



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

TÍTULO DEL TEMA

Evaluación de la concentración de zinc en cabello,
estado nutricional y producción de CXCL16 humana

Tesis

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

Omar Martínez Velasco

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Ana Esther Aguilar Cárdenas



Ciudad universitaria, Cd. Mx., 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** Homero Hernández Montes
VOCAL: **Profesora:** Ana Esther Aguilar Cárdenas
SECRETARIO: **Profesora:** María de Lourdes Gómez Ríos
1er. SUPLENTE: **Profesor:** Mario Adán Moreno Eutimio
2º SUPLENTE: **Profesor:** Julio Cesar Martinez Álvarez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Investigación en Inmunología, Facultad de Química. UNAM.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Ana Esther Aguilar Cárdenas

SUSTENTANTE:

Omar Martínez Velasco

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. El zinc.....	4
2.2 El zinc y su importancia en la nutrición	5
2.2.1 La importancia de los elementos traza	5
2.2.2 Fuentes de zinc.....	5
2.2.3 Ingesta diaria recomendada de zinc.....	6
2.2.4 Deficiencia en la ingesta de zinc.....	6
2.2.5 Evaluación del estado nutricional	7
3 LAS QUIMIOCINAS.....	8
3.1 Quimiocina CXCL16	9
3.1.1 Células y tejidos que expresan CXCL16	11
3.1.2 Proteínas ADAM	13
3.1.4.1 Estructura de ADAM 17 (CONVERTASA de TNF- α).....	14
4. TRABAJOS PREVIOS AL PRESENTE PROTOCOLO	15
5. JUSTIFICACIÓN	16
6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	16
6.1 Objetivo general.....	16
6.2 Objetivos particulares.....	17
6.3 Hipótesis	17
7. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
8. MATERIAL Y MÉTODOS.....	18
8.1 Evaluación del consumo de zinc en la dieta diaria	18
8.2 Determinación de la concentración de zinc en muestras de cabello.....	20
8.3 Determinación de la concentración de CXCL16 en suero	21
Estándar/Muestra:.....	21
9 RESULTADOS	23
DISCUSIÓN.....	29
Anexo 1 Reactivos	33
BIBLIOGRAFÍA	35

1. INTRODUCCIÓN

La insuficiencia en el consumo de zinc sumado a la baja biodisponibilidad del elemento en algunos alimentos, hace necesario realizar estudios sobre la ingesta de zinc en la dieta diaria, como una forma de aportar la cantidad necesaria para alcanzar los valores de ingesta diaria recomendada (IDR) y así evitar la aparición de efectos adversos en la salud, por ejemplo, en el sistema inmune la disminución en los niveles de zinc provoca una baja en la respuesta tanto innata como adaptativa.

Este trabajo comprende la determinación de la cantidad de zinc consumida en la dieta diaria, la concentración de zinc en cabello y su relación con el sistema inmune, en específico con la producción de la quimiocina CXCL16. Este estudio se llevó a cabo en una muestra aleatoria de estudiantes de la Facultad de Química UNAM, cada uno de los voluntarios completaron “cuestionarios recordatorios de 24 horas” para conocer y evaluar la ingesta diaria de zinc. La concentración de zinc en cabello se determinó mediante espectrometría de absorción atómica en flama, tomando una muestra de cabello de la región occipito-nuca de la cabeza y finalmente para la determinación de la quimiocina se realizó un micro ensayo inmunoenzimático.

La quimiocina CXCL16 tienen un papel muy importante en la respuesta inmune la cual se ve afectada por un consumo insuficiente de zinc, la CXCL16 unido a la membrana es una molécula de adhesión para CXCR6, además CXCL16 promueve la adhesión y la fagocitosis de bacterias por las células dendríticas. La escisión de CXCL16 unido a membrana se lleva a cabo por metaloproteinasas (ADAM 10, ADAM17) con un dominio dependiente de zinc, el ectodominio de esta escisión (CXCL16 soluble) funciona como una molécula quimioatrayente para células que expresan CXCR6, incluyendo las células T CD8+, las células T CD4+, las células NK, las células plasmáticas y los monocitos. Los efectos adversos causados por la deficiencia de zinc pueden ser corregidos mediante la suplementación adecuada con este micronutriente.

En el Laboratorio de Investigación en Inmunología se han realizado una variedad de trabajos utilizando modelos murinos, con los cuales se estableció la importancia de la suplementación con zinc y la respuesta inmune. El presente trabajo es parteaguas en el Laboratorio para establecer la relación que existe entre la ingesta de zinc y la producción de CXCL16 en una población humana.

2. MARCO TEÓRICO

El zinc es un micronutriente esencial con diversas funciones biológicas, que influye en una amplia gama de procesos fisiológicos. Muchas proteínas requieren de zinc ya sea para su actividad o estabilidad estructural, el zinc ha sido identificado como cofactor catalítico para más de 300 metaloenzimas.¹⁵

Varios factores de transcripción y hormonas se unen al zinc con el fin de formar estructuras estables, la importancia del zinc en la mayoría de los procesos biológicos se atribuye a su participación en eventos celulares básicos, tales como: la división celular, la proliferación, la diferenciación, la síntesis de ácidos nucleicos y la expresión génica.¹² La actividad catalítica de las polimerasas en la replicación del ADN y la transcripción son dependiente de zinc.^{13,14} Por otra parte, el retraso del crecimiento físico y anomalías congénitas como hipogonadismo son los principales síntomas de la deficiencia de zinc.¹⁵

El zinc tiene un papel esencial en el sistema inmunológico, tanto en la respuesta innata como en la adaptativa; debido a su importancia en el crecimiento, en el desarrollo y en la activación de las células inmunes, como los macrófagos, las células NK, los linfocitos T y los linfocitos B. El sistema inmunológico es sensible a la deficiencia de zinc, los niveles bajos de zinc pueden dar lugar a alteraciones en la respuesta inmune mediada por células. Además, regula la expresión de las citocinas tales como IL-1, IL-2, IL-4, el IFN- γ y se ha observado la disminución en la activación del TNF- α en casos de deficiencia de zinc.^{17,18} Estos efectos pueden afectar negativamente a los linfocitos T y a los linfocitos B, ya que sus actividades también se ven influidas por estas citocinas.¹⁴

A pesar de estas importantes funciones, la ingesta excesiva de zinc se asocia con consecuencias para la salud, tales como calambres abdominales y diarrea severa.²⁰ Sin embargo, teniendo en cuenta el papel fundamental de zinc en la salud una ingesta de zinc adecuada y la absorción, son cruciales para asegurar la homeostasis.

En el humano existen de 2 a 3 gramos de zinc, las concentraciones más elevadas se encuentran en el hígado, el páncreas, los riñones, los huesos y el músculo. Hay otros tejidos con concentraciones altas, entre ellos diversas partes del ojo, la próstata, la piel, el esperma, el pelo, y las uñas.³

2.1. El zinc

El zinc se caracteriza por ser un elemento ampliamente distribuido en la naturaleza. Sin embargo, no es abundante, ya que representa el 0.012% de la corteza terrestre, en los suelos su concentración media es de 50 mg/Kg.

Es uno de los elementos esenciales más abundantes en el cuerpo humano y al ser un ion intracelular se encuentra en su mayoría en el citosol. Como se mencionó, la cantidad en un adulto oscila entre 2-3 gramos, siendo el segundo oligoelemento con relación a la cantidad total en el organismo, siendo superado tan sólo por el hierro. Las concentraciones más elevadas se encuentran en el hígado, el páncreas, los riñones, los huesos y los músculos voluntarios. Hay otros tejidos con concentraciones altas entre ellos diversas partes del ojo, la próstata, la piel, el pelo y las uñas.³⁻⁴

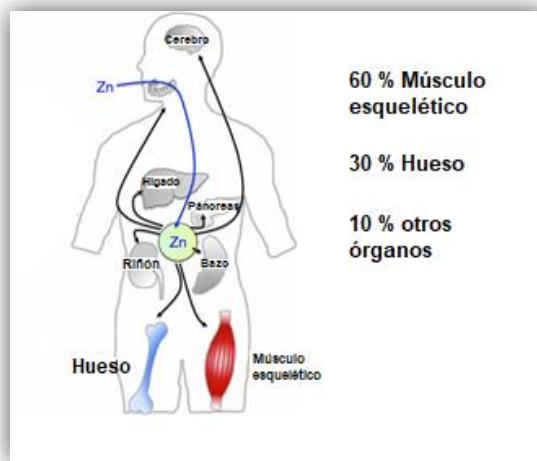


Figura 1. Almacenamiento de zinc y distribución corporal. Los huesos y músculos esqueléticos actúan como reservorios principales de zinc.⁴ Tomado y modificado de Hara T, Takeda T, Takagishi T, et al.2017.

Tanto el zinc, como el cobre y el selenio intervienen en procesos bioquímicos necesarios para el desarrollo de la vida. Entre estos cabe destacar la respiración celular, la replicación tanto del ADN como de ARN, en el mantenimiento de la integridad de la membrana celular y la eliminación de radicales libres, que se hace a través de una cascada de sistemas enzimáticos.³

En la década de los 60s se informa que el zinc juega un papel indispensable en diversos eventos celulares tales como la proliferación celular y la diferenciación.⁵⁷

Actúa como cofactor y como integrante de al menos 200 enzimas, como aldolasas, deshidrogenasas, esterasas, peptidasas, fosfatasa alcalina, anhidrasa carbónica,

superóxido-dismutasa, ADN y ARN polimerasas. Implicadas en el metabolismo energético y de los hidratos de carbono, en las reacciones de biosíntesis y degradación de proteínas, en procesos biosintéticos de ácidos nucleicos, compuestos hemo y en el transporte de CO₂.³¹

2.2 El zinc y su importancia en la nutrición

2.2.1 La importancia de los elementos traza

Son elementos inorgánicos necesarios en pequeñas cantidades por el organismo, se ha demostrado que hay elementos inorgánicos indispensables tales como: zinc, cobre, cromo, selenio, yodo, magnesio, molibdeno, y flúor. Estos se absorben como sustancias inorgánicas y posteriormente circulan en el organismo como complejos unidos a proteínas, los cuales no siempre están en equilibrio libre con los depósitos, por esta razón las concentraciones circulantes no representan la biodisponibilidad para cubrir los requerimientos, debido a que los depósitos tisulares no están disponibles en situaciones de abastecimiento deficiente ya que se incorporan a enzimas y no se intercambian libremente. Otra característica importante de la mayoría de estos micronutrientes es su eliminación por el tracto gastrointestinal, en consecuencia cualquier incremento en las pérdidas digestivas puede aumentar los requerimientos.

2.2.2 Fuentes de zinc

El zinc está extensamente distribuido en los alimentos, pero tal como ocurre con otros elementos, los contenidos son variables y en general bajos, los productos de origen marino, principalmente los mariscos (ostras y crustáceos) son los alimentos más ricos en Zn seguidos de las carnes rojas, los derivados lácteos, los huevos y los cereales integrales. Los vegetales, con excepción de las leguminosas, no son alimentos que presenten contenidos altos de zinc. Por todo ello las verduras, hortalizas, frutas, son fuentes pobres en zinc^{10,37}.

