realizar guías Mexicanas especializadas para niños con FQ.

Bibliografía

- 1) Corrales K. Manual de nutrición pediátrica. 4th ed. México: Intersistemas; 2005. Capítulo 21, Fibrosis Quística; p. 394- 429.
- 2) Sagel SD, Sontag MK, Anthony MM, Emmett P, Papas KA. Effect of an antioxidant-rich multivitamin supplement in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2011 Jan;10(1):31-6.
- 3) Dampousse V, Marjolaine M, Yves B, Remi R, Genevieve M. Plasma zinc in adults with cystic fibrosis: correlations with clinical outcomes. Department of nutrition. 2014 Jan;28(1):60-4.
- 4) Kathleen ML, Escott SS, Janice LR. Krause Dietoterapia. 13 ed. Barcelona (España): ELSEVIER; 2013. Capítulo 3, Ingesta: los nutrimentos y su metabolismo; p. 57-129.
- 5) Lezana FJ. Fibrosis Quística, Guías clínicas para el diagnóstico y tratamiento. 1ra ed. México: Intersistemas; 2008. 104 p.
- 6) Molinski S, Eckford PD, Pasyk S, Ahmadi S, Chin S, Bear CE. Functional Rescue of F508del-CFTR Using Small Molecule Correctors. *Front Pharmacol*. 2012 Sep 26;3:160.
- 7) Cantin AM, White TB, Cross CE, Forman HJ, Sokol RJ, Borowitz D. Antioxidants in cystic fibrosis. Conclusions from the CF antioxidant workshop, Bethesda, Maryland, November 11-12, 2003. *Free Radic Biol Med*. 2007 Jan 1;42(1):15-31.
- 8) Castaños C, Rentería F. Consenso Nacional de Fibrosis Quística. 1ra ed. Argentina: Arch Argent Pediatric; 2008. 52 p.
- 9) Segal E. Consenso de Fibrosis Quística. Archivos Argentinos Pediátricos, 1ra ed. Argentina: Arch Argent Pediatric; 1999. 224 p.
- 10) Aejmelaeus RT, Holm P, Kaukinen U, Metsä-Ketelä TJ, Laippala P, Hervonen AL, Alho HE. Age-related changes in the peroxy radical scavenging capacity of human plasma. *Free Radic Biol Med*. 1997;23(1):69-75.
- 11) Wei YH, Kao SH, Lee HC. Simultaneous increase of mitochondrial DNA deletion and lipid peroxidation in human aging. *Ann N Y Acad Sci*. 1996 Jun 15;786:24-43.

- 12)** Bongarzone ER, Pasquini JM, Soto EF. Oxidative damage to proteins and lipids of CNS myelin produced by in vitro generated reactive oxygen species. *J Neurosci Res.* 1995 Jun 1;41(2):213-21.
- 13)** Devlin MT. *Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas.* 4ta ed. New Jersey: REVERTE; 2004. 1188 p.
- 14)** Chávez M. Estrés oxidativo y resistencia a la insulina en un modelo de síndrome metabólico; efecto de la glicina. Tesis de Licenciatura. México; 2011. 85 p.
- 15)** Torres AR, Bahr VP. El zinc: la chispa de la vida. *Rev Cubana Pediatr.* 2004 Dic;76(4):0-0.
- 16)** Sekler I, Sensi SL, Hershfinkel M, Silverman WF. Mechanism and regulation of cellular zinc transport. *Mol Med.* 2007 Jul-Aug;13(7-8):337-43.
- 17)** Torres DA. Zinc: Relación con el estrés oxidativo y la diabetes. *Bioquímica.* 2009 Dec;34(4):190-196.
- 18)** Hatayama M, Tomizawa T, Sakai-Kato K, Bouvagnet P, Kose S, Imamoto N, Yokoyama S, Utsunomiya-Tate N, Mikoshiba K, Kigawa T, Aruga J. Functional and structural basis of the nuclear localization signal in the ZIC3 zinc finger domain. *Hum Mol Genet.* 2008 Nov 15;17(22):3459-73.
- 19)** Das JK, Kumar R, Salam R, Bhutta Z. Revisión sistemática de los estudios clínicos de fortificación con zinc. *Annales Nestlé.* 2013;62(1):44–56.
- 20)** Sánchez A. Selenio y tiroides. *Glánd Tir Paratir.* 2009;18(1):40-45.
- 21)** Martínez CC, Escribano A, Núñez GF, García ML, Luján J, Martínez RL. Intervención nutricional en niños y adolescentes con fibrosis quística. *Nutrición Hospitalaria.* 2005;20(3):182-188.
- 22)** Socarrás SM, Bolet AM, Rodríguez CF, Castañeda A. Valoración del estado nutricional y sus complicaciones en pacientes adultos con fibrosis. *Revista cubana médica.* 2005;44(3-4):0-0.
- 23)** González J, Díaz M, Bousoño G, Rivas C, Acuña Q, Heredia G, Sojo A, Lázaro A. Estado nutricional en pacientes pediátricos con fibrosis quística. *BOL PEDIATR.* 2012;52:14-18.