En los alimentos, el zinc se halla asociado particularmente a proteínas y ácidos nucleicos, lo que va a condicionar en cierta medida su biodisponibilidad¹². En el caso del zinc el contenido en los alimentos vegetales, es de menor biodisponibilidad debido a la presencia de ácido fítico que forma complejos insolubles poco absorbibles. Debemos destacar también que el procesamiento de alimentos es una de las principales causas de la pérdida de zinc, el ejemplo más representativo de este efecto lo constituyen los cereales, que su contenido se ve reducido de un 20 a un 80% cuando son refinados⁴⁶, motivo por el que se debe tener una especial consideración con las personas vegetarianas, ya que los cereales son la principal fuente de zinc en la dieta. Si a la pérdida del 20-80% del contenido de zinc durante el

refinado unimos que la biodisponibilidad del zinc en este tipo de dietas está disminuida y si el contenido de fitato es alto, se concluye que la absorción y por tanto el estatus de zinc en personas que siguen dietas vegetarianas es menor³⁸.

En México la mayor fuente dietética de zinc la constituye el consumo de alimentos de origen animal con un 56% de la ingesta, en particular la carne y sus derivados con un 30%, la leche y los lácteos con algo más del 17%, los cereales con un 13% y las legumbres con un 8%.³

2.2.3 Ingesta diaria recomendada de zinc

La Ingesta Diaria Recomendada o IDR se define como los niveles de ingesta de nutrientes considerados esenciales según el criterio de los comités nacionales e internacionales que los establecen con base a cocimientos científicos y que cubren las necesidades conocidas de prácticamente todas las personas sanas. Los valores de IDR se fijan en función de la edad, sexo, situación fisiológica (embarazo, lactancia, etc.) y normalmente son superiores a los reales³. Los requerimientos de zinc se establecen mediante estudios de balance o midiendo las pérdidas de zinc endógeno, teniendo en cuenta que la absorción no es completa. Las IDR de zinc varían por grupo de edad: 3 mg por día en niños de 6 a 11 meses; 5mg en niños de 1 a 9 años y de 8 a 11 mg en personas de 10 años en adelante⁴.

Sin embargo, como ya se señaló hay varios factores que pueden aumentar o disminuir la biodisponibilidad del zinc ingerido, como el ácido fítico, la fibra, el calcio, ligandos orgánicos, etc. Asimismo, el consumo paralelo de suplementos o alimentos enriquecidos con calcio, cobre o hierro pueden dificultar la absorción del elemento¹².

2.2.4 Deficiencia en la ingesta de zinc

La necesidad de mejorar la ingesta de zinc en la dieta se remonta a 1960, cuando se observaron los efectos adversos de la deficiencia de zinc en el crecimiento humano.^{15,22} Los factores de riesgo para deficiencia de zinc incluyen: ingesta inadecuada de zinc, mala absorción de zinc, y pérdida de zinc excesiva en condiciones de enfermedades. Sin embargo, la ingesta de zinc inadecuada y la mala absorción se consideran los factores predominantes que conducen a la deficiencia de zinc.²⁶

Se cree que las poblaciones de bajos ingresos de países en desarrollo son los más vulnerables a la deficiencia de zinc en la dieta debido a su incapacidad para producir alimentos (como la carne y el pescado) que contienen zinc.²⁰

Por otra parte las preferencias por consumir alimentos exclusivamente de origen vegetal pueden ser otro factor de riesgo para la deficiencia de zinc¹⁵, por todo lo anterior la fortificación de alimentos o uso de suplementos ha sido implementada para combatir la deficiencia de zinc en la dieta.

La suplementación en algunos casos mejora los trastornos derivados de la deficiencia de zinc, muchos estudios de intervención han atribuido su ineficacia a la pobre solubilidad de las sales de zinc, tales como óxido de zinc, lo que conduce a una mala absorción.²² En segundo lugar, las sales de zinc pueden alterar las propiedades sensoriales y físicas de los alimentos, los cuales pueden afectar a la aceptabilidad en el consumidor.⁴

2.2.5 Evaluación del estado nutricional

Existen manuales de apoyo para poder obtener el tipo y cantidad de alimentos que una persona consume, uno de los instrumentos más utilizados para obtener dicha información es el recordatorio de 24 horas, un instrumento cuantitativo que representa una excelente alternativa para evaluar el consumo de alimentos y bebidas en cada persona entrevistada en las últimas 24 horas, con este instrumento se puede conocer las preparaciones consumidas, así como cada uno de los nutrientes que las componen.

En este cuestionario se recolectan datos del consumo del día anterior de la persona entrevistada, el cuestionario consta de renglones y columnas. En los renglones se anota cada uno de los alimentos y/o preparaciones consumidas por la persona en las últimas 24 horas. En las columnas se registran las características y cantidades de los alimentos, así como de las preparaciones consumidas. Esta información es necesaria para valorar adecuadamente el consumo calórico y de nutrientes de la persona entrevistada.⁴

Nombre del alimento o preparación	Número de alimento o preparación		Alimentos usados		Receta					
			Código de oficina	Ingrediente tipo; color	PREPARADO (medidas caseras)	Conversión g o ml	G o ml			
Mango	0	1		Criollo	1 pieza	80 g x 1	0	0	8	0
Leche	0	2		Pasterizada	1 taza	240 ml x 1	0	2	4	0
Papaya	0	3		Amarilla	1 rebanada	130 g	0	1	3	0

Figura 2. Ejemplo del cuestionario recordatorio de 24 horas. Manual de Procedimientos para Proyectos de Nutrición, Secretaría de Salud 2006.

2.2.6 El zinc y el sistema inmunológico

El zinc juega un papel central en el sistema inmunológico, las personas deficientes en zinc experimentan una mayor susceptibilidad a padecer infecciones por una variedad de patógenos. Los mecanismos inmunológicos mediante los cuales el zinc modula una mayor susceptibilidad a la infección se han estudiado durante varias décadas.

Está claro que el zinc afecta múltiples aspectos del sistema inmune, desde la barrera de la piel, hasta la regulación génica de los linfocitos. El zinc es crucial para el desarrollo normal y la función de las células que median la inmunidad inespecífica, como los neutrófilos y las células NK. La deficiencia de zinc también afecta el desarrollo de la inmunidad adaptativa tanto en el crecimiento como ciertas funciones de los linfocitos T

Del mismo modo, el desarrollo de los linfocitos B y la producción de anticuerpos, particularmente la inmunoglobulina G, están comprometidos. El macrófago, una célula fundamental en muchas funciones inmunológicas, se ve afectado negativamente por la deficiencia de zinc, que puede desregular la capacidad microbicida del macrófago, la producción de citocinas y la fagocitosis. Los efectos del zinc en estos mediadores inmunológicos clave están arraigados en las funciones celulares básicas, como la replicación del ADN, la transcripción del ARN, la división celular y la activación celular⁵⁷.

3 LAS QUIMIOCINAS

Las citocinas son proteínas secretadas por las células de la inmunidad innata y adaptativa, las cuales median muchas de sus funciones, éstas se producen en respuesta a los microorganismos y a otros antígenos, estimulan diferentes respuestas en las células que participan en la inmunidad y la inflamación. Hay citocinas que regulan la inmunidad innata y otras a la inmunidad adaptativa, dentro de la primera categoría tenemos a las quimiocinas.⁵¹

Las quimiocinas son citocinas quimiotácticas de bajo peso molecular que permiten la migración celular, atrayendo a células que expresan sus receptores, estructuralmente homólogas que estimulan el movimiento leucocitario y regulan la migración de los leucocitos de la sangre hacia los tejidos.

Existen alrededor de 50 quimiocinas humanas, las cuales son polipéptidos de entre 8 y 12-kD que contienen en su estructura dos puentes disulfuro, las quimiocinas son clasificadas en cuatro familias de acuerdo al número y la ubicación de residuos N-terminales de cisteína. Las dos familias principales son la CC quimiocinas (también llamada β), en la cual los residuos de cisteína están adyacentes, y la familia CXC (α), en la cual estos residuos están separados por un aminoácido. Estas diferencias se correlacionan con la organización de las subfamilias en grupos de genes separados. Un número reducido de quimiocinas presentan una sola cisteína (familia C) o dos cisteínas separadas por tres aminoácidos (CX_3C).

Las quimiocinas fueron originalmente nombradas de acuerdo como fueron identificadas. Recientemente se utiliza una nomenclatura estándar definida de acuerdo al tipo de receptores en el que se unen, aunque hay excepciones, la mayoría de las quimiocinas CC y sus receptores median el reclutamiento de neutrófilos y linfocitos, mientras que la mayoría de las quimiocinas CXC reclutan monocitos y linfocitos. Las quimiocinas de las subfamilias CC y CXC son producidas por leucocitos y por diversos tipos de células tisulares como endoteliales, epiteliales y fibroblastos. En muchas de estas células la secreción de quimiocinas es inducida por el reconocimiento de microorganismos a través de varios receptores celulares del sistema inmunológico, además de esto las quimiocinas inflamatorias principalmente TNF e IL-1 inducen a la producción de quimiocinas. Muchas quimiocinas CC, son también producidas por células T estimuladas por antígenos, estableciendo un puente entre la inmunidad adaptativa y el reclutamiento de leucocitos inflamatorios.⁵¹

3.1 Quimiocina CXCL16

En los seres humanos el gen CXCL16 se encuentra en el cromosoma 17p13, en un locus separado de todas las otras quimiocinas. CXCL16 fue descrito originalmente como un receptor “scavenger” para fosfatidilserina y la lipoproteína de baja densidad oxidada (LDL) y se le denominó SR-PSOX, tiempo después se le identificó como un ligando para el receptor de quimiocinas CXCR6.

La CXCL16 es una de dos quimiocinas ancladas a membrana conocidas la otra quimiocina es CX3CL1. La forma de CXCL16 humana en la membrana es una molécula de 254 aminoácidos con un peso de 30 kDa, es una glicoproteína transmembranal tipo 1 constituida por un dominio extracelular N-terminal de quimiocina, un tallo glicosilado tipo mucina, la región transmembranal y un dominio citoplasmático (ver Figura 3).⁵⁵

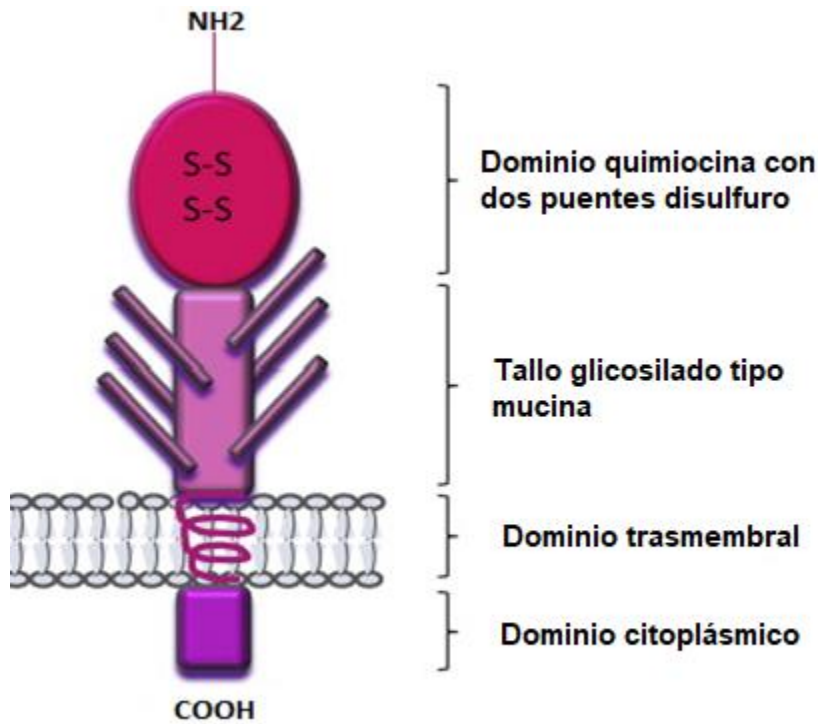


Figura 3. Estructura CXCL16. Tomada y modificada de Izquierdo MC, *et al.* CXCL16 in kidney and cardiovascular injury. Cytokine Growth Factor Rev, 2014

CXCL16 es una molécula inusual porque contienen seis cisteínas en el dominio de quimiocina, una propiedad observada anteriormente solo en una subfamilia de quimiocinas CC. Esta quimiocina se sintetiza como un precursor intracelular probablemente por glicosilación y rápidamente es transportado a la superficie de la membrana, la liberación ectodominio esta mediada por la actividad α -secretasa de ADAM 10 y ADAM 17 (a disintegrins and metalloproteinases).⁵⁵

La molécula ADAM 10 está implicada en la escisión de CXCL16, mientras que ADAM 17 sólo en la liberación de CXCL16. ADAM 10 genera por escisión fragmentos CXCL16 C-terminales que se separan adicionalmente por el complejo γ -secretasa, esta división podría genera mediadores de señalización intracelular (ver Figura 4).