- 24)** Román CM. Valoración del estado nutricional ante un tratamiento nutricional en pacientes pediátricos que presentan fibrosis quística atendidos en el instituto nacional de pediatría. Tesis de Licenciatura. México. 2013. 80 p.
- 25)** Wood LG, Fitzgerald DA, Lee AK, Garg ML. Improved antioxidant and fatty acid status of patients with cystic fibrosis after antioxidant supplementation is linked to improved lung function. *Am J Clin Nutr.* 2003 Jan;77(1):150-9.
- 26)** Wood LG, Fitzgerald DA, Gibson PG, Cooper DM, Garg ML. Increased plasma fatty acid concentrations after respiratory exacerbations are associated with elevated oxidative stress in cystic fibrosis patients. *Am J Clin Nutr.* 2002 Apr;75(4):668-75.
- 27)** Shamseer L, Adams D, Brown N, Johnson JA, Vohra S. Antioxidant micronutrients for lung disease in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Dec 8;(12).
- 28)** Durieu I, Vericel E, Guichardant D, Roth H, Steghens JP, Draï J, Josserand RN, Fontaine E, Lagarde M, Bellon G. Fatty acids platelets and oxidative markers following intravenous n-3 fatty acids administration in cystic fibrosis: An open pilot observational study. *J Cyst Fibros.* 2007 Sep;6(5):320-6.
- 29)** Renner S, Rath R, Rust P, Lehr S, Frischer T, Elmadfa I, Eichler I. Effects of B-carotene supplementation for six months on clinical and laboratory parameters in patients with cystic fibrosis. *Thorax.* 2001 Jan;56(1):48-52.
- 30)** Shamseer L, Adams D, Brown N, Johnson JA, Vohra S. Antioxidant micronutrients for lung disease in cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Dec 8;(12).
- 31)** Wittwer F, Araneda P, Ceballos A, Contreras PA, Andaur R, Marcela BH. Glutathion peroxidase activity (GSH-Px) in grazing dairy cattle in the south of Chile (IXth Region) and their relation with selenium contents in the forage. *Arch. med. vet.* 2012; 34(1).
- 32)** Rubin RN, Navon L, Cassano PA. Relationship of serum antioxidants to asthma prevalence in youth. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004 Feb 1;169(3):393-8.