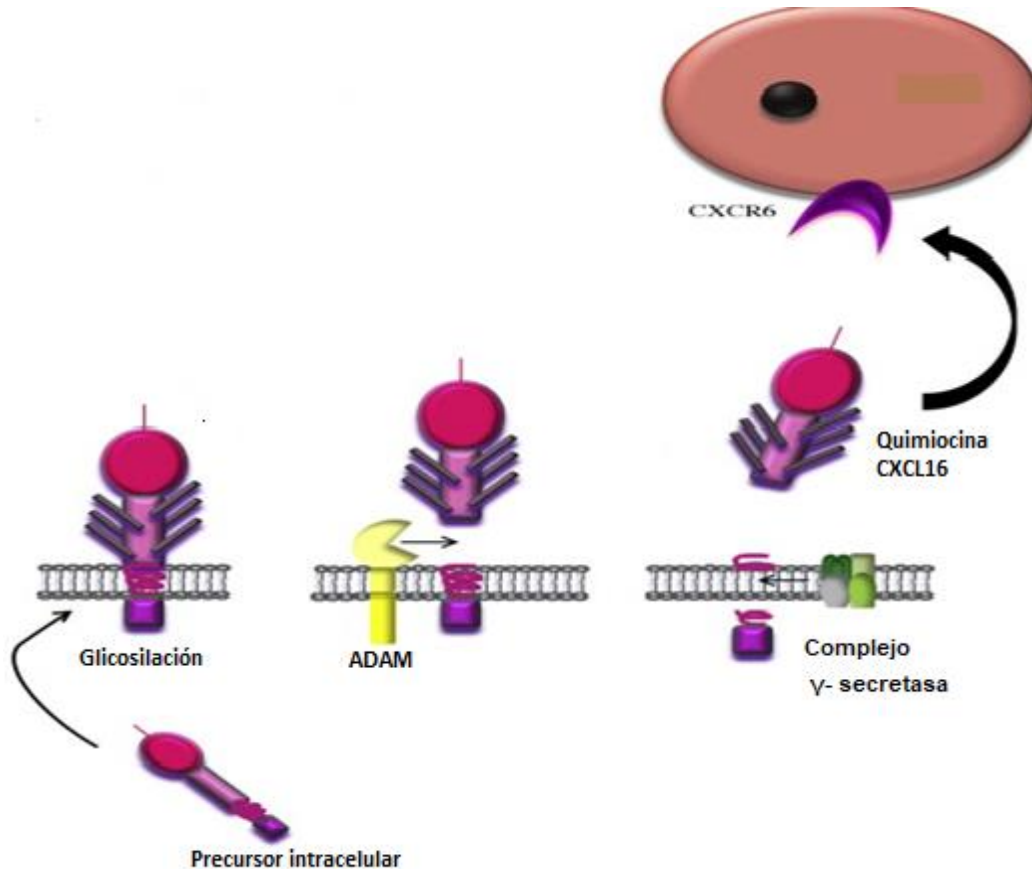


Figura 4. Expresión de CXCL16 en la membrana, separación del ectodominio por ADAM 10, escinde γ -secretasa el fragmento C-terminal, liberando así CXCL16 soluble. Tomado y modificado de Izquierdo MC et al. CXCL16 in kidney and cardiovascular injury. Cytokine Growth Factor Rev, 25, 2014.

3.1.1 Células y tejidos que expresan CXCL16

Diversos tipos de células expresan CXCL16 incluyendo a los macrófagos, linfocitos B y linfocitos T, las células dendríticas, las células epiteliales, los hepatocitos, los fibroblastos, los cardiomiocitos, las plaquetas, las células de músculo liso vascular y las células endoteliales⁵³

La quimiocina CXCL16 puede funcionar en las interacciones entre las células dendríticas y las células T CD8+ y como guía de los movimientos de células T en la pulpa esplénica roja. También se encontró CXCL16 en la médula tímica y en algunos tejidos no linfoides, lo que indica su participación en el desarrollo de timocitos y el tráfico de células T efectoras.⁵²

Funciones de las isoformas de CXCL16

Forma	Función	Tipo de célula
Membrana	molécula de adhesión	Monocitos expresando el CXCR6, células dendríticas derivadas de monocitos y células T, adherencia a las células endoteliales, macrófagos y DCs de unión y fagocitosis de las bacterias
	inhibidor de la proliferación	Células cancerígenas
	Receptor: une fosfatidilserina	La adhesión de los eritrocitos a las células endoteliales
	Receptor: captación de LDL oxidada	Los macrófagos, podocitos, VSMC
Soluble	Quimiocina / migración / quimiotaxis	Las células inmunes, células cancerosas, HUVEC, VSMC, de células epiteliales renales, células madre mesenquimales
	Proliferación	Fibroblastos de miocardio, HASMC, HUVEC, VSMC, célula mesangial
	la transcripción de genes proinflamatorios	HASMC, las células epiteliales tubulares renales
	actividad de las metaloproteinasas de matriz	VSMC y cardiomiocitos, fibroblastos de miocardio
	Deterioro de la síntesis de colágeno	Fibroblastos infarto
	Aumento de la adhesión célula-célula	HASMC
	Formación reticular endotelial	HUVEC

Figura 5. Función de las isoformas de CXCL16 ancladas a membrana y de forma soluble. DC, células dendríticas; VSMC, células del músculo liso vascular; HUVEC, célula endoteliales de vena umbilical humana; HASMC, células de músculo liso aórtico humano.

La forma unida a la membrana puede funcionar como un receptor, como una proteína de adhesión o como un ligando que activa el receptor CXCR6

La proteína CXCL16 es el principal receptor mediador de la captación de la LDL oxidada en los podocitos humanos, mientras que en las células tubulares CD36+ es la principal molécula que lleva a cabo esta función. La sobreexpresión de la proteína CXCL16 dependiente de IFN gamma conduce a un incremento en la absorción de las LDL oxidada por macrófagos y pueden participar en la formación de “foam cells” .⁵⁵

La forma CXCL16 unido a membrana, es también una molécula de adhesión para CXCR6, promoviendo la unión y adhesión de monocitos y células T a las endoteliales, y la adhesión de células T y las células NK a las células dendríticas, además CXCL16 promueve la adhesión y fagocitosis de bacterias por las células dendríticas.

Por su parte CXCL16 soluble funciona como una molécula quimioatrayente para células que expresan CXCR6, incluyendo células T CD8+, T CD4+, células NK, células plasmáticas y monocitos. Lo cual facilita la migración de células inmunes a los órganos linfoides secundarios y a los sitios de inflamación, además CXCL16 soluble activa una variedad de respuestas en diferentes células. En cardiomiocitos y fibroblastos de miocardio CXCL16 promueve la actividad de metaloproteasa de la matriz extracelular, en fibroblastos de miocardio favorece la proliferación y la síntesis de colágeno.

3.1.2 Proteínas ADAM

Las moléculas ADAM (a disintegrin and metalloprotease) son una familia localizada en la superficie de las células, estas moléculas están constituidas por un dominio de desintegrina y un dominio de metaloproteasa lo que hace que tengan características de moléculas de adhesión y de proteasas. Se conocen 23 miembros de la familia, las primeras ADAM que se descubrieron estaban implicadas en funciones de reproducción, fundamentalmente espermatogénesis y unión del espermatozoide al óvulo (ADAM 1 y ADAM 2). Desde el año 1999 a las ADAM 9, 10 y 17 se les han implicado en la liberación y/o activación de proteínas de la superficie celular ⁵⁶

La mayoría de las ADAMs tienen: 1) un pro-dominio, 2) una región metaloproteasa, 3) una región desintegrina, 4) una región rica en cisteína, 5) repeticiones del factor de crecimiento epidérmico (EGF), 6) una región transmembrana y 7) una región citoplasmática

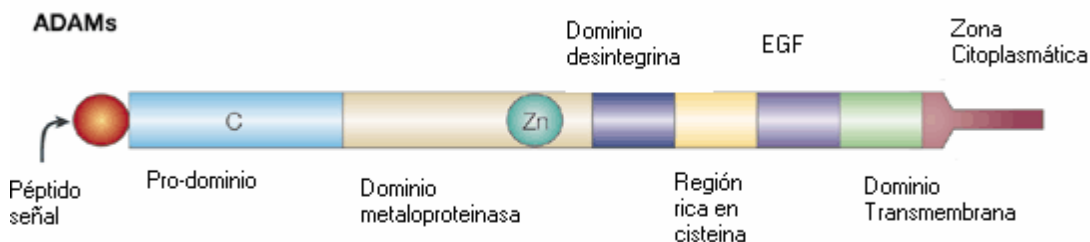


Figura 6. Estructura de las ADAMs. Con un sitio de unión al zinc en la región catalítica

Aquellas ADAMs que tienen actividad proteasa son: ADAM 1, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 16, 17, 19, y 20. Esta actividad puede ser inhibida por quelantes de zinc como: o-fenantrolina, EDTA y derivados del ácido hidroxámico

3.1.4.1 Estructura de ADAM 17 (CONVERTASA de TNF- α)

Esta enzima es la encargada de liberar el TNF- α que se encuentra unido a la membrana mediante un proceso llamado “shedding”. La estructura de TACE (TNF alfa Converting Enzyme) es, por tanto, la típica estructura de ADAM con los siguientes dominios:⁵⁶

- 1) péptido señal del residuo de aminoácido 1 al 17
- 2) dominio pro-peptídico, que se perderá para dar lugar a la TACE activa, del residuo de aminoácido 18 al 216
- 3) lugar de unión a cisteína, del residuo de aminoácido 181 al 188
- 4) región catalítica, del residuo de aminoácido 217 al 474
- 5) sitio de unión al zinc dentro de la región catalítica, del residuo de aminoácido 405 al 417
- 6) región desintegrina rica en cisteína, del residuo de aminoácido 480 al 559.
- 7) dominio EGF del 571 al 602
- 8) dominio transmembrana del 672 al 694
- 9) dominio citoplasmático del 694 al 824. Su función se desconoce, pero parece que es importante en funciones de señalización y de localización subcelular del enzima.

La proteína ADAM 17 se sintetiza como precursor en forma inactiva. Este precursor tiene en el prodominio un residuo de cisteína que se coordina con el Zn⁺² del sitio activo; así, para que el zinc sea activo es necesario que el prodominio sea eliminado de la enzima dejando el Zn⁺² catalítico libre.

La cantidad de esta quimiocina en suero que se ha reportado es de 3.26 ng /mL con un rango de 2.58 – 4.08 ng /mL.⁴²

4. TRABAJOS PREVIOS AL PRESENTE PROTOCOLO

Con el propósito de profundizar en los efectos del zinc sobre la histología tímica, se analizó la corteza y la medula del timo de ratones BALB/C de 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 días de edad y suplementados con zinc desde el día de cruce de sus progenitores. Los grupos testigos correspondientes no recibieron la suplementación.

Los resultados de este estudio mostraron que la suplementación con zinc no produjo cambios significativos en el tamaño de la médula ni de la corteza, sin embargo se observó una ligera disminución en ambas zonas con la edad, finalmente se encontró un aumento en el número de corpúsculos de Hassall en los ratones suplementados en edades tempranas en comparación con testigos.⁴³

Otro estudio realizado en el Laboratorio de Inmunología fue el efecto del zinc en la respuesta Th1, un estudio molecular del interferón gamma. En el estudio se determinaron los efectos que tiene el zinc sobre la expresión genética del IFN- γ en las etapas perinatales de ratones BALB/c.

Se evaluaron los efectos del zinc sobre la expresión del IFN- γ en linfocitos esplénicos murinos estimulados con Forbol-12-Miristato-13-Acetato y con Ionomicina de calcio mediante RT-PCR, se determinó la concentración intracelular de zinc en los linfocitos murinos por Absorción Atómica y se relacionó con la expresión génica del IFN- γ .

Los resultados mostraron que la concentración intracelular de zinc en los linfocitos debida a la suplementación se correlaciona positivamente con la expresión del IFN- γ , observando un mayor efecto a las 9 semanas de tratamiento en modelos murinos.⁴⁴

En el 2013 los trabajos del Laboratorio se enfocaron en evaluar los efectos de la suplementación con zinc sobre la producción de IL-17 en las etapas perinatales de ratones BALB/c.

Para poder estudiar el efecto de la suplementación con zinc en la producción de IL-17, se suministró en el agua acetato de zinc a los animales, en una concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, dicho suministro se realizó desde el día de la cruce de los progenitores, hasta la generación F1 se dividen en grupos de acuerdo con la suplementación recibida y la edad, Zn 0, Zn500 y 21, 42 días de edad.

Como resultado se obtuvo que la producción de IL-17 se ve notoriamente disminuida en animales suplementados con zinc durante 9 semanas, la suplementación en ratones por un periodo de 6 semanas, causó un decremento en la producción de IL-17.⁴⁵

Un estudio realizado en el 2013 fue el de efectos del exceso de zinc *in vitro* sobre la producción de interleucina 17. En este protocolo se determinó el efecto de altas concentraciones de zinc sobre la diferenciación de las poblaciones de linfocitos Th murinos, estandarizando las condiciones experimentales de citometría de flujo adecuadas para lograr la identificación de laIL-17 intracelular en esplenocitos de ratones BALB/c AnN como indicador de la población de linfocitos Th 17 ante concentraciones en exceso de $ZnCl_2$ *in vitro*.⁴⁶

5. JUSTIFICACIÓN

La deficiencia en el consumo de zinc sumado a la baja biodisponibilidad del elemento en algunos alimentos, hace necesario realizar estudios sobre la ingesta de zinc en la dieta diaria, como una forma de aportar la cantidad necesaria para alcanzar los valores de ingesta diaria recomendada y así evitar la aparición de efectos adversos.

Como se ha demostrado en el Laboratorio de Investigación en Inmunología, Facultad de Química UNAM, la disminución en los niveles de zinc provoca una baja en la respuesta inmunológica tanto innata como adaptativa, en general los efectos adversos causados por la deficiencia de zinc pueden ser corregidos mediante la suplementación adecuada.

Este trabajo busca conocer la cantidad de zinc consumida en la dieta diaria, la concentración de zinc en cabello como parámetro del zinc absorbido y su relación con el sistema inmunológico, en específico con la producción de la quimiocina CXCL16 humana para establecer su relación.

6. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

6.1 Objetivo general

- Establecer la relación entre el estado nutricional de la población en estudio con respecto al zinc y la respuesta inmunológica en estudiantes de la Facultad de Química UNAM de alrededor de 22 años, mediante la evaluación de la ingesta de zinc, concentraciones de zinc en el cabello y la producción de la quimiocina CXCL16.

6.2 Objetivos particulares

- Conocer mediante absorción atómica las concentraciones de zinc presente en muestras de cabello
- Implementar un cuestionario para conocer el estado nutricional de zinc en la población estudiantil en estudio
- Cuantificar mediante ensayos inmunoenzimáticos las concentraciones de CXCL16 presentes en suero
- Establecer la influencia del zinc en la producción de moléculas principales en la respuesta inmunitaria innata

6.3 Hipótesis

El consumo adecuado de zinc en la dieta diaria mostrará una mejor respuesta inmunológica, en especial en la producción de la quimiocina 16.

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Este estudio se llevó a cabo sobre una muestra aleatoria de estudiantes voluntarios (n=20) de la Facultad de Química UNAM, los participantes completaron “cuestionarios recordatorios de 24 horas” para evaluar la ingesta diaria de zinc, la concentración de zinc en cabello se determinó mediante espectrometría de absorción atómica en flama en colaboración con Química Analítica Posgrado, Laboratorio 113 y finalmente para la determinación de la quimiocina se realizó un ensayo inmunoenzimático.

Los datos obtenidos de estos parámetros se analizaron estadísticamente (*Graph Pad Prism, versión 7*) para poder obtener una correlación entre el estado nutricional de zinc y la respuesta inmunológica.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 Evaluación del consumo de zinc en la dieta diaria

Cuestionario recordatorio de 24 horas

El cuestionario recordatorio de 24 horas se realizó de lunes a viernes, debido a que estos días son representativos de la dieta habitual de un estudiante de la Facultad de Química.

En este cuestionario se recolectaron datos del consumo del día anterior de la persona entrevistada. El cuestionario consta de renglones y columnas, en los renglones se anotó cada uno de los alimentos o/y preparaciones consumidas por la persona en las últimas 24 horas, en las columnas se registraron las características y cantidades de los alimentos, así como las preparaciones consumidas.

Se anotó el nombre de los alimentos o preparaciones que fueron consumidas el día anterior (por sujeto de estudio). Llevando un orden de registro, comenzando por lo que comieron en la mañana y terminando por lo que consumió antes de dormir.

Registro del consumo de alimentos

Se anotó el nombre del alimento y se registró la cantidad de alimento ya sea en porciones, mililitros o medidas caseras (tazas, vasos, cucharas, platos, etc.)

Hora del día o comida	Minuta (alimento o nombre de la preparación)	Marca	Ingredientes	Medida casera	Cantidad de zinc (mg)
7:00	Leche	Liconsa		1 porción	
	Melón	-----		½ porción	
	Huevo			1 pieza	
15:00	Sopa de verduras		Champiñones, zanahoria, brócoli, calabaza,	1 porción	
	Bistec con lechuga		Bistec de res, lechuga	1 porción	

Figura 7. Forma de llenado de un cuestionario recordatorio 24 horas. Modificado del manual de procedimientos para la investigación nutricional, secretaria de salud, 2006.

Para la conocer la cantidad de zinc contenida en cada alimento o preparación se utilizó el software *Nutrikcal VO*®, con el cual se convirtieron las medidas casera o porciones, en contenido de zinc en miligramos

Ingrediente o Platillo	Zinc (mg)	Etanol (g)	Equivalente
Azúcar	0.0	0.0	Az cares
Azúcar glass	0.0	0.0	Az cares
Azúcar mascabado	0.2	0.0	Az cares
Barbacoa	0.0	0.0	Carne
Barrita de granola	1.6	0.0	Cereal
Berenjena	0.1	0.0	Verduras
Berro	0.1	0.0	Verduras
Betabel	0.4	0.0	Verduras
Bicarbonato de sodio	0.0	0.0	Libre
Bisquet	0.5	0.0	Cereal
Bistec	4.3	0.0	Carne
Bistec a la mexicana	2.6	0.0	Platillo
Bistec a la plancha	1.0	0.0	Platillo

Figura 8. Uso de NutricKal VO® para determinar la cantidad de zinc en los alimentos o preparaciones.

Con los datos obtenidos del programa se completaron los cuestionarios recordatorio de 24 horas, para conocer la cantidad de zinc total consumido en un día.

Hora del día o comida	Minuta (alimento o nombre de la preparación)	Marca	Ingredientes	Medida casera	Cantidad de zinc (mg)
7:00	Leche	Liconsa		1 porción	0.9 mg
	Melón	-----		½ porción	0.1 mg
	Huevo			1 pieza	1.1 mg
15:00	Sopa de verduras		Champiñones, zanahoria, brócoli, calabaza,	1 porción	0.2 mg
	Bistec con lechuga		Bistec de res, lechuga	1 porción	4.3 mg

Figura 9. Cantidad de zinc en la ingesta diaria

Se realizó un promedio de la cantidad total de zinc consumida en un día y con la información de los otros días (dos semanas) se realizó un promedio de los mg del elemento traza en la dieta.

8.2 Determinación de la concentración de zinc en muestras de cabello

Obtención de la muestras de cabello

Las muestras fueron tomadas de la región occipito-nuca de la cabeza dentro de los 3 cm de la línea del cabello, con un peso de ~ 0.5 g aproximadamente de cada uno de los voluntarios.

Tratamiento de las muestras de cabello

Se colocó una muestra de 0.1 g de cabello de cada sujeto de estudio en un vaso de precipitados, donde se lavó con 30 ml de triton™ X-100 (Sigma-Aldrich, No. Cat. 9002-93-1) al 1% con agitación constante por 30 minutos.

La muestra de cabello se pasó a un embudo tipo Büchner montado en un matraz Kitazato, se pasaron 500 ml de agua desionizada para eliminar la solución de triton™ x-100 e impurezas y se dejó secar la muestra toda la noche. El tratamiento se realiza con el objetivo de evitar contaminación de zinc externo por el uso de tinte, shampoo, gel etc.

Digestión ácida de las muestras de cabello

Se pesaron aproximadamente 50 mg de cabello tratado en un vaso de precipitados y se dejó en un horno (Thermolynes Sybron Corporation) a 80 °C hasta obtener peso constante.

Cuando se obtuvo el peso contante de las muestras, se adicionó 1 ml de HNO₃ concentrado (J.T. Baker S.A. de C.V, No. Cat. 9601) y 2 ml de H₂O₂ al 30 % (Merck, Darmstadt, No. Cat. 7210) a calentamiento y agitación constante hasta aclarar la muestra.

En caso de la formación de algún precipitado se filtran las muestras, posteriormente se aforaron a 6 mL con agua ultrapura (MilliQ Millipore).

8.3 Determinación de la concentración de CXCL16 en suero

Se estandarizó un método inmunoenzimático para identificar y cuantificar a la quimiocina humana CXCL16. (PeproTech® Cat. 900-M230)

Preparación de la placa para el Ensayo Inmunoenzimático (EIA)

Se diluyó el anticuerpo de captura (PeproTech® Cat. 900-M230) con amortiguador salino de fosfatos pH 7.3 a una concentración de 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, inmediatamente se añadieron 100 μL a cada uno de los pozos de la placa. Se cubrieron con película adhesiva para evitar la desecación y se incubaron las placas toda la noche a temperatura ambiente.