- 33)** Rady HI, Rabie WA, Rasslan HA, El Ayadi A. Blood zinc levels in children hospitalized with pneumonia: A cross sectional study. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*. 2013 Oct;62(4):697–700.
- 34)** Sánchez J, Villada OA, Rojas ML, Montoya L, Díaz A, Vargas C, Chica J, Herrera AM. Efecto del zinc aminoquelado y el sulfato de zinc en la incidencia de la infección respiratoria y la diarrea en niños preescolares de centros infantiles. *Biomédica*. 2014;34:79-91.
- 35)** Wadhwa N, Chandran A, Aneja S, Lodha R, Kabra SK, Chaturvedi MK, Sodhi J, Fitzwater SP, Chandra J, Rath B, Kainth US, Saini S, Black RE, Santosham M, Bhatnagar S. Efficacy of zinc given as an adjunct in the treatment of severe and very severe pneumonia in hospitalized children 2-24 mo of age: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2013 Jun;97(6):1387-94.
- 36)** Muñoz GM, Pérez MC, Bermejo VT. Advances in the knowledge of the use of micronutrients in artificial nutrition. *Nutr Hosp*. 2011 Jan-Feb;26(1):37-47.
- 37)** Health effects of outdoor air pollution. Committee of the Environmental and Occupational Health Assembly of the American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996 Jan;153(1):3-50.
- 38)** Health effects of outdoor air pollution: part 2 Committee of the environmental and occupational health assembly of the american thoracic society. *Am J Respir. Crit. Care Med*. 1996;153:477–498.
- 39)** Safai-Kutti S, Selin E, Larsson S, Jagenburg R, Denfors I, Sten G, Kjellmer I. Zinc therapy in children with cystic fibrosis. *Beitr Infusionsther*. 1991;27:104-14.
- 40)** Winklhofer-Roob BM, Tiran B, Tuchschnid PE, van't Hof MA, Shmerling DH. Effects of pancreatic enzyme preparations on erythrocyte glutathione peroxidase activities and plasma selenium concentrations in cystic fibrosis. *Free Radic Biol Med*. 1998 Jul 15;25(2):242-9.
- 41)** Oliveira G, Oliveira C. Nutrición, fibrosis quística y aparato digestivo. *Nutr Hosp*. 2008;23(2):71-86.

- 42)** Sarles J. Atteinte digestive (pancréatique et intestinale) de la mucoviscidose: approche physiopathologique. De la clinique à la thérapeutique. 2012;1:20-22.
- 43)** Vallvé C. Revisión crítica del ensayo clínico pragmático. Med Clin. 2003;121(10): 384-8.
- 44)** Wrobel JK, Power R, Toborek M. Biological activity of selenium: Revisited. IUBMB Life. 2016 Feb;68(2):97-105.
- 45)** Suverza, A. El ABCD de la evaluación del estado de nutrición. 1ra ed. México: McGraw-Hill; 2010. 332 p.
- 46)** Salinas MA, Mathiew QA, Hernández HR, González GE, Garza SM. Estimación de sobrepeso y obesidad en preescolares: Normatividad nacional e internacional. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2014;52(1):26-33.
- 47)** Stettler N, Kawchak DA, Boyle LL, Propert KJ, Scanlin TF, Stallings VA, Zemel BS. Prospective evaluation of growth, nutritional status, and body composition in children with cystic fibrosis. Am J Clin Nutr. 2000 Aug;72(2):407-13.
- 48)** Umlawska W, Susanne C. Growth and nutritional status in children and adolescents with cystic fibrosis. Ann Hum Biol. 2008 Mar-Apr;35(2):145-53.
- 49)** Sadowska-Bartosz I, Galiniak S, Bartosz G, Rachel M. Oxidative modification of proteins in pediatric cystic fibrosis with bacterial infections. Oxid Med Cell Longev. 2014 Apr; 2014:0-10.
- 50)** Lai HC, Corey M, FitzSimmons S, Kosorok MR, Farrell PM. Comparison of growth status of patients with cystic fibrosis between the United States and Canada. Am J Clin Nutr. 1999 Mar;69(3):531-8.
- 51)** Sharma G, Lodha R, Shastri S, Saini S, Kapil A, Singla M, Mukherjee A, Jat KR, Kabra M, Kabra SK. Zinc Supplementation for One Year Among Children with Cystic Fibrosis Does Not Decrease Pulmonary Infection. Respir Care. 2016 Jan;61(1):78-84.
- 52)** Sagel SD, Sontag MK, Anthony MM, Emmett P, Papas KA. Effect of an antioxidant-rich multivitamin supplement in cystic fibrosis. J Cyst Fibros. 2011 Jan;10(1):31-6.

53) Sadowska-Woda I, Rachel M, Pazdan J, Bieszczad-Bedrejczuk E, Pawliszak K. Nutritional supplement attenuates selected oxidative stress markers in pediatric patients with cystic fibrosis. *Nutr Res.* 2011 Jul;31(7):509-18.

54) Back EI, Frindt C, Nohr D, Frank J, Ziebach R, Stern M, Ranke M, Biesalski HK. Antioxidant deficiency in cystic fibrosis: when is the right time to take action? *Am J Clin Nutr.* 2004 Aug;80(2):374-84.

55) Oudshoorn JH, Klijn PH, Hofman Z, Voorbij HA, van der Ent CK, Berger R, Houwen RH. Dietary supplementation with multiple micronutrients: no beneficial effects in pediatric cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros.* 2007 Jan;6(1):35-40.

Abreviaturas

FQ: Fibrosis Quística

RTFQ: Proteína reguladora de la conductancia transmembrana

Zn: Zinc

Se: Selenio

IMC: Índice de masa corporal

T/E: Talla para la edad

P/T: Peso para la talla

P/E: Peso para la edad

MDA: Malondialdehído

ABTS: Acido tiobarbitúrico

GPx: Glutación Peroxidasa

SOD: Superóxido Dismutasa

CAT: Catalasa

GR: Glutación Reductasa

IP: Insuficiencia pancreática

EROS: Especies reactivas de oxígeno

MT: Metalotioeninas

NK: Células natural killer

TNF- α : Factor de necrosis tumoral α

Cys: Cisteínas

His: Histidinas

OH·: Radical hidroxilo

H₂O₂: Peróxido de hidrógeno

Fe: Hierro

Cu: Cobre

LH: Hormona luteinizante

FSH: Hormona estimulante de los folículos

T₃: Triyodotironina

FEV₁: Volumen Espirado Máximo en el primer Segundo (Forced Expiratory Volume in 1 second)

FVC: Capacidad Vital forzada (Forced Vital Capacity)

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ANEXO 1. Consentimiento informado del padre o tutor del menor

TITULO DEL PROTOCOLO:

Suplementación de Zn y Se como soporte metabólico antioxidante en el tratamiento de pacientes con FQ y su impacto sobre la función pulmonar

Se le invita a su hijo a participar en un estudio de investigación. Es necesario que usted decida si su hijo participará o no en el estudio. Lea cuidadosamente este formato y pregunte a la nutrióloga del estudio cualquier duda al respecto.

¿Para qué se efectúa este estudio?

Este estudio se realiza ya que en la actualidad no se cuenta con alguna investigación que nos permita definir los beneficios de la ministración de Zn y Se en pacientes con fibrosis quística sobre las exacerbaciones infecciosas y el estrés oxidante.

¿En qué consiste el estudio?

El estudio consiste en la ministración de Zn y Se, posteriormente se tomarán muestras de sangre para medir los niveles de Zn y Se; se realizarán también pruebas de función pulmonar en el departamento de neumología. Por último, de las mismas muestras se obtendrán niveles de estrés oxidante. Se llevarán a cabo tres muestras una al inicio del estudio, otra 3 meses después del tratamiento y la última 6 meses posterior al tratamiento.

¿Quiénes pueden participar en el estudio?

Todos los niños con edad entre 6-18 años que presenten como enfermedad de base fibrosis quística.

¿Quiénes no deben participar en el estudio?

Niños que no presenten como enfermedad de base fibrosis quística o que aún no estén diagnosticados.

¿Quién sufragará los gastos del estudio?

El Instituto Nacional de Pediatría sufragará los gastos relacionados con la suplementación de Zn y Se así como la medición de estos minerales y estrés oxidante. El costo de los estudios de laboratorio clínico, consulta y medicamentos relacionados al tratamiento regular del paciente, correrán por cuenta del mismo.