Se lavaron las placas cuatro veces usando 300 μL de amortiguador salino de fosfatos + tween 20 al 0.05%

Se agregaron 300 μL de amortiguador salino de fosfatos pH 7.3 + albumina de suero bovina al 1% y se incubaron por una hora a temperatura ambiente.

Se lavó cada placa con 300 μL de amortiguador salino de fosfatos pH 7.3 + tween 20 0.05 %

Estándar/Muestra:

Se prepararon 6 estándares de la proteína CXCL16 (PeproTech® Cat.900-M230) con amortiguador salino de fosfatos pH 7.3 + tween 20 0.05% + albumina 0.1%, cuya concentración inicial fue de 97.5 0 ng/mL hasta 3000 0 ng/mL (figura 10), se agregaron 100 μL de cada estándar por triplicado, las muestras humanas se diluyeron 1:10 utilizando el mismo diluyente y se colocaron 100 μL en cada pozo por triplicado.



Figura 10. Preparación de la curva estándar. Diluciones realizadas de la quimiocina CXCL16

Detección:

El anticuerpo de detección (PeproTech® Cat.900-M230) cuya concentración inicial fue de 100 µL, se diluyó para el ensayo hasta una concentración final de 0.25 µg/mL, de la cual se adicionaron 100 µL por pozo y se incubaron a temperatura ambiente por 2 horas.













Conjugado Avidina-HRP

De igual manera se diluyeron 5.5 µL del anticuerpo conjugado Avidina – HRP (PeproTech® Cat.900-M230) 1:2000 en un volumen 1mL para cada tira de 8 pozos. Se agregaron 100 µL por pozo e incubaron 30 minutos a temperatura ambiente cubriendo la placa de la luz.

Cromógeno líquido ABTS

Se agregaron 100 µL de ABTS (Sigma-Aldrich, No. Cat. 30931) a cada pozo e incubaron a temperatura ambiente para el desarrollo de color, se monitoreo por 50 minutos el desarrollo de color con un lector de microplaca de ELISA a 405 nm con una lectura de corrección a 650 nm.

A)

Anticuerpo de captura	Bloqueo	Captura de la muestra	Anticuerpo de detección	Conjugado Avidina-HRP	Sustrato ABTS
					
-100 µL Ac-captura (0.25 µg/mL) -Toda la noche -Temperatura ambiente	-300 µL amortiguador de bloqueo -1 hora -Temperatura ambiente	-100 µL de estándar o muestra -2 horas -Temperatura ambiente	-100 µL de estándar o muestra -2 horas -Temperatura ambiente	-100 µL de estándar o muestra -2 horas -Temperatura ambiente	-100 µL de estándar o muestra -2 horas -Temperatura ambiente
Lavado x 4	Lavado x 4	Lavado x 4	Lavado x 4	Lavado x 4	Lavado x 4
 Anticuerpo de captura	 Quimiocina CXCL16 humana	 Complejo Avidina-HRP	 Anticuerpo de detección biotinilado	 Sustrato ABTS	 BSA (Albúmina de suero bovino)

B)

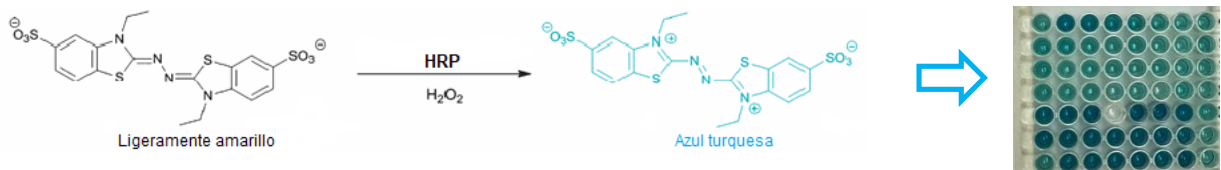


Figura 11. A) Estandarización del método para la determinación de CXCL16 humana. B) Reacción del ABTS con la peroxidasa. El radical catiónico formado es estable y absorbe en la región visible (405 nm)

9 RESULTADOS

9.1 EVALUACIÓN DEL CONSUMO DE ZINC EN LA DIETA DIARIA

Se realizaron tres cuestionarios recordatorio de 24 horas en diferentes días de la semana, por dos semanas; a cada uno de los participantes (n=20). Se tomó la media del consumo de zinc en la dieta, obteniendo los siguientes resultados:

PARTICIPANTE	CONSUMO DIARIO DE ZINC PROMEDIO N =6 (mg/día)
Voluntario 1	2.36
Voluntario 2	10.73
Voluntario 3	5.76
Voluntario 4	3.45
Voluntario 5	2.56
Voluntario 6	4.2
Voluntario 7	6.56
Voluntario 8	10.3
Voluntario 9	2.95
Voluntario 10	4.5
Voluntario 11	4.15
Voluntario 12	4.1
Voluntario 13	2.35
Voluntario 14	5.9
Voluntario 15	4.75
Voluntario 16	6.15
Voluntario 17	9.15
Voluntario 18	8.1
Voluntario 19	18.15
Voluntario 20	20.85

Tabla 1. Evaluación del consumo de zinc, valor promedio (n=6) obtenido del consumo diario en **hombres** y **mujeres**

La ingesta diaria recomendada de zinc varían por grupos de edades, se ha descrito en la literatura que la ingesta diaria recomendada en personas de 10 años en adelante son 10 mg de zinc por día (NOM-051-SCFI/SSA1- 2010). En la figura 13 se correlaciona el dato calculado de la ingesta de zinc de cada uno de los participantes y la ingesta diaria recomendada, mostrándose en el estudio que solo el 20 % de los voluntarios consumen la cantidad de zinc recomendada, en general estos voluntarios tienen un mejor régimen alimenticio comiendo a sus horas y mayormente preparaciones caseras.

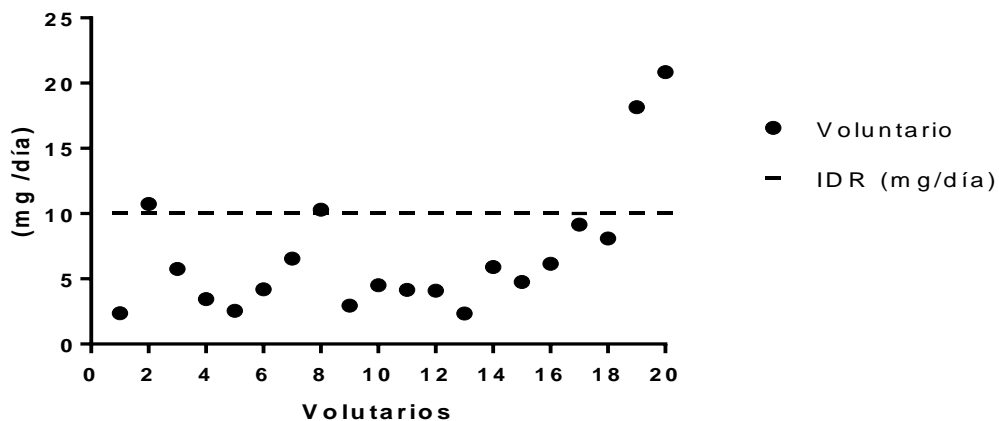


Fig. 12. Ingesta de zinc en la dieta diaria. Ingesta diaria recomendada (IDR), NOM-051-SCFI/SSA1- 2010

Por otra parte al analizar la gráfica del consumo de zinc versus género (figura 14) notamos que el consumo de zinc muestra diferencias, teniendo en el grupo de hombres una mayor ingesta, posiblemente al consumo más alto y con mayor frecuencia de alimentos de origen animal principalmente carnes rojas, contrario a la dieta en mujeres basada en su mayoría por alimentos de origen vegetal, de acuerdo a los datos obtenidos de las encuestas recordatorio 24 horas.

9.2 Datos obtenidos de las encuestas recordatorio 24 horas realizadas a cada participante.

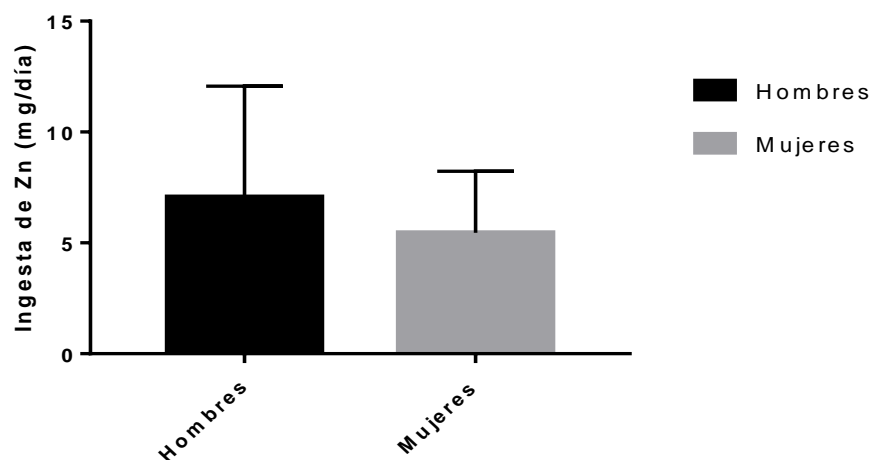


Fig. 13. Zinc consumido en la dieta diaria vs género. Los datos obtenidos a partir del análisis de las encuestas nutricias indican un mayor consumo de alimentos de origen animal en hombres, por lo cual el consumo de zinc es mayor que en el caso de las mujeres las cuales reportan dietas con tendencias veganas. Los resultados fueron analizados mediante ANOVA de una vía $P < 0.05$

9.3 Determinación de la concentración de zinc en muestras de cabello

Las muestras de cabello de los participantes se trataron, se digirieron y se analizaron por Espectrometría de Absorción Atómica en Flama. Después de realizar los cálculos correspondientes se obtuvieron los siguientes resultados

Muestra	[Zn] µg /g de cabello
Voluntario 1	59
Voluntario 2	102
Voluntario 3	22
Voluntario 4	87
Voluntario 5	86
Voluntario 6	39
Voluntario 7	230
Voluntario 8	200
Voluntario 9	177
Voluntario 10	169
Voluntario 11	120
Voluntario 12	117
Voluntario 13	138
Voluntario 14	81
Voluntario 15	142
Voluntario 16	212
Voluntario 17	173
Voluntario 18	165
Voluntario 19	100
Voluntario 20	242

Tabla 2. Concentraciones de zinc determinadas en cabello. Concentración final expresada en microgramos de zinc por cada gramo de cabello seco a peso constante

Coincidiendo con el análisis en las muestras de cabello, la concentración en hombres es mayor a la encontrada en mujeres, a excepción de una muestra. Deseo hacer notar que el agua en algunas regiones del área metropolitana contiene diferentes compuestos disueltos en ella, y por recomendaciones en el manual de procedimientos de la Secretaria de Salud en el cual están basadas las encuestas recordatorio de 24 horas se descarta el agua de la encuesta nutricia sin tomar en cuenta que esta podría ser una fuente importante de zinc.

En la figura 14 se separaron a los participantes en dos grupos de acuerdo a su edad, teniendo como resultado que los voluntarios del grupo de 22-24 años presentan una menor concentración de zinc en cabello, tanto en participantes hombres como en mujeres.

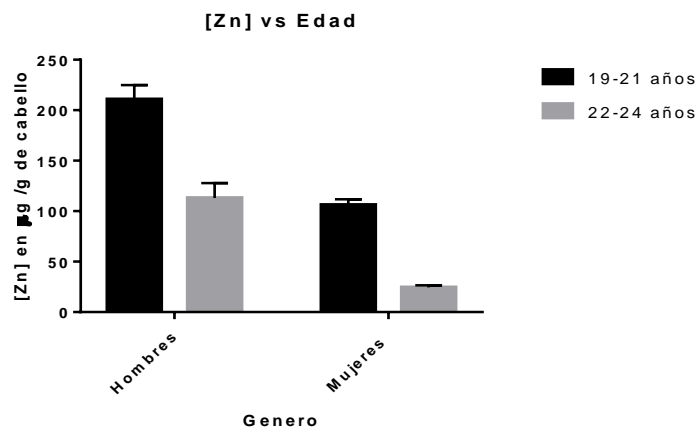


Figura 14. Correlación entre la edad de los participantes, el género y las concentraciones de zinc en cabello. El grupo de voluntarios entre 19-21 años tanto hombres como mujeres, muestran una mayor concentración de zinc en cabello, cabe destacar que los participantes de este rango de edades consumen preparaciones en su mayoría caseras. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de una vía $P < 0.05$

En otro aspecto en la tabla 3 se muestran las concentraciones de zinc encontrada en el cabello y el promedio de zinc consumido, existe una relación entre el consumo de zinc y las concentraciones del elemento en cabello de una manera directamente proporcional, es necesario para concluir tomar en cuenta la biodisponibilidad del zinc y su absorción. Por lo anterior sería apropiado recomendar a la población aumentar la cantidad de zinc consumida en la dieta diaria y con esto asegurar la cantidad que se absorbe (Anexo 3, tríptico).

Participante	[Zn] µg /g de cabello	Promedio consumido (mg/día)
Voluntario 1	59.45	2.36
Voluntario 2	102.40	10.73
Voluntario 3	22.90	5.76
Voluntario 4	87.04	3.45
Voluntario 5	86.78	2.56
Voluntario 6	39.10	4.2
Voluntario 7	230.01	6.56
Voluntario 8	200.59	10.3
Voluntario 9	177.21	2.95
Voluntario 10	169.44	4.5
Voluntario 11	120.34	4.15
Voluntario 12	117.54	4.1
Voluntario 13	138.25	2.35
Voluntario 14	81.09	5.9
Voluntario 15	142.25	4.75
Voluntario 16	212.58	6.15
Voluntario 17	173.02	9.15
Voluntario 18	165.25	8.1
Voluntario 19	100.53	18.15
Voluntario 20	242.63	20.85

Tabla 2. Concentraciones de zinc en cabello y consumo diario de zinc en la dieta.

Para demostrar lo anterior en la siguiente grafica se correlaciona la cantidad de zinc consumida en la dieta diaria y las concentraciones determinadas en cabello de cada uno de los voluntarios

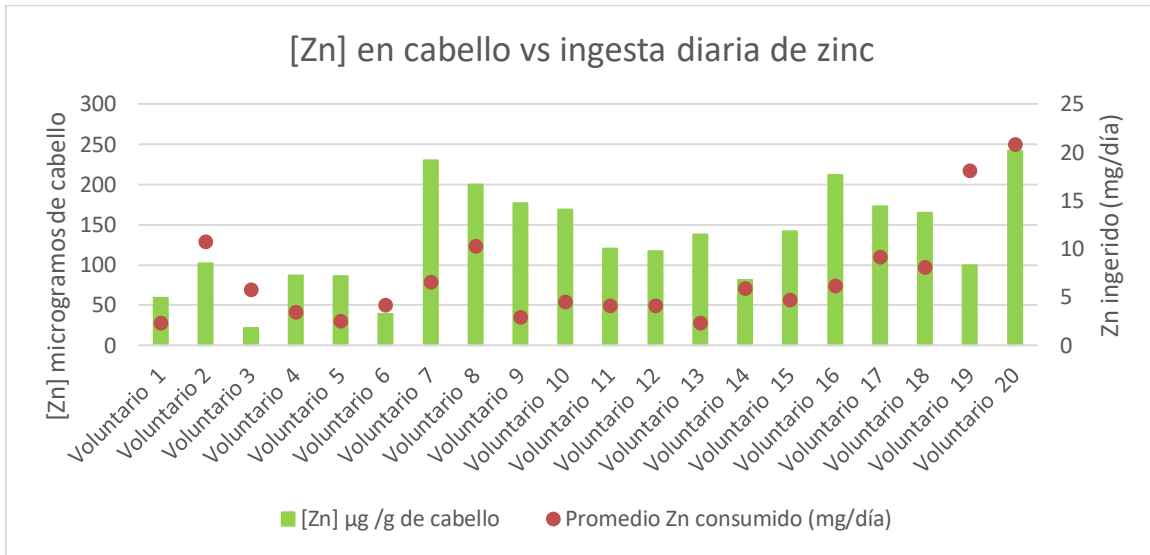


Figura15. Concentraciones de zinc en cabello versus ingesta diaria. Hay diferentes factores pueden intervenir en la biodisponibilidad del zinc (mala absorción, concentración de fitatos), por tal motivo no siempre habrá una clara relación entre estos dos parámetros

Determinación de la concentración de quimiocina CXCL16 en el suero

Como parte de la estandarización del método EIA, los resultados se describen a continuación: para la construcción de la curva estándar se midieron las absorbancias en intervalos de 5 minutos de cada una de las concentraciones (Figura 16). Consideramos como óptimo el tiempo de 50 minutos para la detección de la quimiocina.

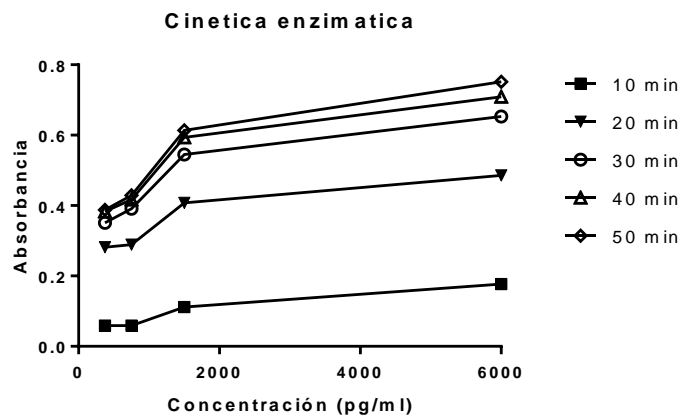


Figura 16. Cinética enzimática para la detección de la producción de la quimiocina CXCL16 humana

La literatura informa que las concentraciones para la quimiocina CXCL16 en humanos es de 326 pg/mL en suero³¹, se debe tomar en cuenta que la población de estudio en este ensayo es reducida y presenta características propias de la edad y el estilo de vida.

Muestra	[Zn] µg /g de cabello (n=10)	Zn consumido n=6 (mg/día)	CXCL16 en pg/mL (n=3)
Voluntario 1	59.45	2.36	19.4
Voluntario 2	102.40	10.73	27.3
Voluntario 3	22.90	5.76	37.6
Voluntario 4	87.04	3.45	27.4
Voluntario 5	86.78	2.56	13.0
Voluntario 6	39.10	4.2	29.5
Voluntario 7	230.01	6.56	14.8
Voluntario 8	200.59	10.3	30.1
Voluntario 9	177.21	2.95	17.9
Voluntario 10	169.44	4.5	20.6

Tabla 4. Concentraciones de zinc en muestras de cabello, cantidad de zinc en la ingesta diaria y determinación de CXCL16 humana

En la tabla 4 se muestran los resultados de los participantes de las diferentes determinaciones realizadas a cada uno.

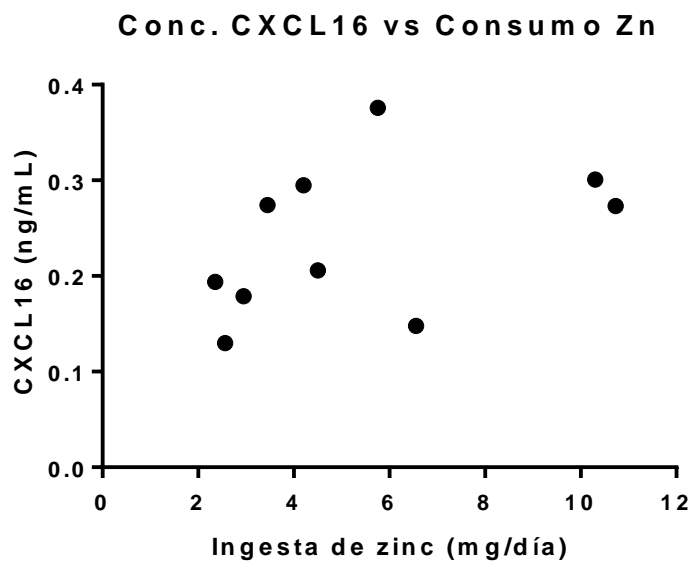


Figura 17. Concentración de quimiocina presente en suero comparada con la ingesta diaria de zinc

Análisis estadístico: Los resultados se analizaron mediante ANOVA y t de Student utilizando el software *Graphpad Prism V 7.0*

DISCUSIÓN

Se ha reconocido que la deficiencia de zinc está asociada con muchas enfermedades, por ejemplo, síndrome de malabsorción, enfermedad hepática crónica, enfermedad renal crónica, enfermedad de células falciformes, diabetes, neoplasias malignas y otras enfermedades crónicas. En estas condiciones, las deficiencias de otros micronutrientes tales como vitaminas y elementos traza también pueden estar asociados.¹⁷

Aunque se sabe desde hace más de seis décadas que el zinc es esencial para el crecimiento de microorganismos, plantas y animales, hasta 1961 se creía que la deficiencia de zinc en los seres humanos no era probable. Ahora está claro que la deficiencia nutricional de zinc es ampliamente prevalente y sus morbilidades son graves⁵⁷

La ingesta diaria recomendada de zinc varía por grupos de edades, en personas mayores a 10 años son 10 mg de zinc por día (NOM-051-SCFI/SSA1- 2010). En la figura 12 se mostró la ingesta de zinc de cada uno de los participantes y la ingesta diaria recomendada, siendo que solo el 20 % de los voluntarios consumen la cantidad de zinc recomendada, cabe destacar que estos voluntarios tienen un mejor régimen alimenticio y consumen en su mayoría preparaciones caseras.

Se considera que a nivel mundial el 17% de la población tienen una insuficiencia de zinc, con los porcentajes más altos en África (24%) y Asia (19%). Por lo tanto la deficiencia de zinc en la dieta es un importante problema de salud pública, especialmente en los países en desarrollo.

En nuestro trabajo los resultados obtenidos para cada concentración de zinc en el cabello se muestran en la tabla 2, se realizó el análisis de los datos por género y edad. Para posteriormente ser relacionados con los datos obtenidos del consumo diario de zinc. En el primer análisis fue por género, teniendo como resultado una mayor concentración en hombres en comparación con el grupo de mujeres con significancia estadística (Figura 13) , siendo los hombres quienes consumen una mayor cantidad de proteína de origen animal, en general, la proteína es una fuente importante de zinc dietético. La cantidad de proteína en una comida se relaciona positivamente con la absorción de zinc, especialmente las proteínas de origen animal.