¿Qué efectos indeseables le pueden pasar a su hijo al participar en el estudio?

Los efectos secundarios son extremadamente raros sin embargo pueden presentar signos y síntomas como náusea, vómitos, diarrea, sabor metálico, irritabilidad y pérdida de energía. De llegarse a presentar se cuenta con médicos y enfermeras entrenados para resolver estas complicaciones.

¿Cuáles son los riesgos que puede presentar mi hijo durante el estudio?

La ministración de Zn y Se a las dosis que se le estarán dando a su hijo raramente presentan efectos adversos o representan riesgos serios, sin embargo, en caso de que se presenten puede manifestarse como diarrea, cólicos abdominales y vómitos, así como pérdida del cabello, problemas en las uñas, náuseas, irritabilidad, fatiga y daño nervioso leve, por eso cualquier signo o síntoma que detecte debe reportarlo inmediatamente para suspender el tratamiento. Puede existir alguna complicación al momento de tomar las muestras, pero el riesgo es el mismo que para realizar cualquier otro tipo de análisis de laboratorio de rutina.

¿Qué debo hacer en caso de que tenga (tenga mi hijo) alguna molestia?

Puede llamar a la LN. Mariana Román Casas al celular 492 79 583 99 o al departamento de nutrición con la NCP. Adriana Pinzón Navarro Tel. 10840900 ext 1732o con la Neumóloga responsable, la Dra. Adriana Alva Chaire. Tel. 10840900 ext 1324 y 1325 celular 5554589974

¿Qué beneficio mi hijo puede esperar?

Mejorar la recurrencia de infecciones respiratorias y disminuir el estrés oxidante. Se espera que la calidad de vida del niño mejore y pueda tener un buen desarrollo físico y mental.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas?

A la LN. Mariana Román Casas al celular 492 79 583 99 o al departamento de nutrición con la NCP. Adriana Pinzón Navarro Tel. 10840900 ext: 1732. Con la Neumóloga responsable, la Dra. Adriana Alva Chaire. Tel. 10840900 ext 1324 y 1325, celular 5554589974

¿Puedo negarme que mi hijo participe en este estudio?

Se puede negar a que su hijo participe y no existirá ningún problema, ya que se continuará con el tratamiento y seguimiento de la enfermedad de su hijo y las complicaciones que surjan de la enfermedad.

¿Quiénes van a tener la información de los datos de mi hijo?

Los datos no son compartidos en ningún momento y la información donde se encuentran los datos de su hijo solo es conocida por el investigador principal y los colaboradores.

¿Qué se va a hacer con las muestras biológicas?

Se congelaran y se guardaran en el laboratorio de nutrición experimental, para posteriormente analizarlas e interpretarlas.

¿Puedo conocer los resultados del estudio?

Una vez que se procesen las muestras usted podrá conocer el resultado del estudio.

Al firmar a continuación, acepto que:

- He leído este formato de consentimiento.
- He tenido la oportunidad de formular preguntas y éstas han sido contestadas.

- Entiendo que la participación de mi hijo(a) es voluntaria.
- Acepto que mi hijo(a) participe en el estudio.
- Puedo elegir que mi hijo(a) no participe en el estudio o que lo abandone en cualquier momento, comunicándolo a la nutrióloga del estudio.

Nombre del niño
(o del participante)

Fecha

Nombre y firma del Padre, Madre o Tutor

Fecha

NCP. Adriana Pinzón (Responsable del estudio)

La revisión del Consentimiento

Nombre y firma de Testigo

Fecha

Dirección

Relación que tiene con el voluntario

Nombre y firma de Testigo

Fecha

Dirección

Relación que tiene con el voluntario

Recibí copia de este consentimiento

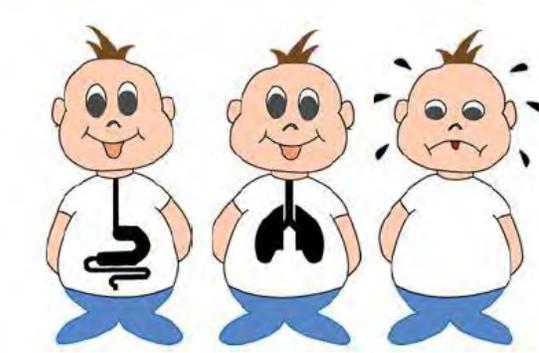
Nombre y firma

Fecha

ANEXO 2. Asentimiento informado del menor

TITULO DEL PROTOCOLO:

Suplementación de Zn y Se como soporte metabólico antioxidante en el tratamiento de pacientes con FQ y su impacto sobre la función pulmonar



Esta es una invitación para que participes voluntariamente en un estudio de investigación. Esto significa que si participas nos vas a ayudar a buscar cómo hacer para que niños que tienen la misma enfermedad que tú, puedan recibir un tratamiento

nuevo que los ayude a sentirse mejor. Tú mismo te sentirás mejor con el tratamiento nuevo que te vamos a dar.

Si decides participar debes de tomar diariamente 3 pastillas que son del tamaño de una luneta y que no tienen ningún costo extra para ti o tus padres. Estas pastillas no deben hacerte sentir algún malestar, sin embargo en algunas ocasiones pueden dejarte un sabor a metal en la boca, presentar un poco de dolor de pancita, un poco de ganas de volver el estómago; pero esto no significa que te estén haciendo daño, sino al contrario que con el paso del tiempo van a hacer que te sientas mejor. Un médico y la nutrióloga que te tratan estarán siempre disponibles por si llegaras a sentirte mal, o notes alguna cosa extraña que te pase. Deberás infórmalo a tu mamá o la persona que te cuida para que le llamen de inmediato y te digan qué hacer para sentirte mejor. Si este malestar continua igual, dejarás de tomar el tratamiento sin ningún problema.



Si aceptas estar en nuestro estudio, cuando asistas a tus consultas con los neumólogos y con la nutrióloga, te haremos preguntas relacionadas con tu enfermedad, te sacaremos sangre y haremos unas pruebas para ver cómo están tus pulmones, esto será 3 veces durante un año. En tu sangre se medirán algunas sustancias que nos van a decir si las pastillas nuevas que te damos te están ayudando a mejorar en tu enfermedad. También veremos si te están ayudando a crecer más y a que tengas menos problemas con tus pulmones. Recuerda, que estas preguntas tratan solo sobre tu enfermedad.

Puedes hacer preguntas de lo que desees las veces que quieras en cualquier momento del estudio, cuando vengas a consulta o cuando sientas algún malestar en tu casa. Si no estás en el hospital y quieres saber algo, pide a tu mamá o la persona que te cuida que llame por teléfono para que puedas hacer las preguntas que quieras. Además, si decides que no quieres terminar el estudio, es decir que no quieres seguir tomando las pastillas nuevas, o venir nuevamente a consulta, puedes parar cuando quieras. Nadie puede enojarse o enfadarse contigo si decides que no quieres continuar en el estudio.



Si firmas este papel quiere decir que lo leíste, o alguien te lo leyó y que quieres estar en el estudio. Si no quieres estar en el estudio, no lo firmes. Recuerda que solo tú decides estar en el estudio y nadie se puede enojar contigo si no firmas el papel o si cambias de idea y después de empezar el estudio, te quieres retirar. Aunque digas que no deseas participar, seguirás viniendo a consulta normalmente con tu médico y tomarás las medicinas y los alimentos que siempre te han recomendado. Agradecemos tu participación.

Fecha _____

Firma o nombre del participante del estudio

Fecha _____

Firma del investigador

Contactos para dudas, preguntas o reporte de incidencias: LN. Mariana Román Casas al celular 492 79 583 99 o al departamento de nutrición con NCP. Adriana Pinzón Navarro Tel. 10840900 ext.1732 Con la Neumóloga responsable, la Dra. Adriana Alva Chaire. Tel. 10840900 ext: 1324 y 1321, celular 5554589974