En un estudio realizado en China se basaron en la Encuesta Nacional de Nutrición de China, muestra que la ingesta de proteínas cumplió con la ingesta dietética recomendada para la población rural china. Sin embargo, el patrón de ingesta de proteínas del 54,6% proviene de granos de cereales y 29,9% de las legumbres, alimentos que pueden disminuir la absorción de Zn.²³

En el estudio en la población de estudiantes de la Facultad de Química el análisis por edad se realizó en dos grupos, 19-21 años y 22-24 años (figura 14), los resultados de este análisis fueron, una disminución en la ingesta diaria de zinc en el grupo de 22-24 años, tanto para hombres como para mujeres. Cabe señalar que tanto la calidad nutricional del alimento como la hora de ingesta se ven comprometidos por la falta de tiempo, recordando que nuestra población son estudiantes de licenciatura de los últimos semestres.

También en este estudio se pudo demostrar la relación entre el consumo de zinc y los niveles del elemento en cabello. Proponemos aumentar la cantidad de zinc consumida en la dieta diaria para aumentar la cantidad que se absorbe

La evidencia obtenida de estudios en modelos humanos y animales indica que la absorción de zinc está regulada por la ingesta de este para mantener la homeostasis.

A este respecto nuestro estudio mostró que el nivel de ingesta de zinc en la dieta de los participantes se relaciona con la concentración en cabello; la absorción de este elemento se determina en gran medida por la presencia de inhibidores específicos y potenciadores de la absorción de este.

Se sabe que el ácido fítico es el principal factor dietético que inhibe la absorción de Zn, los grupos fosfato en el fitato pueden formar complejos muy estables e insolubles con Zn, y debido a que el tracto gastrointestinal de los seres humanos carece de cualquier actividad de la enzima fitasa, el zinc en forma de fitato de zinc se excreta en las heces.⁵³

La ingesta recomendada de nutrimentos debe de ser una base común para que todos los países elaboren directrices dietéticas basadas en los alimentos para sus poblaciones. Utilizando como herramientas las encuestas dietéticas y las estadísticas alimentarias, para proporcionar orientación sobre la composición dietética adecuada, el suministro de alimentos y la formulación de etiquetado de los alimentos.⁵⁸

En nuestro estudio la tasa de consumo y absorción de zinc mostraron diferencias de género. Teniendo como resultado un mayor consumo de zinc fueron en hombres. Es necesario aumentar el número de participantes en el estudio. Es importante informar a la población de nuestros resultados por el posible riesgo de deficiencia de zinc en mujeres estudiantes de la Facultad de Química.

Respecto a los resultados de la Inmunología del zinc, en la tabla 4 se resumen las concentraciones en suero de la quimiocina CXCL16. Las concentraciones obtenidas son resultado de la estandarización del ensayo inmunoenzimático de doble anticuerpo con el cual se logró determinar la concentración en voluntarios estudiantes de la Facultad de Química UNAM esta concentración oscilan entre 250 pg /ml.

Los valores de las concentraciones de CXCL16 en voluntarios sanos determinadas en un grupo de investigación oscilan alrededor de 1000 pg/ml.³²

En la figura 17 se muestran los resultados de parámetros analizados para este protocolo, cantidad de zinc ingerida en la dieta diaria, determinación de zinc en cabello y concentración de CXCL16 en muestras de suero, existe una relación proporcional entre las concentraciones de zinc y la expresión de la proteína.

Se sabe del importante rol del zinc en la inmunidad tanto adaptativa como innata, en la celular y en la humoral, incluyendo el importante papel como molécula de señalización.⁴⁹ Por todo esto es necesario realizar nuevos ensayos y aumentar el número de participantes para poder concluir el papel del zinc en la producción de CXCL16.

La escisión de CXCL16 es un evento asociado con la actividad de la proteasa de ADAM 10 al ser ADAM10 una metaloproteasa dependiente de zinc la liberación del ectodominio depende de la cantidad de zinc intracelular la insuficiencia en la ingesta de zinc se ve relacionada con la escisión de esta molécula.³²

La inhibición *in vitro* de ADAM-10 y ADAM-17 aumentó la expresión de CXCL16 en la membrana de células y redujo los niveles de CXCL16 en sobrenadantes de cultivo. Además, la inhibición de ADAM redujo la migración celular de células (primarias) OC en un ensayo. De la nota, en todo *in vitro*, El inhibidor específico de ADAM-10 parecía ser más potente que el inhibidor ADAM-10 / ADAM-17. Esto se debe probablemente a los niveles de expresión de ADAMs, ya que las células A2780 así como la mayoría de las células OC primarias expresaron principalmente ADAM-10 sobre ADAM-17. Además, estudios anteriores también mostraron que CXCL16 derramamiento fue causada principalmente por ADAM-10 y no por ADAM-17.⁵⁵

En el presente trabajo Para aclarar la relación existente entre los parámetros analizados y así poder determinar el rol del zinc en el sistema inmune en especial con la producción de quimiocinas y otras moléculas del sistema inmune se propone aumentar la población de estudio.

Conclusiones

- Se logró determinar la cantidad de Zn consumida en la dieta diaria en estudiantes de la Facultad de Química UNAM que en promedio fue de 6.8 mg/día
- Se propone un método accesible para la cuantificación de CXCL16 en humanos
- Se encontró una relación proporcional entre el consumo de zinc en la dieta diaria y la cantidad de zinc determinada en cabello
- Existe una correlación entre la cantidad de zinc de la ingesta diaria y la concentración de la quimiocina CXCL16 determinada en suero. Esto posiblemente debido a los sitios dependientes de Zn en las proteínas ADAM, estas metaloproteasas producen la liberación eficientemente de CXCL16 de la membrana

Anexo 1 Reactivos

Lavado de las muestras de cabello

- **solución de triton™ al 1%**

Preparar 400 ml

$$\left(\frac{(1 \text{ mL de triton } ^{\text{TM}})}{(100 \text{ mL de solución al 1\%})} \right) (400 \text{ mL de solución al 1\%}) = 4 \text{ mL triton } ^{\text{TM}}$$

Ensayo inmunoenzimático

- **BSA**

Preparar 50 mL

$$\left(\frac{(11.54 \text{ g PBS})(50 \text{ mL buffer})}{1000 \text{ mL buffer}} \right) = 0.577 \text{ g PBS}$$

- **Buffer de lavado**

Preparar 50 mL al 0.05% Tween-20 en PBS

$$\left(\frac{(0.05 \text{ mL Tween20})}{100 \text{ mL PBS}} \right) (50 \text{ mL PBS}) = 0.025 \text{ mL Tween20}$$

- **Buffer de bloqueo:**

Preparar 50 mL de BSA al 1% en PBS

$$\left(\frac{(1 \text{ g BSA})}{100 \text{ mL PBS}} \right) (50 \text{ mL PBS}) = 0.5 \text{ g BSA}$$

- **Diluyente:**

Preparar 50 mL (0.05% Tween-20, 0.1% BSA en PBS)

25 µL de Tween-20 + 50 mg de BSA

- **Anticuerpo de captura:**

2 mL necesarios a una concentración de 0.25 µg/mL a partir de un stock de 100 µg/mL.

$$V_{stock} = \left(\frac{(0.25 \mu g / mL)(2 \text{ mL})}{100 \mu g / mL} \right) = 0.005 \text{ mL de solución stock}$$

Anticuerpo de detección:

2 mL necesarios a una concentración de 0.25 µg/mL a partir de un stock de 100 µg/mL.

$$V_{stock} = \left(\frac{(0.25 \mu g / mL)(2 \text{ mL})}{100 \mu g / mL} \right) = 0.005 \text{ mL de solución stock}$$

- **Avidina peroxidasa:**

Preparar 4 mL 1:2000

$$\left(\frac{4 \text{ mL}}{2000} \right) = 0.002 \text{ mL}$$

BIBLIOGRAFÍA

1. Saraswathi V, Ganesan M, Perriotte-Olson C, Manickam DS, Westwood RA, Zimmerman MC, Ahmad IM, Desouza CV, Kabanov AV, **2015**. Nanoformulated copper/zinc superoxide dismutase attenuates vascular cell activation and aortic inflammation in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*, 469 (3), 495-500.
2. Reed S, Qin X, Ran-Ressler R, Brenna JT, Glahn RP, Tako E, **2014**. Dietary zinc deficiency affects blood linoleic acid: dihomo- γ -linolenic acid (LA: DGLA) ratio; a sensitive physiological marker of zinc status *in vivo* (*Gallus gallus*). *Nutr*. 6 (3), 1164-1180.
3. Rubio C, Gonzalez D, Martin-Izquierdo RE, Revert C, Rodriguez I, Hardisson A, **2007**. El zinc: oligoelemento esencial. *Nutr Hosp*. 22 (1), 101-107.
4. Hara T, Takeda T, Takagishi T, Fukue K, Kambe T, Fukada T, **2017**. Physiological roles of zinc transporters: molecular and genetic importance in zinc homeostasis. *J Physiol Sci*, 67(2), 283-301.
5. Moran VH, Stammers AL, Medina MW, Patel S, Dykes F, Souverein OW, Dullemeijer C, Pérez-Rodrigo C, Serra-Majem L, Nissensohn M, Lowe NM, **2012**. The relationship between zinc intake and serum/plasma zinc concentration in children: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Nutr*. 4(8), 841-858.
6. Dempsey C, McCormick NH, Croxford TP, Ah Seo Y, Grider A, Kelleher SL, **2012**. Marginal maternal zinc deficiency in lactating mice reduces secretory capacity and alters milk composition. *J. Nutr*. 142 (4), 655-660.
7. Surkan PJ, Siegel EH, Patel S, Katz J, Khattry SK, Stolfus RJ, LeClerq SC, Tielsch JM, **2013**. Zinc and iron supplementation on motor and language milestone scores of infants and toddlers. *Nutrition*. 29 (3), 542-548.
8. Grattan BJ, Freake HC, **2012**. Zinc and cancer: implications for LIV- 1 in breast cancer. *Nutr*. 4 (7), 648-675.
9. Lou Y-Y, Zhao J, Han X-Y, Zhou XH, Wu J, Ji L-N, **2016**. Relationship between serum zinc level and microvascular complications in patients with type 2 diabetes. *J Chin Med*, 128 (24), 3276-82.

10. Astiazarán H, Iñigo G, Cota L, Corona I, **2015**. Crosstalk between zinc status and *Giardia* infection: a new approach. *Nutr*, 7 (6), 4438-4452.
11. Ceperuelo V, Ejarque M, Duran X, Pachón G, Vázquez A, Roche K, Núñez C, Garrido L, Tinahones F, Vendrell J, Fernández S, **2015**. Zinc- α 2-glycoprotein modulates AKT-depend insulin signaling in human adipocytes by activación of the PP2A phosphatase. *PLoS ONE* 10 (6): e0129644.
12. Iñigo G, Mendez RO, Quihui L, Velásquez CA, Garibay A, Canett R, Astiazarán H, **2013**. Effects of dietary zinc manipulation on growth performance, zinc status and immune response during *Giardia lamblia* infection: a study in CD-1 mice. *Nutr*, 5 (9), 3447-3460.
13. Kapetanovic R, Bokil NJ, Achard ME, Y-Ong C, Peters KM, Stocks CJ, Monteleone M, Schroder K, Irvine KM, Saunders BM, Walker MJ, Stacey KJ, McEwan AG, Schembri MA, Sweet MJ, **2016**. *Salmonella* employs multiple mechanisms to subvert the TLR-inducible zinc-mediated antimicrobial response of human macrophages. *FASEB J*, 30(5), 1901-1912.
14. Mocchegiani E, Costarelli L, Giacconi R, Piacenza F, Basso A, Malavolta M, **2011**. Zinc, metallothioneins and immunosenescence: effect of zinc supply as nutrigenomic approach. *Biogerontology*, 12(5), 455-465.
15. Udechukwu M, Collins S, Udenigwe C, **2016**. Prospects of enhancing dietary zinc bioavailability with food-derived zinc-chelating peptides. *Food Funct*, 7(10), 4137-4144.
16. Maret W, **2012**. Zinc biochemistry: from a single zinc enzyme to a key element of life. *Adv Nutr*. 4(1), 82-91.
17. Hogan I, Doherty M, Fagan J, Kennedy E, Conneely M, Crowe B, Lorenz I, **2016**. Optimization of zinc sulphate turbidity test for the determination of immune status. *Vet Rec*, 178 (7), 169
18. Bonaventura P, Lamboux A, Albarède F, Miossec P, **2016**. A feedback loop between inflammation and uptake. *PLoS One*, 11(2): e 0147146.doi:10.1371.
19. Gopalakrishannan V, Pillai SI, Subramanian SP, **2015**. Synthesis, spectral characterization, and biochemical evaluation of antidiabetic propertiles of a new zinc.diosmin complex studied in high fat diet fed-low dose streptozotocin induced experimental type 2 diabetes in rats. *Biochem Res Int*, 350829, 11.
20. Maret W, **2012**. New perspectives of zinc coordination environments in proteins. *J. Inorg. Biochem*, 111, 110-116.

21. Blewett HJ, Taylor CG, **2012**. Dietary zinc deficiency in rodents: effects on T- cell development, maturation and phenotypes. *Nutr.* 4 (6), 449-466.
22. North M, Steffen J, Ilogu AV, Zimmerman GR, Vulpe CD, **2012**. Genome-wide functional profiling identifies gene and processes important for Zinc- limited growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Genetics* 8: e1002699.
23. Siegel EH, Kordas K, Stoltzfus RJ, Katz J, Khatry SK, LeClerq SC, Tielsch JM, **2011**. Inconsistent effects of iron-folic acid and/or zinc supplementation on the cognitive development of infants. *J Health Popul Nutr*, 29(6), 593-604.
24. Zepf FD, Sungurtekin I, Glass F, Elstrodt L, Peetz D, Hintereder G, Kratzsch J, Biskup CS, Poustka F, Wöckel L, **2012**. Differences in zinc status and the leptin axis in anorexic and recovered adolescents and young adults: a pilot study. *Food Nutr Res*, 56, 10941.
25. Choi JY, Kim J-M, Lee J-E, Cho MS, Kang BS, Choi H, Kim Y, **2016**. Association of maternal diet with Zinc, copper and iron concentrations in transitional human milk produced by mothers. *Clin Nutr Res*, 5(1), 15-25.
26. Sacan O, Turkyilmaz IB, Boran B, Mutlu O, Akev N, Yanardang R, **2016**. Zinc supplementation ameliorates glycoprotein components and oxidative stress changes in the lung of streptozotocin diabetic rats. *Biometals*, 29(2), 239-248.
27. Young GP, Mortimer EK, Gopalsamy GL, Alpers DH, Binder HJ, Manary MJ, Ramakrishna BS, Brown IL, Brewer TG, **2014**. Zinc deficiency in children with environmental enteropathy- development of new strategies: report from an expert workshop. *Am J Clin Nutr*, 100(4), 1198-1207.
28. Lindenmayer GW, Stoltzfus JR, Prendergast AJ, **2014**. Interactions between zinc deficiency and environmental enteropathy in developing countries. *Adv. Nutr*, 5(1), 1-6.
29. Mocchegiani E, Romeo J, Malavolta M, Costarelli L, Giacconci R, Diaz L-E, Marcos A, **2013**. Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly. *AGE*, 35(3), 839-860.
30. Chalabi M, Cassant S, Duluc C, Fanjul M, Lulka H, Samain R, Roche C, Breibanch F, Delisle M-B, Poupot M, Dufresne M, Shimaoka T, Yonehara Shin, Mathonnet M, Pyronnet S, Bousquet C, **2015**. Loss of somatostatin receptor subtype 2 promotes growth of KRAS-induced

pancreatic tumors in mice by activating PI3K signaling and overexpression of CXCL16. *Gastroenterology*, 148(7), 1452-1465.

31. Xiao G, Wang X, Wang J, Zu L, Cheng G, Hao M, Sun X, Xue Y, Lu J, Wang J, **2015**. CXCL16/CXCR6 chemokine signaling mediates breast cancer progression by pERK1/2-dependent mechanisms. *Oncotarget*, 6(16), 14165-14178.
32. Hima M, Hald S, Kiselev Y, Al-Saad S, Richardsen E, Johannessen C, Eilertsen M, Kilvaer T, Alshibil K, Andersen S, Busund L-T, Bremnes R, **2015**. Prognostic impact of CXCL16 and CXCR6 in non-small cell lung cancer: combined high CXCL16 expression in tumor stroma and cancer cells yields improved survival. *BMC Cancer*, 15, 441.
33. Hojyo S, Fukada T, **2016**. Roles of zinc signaling in the Immune system. *J Immunol Res*, 6762343, 21.
34. Tian J, Hu S, Wang F, Yang X, Li Y, Huang C, **2015**. PPAR γ , AGTR1, CXCL16 and LGALS2 polymorphisms are correlated with the risk for coronary heart disease. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(3), 3138-3143.
35. Zhu Y, Zou C, Zhang Z, Qian C-N, Yang X, Shi J, Xia Y, Zhang J, Lu Y, **2015**. MEK inhibitor diminishes nasopharyngeal carcinoma (NPC) cell growth and NPC-induced osteoclastogenesis via modulating CCL2 and CXCL16 expression. *Tumor Biol*, 36(1), 8811-8818.
36. Richardsen E, Ness N, Melbø Jørgense C, Johannesen C, Grindstad T, Nordbakken C, Al-Saad S, Andersen S, Dønnem, T, Nordby Y, Bremnes R, Busund L-T, **2015**. The prognostic significance of CXCL16 and its receptor C-X-C chemokine receptor 6 in prostate cancer. *Am J Pathol*, 185(10), 2722-2730.
37. Jonanovic I, Zivkovic M, Djuric T, Popovic M, Alavantic D, Stankovic A, **2015**. CXCL16 in vascular pathology research: from macro effects to microRNAs. *J of Atherosclerosis and Thrombosis, J Atheroscler Thromb*, 22(10), 1012-1024.
38. Wang WJ, Qu XQ, Yu XM, Lv W, Yu HY, **2015**. Analysis of the expression of HMGB-1, CXCL16, miRNA-30a, and TGF- β 1 in primary nephritic syndrome patients and its significance. *Genet Mol Res*, 14(3), 9841-9848.

39. Drey Mueller D, Goetzenich A, Emontzpohl C, Soppert J, Ludwig A, Stoppe C, 2016. The perioperative time course and clinical significance of the chemokine CXCL16 in patients undergoing cardiac surgery. *J Cell Mol Med*, 20(1), 104-115.
40. Cho SW, Kim YA, Sum HJ, Kim YA, Oh B-C, Yi HK, Park JD, Park YJ, **2016**. CXCL16 signaling mediated macrophage effects on tumor invasion of papillary thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*, 23(2), 113-124.
41. Abel S, Hundhausen C, Mentlein R, Schulte A, Berkhout T, Broadway N, Hartmann D, Sedlacek R, Dietrich S, Muetze B, Schuster B, Kallen K, Saftig P, Rose-John S, Ludwig A, **2004**. The transmembrane CXC-chemokine ligand 16 is induced by IFN-gamma and TNF-alpha and shed by the activity of the disintegrin-like metalloproteinase ADAM10. *J Immunol*. 172(10), 6362–6372.
42. Human CXCL16 ELISA Kit. Diciembre 10, **2016**, de Sitio web: file:///C:/Users/compu/Downloads/datasheet_187397.pdf
43. Cruz M, **2008**. Efecto de la suplementación con zinc sobre la distribución de subpoblaciones de linfocitos en el timo (tesis licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
44. Ramirez JA, **2008**. Efectos del zinc en la respuesta Th1. Estudio molecular del interferón gamma (tesis licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
45. Sánchez MT, **2013**. Efecto de la suplementación con zinc sobre la producción de IL-17 en etapas perinatales de ratones BALB/c (tesis licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
46. Eguiarte F, **2013**. Efecto del exceso de zinc *in vitro* sobre la producción de IL-17 (tesis licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, México.
47. Li C-H, Xu L-L, Zhao J-X, Sun L, Yao Z-Q, Deng X-L, Liu R, Yang R, Liu X-Y, **2016**. CXCL16 upregulates RANKL expression in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts through the JAK2/STAT3 and p38/MAPK signaling pathway. *Inflamm Res*, 65(3), 193-202.

48. Laugsand L, Asvold B, Vatten L, Janszky I, Platou C, Arain F, Damas J, Aukrust P, **2016**. Soluble CXCL16 and risk of myocardial infarction: the HUNT study in Norway. *Atherosclerosis*, 244, 188-194.
49. Maares M, Haase H, **2016**. Zinc and immunity: An essential interrelation, *Arch Biochem Biophys*, 611, 58-65.
50. Sarkar S, Chelvarajan L, Young Go Y, Cook F, Artiushin S, Mondal S, Arderson K, Eberth J, Timoney P, Kalbfleisch T, Bailey E, Balasuriya U, **2016**. Equine virus uses equine CXCL16 as an entry receptor. *J Virol*, 90(7), 3366-3384.
51. Singh R, Kapur N, Mir H, Singh N, Lillard J, Singh S, **2016**. CXCR6-CXCL16 axis promotes cancer by mediating cytoskeleton rearrangement via ezrin activation and $\alpha_v \beta_3$ integrin clustering. *Oncotarget*, 7(6), 7343-7353.
52. Wang C, Li Q, Zhen J, Xu Y, Sun S, **2015**. Simvastatin ameliorates renal lipidosis through the suppression of renal CXCL16 expression in mice with Adriamycin-induced nephropathy. *Int J Clin Exp Pathol*, 8(12), 15696-15707.
53. Zhang B, Guo Y, **2009**. Supplemental zinc reduced intestinal permeability by enhancing occludin and zonula occludens protein-1 (ZO-1). *Br J Nutr*, 102(5), 687-93.
54. Matloubian M, David A, Engel S, Ryan J, Cyster J: A, **2000**. Transmembrane CXC chemokine is a ligand for HIV-coreceptor Bonzo. *Nat Immunol*. 1(4), 298-304.
55. Izquierdo MC, Martin C, Fernández B, Elewa U, Sanchez MD, Carrero JJ, Ortiz A, **2014**. CXCL16 in kidney and cardiovascular injury. *Cytokine Growth Factor Rev*, 25(3), 317-325.
56. Hurtado O, **2002**. Papel de la convertase de TNF- α en modelos de isquemia cerebral, Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid.
57. Shankar AH, Prasad AS, **1998**. Zinc and immune biological of altered resistance to infection. *Am J Clin Nutr*, 68(2), 447-463
58. Li Y, Kong N, Lawley MA, Pagan JA, **2014**. Using systems science for population health management in primary, *J Prim Care Community Health*, 5, 242-246.